

수용체 접근방법에 의한 잠재적인 돼지 페로몬 성 냄새 물질의 탐색

주성모¹ · 조윤기¹ · 박창식² · 성낙도^{1,*}

¹충남대학교 농업생명과학대학 응용생물환경화학과, ²충남대학교 형질전환복제돼지연구센터

Searching of the Potent Pig Pheromonal Odorants by Receptor Based Approach

Sung-Mo Joo¹, Yun-Gi Cho¹, Chang-Sik Park² and Nack-Do Sung^{1,*}

¹Department of Applied Biology & Environmental Chemistry, College of Agricultural & Life Science, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

²Research Center for Transgenic Cloned Pigs, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

ABSTRACT

To search the potent pig pheromonal odorants through receptor-based approach methods, molecular dockings between 680 Flavornets as substrate molecule and pig odorants binding proteins OBP (1HQP) and PBP (1GM6) as receptor, and QSPR (quantitative structure-property relationship) analyses from physico-chemical parameters of Flavornets and their docking scores (DS) were performed and discussed quantitatively. From the basis on the findings, the optimal value (MSA)_{opt}=407.595 Å² of MSA (molecular surface area; Å), and RB (number of rotational bond) had the Flavornets will be able to increase DS. Therefore, it is expected that the stearyl alcohol from DS and H-bond type between substrate and receptor would be shows the character as potent pig pheromonal odorant.

(Key words : Docking scores, Receptor-based approach, pOBP (1HQP) and PBP (1GM6), Potent pig pheromonal odorants, QSPR)

서론

포유류의 페로몬 결합 단백질(pheromone binding proteins; PBP)은 페로몬 분자들과 결합하여 성적인 발현을 나타낸다(Cavaggoni 등, 1990). 돼지 PBP는 턱밑 샘에서 분비되는 타액에 존재하며(Marchese 등, 1998), 휘발성 냄새 물질의 인식 단백질(odorant binding proteins; OBP)은 비 점막과 후각 수용체의 신경막에 위치하고(Pelosi, 2001), 척추동물(Pelosi 등, 1982)과 곤충(Pelosi와 Maida, 1995)에 있어서 냄새 인식 역할을 하는 가용성 단백질이다. OBP는 일반적으로 소수성 화합물의 수송 역할을 하는 가용성의 거대 분자인 lipocalin의 superfamily에 속한다(Paine와 Flower, 2000). PBP와 OBP는 모두 lipocalin의 superfamily에 속하며, 구조적으로 유사하고 화학 전달체의 신호 전달 과정에서 페로몬 또는 냄새 물질의 인식과 전달에 관계하는 것으로 알려져 있다(Pelosi, 1996).

특히, 수컷 돼지(Boar)의 타액에 존재하는(Loebel 등, 2000) PBP를 salivary lipocalin(SAL)이라 하며, PBP 중에 존재하는 페르몬(androstenone 또는 androstenol)은 암컷 돼지의 비점막 중의 OBP와 반응하여 페로몬 활성을 나

타낸다(Reed 등, 1974). 이런 PBP의 역할은 페로몬 성 소수성 분자들의 전달뿐 아니라, 비점막의 보습 코 기관의 수용체를 생리적 및 생화학적으로 활성을 갖게 하는 것으로 추측된다(Brennan, 2001). 돼지의 SAL은 코 점막에서 분비되는 OBP 및 요단백과 구조적으로 흡사하며(Shahan 등, 1987) 코 점막으로부터 얻은 OBP와 여러 분비선에서 얻어지는 lipocalin 사이의 높은 유사성은 여러 환경을 통하여 다양하게 분비되는 같은 pheromonal ligands에 대한 친밀성과 깊은 관련이 있다(Scaloni, 2001). 뿐만 아니라, 냄새 물질과 결합하는 OBP의 구조 활성과의 관계에 관한 연구들이 보고된 바 있으며(Krzyszowski 등, 1999), 근래 저자들에 의하여 PBP에 대한 virtual screening(Sung 등, 2008)과 tetrahydrofuranyl계 돼지 페로몬 성 화합물이 제안된 바(박 등, 2009) 있었다.

본 연구에서는 잠재적인 새로운 돼지 페로몬 성 물질을 탐색하고자, 여러 가지 유형의 냄새 물질(flavornet)과 돼지 페로몬 분자의 물리-화학 파라미터를 비교하고 receptor-based approach 방법(Reddy와 Parill, 1999) 두 수용체(pOBP: 1HQP 및 PBP: 1GM6)에 대한 분자 도킹(Gohlke와 Klebe, 2002)에 미치는 정량적 구조-성질 관계(QSPR; quantitative structure-property relationship)에

* 이 논문은 2010년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임 (No. 2010-0001351).

