

# 분자 구조 동역학 연구실 (Molecular Structural-Dynamics Laboratory)

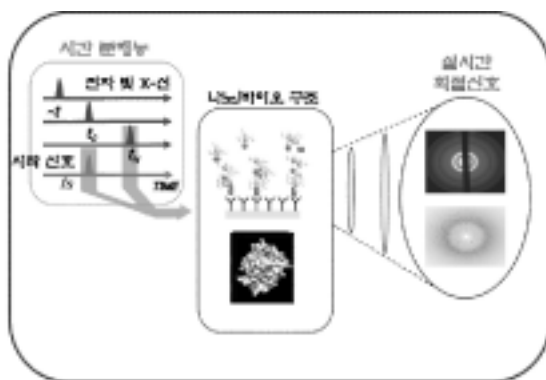
## 1. 연구 과제 개요 및 연구실

달턴의 원자설에 의하면 화학 반응의 기본이 되는 원자는 일정한 크기와 질량을 가지고 있으며, 화학 반응을 통해 끊어지고 결합하여 새로운 분자를 만들어내게 된다. 이러한 분자의 예로는 가장 간단하게는 우리가 숨쉬는데 필수적인 산소(O<sub>2</sub>)를 들 수 있고, 또는 근육 내에서 산소의 저장 역할을 마이오글로빈(C<sub>222</sub>H<sub>1035</sub>FeN<sub>222</sub>O<sub>220</sub>S)과 같은 복잡하고 큰, 단백질이라고 불리는 분자들도 있다. 만일 화학 반응에서 일어나는 구조 변화를 제어할 수 있다면 여러 산업적인 화학 반응이나 생명의 반응을 이해하고 이용하는 데 큰 도움이 될 것이다. 화학 반응의 구조 변화 및 원자 재배치는 반응 메커니즘에 의해서 결정되는데, 반응 메커니즘은 반응물에서 생성물로 이어지는 반응 경로 중에 나타나는 중간체(transient intermediate)의 원자-구조에 의해서 결정된다. 따라서 원자들의 작은 크기 (~10<sup>-10</sup> m)와 원자들이 재결합하는 시간 (~10<sup>-13</sup> s)을 고려한다면 이러한 중간체의 구조를 직접적으로 관찰하는 것은 실험적으로 매우 어렵지만 매우 중요한 연구 분야이다.

레이저의 발달과 함께 등장한 시간분해 레이저 분광법(time-resolved laser spectroscopy)은 극초단의 시간 분해능 (<100 fs)을 가지고 많은 화학 반응에서 일어나는 중간체를 관찰하고 반응 메커니즘을 규명하는데 많은 정보를 주었다. 하지만 분광법 자체는 분자의 에너지 준위 사이의 전이 현상에 기초한 것이므로, 에너지 준위에 대한 사전 정보가 없거나 매우 복잡한 경우엔, 분광법을 이용한 연구에서 직접적이고 통합적인 3차원적 구조 정보를 끌어내는 것은 무리가 있다. "보는 것이 믿는 것이다"라는 옛 격언처럼 화학에서 실시간으로 변하는 분자의 구조를 직접적으로 연구하는 것은 매우 중요하다고 할 수 있다. 이런 관점에서 지난 몇 년 동안 비약적으로 발전해 온, 하지만 아직은 그 개발 초기인 시간 분해 회절법(time-resolved diffraction)은 전 세계적으로 많은 주목을 받고 있다. [그림 1]은 실시간 회절 기술의 개요를 나타낸다. 연구하고자 하는 분자 시스템에 외부로부터 열이나 레이저 같

은 시작 신호로 화학 반응을 시작시키면 그 안에서는 여러 가지 구조 변화가 나타난다. 이 변화의 시간대는 빠르게는 펨토초에서 느린 것은 피코초, 나노초, 더 나아가서 밀리초가 걸리는데 이러한 구조 변화를 직접적으로 알아내기 위해서 회절에 사용할 수 있는 펄스, 즉 극초단 전자 및 X-선 펄스를 반응이 일어나고 있는 분자시스템에 보내어 그 회절 신호를 잡아내게 된다. 반응을 시킬 때 사용한 레이저 펄스와 이 회절 펄스 사이의 시간차를 바꾸어 주면서 회절 신호를 얻게 되면 그 회절 신호는 각 시점에서의 구조에 대한 직접적인 정보를 담게 되는 것이다. 전자나 X-선 펄스는 분자 내 모든 원자에 의해 회절 현상을 나타내기 때문에 이 기술을 사용하면 화학 반응에서 변하는 3차원적인 구조 정보를 기록할 수 있다.

