

엄길호 성균관대학교 스포츠과학대학 조교수 | e-mail : kilhoeom@skku.edu

이 글에서는 질병 관련 단백질인 아밀로이드 단백질의 병리학적 기능에 관여하는 기계적 특성에 대한 최근 연구 내용을 소개하고자 한다.

아밀로이드 단백질은 알츠하이머병, 파킨슨병, 헌팅턴병 등 다양한 뇌신경계 질환 및 당뇨병과 심장 질환 등 다양한 질병 유발에 매우 중요한 역할을 한다. 구체적으로 프리온 단백질처럼 단백질 자체가 응집(aggregation)되거나, 효소 및 열에 의한 단백질의 구조가 분해가 되면서 발생된 단백질 사슬(protein chain)이 응집되어서 아밀로이드 올리고머(oligomer) 및 미소섬유(fibril)를 형성하여 뇌세포와 같은 생리학적 기능을 하는 세포를 사멸하게 한다. 여기서 아밀로이드 단백질은 나노미터 수준의 올리고머부터 길이가 수십 마이크로 정도가 되는 섬유와 같은 다양한 스케일에서의 정렬된 구조 특성을 가진다(그림 1(a)). 이와 같은 다양한 스케일에서 형성된 아밀로이드 단백질은 생리학적 조건(physiological condition)에서는 쉽게 분해가 되지 않는다. 이는 아밀로이드 단백질이 주로 β -sheet 형태의 안정된 구조로 형성되기 때문이다.

아밀로이드 단백질 미소섬유는 일반적인 단백질 소재보다 기계적 특성이 매우 우수하다(그림 1(b)). 구체적으로, 아밀로이드 단백질 미소섬유의 탄성계수는 대략 1~10GPa 정도로, 기계적 특성이 매우 우수하다고 알려진 거미줄 단백질(spider silk protein)의 탄성계수와 매우 유사한 값을 가진다. 아밀로이드 단백질 미소섬유의 우수한 기계적 특성은 아밀로이드 단백질 미소섬유의

병리학적 기능과 연관성이 높다. 예를 들면, 아밀로이드 미소섬유가 세포막에 흡착되어 세포막을 붕괴(disruption)시키는 가장 큰 이유는 아밀로이드 미소섬유의 탄성계수는 1~10GPa 정도로 아밀로이드 섬유는 견고한 반면에 세포막의 탄성 계수는 대략 100kPa 정도로 세포막은 매우 유연하다. 이와 같은 세포막과 아밀로이드 미소섬유의 기계적 특성 차이에 의해 아밀로이드 섬유가 세포막을 기계적으로 붕괴하는 것이다(그림 1(c)). 또한, 프리온 아밀로이드 미소섬유의 강도는 프리온 전염도(prion infectivity)와 관련이 있다고 보고되고 있다. 이와 같이, 아밀로이드 단백질 미소섬유의 기계적 특성이 병리학적 기능과 연관성이 매우 높기 때문에, 아밀로이드 단백질 미소섬유의 기계적 특성을 규명하는 것이 매우 중요하다. 또한, 아밀로이드 단백질 미소섬유의 우수한 기계적 특성은 아밀로이드 단백질 미소섬유의 분자구조에 의해 결정된다. 아밀로이드 단백질의 분자구조와 기계적 특성과의 연관성을 파악하여, 향후 아밀로이드 단백질의 분자구조를 모사한 생체모방 소재를 설계한다면 기계적 특성이 우수한 생체모방 소재 개발이 가능할 것이다.

이 글에서 최근에 수행된 아밀로이드 단백질 미소섬유의 기계적 특성 규명에 대한 연구를 소개하고자 한다. 구체적으로, 분자동역학 계산과학 기법 및 원자힘 현미경

실험기법으로 아밀로이드 단백질 섬유 형성의 기계적 특성을 규명한 연구를 소개하고자 한다.