† Corresponding author : Phone: +82-42-821-6737, E-mail: ndsung15@hanmail.net

관한 모델을 유도하여(Basak 등, 1999) 도킹 스코어에 미치는 요소를 분석하고, 기질-수용체 착 화합물에 형성된 수소결합의 유형에 대하여 검토하였다.

재료 및 방법

물리-화학 파라미터의 계산

두 수용체(OBP 및 PBP)에 대한 냄새 분질의 결합 친화력상수인 도킹 스코어(DS, docking scores)에 미치는 정량적인 구조-성질 관계(QSPR)(Basak 등, 1999; Livingstone, 1996), 그리고 돼지 페로몬 분자(androstenol; A 및 androstenone; B)와 유사한 물리-화학 파라미터를 가지는 냄새 분자를 선택하기 위하여 TSAR 프로그램(Ver. 3.3)(TSAR, 2000)으로 냄새 분자 1개당 DS 상수를 포함한 15종의 물리-화학 파라미터를 계산하여 구축된 약 10,200개의 data-base(주, 2010)를 활용하였다. 자료화한 물리-화학 파라미터로는 분자량: MM(molecular mass; amu), 분자 표면적: MSA(molecular surface area; Å²), 분자 부피: MV(molecular volume; Å³), 전체 쌍극자 능률값: TDM(total dipole moment; μ), 몰라굴절율: MR(molar refractivity; cm³/mol), 모양 유연성지수: SFI(shape flexibility index), 회전가능 결합수: RB(rotatable bonds; No.), Randic 위상지수: RTI(randic topological index; No.), X-조성 쌍극자능률: DMX(dipole moment X component), Z-조성 쌍극자능률: DMZ(dipole moment Z component), Wiener 지수: WI(wiener indices), 분배 소수성: logP(partition hydrophobicity) 및 전체소수성: TL(total lipole) 등이었다.

반응포켓에 대한 도킹

680개의 냄새 물질, Flavome(Acree와 Am, 2006)과 PDB(protein data bank)(http://www.pdb.org)들을 돼지 페로몬(A 및 B) 분자의 두 수용체(OBP: 1HQF 및 PBP: 1GM6) 중 반응포켓(1HQF; PRZ160, 1GM6; 내부, GOL-1167 및 외부, NAG1168)(Massimiliano 등, 2001; Spinelii 등, 2002)에 대하여 Surflex-Dock 프로그램(Sybyl; Ver. 8.1)을 이용하여 전보(조, 2010)와 같은 조건과 과정으로 분자 도킹을 실행하고 DS(kd)를 측정하였다. Surflex-Dock의 score가 다루는 것은 Van der Waals surface 사이의 거리 2Å 이내에서 상호 영향을 주고 받는 원자쌍에 대하여 전하를 정의하고 반발정도, rotational entropy, 용매화, 극성 H-결합 및 crach 등을 계산한다.

도킹전 수용체의 조정

수용체에 대한 분자 도킹을 합리적으로 실행하기 위하여 수용체의 구조를 수식하는 작업의 일환으로 protein preparation을 실시하였다. 수용체의 착 화합물 구조를 PDB로부터 불러온 다음에, 반응포켓내의 리간드를 선택하여 추출하고 필요에 따라 물 분자를 제거하거나 하지 않는다. 그 후, analyze selected structure를 이용하여 수용체를 분석하였다. 이 과정을 거치게 되면 수용체의 구조 중 잘못된 것으로 판단되는 부분에 대한 조정을 하게되며, 이때 아미노산 잔기의 성질(termini treatment)을

조정한다. 또한, 수소결합을 확인하기 위하여 수소 원자를 결합시키거나 반응점 주변의 산성 및 염기성 아미노산의 protonation state를 결정해 주고 전하를 부여하기도 하며, fix side chain amides를 이용하여 amide 결합을 가진 ANS와 GLN의 잔기가 수소결합이 가능하도록 조정해 주기도 한다.

QSPR 모델의 유도

기질 분자로서 냄새 분자(n=680)들이 돼지 페로몬 분자의 두 수용체(pOBP: 1HQF 및 PBP: 1GM6)에 도킹시, 기질-수용체 착 화합물을 형성하는 냄새 분자들의 DS에 미치는 요소를 분석하기 위하여 냄새 분자의 구조적인 특성의 변화에 따르는 물리-화학 파라미터(설명인자)들과 DS 값에 근거하여 TSAR 프로그램(Ver. 3.3)(TSAR, 2000)과 SAS 프로그램(Ver 9.2)으로(SAS, 2002) QSPR 모델을 유도하고 다중 회귀분석을 실시하였다. 일반적으로 예측성($q^2 \geq 0.50$) 및 상관성($r^2 \geq 0.90$)이 기준값 이상일 경우에 양호한 모델로 간주한다.

