

## MD 시뮬레이션을 이용하여 Chlorosulfolipids (Danicalipin A)에 대한 구조에 관한 연구

이준열, 장락우\*

서울특별시 노원구 광운로 20, 광운대학교 화학과 139-701

Chlorosulfolipids(CSLs)는 1960 년대에 해조류에서 발견되었다. 하지만 당시 기술력으로는 해조류에서 CSLs 를 추출해 내는 것이 불가능하여 연구가 중단 되었다. 그 후로 40년 뒤 2009 년이 되어서야 CSLs 를 추출할 수 있게 되었다. CSLs 가 독성을 지니고 있다는 연구가 보고 되어 왔다. 하지만 이 CSL가 형성하는 구조를 실험으로 알수가 없고 아직까지 학회에 보고 된 적이 없다. 따라서 본 연구원이 MD 시뮬레이션을 이용하여 CSLs가 형성하는 세포막의 구조를 알아보기 위하여 Coarse-grain 모델을 이용한 CSLs 의 Self-Assembly 연구와 이 결과로 인해 얻은 정보로 atomistic 모델을 만들어서 MD 시뮬레이션을 수행하였다.

**핵심어:** MD 시뮬레이션, 세포막, CSLs, coarse-grain model, atomistic model

### Introduction

(Font Size: 10 pt) 서 Chlorosulfolipids 는 긴 탄소 사슬에 cl 원자가 6 개, 그리고 Sulfonate 작용기가 리피드의 머리 부분과 꼬리 부분에 한 개씩 2 개가 존재하는 리피드로 알려져 있다.<sup>1,2</sup>

이 리피드는 1960 년대에 처음으로 해조류와 홍합에서 발견 되었다.<sup>3</sup> 하지만 해조류나 홍합에서 CSLs 를 추출 할 만한 기술력이 부족했기 때문에 40 년간 CSLs 에 관한 연구는 중단 되었다.<sup>4</sup> 2009 년에 이르러서야 CSLs 를 분리할 수 있게 되면서 이 분야가 다시 많은 주목을 받고 있다. 또한 CSLs 는 어류나 무척추동물(invertebrate)에 대하여 포유류의 혈구 세포 용해를 억제한다.<sup>5,6</sup> 이러한 독성물질은 너무 강한 흡습성과 점착력이 강해서 과거에는 분리되지 못하다가 2009 년에 해조류의 일종인 O.Danica 의 주된 독성물질로 확인되었다.<sup>7</sup> 하지만 아직 CSLs 가 어떠한 생물학적 역할을 하는지 밝혀진 정보가 많이 부족하고, 특히 CSLs 이 지질막에서

어떠한 형태로 존재하는지에 대한 연구도 전무한 상태이다.<sup>8</sup>

따라서 본 연구원은 CSLs 의 다양한 지질막 구조를 알아내기 위하여 우선 Coarse-grain model 을 사용하여 Self-Assembly 를 진행하였다. 이 과정에서 형성되는 막 구조를 참고하여 CSLs 를 분자식과 같은 평평한 리피드 뿐만 아니라 꼬리 그룹이 휘어진 구부러진 CSLs 를 Atomistic model 로 만들어서 Molecular Dynamics(MD) 시뮬레이션을 진행 하였다.