본 연구실은 지난 2003년 이후로 국내에서는 처음으로 여러 가지 상태에서 일어나는 다양한 화학 반응의 실시간 구조 동역학을 시간 분해 회절법을 이용, 규명하는 연구를 하고 있다. 또한 시간 분해 회절법에서 그 시간 분해능을 결정하는 회절에 사용되는 전자 및 X-선 펄스의 시간 폭을 줄여서 그 기술 발전에도 힘쓰고 있다.



[그림 1] 시간 분해 회절법의 개요

## 2. 실험실 연구 분야 및 연구 성과

본 연구실은 회절에 사용될 수 있는 극초단 펄스인 X-선 펄스와 전자 펄스 모듈을 이용하여 연구를 수행 하고 있다. 각

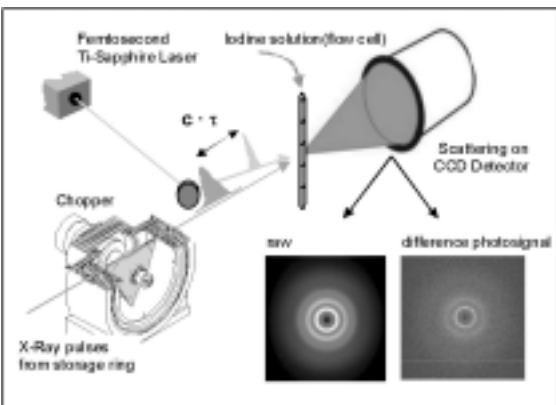
펄스의 특성에 따라 시간 분해 회절법이 적용될 수 있는 분자 시스템에 많은 차이가 있다. 전자는 X-선 보다 10<sup>6</sup>배 이상 강한 산란효과를 보이기 때문에 기체 상태, 얇은 막, 그리고 표면 등과 같은 대상에 잘 적용될 수 있다. 반면 X-선은 강한 침투 효과로 인하여 액체 상태나 결정 등과 같은 두꺼운 분자 시스템에 주로 이용될 수 있다.

**2.1 시간분해 X-선 회절법**

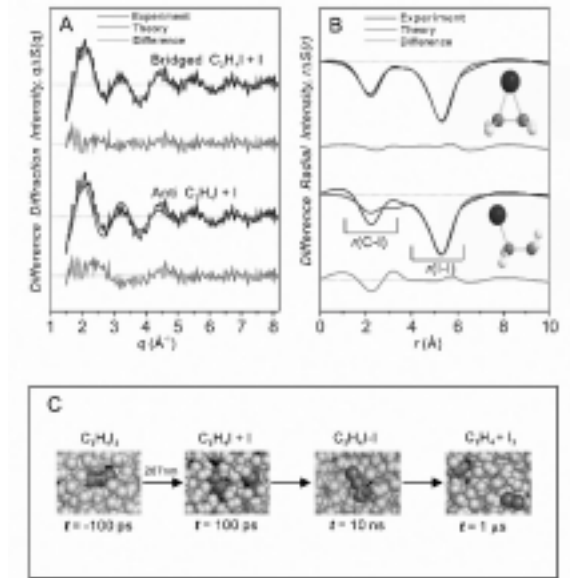
현재까지 개발된 짧은 시간 폭을 가진 X-선을 만들어 내는 방법에는 제 3세대 입자가속기로부터 생성되는 X-선, 레이저 플라즈마 효과를 이용하는 방법, 그리고 원자나 분자에서는 고차조화파를 이용한 X-선 등이 있다. 이러한 방법 중에 회절에 적당한 특성과 충분한 광자 세기 및 에너지를 가진 X-선을 얻는 방법에는 제 3세대 입자가속기를 이용하는 방법이 유일하다. 현재 국내에는 아직 시간분해 X-선 회절을 할 수 있는 모든 장치들이 갖추어진 빔라인이 없어서 본 연구실에서 수행하는 대부분의 시간분해 X-선 회절 실험 데이터는 프랑스 그레노블의 ESRF와, 미국 아르고의 APS 등에 있는 시간 분해 빔라인에서 측정하고 있다.