결 과

물리-화학 파라미터

돼지 페로몬(A 및 B)과 유사한 물리-화학 파라미터를 갖는 냄새 분자를 선별하기 위하여 두 페로몬 분자의 물리-화학 파라미터 평균값의 $\pm 5\%$ 오차 범위내에 포함된 (E,E)-farnesylacetate(1) 등, 냄새 분자(1~7)와 돼지 페로몬(8 및 9) 분자의 물리-화학 파라미터 9종을 Table 1에 정리하였다. 냄새 분자들은 MM 등의 파라미터가 유사한 값을 나타내었으나, 참고로 제시한 MSA 및 RB는 페로몬 분자들보다 냄새 분자들이 큰 경향이였다. 기질-수용체(OBP 및 PBP)의 도킹에 관한 냄새 분자(n=680)들의 물리-화학 파라미터와 DS에 관한 QSPR 모델 식 (1) 및 식 (2)를 각각 유도하고, QSPR 모델(식 1)에 의한 예측값(Pred.

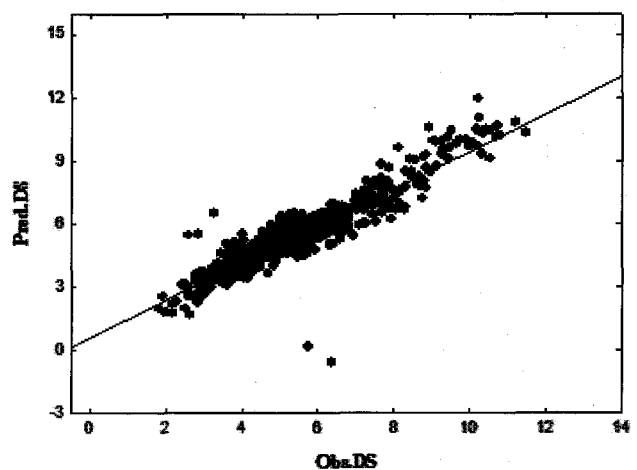


Fig. 1. Relationship between docking scores (DS) and predicted docking scores (Pred. DS) by the QSPR model (I) ($Pred. DS = 0.951DS + 0.283$, $n=680$, $s=0.682$, $F=4062.54$, $r^2=0.857$, $q^2=0.849$ & $r=0.926$).

Table 1. Compare of physico-chemical parameters of pig pheromone (A & B) and selected flavornets

No.	Names	MM	MV	TDM	DMX	logP	MR	RTI	MSA	RB
1	(E,E)-Farnesyl acetate	264.45	233.78	2.03	1.57	4.07	84.14	8.91	338.22	12
2	(E,E)-Farnesyl acetone	262.48	240.10	2.94	1.19	5.05	87.63	8.91	339.92	12
3	Ethyl hexadecanoate	284.54	258.40	2.08	0.14	5.99	86.60	9.81	372.94	16
4	Octadecanaldehyde	268.54	253.12	2.79	2.68	5.99	85.36	9.41	375.28	16
5	Oleic acid	282.52	256.87	4.27	0.36	6.14	87.40	9.77	369.65	16
6	Perhydrofarnesyl acetone	268.54	246.45	2.92	2.67	6.36	85.08	8.91	356.74	12
7	Stearyl alcohol	270.56	250.28	1.64	0.32	6.49	86.55	9.41	377.83	16
8	Androstenol (A)	274.49	233.73	1.45	0.45	4.38	84.23	9.53	274.71	0
9	Androstenone (B)	272.47	228.16	2.95	2.53	4.59	83.20	9.53	268.05	0

Notes: MM, molecular mass (amu); MV, molecular volume (\AA^3); TDM, total dipole moment (μ); DMX, dipole moment X component; logP, partition hydrophobicity; MR, molar refractivity (cm^3/mol); RTI, Randic topological index; MSA, molecular surface area (\AA^2); RB, number of rotational bonds.

DS)과 측정값(DS) 사이의 관계를 Fig. 1에 나타내었다. 그리고 최적화된 QSPR 모델의 변수로 선택된 몰리-화학 파라미터들은 MSA, RB, WI 및 SFI 등이었다.