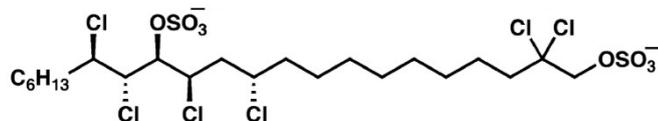


Figure 1 Chlorosulfolipids (Danicalipin A)의 분자식

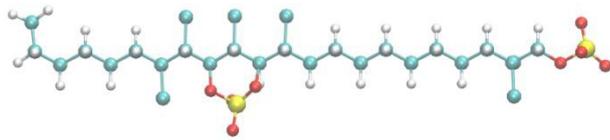


Figure 2 Chlorosulfolipids (Danicalipin A)의 Atomistic Model

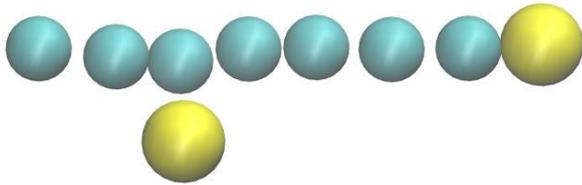


Figure 3 Chlorosulfolipids (Danicalipin A)의 Coarse-grain Model

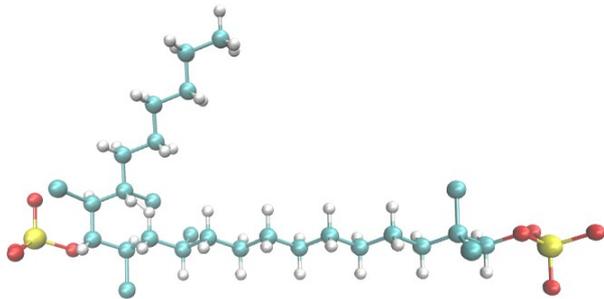


Figure 4 Chlorosulfolipids (Danicalipin A)의 Atomistic Model

이론 및 계산방법

실제 분자를 모델링한 리피드들의 이중막과 단일막은 CHARMM-GUI<sup>9</sup>를 이용하여 모델링 하였고 이중막에는 위, 아래 각각 64 개씩 총 128 개의 리피드를 사용하였다. 선형 리피드로 이루어진 단일막과 이중막의 시스템을 만들었고 구부러진

리피드를 사용하여 단일막과 이중막의 시스템을 만들었다. MD 시뮬레이션은 CHARMM (38a1 version)을 사용하였고 323.15K 에서 진행되었다. 시뮬레이션은 Periodic boundary condition 을 적용하였고 NPgT ensemble 을 이용하였으며, 압력의 경우 Z 축의 방향으로 1 기압을 유지하기 위하여 Nose-Hoover Langevin piston pressure control<sup>10,11</sup> 방법을 사용하였다. Time step 은 1Step 당 2fs 로 설정해 주었고 한번에 500,000step 을 계산하여 1ns 씩 계산하였다. 본 연구에서는 CHARMM36 force field 와 parameter 를 사용하였으며, 이것은 CHARMM27 force field 에 더해서 리피드 계산의 정확성을 높인 Force field 이다.<sup>12</sup>

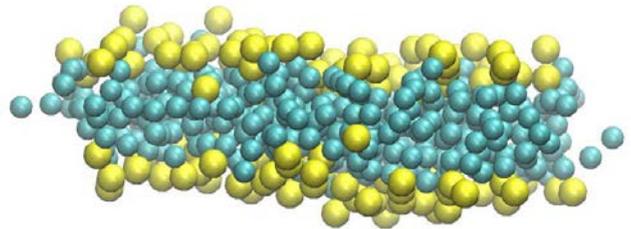


Figure 5 Self-Assembly of Chlorosulfolipids (Danicalipin A)

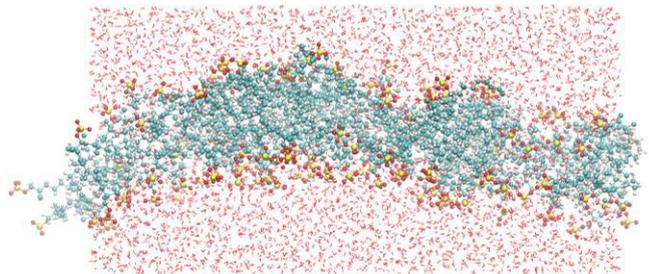


Figure 6 Chlorosulfolipids (Danicalipin A)의 Self-Assembly

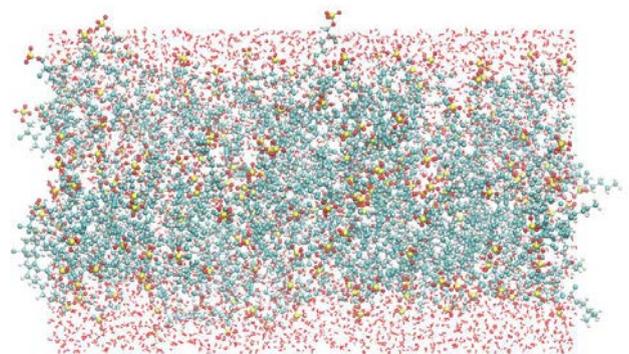
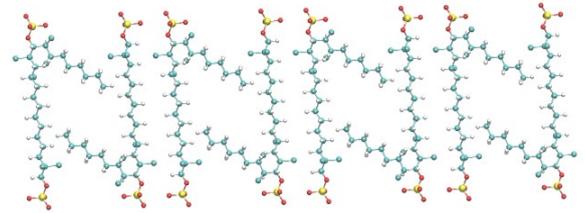