원자힘 현미경 실험기법 아밀로이드 단백질 섬유의 기계적 특성 규명

원자힘 현미경은 생체 단분자(single-molecule)의 구조적 특징을 파악하는 데 용이할 뿐만 아니라 생체 단분자의 기계적 거동을 측정하는 데 유용하다. 구체적으로 원자힘 현미경 실험 기법은 생체 단분자를 이미지화하여 생체 단분자의 구조적 특징(예: 크기 및 모양)을 파악하는 데 유용하며, 또한 원자힘 현미경의 캔틸레버 프로브(cantilever

probe)를 이용하여 생체 단분자에 기계적 힘을 가해 생체 단분자의 기계적 변형 및 거동을 파악할 수 있다. 원자힘 현미경을 이용하여 아밀로이드 단백질 섬유의 기계적 특성을 규명하는 데 크게 두 가지 방법이 있다.

첫 번째로 원자힘 현미경의 캔틸레버 프로브를 이용하여 양쪽 끝단이 고정된 아밀로이드 미소섬유의 중앙에 힘을 가해 굽힘 실험(bending experiment)을 하여 굽힘 특성을 측정하는 것이다(그림 2). 구체적으로 캔틸레버 프로브를 이용하여 아밀로이드 미소섬유의 중앙에 힘을 가하여 얻은 힘-변위 곡선(force-displacement curve)에서 보여주는 바와 같이, 아밀로이드 미소섬유의 굽힘 변형은 선형 탄성(linear elasticity)으로 이해할 수 있다. 구체적으로 힘-변위 곡선의 기울기(slope)를 통해 수식 (1)과 같이 아밀로이드 미소섬유의 탄성 계수(elastic modulus)를 구할 수 있다.

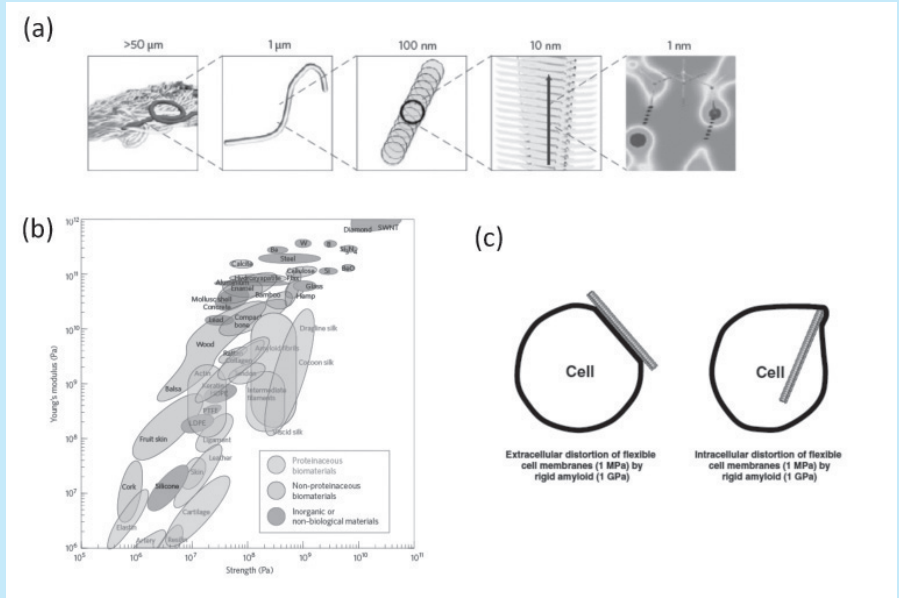


그림 1 (a) 다양한 스케일에서 형성된 아밀로이드 단백질의 구조적 특징: 아밀로이드 플라크(plaque)는 10μm 스케일에서 아밀로이드 섬유로 구성되어 있다. 아밀로이드 섬유는 미소섬유 다발로 구성되어 있으며, 미소 섬유의 길이는 대략 100nm 정도이다. (b) 아밀로이드 미소섬유의 기계적 특성을 보여주는 Ashby Chart. 오렌지 색으로 표시된 영역이 아밀로이드 미소섬유의 기계적 특성을 보여준다(Knowles and Buehler, Nat. Nanotech., 6, 469–479, 2011). (c) 아밀로이드 미소섬유가 세포표면에서 성장하거나 세포 내에서 성장하여 세포막을 기계적으로 붕괴시키는 모식도(Fitzpatrick, et al., PNAS 110, 10976–10981).