냄새분자의 도킹

Table 2에는 페로몬 분자와 $\pm 5\%$ 오차 범위내의 몰리-화학 파라미터 값을 갖는 냄새분자(1~7)들의 냄새 유형과 두 수용체에 대한 DS값들을 정리하였다. 대체로 DS 값은 PBP보다 OBP에 대하여 큰 값을 나타내는 경향이 있었다. 두 수용체(OBP 및 PBP)의 결정 구조를 확인한 바 (Massimiliano 등, 2001; Spinelli 등, 2002), OBP(1HQP)의

잔기수는 149개 유일한 반응포켓(PRZ160)은 38개의 아미노산 잔기로 구성되어 있다. 또한, PBP(1GM6)를 구성하는 잔기수는 158개이며, 내부 반응포켓(GOL1167)은 46개, 그리고 외부 반응포켓(NAG1168)은 13개의 아미노산 잔기로 각각 이루어졌다. 그러나 모든 반응포켓은 소수성적인 환경이 극성적인 환경보다 우세하였다. 그리고 OBP(1HQP) 반응포켓의 Van der Waals 표면적은 424.9\AA^2 , 부피는 549.3\AA^3 이었고, PBP(1GM6)의 경우, 2개의 반응포켓 중에서 내부 반응포켓(GOL1167)의 표면적은 287.3\AA^2 , 부피는 339.4\AA^3 으로 PBP보다 OBP가 약 1.5배 큰 단백질 분자이었으나, 외부에 존재하는 반응포켓(NAG1168)은 한 쪽 부분이 개방되어 있는 관계로 위상학적인 비교가 불가능하였다.

수소결합의 확인

Fig. 2에는 돼지 페로몬(A 및 B) 분자들의 최소화 에너지(kcal/mol)를 계산하여 평형 관계를 제시하였다. Fig. 3에는 수용체 PBP(1GM6)의 내부 반응포켓(GOL1167)과 외부 반응포켓(NAG1168)에 한 예로, stearyl alcohol 분자가 완전하게 도킹된 모습을 제시하였다. 여기서 노란색 화살표는 단백질의 2차 구조중에서 β -sheet를 나타낸 것이고, cyan(청록색)은 α -helix 구조도 아니고 β -sheet 구조도 아닌 기타 구조를 표시한 것이다. 그리고 Fig. 4는 androstenol(8) 분자가 수용체 PBP(1GM6)의 내부 반응포

Table 2. Odor and docking scores (DS) of pig pheromone (A & B) and selected flavornets to reaction pockets of the two receptors OBP and PBP

No.	Odor	OBP (1HQP)		PBP (1GM6)	
		PRZ160	GOL1167 ^{a)}	NAG1168 ^{b)}	
1	Oil, Wax	8.43	5.86	4.25	
2	Flower	10.54	5.53	3.55	
3	Wax	9.91	2.48	3.95	
4	Oil	9.53	2.98	4.65	
5	Fat	9.65	3.18	4.47	
6	Fat	9.48	2.19	3.92	
7	Soap	10.19	1.72	2.92	
8	Musk	4.63	-4.33 ^{d)}	2.20	
9	Sweaty ^{c)}	5.28	-6.70 ^{d)}	1.39	

Notes: Binding pocket; ^{a)} cavity, ^{b)} out side; ^{c)} depending upon who is doing the smelling, it is reported to be sweaty, urinous smell and woody smell.; ^{d)} scrach.

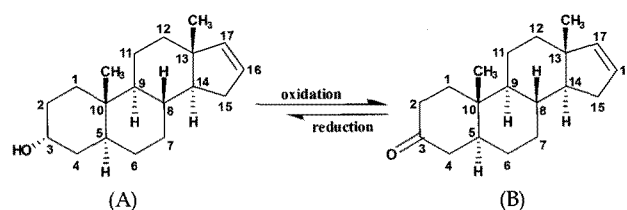


Fig. 2. General structures of pig pheromone androstenol (A) and androstenone (B) molecule. (Minimized energy: A=36.993 kcal/mol & B=31.236 kcal/mol).

Table 3. H-bonds and their bond length (Å) between selected flavornets and two receptors (OBP and PBP)

No.	PBP (1GM6)		OBP (1HQP)
	GOL1167 ^{a)}	NAG1168 ^{b)}	PRZ160 ^{a)}
1	None	SER-55(2.10), ASP-76(1.93)	None
2	None	None	None
3	None	ASN-53(2.52), SER-55(2.23), ASP-76(2.04)	None
4	None	LYS-77(1.96)	None
5	None	SER-55(1.87), LYS-77(1.98)	PHE-35(2.05)
6	None	ASN-53(1.97)	None
7	GLU-121 (1.89)	ASN-53(2.12), LYS-77(2.06)	None
8 ^{c)}	TYR-123 (1.69)	ASN-53(2.08), LYS-77(2.10)	THR-18(2.36, 2.55)
9 ^{c)}	None	None	None

Notes: Binding pocket; ^{a)} cavity, ^{b)} out side., ^{c)} pig pheromone; 8, androstenol (A) & 9, androstenone (B).