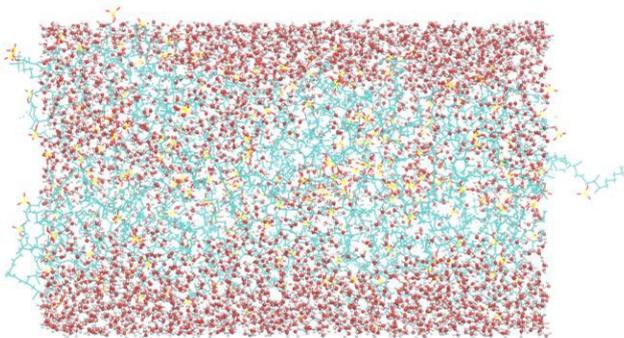
Figure 7 Chlorosulfolipids (Danicalipin A)의 Self-Assembly

**결과 및 토의**

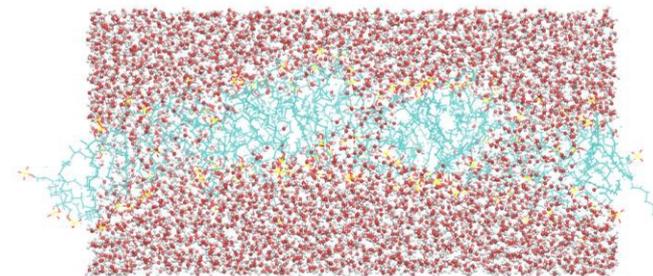
본 연구에서는 Figure 6 와 Figure 7 의 두 모델 중 어느 시스템이 더 안정적인지 알아보기 위하여 이 시스템들에 물을 첨가해 주고 위아래 방향으로 1 기압을 유지시키면서 MD 시뮬레이션을 진행하였다. 하지만 위의 시스템들을 10ns 씩 진행해본 결과 물 분자들이 이중막과 단일막의 사이에서 발견되었다. 막 사이에는 물 분자가 존재해서는 안된다. 위와 같은 시스템으로는 막의 형성이 어렵다고 생각하여 새로운 시스템을 만들었다.



**Figure 10 리피드를 홀수열과 짝수열을 교차해서 만든 초기 모델**

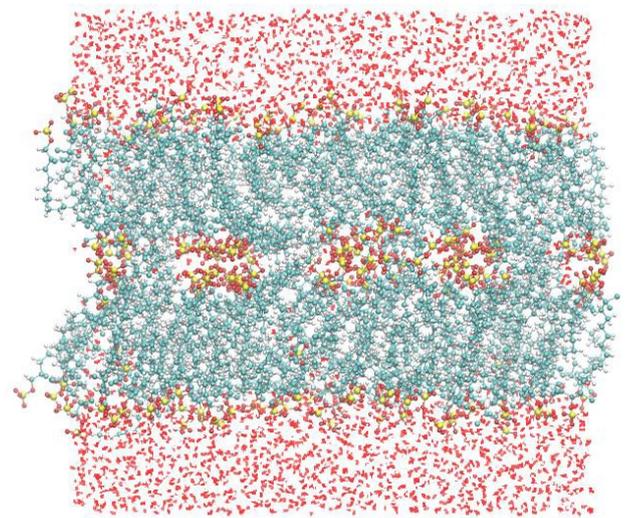


**Figure 8 물자 첨가한 초기 시스템의 스냅**

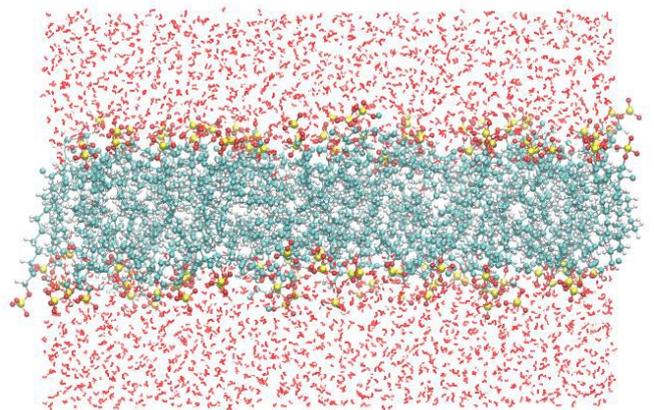


**Figure 9 물자 첨가한 초기 시스템의 스냅**

CSLs 들을 짝수열 홀수열 교차해서 배열 함으로써 초기 시스템부터 물 분자들이 들어 갈 수 있는 빈 공간들을 줄일 수 있도록 만들었다. 이와 같은 형태로 시스템을 만들었을 때는 더 이상 물 분자들이 들어가지 않았지만 아직까진 오랜 시간 동안 MD 시뮬레이션을 진행하지 못 하였기 때문에 아직 시간을 두고 관찰을 하여 어떤 시스템이 안정적인지 밝혀낼 것이다.



