

Membrane Proteins: A new method enters the fold

James U. Bowie

PNAS V. 101 3995, 2004

아미노산의 서열이 단백질의 구조를 결정한다는 것이 밝혀진 이후 물리 생화학자들은 아미노산 서열로부터 구조적 메시지를 해독하기 위해 노력하고 있다. 이러한 목표를 달성하기 위해, 즉 아미노산의 서열로부터 구조적 메시지를 해독하기 위해, 여러가지 조건하에서 단백질이 풀리고 다시 접히는 과정을 연구해 오고 있다. 그러나 이러한 연구들은 대부분 수용성 단백질에 제한되어 있다. 왜냐하면 막단백질들을 연구하기 위해서는 아직도 많은 난관들이 존재하기 때문이다. 이런 이유로 막 단백질의 접힘을 연구하기 위한 방법들이 고안 되어야 한다. 막단백질을 연구하는 연구자들은 열역학적 안정성과 같은 기본적인 것들을 측정하는 일관되고 공통된 방법을 아직까지 찾지 못하고 있다. 막단백질의 접힘 실험은 매우 어렵다. 왜냐하면 가역적으로 풀어지는 방법을 찾기가 어렵기 때문이다. 실제 이중 지질 구조에서 막 단백질의 접힘의 열역학을 연구하는 이상적인 방법이 있다. 이 방법은 Hong 과 Tamm 에 의해 개발 되었다. 현재까지 막단백질은 크게 두개의 부류로 나눌 수 있다. 베타 원통형과 알파 나선 묶음이다. 이 두 구조는 이중접의 비극성에서 수소 결합을 만족시키기에 좋다. 알파 나선 묶음의 경우, 중심축 수소 결합을 지역적으로 만족시키며, 이중접내에서 각각의 나선 구조는 독립적으로 안정하다. 그러므로 나선구조 막단백질은 이차구조의 변형없이 3 차 구조가 변형되거나 잃을 수 있다. 아래는 막단백질의 풀림의 도식도 이다.

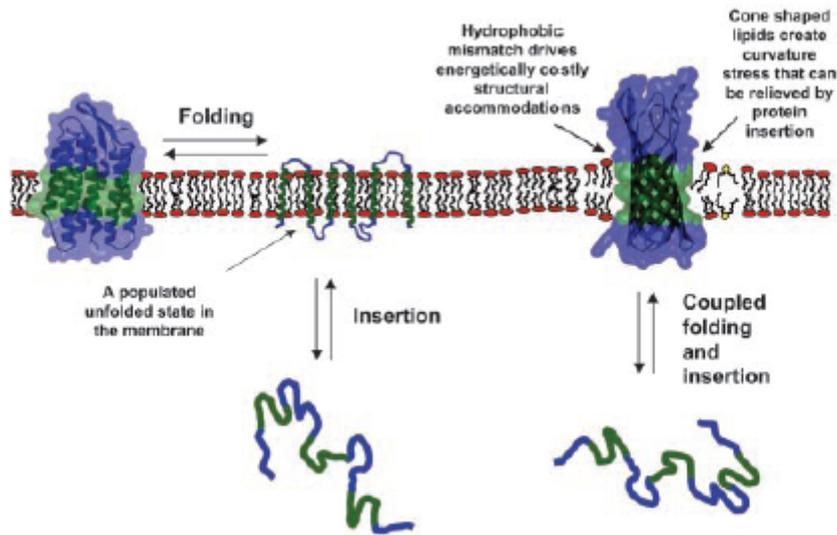


Fig. 1. Membrane protein unfolding. For helical proteins, shown on the left, tertiary structure can be lost within the membrane environment, leaving stable transmembrane helices. Thus, the insertion of helices and folding (helix packing) can be separated. For β -barrel proteins, secondary structure should not be independently stable in the membrane. Thus, folding and insertion are likely to be coupled. The free energy of this folding and insertion equilibrium has now been measured by Hong and Tamm (2). They were able to study the effects of bilayer properties on this equilibrium. A mismatch between the hydrophobic width of the protein (green region) and the bilayer can induce distortions in either the protein or the bilayer. Cone-shaped lipids (yellow head group) lead to increased packing pressure in the center of the bilayer and decreased packing pressure at the head groups, which can be alleviated by the insertion of an hourglass-shaped protein.

위의 그림에서 볼 수 있듯이 왼쪽의 나선 구조와 오른쪽의 베타구조의 접힘은 기본적으로 다르다. 베타구조 단백질의 경우는, 중심축 수소 결합은 상호작용력이 먼거리까지 미치며, 선형 시트의 경우 양 말단들은 수소 주게와 받게를 가지고 있다. 이런 이유로 베타 구조를 가지게 된다. 또한 이런 이유로 이중겹내에서 풀려진 상태로 존재하기가 어렵다. 대신에 이중겹에서 나와서 풀려진 상태로 존재할 수 있다. 연구들에 의하면 이중겹내로의 삽입과 시트 형성은 동시에 발생함이 밝혀졌다. 알파, 베타구조의 막단백질이 서로 다르게 폴립으로 인해 이들을 연구하는 방법 또한 달라야 한다. 지금까지 열역학적 안정성을 측정하는 연구들은 주로 알파 구조의 막단백질에 초점이 맞추어져왔다. 이러한 안정성은 막단백질의 해리 상수를 측정함으로써 해석이 가능하다. 이 기술의 제약은 해리상수의

측정은 계면활성 수용액에서 수행되어야 한다는 것이다. 그러므로 이 방법은 마이셀내에서의 결과가 이중겹내에서의 결과와 잘 연관되어야 한다. 유망한 새로운 방법은 이중겹내에서의 해리 상수를 티오-황화합물 상호 교환을 측정함으로써 얻는 것이다. 이 방법들은 큰 막단백질에서는 적용하기 어렵기 때문에 큰 막단백질들을 위한 방법으로 화학적 변성제 접근 방법이 개발 되었다. 변성되지 않는 계면 활성제내에서 접혀진 단백질에 요소나 구아니딘의 농도를 증가시킴으로써 펼쳐진 상태로 평형이 이동하는 것을 이용하는 방법이다. 지금까지의 모든 방법들의 단점은 단백질이 이중겹내의 환경에 보존되지 않는다는 것이다. 베타 구조의 단백질의 경우, 이중막의 접촉면으로의 삼입이 작은 모델 펩타이드를 사용하여 수행 되었다. 그러나 큰 지용성 막 단백질의 삼입과 접힘의 열역학에 대한 연구는 지금까지는 요원해 보였다. 최근 Hong 과 Tamm은 이러한 제한을 극복하기 위한 방법을 개발 하였다. 그들은 작은 단위 라멜라 소공내에 단백질을 넣고 요소의 농도를 증가 시킴에 따라서 단백질이 빠져 나오게 한다. 이 과정에서 요소는 막 자체에는 손상을 가하지 않으며, 지용성 막 단백질이 물에 녹는 것을 도와준다. 이 빠져 나오는 과정은 완전한 가역적 과정이다.