켓(GOL1167)에 도킹시 TRY-123 잔기와 수소결합을 나타낸 것이며, Fig. 5에는 stearyl alcohol 분자가 외부 반응포켓(NAG1168)에 도킹되어 두 아미노산 잔기(ASN-53 및 LYS-77)와 형성된 수소결합을 제시하였다. 그리고 Table 3에는 선택된 냄새분자들의 수소결합 유형들을 정리하였다.

고찰

OBP 도킹시 요인

먼저, 돼지 페로몬 분자(A 및 B)의 물리-화학 파라미터와 가장 유사한 값을 갖는 냄새분자를 선별하고자, 돼지 페로몬 분자의 물리-화학 파라미터의 평균값을 구하고, 그 평균값의 $\pm 5\%$ 범위내에 속하는 냄새분자(1~7)들은 (Table 1) 대체로 페로몬 분자의 MM, MR 및 RTI 상수는 유사하였으나 큰 소수성(logP)을 나타내었다. 이 결과로부터 페로몬 분자의 물리-화학 파라미터에 더 가까운 $\pm 3\%$ 범위내에 속하는 냄새분자는 octadecanaldehyde (4), perhydrofarnesyl acetone(6) 및 stearyl alcohol(7) 등 3개의 화합물로 압축되었다.

한편, OBP(1HQP)에 대한 냄새분자들(n=680)의 도킹시 DS에 미치는 물리-화학적 성질을 알아보기 위하여 다중 회귀분석을 시도하였다. 왜냐하면, PBP(1GM6)에 대한 냄새분자의 도킹시 DS에 대한 영향을 검토하기 위하여 유도된 2D-QSPR 모델($r^2=0.577$)의 상관성이 OBP (1HQP)에 대한 모델보다 낮았기 때문이다. 따라서 OBP에 대한 도킹시 DS에 대한 다중 회귀분석 결과, 변수로 선택된 물리-화학 파라미터들은 MSA, RB, WI 및 SFI 등으로 가장 양호한 통계값을 갖는 최적화된 QSPR 모델은 다음 식 (1) 및 식 (2)와 같았다.

$$DS = 2.91 \times 10^{-2} MSA (\pm 0.001) + 0.174 RB (\pm 1.008 \times 10^{-2}) - 2.59 \times 10^{-3} WI (\pm 2.0 \times 10^{-4}) - 0.33 (\pm 0.154),$$

$$(n=680, s=630.94, F=1805.21 \text{ 및 } r=0.943) \quad (1)$$

식 (1)과 같은 QSPR 모델은 RB, MSA 및 WI 순으로

RB 및 MSA가 DS에 영향을 미치는 편이었으나, 계수의 크기가 작아 그 영향은 매우 작을 것이다. Fig. 1은 QSPR 모델에 의한 예측값(Pred. DS)과 측정값(DS) 사이의 관계를 나타낸 것으로 대부분의 냄새분자들이 직선성에 근접하고 있으며, QSPR 모델에 의해서 계산된 예측값(Pred. DS)과 측정값(DS)과의 비례관계식으로부터 상관성이 양호($r=0.943$)하였다. 또한, 식 (2)와 같은 QSPR 모델은 MSA에 대한 포물선 관계를 나타내는 2차식으로 적정값(MSA)_{opt.} = 408.958 Å²의 MSA를 갖는 경우에 DS가 최대치를 나타내었다. 그리고 이 적정값은 OBP(1HQP) 반응포켓(PRZ-160)의 Van der Waals 표면적(424.9 Å²)과 비슷한 크기이다.

$$DS = (-5.135 \times 10^{-5})(MSA - 408.958)^2 + 0.197 SFI + 7.082,$$

$$(n=680, s=625.57, F=1676.23 \text{ 및 } r=0.939) \quad (2)$$

이상과 같이, OBP에 대한 상관성(r^2)은 대체로 양호하였으나, PBP에 대한 상관성이 좋지 않은 이유는 모델 중에 포함된 변수로써 물리-화학 파라미터의 종류와 두 반응점의 아미노산 잔기서열, 극성 및 위상학적 특성(면적 및 부피) 등이 다르기 때문으로 설명된다. 특히, 선별된 stearyl alcohol(7)의 MSA값(377.83 Å²)이 OBP(1HQP) 반응포켓의 표면적에 관한 적정값에 가장 가까운 값을 나타내었다.