**2.1.1 용액 상태의 시간 분해 X-선 회절법**

용액 중의 원자의 움직임을 실시간으로 관찰하거나 중간체에 대한 직접적인 구조 정보를 얻는 것은 지금까지 거의 불가능하게 여겨왔다. 용액상에서는 우리가 관심 있는 용질 분자 외에 수많은 용매 분자가 존재하여 용질-용매 복합체를 형성하게 된다. [그림2]는 용액 상태의 구조 동역학을 연구하는 데 사용되는 시간 분해 X-선 회절법의 실험 장치의 개요를 나타낸다.

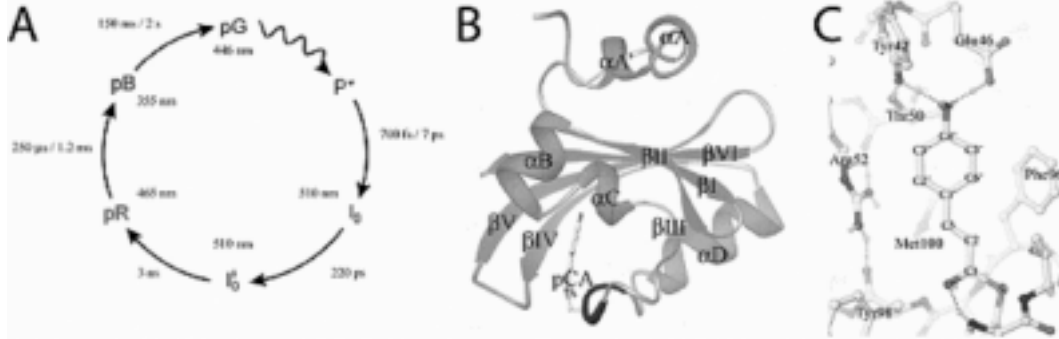


[그림 2] 시간 분해 액체 X-선 회절법의 실험 장치



[그림 3] C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 분자의 중간체와 구조 동역학을 나타내는 모식도

앞서 기술된 것처럼 들뜸-탐색(pump-probe) 방법을 사용하는데, 펄스 레이저를 이용, 용액의 용질 입자에 원하는 반응을 시작시키고 입자가속기의 특수 작동 모드에서 얻어지는 X-선 펄스를 일정한 시간 뒤에 조사 시켜 원하는 회절 패턴을 얻는다. 레이저를 조사 시키지 않는 회절 패턴을 특정한 시간에서의 회절 패턴에 빼게 되면 그 시간에서의 구조 정보를 직접적으로 담고 있는 회절 패턴을 얻을 수 있다. 이 실험은 매우 높은 정밀도와 정확성을 요구하는데 우리가 원하는 용질 분자의 회절 신호가 수 많은 용매 분자에 의한 회절 신호에 묻혀버리기 때문이다. 본 연구실은 이 방법을 1,2-diiodoethane(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>I<sub>2</sub>) 분자의 광분해에 적용하였다. 얻어진 회절 신호 차이를 분석하기 위해서는 용질 분자의 구조 변화에 의한 회절 신호, 용질-용매 분자의 상호 작용 변화에 의한 회절 신호, 그리고 마지막으로 용질 분자의 여기로 인한 에너지 전달에 의한 용매 분자 자체의 열적 팽창에 의한 회절 신호를 모두 고려하여야 한다. 이를 위해서 DFT(Density-Functional Theory) 계산과 Molecular Dynamic(MD) 시뮬레이션을 수행하고 용질 분자의 구조 변화로부터 얻어지는 에너지를 용매의 hydrodynamics와 연관시켜 분석하였다. 그 결과 유기 화학에서 입체 반응 선택성을 설명하는데 매우 중요한 역할을 하는 삼원자 링 구조의 중간체를 직접적으로 관찰하는데 처음으로 성공하였으며 일련의 일어나는 반응에 대한 구조를 정확하게 관찰하였다 (그림3). 본 결과는 용



[그림 4] PYP의 광순환 과정(A)과 단백질의 구조(B) 그리고 발색단의 구조(C)

액 상태에서 일어나는 구조 변화를 직접적으로 관찰한 세계 최초의 결과로서 Science지 온라인 특보판에 게재되었고 또한 인쇄판에서는 금주의 논문과 하이라이트로 소개되었다. 현재 본 연구실에서 이 기술의 확장성과 범용성을 넓히기 위해서 여러 가지 종류의 분자 시스템에 대한 연구를 수행하고 있다.