$$\delta = \frac{FL^3}{aEI} = \frac{F}{k} \quad \text{또는} \quad k = \frac{aEI}{L^3} \quad (1)$$

여기서, F 는 아밀로이드 미소섬유에 가한 힘이며, δ 는 아밀로이드 미소섬유의 처짐 변위(bending displacement)이며, E, I, L 은 각각 아밀로이드 미소섬유의 탄성계수, 단면 관성모멘트(cross-sectional moment of inertia), 길이를 나타내며, a 는 경계조건(boundary condition)에 의해 결정되는 상수이며, k 는 힘-변위 곡선의 기울기(또는 강성도)를 의미한다. 이와 같은 원자힘 현미경 실험기법으로 얻은 인슐린 아밀로이드 미소섬유의 탄성계수는 3.3GPa 정도이며, 굽힘 강도는 0.6GPa 정도로 일반 섬유의 탄성계수와 강도보다 크다.

두 번째 기법은 원자힘 현미경 이미징(imaging) 기법으로 아밀로이드 미소섬유의 양쪽 끝단의 길이(end-to-end distance)와 아밀로이드 미소섬유의 전체 길이

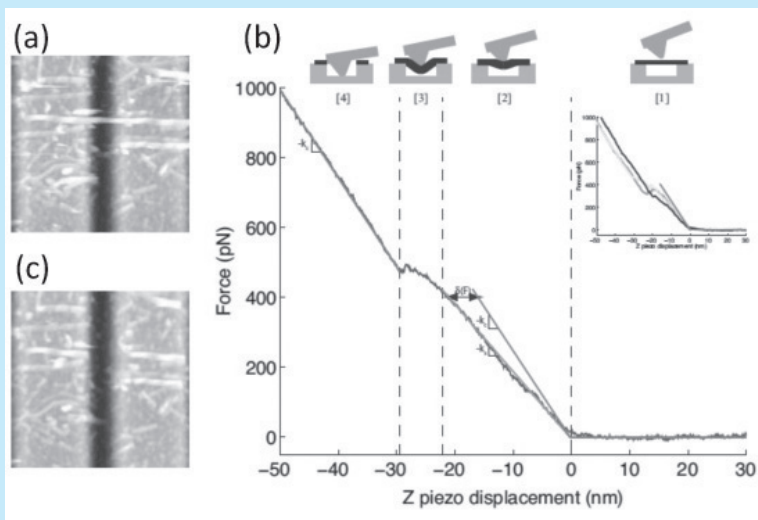


그림 2 (a) 원자힘 현미경 이미징 기법으로 얻은 아밀로이드 미소섬유가 trench 위에 있는 이미지, (b) 원자힘 현미경의 캔틸레버 프로브로 아밀로이드 미소섬유에 힘을 가하여 3점 굽힘 실험(three-point bending experiment) 모식도(위)와 굽힘 실험으로 얻은 힘-변위 곡선(아래), (c) 아밀로이드 미소섬유에 힘을 가해 굽힘 파괴(bending fracture)가 된 이후의 원자힘 현미경 이미지(Smith, et al., PNAS, 103, 15806-15811, 2006).

(contour length)와의 관계를 파악하여, 폴리머 이론(polymer theory) 기반의 폴리머 사슬 모델(polymer chain model)과 비교하여 굽힘 특성을 파악하는 것이다. 구체적으로, 대부분의 DNA, 단백질 섬유 등의 생체분자 사슬(biomolecular chain)은 Wormlike Chain (WLC) 모델로 굽힘 특성을 파악할 수 있다. WLC 모델을 바탕으로 아밀로이드 미소섬유의 끝단의 길이와 섬유 전체 길이와의 관계는 수식 (2)와 같이 파악할 수 있다.