분자의 도킹 스코어

돼지 페로몬 분자(A 및 B)의 환원형인 androstenol(A)과 산화형인 androstenone(B)의 최소화 에너지를 계산한 결과(A=36.993 kcal/mol 및 B=31.236 kcal/mol), B가 A보다 안정하여($\Delta=5.75$ kcal/mol) androstenol(A)이 androstenone(B)보다 큰 반응성을 나타낼 것으로 예측되었으며, 이들의 평형관계를 Fig. 2에 나타내었다. Fig. 3에는 수용체 PBP의 내부 반응포켓(GOL1167)과 외부 반응포켓(NAG1168)에 대하여 한 예로, stearyl alcohol 분자가 완전하게 도킹된 모습을 제시하였다. 이러한 자료들에 근거하여 두 수용체(OBP 및 PBP)에 대한 냄새분자들(1~7)과 돼지 페로몬 분자(8 및 9)의 DS값들과 냄새 유형을 Table 2에 정리하였다. OBP에 대하여 냄새분자들이 페로몬 분자에 비하여 큰 DS 값을 나타내는 이유중 하나는 페로몬 분자보다 냄새분자들의 소수성(logP)이 크고 반응점내 소수성 환경이 크기 때문이다. 특히, (E,E)-farnesyl acetone (2) 및 perhydrofarnesyl acetone(7)의 DS는 각각 10.54 및 10.19의 매우 큰 결합친화력을 나타내었다. 또한, 냄새분자들이 PBP에 대하여 작은 DS 값을 나타내는 이유는 반응포켓의 위상학적인 크기가 OBP보다 PBP가 작고 소수성 이외의 입체성 및 정전기성의 영향이 다르기 때문으로 판단된다. 또한, PBP 수용체에 대한 돼지 페로몬 분자들의 DS는 반응성이 큰 androstenol(8)이 androstenone(9)보다 약간 높았고, OBP 수용체에 대하여는 반대의 경향이었으나 내부 반응포켓에는 도킹이 잘 이루어지지 않아 -DS값을 나타내었다.

수용체내 수소결합

PBP(1GM6)의 내부 반응포켓(GOL1167)에 대한 androstenol(8) 분자의 도킹시(Sung 등, 2008), androstenol 분자의 hydroxyl group에 인접한 반응점인 두 아미노산 잔기, Glu121과 Tyr-123 중에서 Glu-121의 carbonyl oxy-

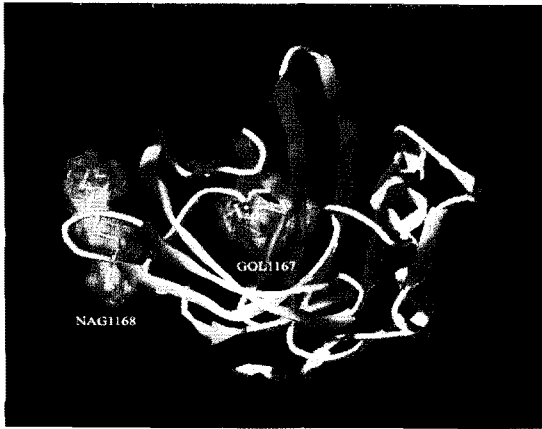


Fig. 3. Docking pose of stearyl alcohol (7) in the two binding pockets (GOL1167 & NAG1168) of receptor PBP (1GM6). The α -helices were shown as helices or cylinders, while β -sheets were shown as arrows and the loop regions as tubes.

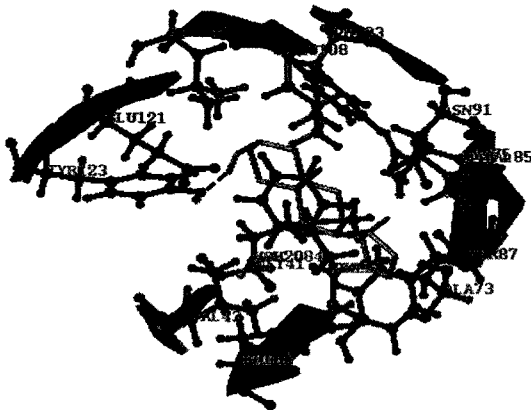


Fig. 4. H-bond (length; 1.73 Å) between androstenol (A) and TYR-123 amino acid residue (Brown: hydrophobic & Blue: hydrophilic) in the inner binding site (GOL1167) of receptor PBP (1GM6).

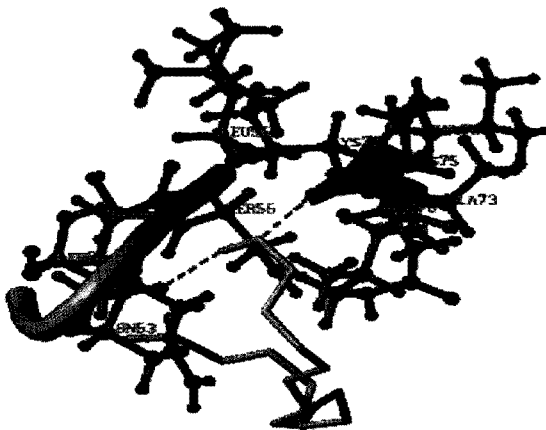


Fig. 5. Two H-bonds between stearyl alcohol (DS: 2.92), ASN-53 and LYS-77 amino acid residues (Brown: hydrophobic & Blue: hydrophilic) in the outer reaction pocket (NAG1168) of receptor PBP (1GM6).