2.1.2 시간분해 라우에 회절법

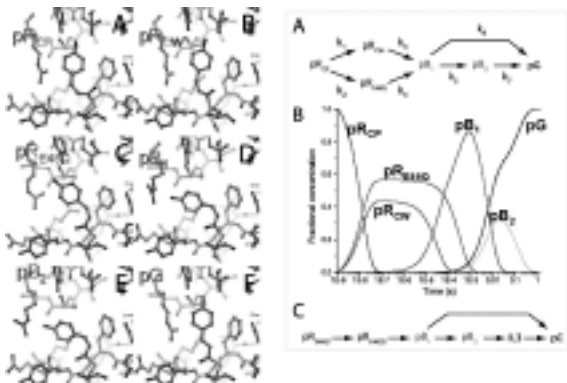
본 연구실에서는 용액 상태에서 일어나는 작은 분자들의 반응 메커니즘 연구 뿐 아니라 단백질의 작용과정에서 일어나는 직접적이고 실시간적인 구조정보를 얻기 위해 시간분해 라우에 X-선 결정학을 이용하여 연구를 수행하고 있다. 이 방법은 실험장치나 방법은 액체 상태의 시간 분해 X-선 회절법과 거의 같지만 액체 시료 대신에 좋은 회절 패턴을 보이는 단백질 단결정을 쓴다는 것이 다른 점이다. 대표적인 연구의 예로서 광흡수 단백질인 Photoactive Yellow Protein(PYP)를 들 수 있다. PYP는 H. Halophila라는 박테리아의 주광성

(phototaxis) 현상에 관여하는 전체적인 신호 전달의 시작점으로 알려져 있다. PYP는 푸른색 영역의 빛을 흡수하여 [그림 4]에 나타낸 광순환 과정을 거치게 되는데 처음 과정은 발색단 분자에 존재하는 이중결합의 cis-trans isomerization이 일어나고 마지막으로 단백질의 N-terminal 부근에 전자밀도의 변화와 함께 신호전달이 일어나게 된다. 본 연구실에서는 1나노초에서 1초 사이의 시간영역내에서 47개의 시간 포인트들에 대해 시간 분해 라우에 회절법을 이용하여 PYP에서 일어나는 신호전달 메커니즘을 밝혀내고 아직까지 밝혀지지 않은 발색단의 중간체 구조들과 그 동역학을 SVD(singular value decomposition) 방법을 이용하여 최초로 제안하였다.

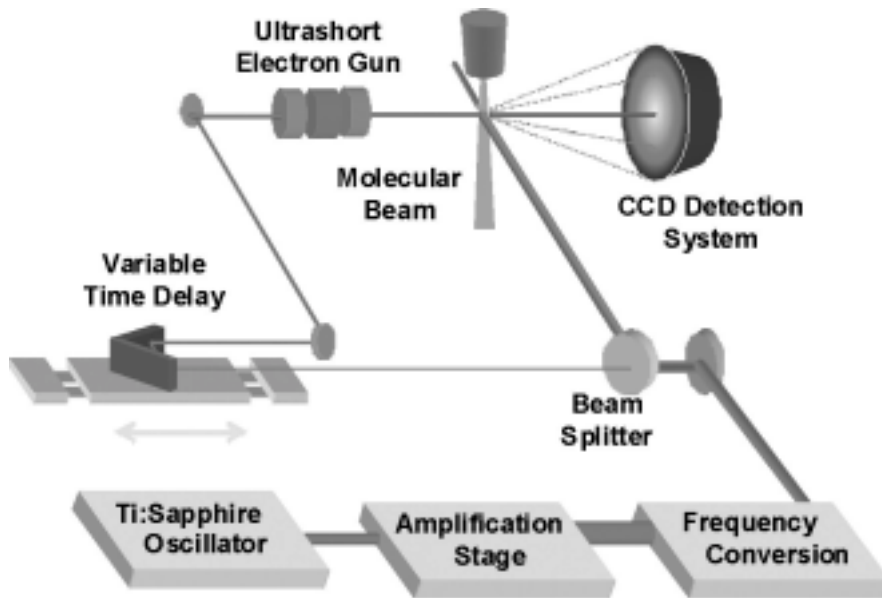
현재 본 연구실에서는 PYP 외에도 다른 광순환 메커니즘을 가지는 광반응 단백질에 대한 연구가 진행 중이며 좋은 결과를 낼 것이라 예상된다.