$$\langle R^2 \rangle = 4L_p L \left[1 - 2 \left(\frac{L_p}{L} \right) \left\{ 1 - \exp \left(-\frac{L}{L_p} \right) \right\} \right] \quad (2)$$

여기서, R 은 단백질 미소섬유의 양쪽 끝단 길이를 나타내며, L 은 단백질 미소섬유의 전체 길이를 의미하여, 꺾은 괄호 $\langle \rangle$ 는 앙상블 평균값(ensemble average)을 의미한다. 여기서, L_p 는 단백질 미소섬유의 persistent length를 의미하는데, 이 값은 단백질 미소섬유의 굽힘 강성과도 연관이 있다: $L_p = EI/k_B T$, 여기서 k_B 와 T 는 각각 볼츠만 상수와 절대 온도를 의미한다. 이와 같은 원자

힘 현미경 이미징 기법과 WLC 모델을 통해 베타-락토글로블린(β -lactoglobulin) 아밀로이드 미소섬유의 persistent length 값은 대략 $1 \sim 3 \mu\text{m}$ 정도로, 탄성계수로 환산하면 대략 4GPa 정도가 된다.

분자동역학 계산과학 기반 아밀로이드 단백질 섬유의 기계적 특성 규명

분자동역학 계산과학 기법은 단백질을 구성하는 모든 원자들 사이의 상호작용 포텐셜을 바탕으로 단백질을 구성하는 모든 원자들에 대한 뉴턴 운동방정식을 수치 적분하여 시간에 대한 단백질의 구조 변화를 파악하는 기법이다. 최근에는 원자힘 현미경 및 광학집게 기반의 단분자 실험기법(single-molecule experiment)이 개발됨에 따라 생체분자에 10pN에서 100pN의 힘을 가하여 생체분자의 거동을 파악할 수 있게 되었다.

이와 같은 실험기법으로 생체분자의 기계적 거동을 규명할 수 있지만, 단분자 실험기법은 기계적 힘을 가할 때의 생체분자의 분자구조 변화를 정확하게 파악할 수 없기 때문에, 분자동역학 계산과학 기법은 생체분자의 거동 및 변형 메커니즘을 규명하는 데 매우 중요한 기법으로 활용되고 있다. 특히, 앞에서 언급한 단분자 실험기법을 모사하기 위해, 생체분자를 force probe로 힘을 가해 인장하는 SMD(Steered Molecular Dynamics)기법이 1990년대 후반에 개발되어 생체분자의 기계적 변형 거동 및 메커니즘 규명에 중요한 역할을 하고 있다.

최근에 SMD 계산과학 기법을 통해 아밀로이드 미소섬유의 길이에 따른 굽힘 변형 거동(bending deformation mechanism)을 규명하였다. 구체적으로 그림 3(a)에서 보여주는 바와 같이 아밀로이드 미소섬유의 길이에 따라 변형 메커니즘이 다르다는 것을 알 수 있다. 구체적으로 길이가 대략 3nm 정도로 짧은 아밀로이드 단백질이 변형될 때는 전단 변형(shear deformation)이

되는 반면에, 길이가 10nm 이상의 아밀로이드 미소섬유에 힘을 가하면 굽힘 변형 (bending deformation) 거동이 발생한다. 이는 아밀로이드 미소섬유의 길이에 따라 변형 메커니즘이 달라진다는 것을 알 수 있다. 특히, 그림 3(b)의 힘-변위 곡선을 보면 아밀로이드 미소섬유의 길이가 증가함에 따라 강성도(stiffness) 및 파괴 힘(rupture force)의 값이 감소하는 것을 볼 수 있다. 이는 아밀로이드 미소섬유의 길이에 따른 변형 메커니즘에 따라 아밀로이드 미소섬유의 강성도 및 강도가 결정된다는 것을 보여준다.