**Figure 11 교차된 CSLs 로 만든 초기 시스템의 스냅**



**Figure 12 교차된 CSLs 로 만든 초기 시스템의 스냅**

## 결론

CSLs 는 일반 리피드들과 다르게 친수성 그룹이 머리부분과 꼬리 부분에 존재한다. 따라서 기본 리피드들이 단일막과 이중막을 형성 할 때 CSLs 의 세포막이 어떠한 형태를 이루는지 보고된 사례가 없고 실험으로는 밝혀내기 어려운 부분이기 때문에 본 연구원은 MD 시뮬레이션을 이용하여 가상의 세포막을 만들었다. 가장 보편적인 형태인 단일막과 이중막을 만들어서 MD 시뮬레이션을 진행하면서 두 가지의 시스템이 안정화 되는지와 MD 시뮬레이션을 진행하는 중간중간에 두 시스템의 형태가 유지 되는지를 관찰하였다. 현재까지 최종적으로 만든 교차된 시스템이 equilibration 되지 않았다.

Equilibration 이 끝나는 데로 Area per lipid 와 Membrane thickness 를 계산하여 가장 안정한 CSLs 의 구조를 밝혀 낼 것이다.

또한 본 연구원은 CSLs 의 구조뿐만 아니라 독성에도 관심이 있기 때문에 향후 연구에서는 안정된 세포막의 구조를 사용하여 연구를 진행 할 것이다. 그리고 CSLs 와 일반적으로 잘 알려진 인체의 세포막 리피드들을 혼합하여 MD 시뮬레이션을 진행 하여 CSLs 의 독성이 구조적으로 어떠한 형태로 드러나는지 연구 할 예정이다.

## 감사의 말

이 연구는 EDISION 과제를 통해 지원받아 수행되었습니다.

## 참고문헌

1. J. Elovson, P. R. Vagelos, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1969**, 62, 957-963
2. T. H. Haines, M. Pousada, B. Stern, G.L. Mayer, *Biochem. J.* **1969**, 113, 565-566
3. T. H. Haines, *Prog. Chem. Fats Other Lipids*, **1971**, 11, 297-345.
4. a) J. L. Chen, P. J. Proteau, M. A. Roberts, W. H. Gerwick, D. L. Slate, R. H. Lee, *J. Nat. Prod.* **1994**, 57, 524-527;  
b) A.R. Pereira, T. Byrum, G.M. Shibuya, C.D. Vanderwal, W.H. Gerwick, *J. Nat. Prod.* **2010**, 73, 279-283.
5. a) P. Ciminiello, E. Fattorusso, M. Forino, S. Magno, M. DiRosa, A. Ianara, R. Poletti, *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 578-582; b) P. Ciminiello, C. DellAversano, E. Fattorusso, M. Forino, M. Forino, M. Di Rosa, P. DiMeglio, A. Ianaro, R. Poletti, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 13114-13120;  
c) P. Ciminiello, C. DellAversano, E. Fattorusso, M. Forino, S. Magno, P. DiMeglio, A. Ianaro, R. Poletti, *Tetrahedron* **2004**, 60, 7093-7098.
6. C. Nilewski, R. W. Geisser, E. M. Carreira, *Nature* **2009**, 457, 573-576
7. T. Kawahara, Y. Kumaki, T. Kamada, T. Ishii, T. Okino, *J. Org. Chem.* **2009**, 74, 6016-6024.
8. S. Halevy, R. Saliternik, L. Avivi, *Bioche. J.* **1971**, 2, 185-192.
9. S. Jo, T. Kim, W. Im, *PLoS One* **2007**, e880
10. S.E. Feller, Y. Zhang, R. W. Pastor, B.R. Brooks, *J. Chem. Phys.* **1995**, 104, 4613-4612.
11. G.J. Martyna, D.J. Tobias, M. L. Klein, *J. Chem. Phys.* **1994**, 101, 4177-4189.
12. J. B. Klauda, R.M. Venable, J. A. Freites, J. W. O'Connor, D.J. Tobias, C. MondragonRamirez, I. Vorobyov, A.D. MacKell, R. W. Pastor, *J. Phys. Chem.* **2010**, 114, 7830-7843.
13. W.L. Jorgensen, J. Chandrasekhar, J. D. Madura, R. Impey, M.L. Klein, *J. Chem. Phys.* **1983**, 79, 926-935.