2.1.3. 용액 중의 단백질 분자의 구조 동역학 연구

위에서 언급한 시간 분해 라우에 결정학은 좋은 회절 패턴을 만들어 내기 위해서 단백질 단결정이 필요하다는 단점이 있다. 또한 실제 단백질이 작용하고 반응하는 용액 내에서는 구조변화를 정확히 묘사할 수 있는가 하는 의문이 남는다. 따라서 용액중의 단백질 구조 분석과 변화를 관찰할 수 있는 방법이 요구되는데 이러한 목적에 대해 소각 X-선 산란법 (small-angle X-ray scattering)이 주로 사용된다. 그 동안 소각 X-선 산란법을 사용하여 단백질 전체의 모양이나 구조에 대한 정보는 얻을 수 있었지만 들뜸-탐색의 시간분해 X-선 산란법을 사용한 용액상태에서의 단백질에 대한 연구가 거의 이루어지지 않았기 때문에 연구 결과가 거의 전무한 상태이다.



[그림 5] PYP의 광순환 과정에서 생성되는 발색단의 중간체 구조 및 그 메커니즘



[그림 6] 시간 분해 전자 회절법의 실험장치 개략도

이에 현재 본 연구실에서는 시간분해 소각 및 대각 X-선 산란법을 이용하여 용액중의 단백질 분자의 구조동역학 연구를 수행 중에 있고 좋은 데이터를 얻고 있다. 최근에는 헤모글로빈 단백질의 4차원적 구조변화를 실시간으로 찍어내는 실험을 수행하였고 현재 분석 중에 있다.

## 2.2 시간 분해 전자 회절법

시간 분해 전자 회절법은 회절 펄스로 전자를 사용하는데 이에 대한 개략적인 실험장치를 [그림 6]에 나타내었다. 현재 실시간 전자 회절 기술에서 가장 많이 쓰이는 펨토초 광원 레이저는 안정된 출력을 보이는 증폭된 모드-락 타이타늄 사파이어 레이저이다. 발진된 펨토초 레이저 펄스는 무기물질 비선형 광학결정에 의해 가시광선 또는 자외선 영역대로 파장이 가변되고 둘로 갈라진다. 하나는 시료에 조사되어 원하는 분자 시스템에 반응을 시작시키고 다른 하나는 일정한 시간 뒤에 전자총 내의 광음극관에 조사되어 짧은 시간 폭을 가지는 전자펄스를 생성시킨다. 생성된 전자펄스는 DC가속 전압과 마그네틱 렌즈에 의해 가속되고 집진 되고, 반응이 시작된 후 일정한 시간 간격 후에 시료에 조사되어 회절패턴을 형성하고 CCD 카메라와 같은 검출기에 영상으로 저장된다. 따라서 시작 레이저 펄스와 전자 펄스 사이의 시간차이를 변화시켜 가며 영상을 얻으면 원하는 분자 시스템의 시간 분해 정보를 얻을

수 있다. 시간 분해 전자 회절 장치는 최근 십여년 동안 안정성 감도와 시간 및 공간 분해능이 크게 향상되어 현재는 약 수 피코초의 시간분해능과 약 0.1Å의 공간분해능을 가지고 기체 상태에서 일어나는 여러 종류의 반응들의 시간에 따른 구조변화를 관찰할 수 있다. 현재 본 연구실에서는 기체 및 박막 상태의 구조동역학 연구가 가능한 60 keV의 가속 전압을 이용한 실시간 전자 회절 기술을 확립하여 현재 그 실험 장치를 구현 중에 있다.

## 3. 연구기기 및 기타 실험 방법들

앞서 설명한 바와 같이 본 연구실에서 수행하고 있는 연구들은 주로 제 3세대 입자가속의 특수한 모드에서 발생하는 극초단 X-선 펄스를 회절 펄스로 사용하고 있다. 그렇기 때문에 대부분의 실험은 미국의 아르곤에 있는 APS(Advanced Photon Source) 또는 프랑스 그레노블에 위치하고 있는 ESRF(European Synchrotron Radiation Facility) 에서 실험을 진행하고 있다. 또한 현재 본 연구실에는 단백질 합성 및 분석 장치들을 갖추고 있으며, 증폭된 Ti:Sapphire 펨토초 레이저를 포함한 자체로 제작된 극초단 전자 회절 장치를 제작 중에 있다.