gen 원자와 androstenol 분자중 hydroxyl group의 H원자 간에 수소결합이 존재하였다. 그러므로 PBP에 대한 androstenol 분자의 도킹시와 같이 GLU-121 또는 TYR-123 잔기와 수소결합 양상을 나타내는 냄새분자를 탐색하고자 하였다. 그 결과로부터 Table 3에는 두 수용체 별, 각 반응포켓에서 형성되는 앞서 물리-화학 파라미터로부터 (Table 1) 선별된 냄새분자(1~7)와 돼지 페로몬 분자(8 및 9)의 수소결합 유형을 요약하였다. 특히, androstenone(9)은 어느 수용체에서든 수소결합을 형성하지 않았으며, 외부 반응포켓(NAG1168)에서는 대체로 아미노산 잔기 ASN-53 및 LYS-77와 수소결합을 형성하는 경향을 나타내었다. 즉, Fig. 4에서는 TYR-123중 phenyl 고리상 hydroxyl group의 O원자와 androstenol 분자중 hydroxyl group의 H 원자간에 붉은색 점선으로 표시된 H-결합(길이; 1.69Å)만이 존재하였으며, GLU-121와 androstenol 분자의 거리는 1.78Å이었다.

이 같은 검토 결과, androstenol(8) 분자와 유사한 수소결합성을 나타내는 냄새분자는 stearyl alcohol(7)이었다. 따라서 Fig. 5는 수용체 PBP(1GM6)의 외부에 위치한 반응포켓(NAG1168)에 도킹된 stearyl alcohol(7)과 2.5 Å 범위내의 아미노산 잔기와의 수소결합을 붉은색 점선으로 나타내었다. 즉, stearyl alcohol 중 hydroxyl group의 O 원자는 LYS-77 잔기중 carboxyl group의 α C원자에 결합된 amino group의 H 원자와 수소결합(2.06Å)을, 그리고 stearyl alcohol 중 hydroxyl group의 H원자는 ASN-53 잔기중 carbonyl group의 O원자와 수소결합(2.12Å) 등, 붉은 점선으로 표시된 2개의 수소결합이 형성되어 있다. 이러한 2가지 형태의 수소결합은 수용체 PBP(1GM6)의 외부 반응포켓(NAG1168)에 도킹된 androstenol (8)의 경우와 같았다. 또한, 저자들에 의하여(박 등, 2009) 돼지 페로몬성 물질로 보고된 N-allyl-N'-(tetrahydrofuran-2-yl-methyl)oxalamide 분자의 수용체 PBP(1GM6) 내부 반응포켓에 대한 DS는 5.74이며, TYR-123 잔기와 수소결합을 하였으나, 외부 반응포켓에 대한 DS는 1.78으로 ASN-53, SER-55 및 ASP-76 잔기와 3개의 수소결합을 형성함을 확인하였다. 따라서 냄새분자가 돼지 페로몬 성을 가지려면 돼지 페로몬(A 및 B) 분자와 유사한 물리-화학적 성질을 가져야 하며, 특정한 반응점의 아미노산 잔기와 수소결합을 형성하여 안정한 기질-수용체 착 화합물이 생성되어야 함은 물론, 가능한 DS값이 커야할 것으로 믿어진다. 그러므로 680개의 flavornet(Acree와 Arn, 2006) 중에서 stearyl alcohol(7) 분자가 유일하게 androstenol(8) 분자의 성질에 가까운 화합물로 예상되었다.

인용문헌

1. Acree T, Arn H (2006): Flavornet and Human Odor space (<http://www.Flavornet.org>), Cornell Univ. Geneva, NY, U.S.A.
2. Basak SC, Gute BD, Grunwald GD (1999): A hierarchical approach to the development of QSAR models using topological geometrical and quantum chemical parameters. In Topological Indices and Re-