또한, SMD 계산과학 기법으로 아밀로이드 미소섬유를 인장하여 인장 변형(tensile deformation) 거동을 규명하였다. 특히, 아밀로이드 미소섬유의 분자구조 형태에 따른 아밀로이드 미소섬유의 인장 거동 및 기계적 특성(탄성계수 및 강도)을 규명하였다. 구체적으로 아밀로이드 미소섬유를 크게 세 가지 형태의 분자구조로 분류할 수 있다(그림 4(a)): (i) 적층된 베타 구조 (stacked β -sheet), (ii) 베타 나선구조 (β -helix), (iii) 적층된 베타 나선 구조 (stacked β -helix). 이와 같은 세 가지 형태의 아밀로이드 구조를 고려하여 SMD 기반 인장 변형 거동을 통해 얻은 기계적 특성은 적층된 베타 나선 구조일 때 우수하다는 사실을 최근에 규명하였다(그림 4(b)). 이는 아밀로이드 단백질 미소섬유의 분자구조가 아밀로이드 단백질 미소섬유의 기계적 특성을 결정하는 매우 중요한 요소임을 알 수 있다. 이와 같은 연구를 바탕으로 향후 생체모사 소재 개

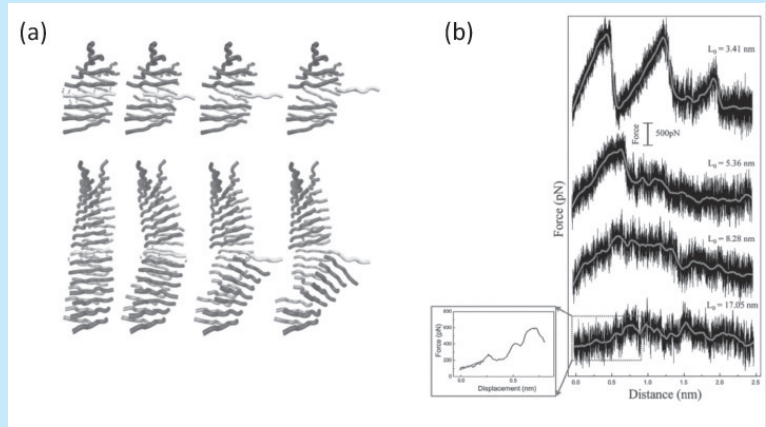


그림 3 SMD 분자동역학 계산과학 기법을 이용한 아밀로이드 미소섬유의 기계적 특성 규명: (a) 길이가 3nm인 아밀로이드 미소 섬유의 변형 메커니즘(위)과 길이가 8nm 정도인 아밀로이드 미소 섬유의 변형 메커니즘(아래), (b) 아밀로이드 미소섬유의 길이에 따른 힘-변위 곡선(Choi, et al., Phys. Chem. Chem. Phys., 17, 1379-1389, 2015).

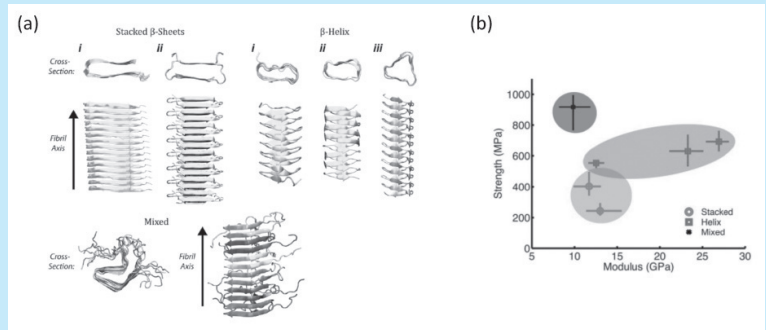


그림 4 (a) 아밀로이드 미소섬유의 세 가지 분자구조 형태: (i) 적층된 베타 구조(위 왼쪽), (ii) 베타 나선 구조(위 오른쪽), (iii) 적층된 베타 나선 구조(아래), (b) 아밀로이드 미소섬유의 세 가지 분자구조 형태에 따른 기계적 특성을 보여주는 Ashby Chart(Solar and Buehler, Nanotechnology, 25, 105703, 2014).

발에 있어서, 기계적 특성이 우수한 생체 소재를 설계하는데 분자구조가 매우 중요한 설계 인자임을 보여준다.