현재 실험실에서 보유하고 있는 핵심 기술은 엑스선 펄스와 전자펄스를 사용한 시간분해 회절법이지만 분자구조동역학 연구를

위해 Time-Resolved EXAFS 와 Time-Resolved NMR과 같은 기타의 다른 기술 개발에도 힘을 쏟고 있다. 이 중 가장 대표적인 것은 Time-Resolved EXAFS 이다. EXAFS는 특정 엑스선을 흡수하는 원자들 주위의 국부적인 환경을 제공해 주는 유용한 방법으로 재료 물성 측정과 구조 연구에 많이 사용되는 방법이다. 이 현상은 회절과는 달리 엑스선의 흡수에 기인하지만 흡수 후에 일어나는 주변 원자들과의 상호작용은 회절과 아주 흡사하고 제공하는 신호도 구조적인 정보를 직접 담고 있다. 이 방법을 들뜸-탐색 모드로 적용하면 시간분해가 가능한데 그 시간 분해능이 계속 발전해 와서 최근에는 수백 피코초대가 실현 되었다. 하지만 아직까지는 그 수준이 Proof-of-concept 정도에 머물고 있고 더욱더 많은 시스템에의 적용이 기대된다.


#### 4. 연구 결과 및 전망

다양한 화학반응에서 생성되는 중간체에 대한 구조 동역학 연구는 실험장비 및 실험조건의 제약성으로 인해 실험이 까다롭고 결과를 해석하는데 있어서 복잡함으로 인해 심층적인 연구를 수행하고 있는 연구실은 세계적으로도 소수의 그룹에 불과하다. 특히 국내에서는 본 연구실 이외에는 거의 같은 분야의 연구가 없는 실정이다. 아직까지 연구실이 생성된 이래로 시간이 얼마 되지 않아서 그렇게 많은 연구실적은 없으나 최근에 PNAS 및 Science에 게재된 논문들은 하나 하나가 모두 획기적인 결과를 담고 있는 바 본 연구실의 연구결과의 파급효과는 세계적으로도 크게 기대해 볼 만 하다. 특히 제 4세대 광원으로 꼽히는 X-선 자유전자레이저(XFEL)가 완성되면 지금보다 1000배 정도 더 좋은 시간분해능으로 지금까지는 볼 수 없었던 많은 새로운 현상들을 관측할 수 있을 것으로 기대된다. 본 연구실에서 최근 2년간 발표한 대표 논문은 다음과 같다.

##### 논문 현황

- J. Phys. Chem. A*, in press.
- Science*, 2005, 309, 1223-1227.
- Proc. Nat. Acad. Sci.*, 2005, 102, 7145-7150.
- Bull. Korean Chem. Soc.*, 2004, 25, 1676-1680.
- Opt. Sci. Tech.*, 2004, 8, 10-17.
- Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2004, 101, 4799-4804.
- Acta Cryst. D*, 2004, 60, 860-871.

#### 5. 연구실 구성

본 연구실은 이효철 교수의 지도아래 박사후 연구원 2명과 박사과정 학생 2명, 석사과정 학생 3명 그리고 학부학생 3명을 포함하여 총 10명의 인원이 연구를 수행하고 있다. 



- 연구책임자: 이효철
- 박사후 연구원: 김태규, Krishna
- 박사과정 학생: 김장배, 안세나
- 석사과정 학생: 정양욱, 김종한, 이재혁
- 홈페이지: <http://time.kaist.ac.kr>



이 효 철

한국과학기술원 화학과 조교수  
E-mail: [hyotcher.lee@kaist.ac.kr](mailto:hyotcher.lee@kaist.ac.kr)

##### ● 학 력

- 1990-1994 KAIST 화학과 학사
- 1994-2001 California Institute of Technology 화학과 박사

##### ● 경 력

- 2001 California Institute of Technology 박사후 연구원
- 2002-2003 University of Chicago 박사후 연구원
- 2003-현재 KAIST 화학과 조교수

##### ● 수 상

- 2002-2003 미국 대면러턴 암재단 펠로우십