- lated Descriptors in QSAR and QSPR (Devillers J, Balaban, AT, Eds.). Gordon and Breach Science Publishers, Netherland, pp 675-696.
3. Brennan PA (2001): The vomeronasal system. *Cell Mol Life Sci* 58:546-555.
 4. Cavaggioni A, Findlay JBC, Tirindelli R (1990): Ligand binding characteristics of homologous rat and mouse urinary proteins and pyrazine binding protein of the calf. *Comp Biochem Physio B* 96:513-520.
 5. Gohlke H, Klebe G (2002): Approaches to the description and prediction of the binding affinity of small-molecule ligands to macromolecular receptors. *Angew Chem Int Ed*, 41:2644-2676.
 6. Krzymowski T, Grzegorzewski W, Krzymowska S, Skipo J, Wasowska B (1999): Humoral pathway for transfer of the boar pheromone, androstenol from the nasal mucosa to the brain and hypophysis of gilts. *Theriogenology* 52:1225-1240.
 7. Livingstone DJ (1996): Structure property correlation in molecular design, In *Structure-Property Correlations in Drug Research* (ed. Waterbeemd HVD), Academic Press, R. G. Landes Company, Austein U SA. Ch. 4. p 95.
 8. Loebel D, Scaloni A, Paolini S, Fini C, Ferrara L, Breer H (2000): Cloning, post-translational modifications, heterologous expression and ligand-binding of boar salivary lipocalin. *Biochem J* 350:369-379.
 9. Marchese S, Pes D, Scaloni A, Carbone V, Pelosi P (1998): Lipocalins of boar salivary glands binding odours and pheromones. *Eur J Biochem* 252:563-568.
 10. Massimiliano P, Filippo M, Romina DG, Hugo LM (2001): Crystal structure of a truncated form of porcine odorant-binding protein. *Proteins: Structure Function and Genetics* 42:201-209.
 11. Paine K, Flower DR (2000): The lipocalin website. *Biochem Biophys Acta* 1482:351-352.
 12. Pelosi P, Baldaccini NE, Pisanelli AM (1982): Identification of a specific olfactory receptor for 2-isobutyl-3-methoxypyrazine. *Biochem J* 201:245-248.
 13. Pelosi P, Maida R (1995): Odorant-binding proteins in insects. *Comp Biochem Physio* 111B:503-514.
 14. Pelosi P (1996): Perireceptor events in olfaction. *J Neurobio* 30:3-19.
 15. Pelosi P (2001): The role of the perireceptor events in vertebrates olfaction. *Cell Mol Life Sci* 58:503-509.
 16. Reed HC, Melrose DR, Patterson RL (1974): Androgen steroids as an aid to the detection of oestrus in pig artificial insemination. *Br Vet J* 130:61-67.
 17. Reddy MR, Parill AL (1999): Overview of rational drug design. In *Rational Drug Design*. Ch. 1., ACS Symposium series 719, Amer Chem Soc Washington DC.
 18. SAS (2002): *Statistics & Analysis Software on CD-ROM* (Ver. 9.2), SAS Institute Inc., Cary, NC, 27513 U.S.A., <http://www.sas.com/software/>
 19. Scaloni A, Paolini S, Brandazza A, Fantacci M, Bottiglieri C, Marchese S, Navarrini A, Fini C, Ferrara L, Pelosi P (2001): Purification, cloning and characterisation of odorant- and pheromone-binding proteins from pig nasal epithelium. *CMLS. Cell Mol Life Sci* 58:823-834.
 20. Shahan KM, Denaro M, Gilmartin M, Shi Y, Derman E (1987): Expression of six mouse major urinary protein genes in the mammary, parotid, sublingual, submaxillary and lachrymal glands and in the liver. *Mol Cell Biol* 7:1947-1954.
 21. Spinelli S, Vincent F, Pelosi P, Tegoni M, Cambillau (2002): Boar salivary lipocalin; Three-dimensional X-ray structure and androstenol/androstenone docking simulations. *Eur J Biochem* 269:2449-2456.
 22. Sung ND, Park CS, Park HY, Kim CK (2008): Docking and virtual screening studies for new leads of boar salivary lipocalin. *Bull Kor Chem Soc* 29: 959-962.
 23. TSAR (2000): *Proprietary Software* (Ver. 3.3), Oxford Molecular Ltd.
 24. 박창식, 송석오, 임재삼, 성민규, 성낙도 (2009): 생물학적 자극통제 수단으로 활용하기 위한 돼지 냄새 물질의 탐색: N¹-allyl-N²-(tetrahydrofuran-2-ylmethyl)oxalamide 분자의 합성과 돼지발정 유도 효과. *한국동물번식학회지* 33:1-5.
 25. 주성모 (2010): 돼지 냄새 물질 결합 단백질(pOBP & PBP)에 대한 새로운 선도 물질의 도킹과 virtual screening. *충남대학교 대학원 석사학위논문*.
 26. 조윤기, 박창식, 성낙도 (2010): 돼지 냄새 물질 결합 단백질(pOBP & pPBP)에 대한 Tetrahydrofuran-2-yl 유도체의 분자도킹과 결합 상호 작용. *한국동물번식학회지* 34:7-13.
- (접수일자: 2005. 5. 17 / 채택일자: 2010. 8. 18)