# 차세대 방사광가속기와 응용

# 차세대 방사광 과학

#### 개요

인류의 문화와 과학은 끊임없이 각 개인이나 국가 간의 전 쟁이나 교류를 통하여 발전과 퇴보를 거듭하면서 진화해 오 고 있다. 문화와 과학은 수레의 양쪽 바퀴와 같이 서로가 짝 이 되어 굴러가고 있다. 산업혁명 이후 과학 발전의 속도는 그 이전 어느 시대에 이루어 왔던 것보다 빠르게 진행되고 있고 현대에 와서는 그 발전의 속도가 워낙 빨라서 지금의 새로운 것이 하루 이틀이 지나면 과거의 것이 되고 있는 실 정이다. 이렇게 과학이 발전하더라도 아직까지 인류가 자연을

#### 저자약력

이흥수 박사는 1989년 연세대학교에서 뫼스바우어 분광학으로 황 스피넬 구조에서의 초교환상호작용에 대한 연구로 물리학 박사학위를 취득한 후 2001년부터 포항가속기연구소에서 선형가속기 마이크로웨이브 도파관 및 가속관 시스템을 맡아 건설을 완료 운영하였고 1998년부터는 빔라인의 건 설 및 운영에 참여하여 건설 및 운영책임자로서 고분자 결정학 빔라인 3 기를 건설 완료하였고 현재는 고분자 결정학 위글러 빔라인을 운영 중에 있다. (lhs@postech.ac.kr)

구태영 박사는 POSTECH에서 물리학 박사학위(1998)를 받고, 미국의 Lucent Technologies, Bell Labs에서 박사 후 과정과 Rutgers University 에서 연구원을 거쳐, 2002년 11월부터 포항가속기연구소에서 11A 공명X-선 빔라인 매니저로 근무하고 있고, 2007년부터는 포항공대 물리학과 겸 직교수로 재직 중이다. (ktypmk@postech.ac.kr)

임재홍 박사는 POSTECH에서 구조생물학으로 박사학위를 취득한 후 (2008) 2009년부터 포항가속기연구소에서 선임연구원으로 재직 중이며, X-선 현미경 빔라인을 맡고 있다. (limjh@postech.ac.kr)

김태규 교수는 KAIST에서 광분해동역학 연구로 박사학위를 취득한 후 (2004) KAIST에서 박사후 연구원을 거쳐 현재 부산대학교 화학과에서 재 직 중이다. 현재 극초단 X-선 분광법을 이용한 반응동역학 연구를 하고 있다. (tkkim@pusan.ac.kr)

박재현 박사는 아이오와 주립대학교에서 펨토초 레이저를 이용한 광생물 광물리 연구로 물리화학 박사학위를 취득한 후(2001), 펜실베니아대학교 연구원(2001-2005)을 거쳐 2005년부터 포항가속기연구소에서 선임연구원 으로 재직 중이며 fs-THz 분광 빔라인 건설을 맡고 있다. (jaehunpa@postech.ac.kr)

이효철 교수는 극초단 회절을 이용한 구조동역학 연구로 캘리포니아 공대 에서 박사학위를 취득하였다(2001). 미국 시카고 대학 분자생물학 및 생화 학과에서 박사후 연구원 활동을 거친 후 현재 KAIST 화학과에 재직 중이 다. 현재 시분해 회절 창의 연구단의 단장을 맡고 있으며, 극초단 전자 및 X-선 회절법을 이용한 구조동역학 연구를 수행하고 있다. (hyotcherl.ihee@kaist.ac.kr) 이흥수·구태영·임재홍·김태규·박재헌·이효철

이해하기에는 모르는 것이 너무도 많은 것이 현실이다. 이 소 개의 글에서는 현재 우리가 하는 연구는 무엇이고, 앞으로 왜 4세대 자유전자레이저가 필요한지 및 이것으로 무엇을 할 수 있는지 간단히 소개하고자 한다.

자연의 변화나 현상을 연구하는 것은 이런 변화의 원리와 본질을 더 잘 이해하고 이용하여 인류의 삶을 보다 윤택하게 하고 사람들의 지적 호기심을 만족시키며 인류의 생존을 위 해서일 것이다. 우리가 알고자 하는 연구 대상은 아마도 인류 를 포함한 하늘과 땅에 존재하는 모든 것이 연구의 대상일 것이다. 그러면 인류는 무엇을 통하여 그런 변화나 현상을 이 해해 왔을까? 그것은 인간의 오감인 것이다. 이 오감을 통하 여 인간은 세상의 모든 현상을 이해하게 된다. 사람은 오감 중 특히 눈을 통하여 대부분의 변화나 현상을 이해하고 있다. 이때 빛은 사람의 눈에 정보를 전달하는 매개체로서 우리가 생활하고 주위로부터의 현상을 이해하는데 가장 중요한 하나 의 필수 요소라 할 수 있다. 뿐만 아니라 빛은 거의 모든 생 명체에게는 필수적인 것으로 현재 빛 없이 살아 갈 수 있는 생명체는 거의 없다.

과학의 발전은 인간의 호기심에서 비롯되는데 이 호기심 때문에 인간은 잘 모르는 어떤 것들에 대하여 알고 싶어 하 고 그 내부가 어떻게 생겼는지 궁금하여 그것을 알기 위해 여러 가지 방법을 동원하게 된다. 내부를 알기 위해서는 흔들 어서 소리를 들어 보거나 아니면 쪼개어서 눈으로 직접 확인 하는 방법이 있다. 사람들은 정보의 축적과 인지가 발달함에 따라 자연 속에서 X-선이나 감마선을 발견하였고 이것을 이 용하여 물건을 깨지 않고 내부를 들여다 볼 수 있는 방법을 알게 되었다. 또한 사람들은 실험실에서 사용하는 X-선 발생 장치를 개발하여 물질의 내부를 들여다보는 데 활용하게 되 었고, 더 나아가 오늘날의 방사광 가속기를 만들게 되었다.

우선 가속기에 대한 이야기부터 시작하면 초창기의 가속기 는 물질 즉 분자나 원자핵을 깨뜨리는 것이 목적이었다. 이렇 게 함으로써 그 물질이 이루고 있는 근본적인 입자를 알아낼 수 있기 때문이다. 그런데 이런 입자를 가속시키기 위해서는 가속시키고자 하는 입자가 전하를 띠고 있어야 전기장을 이 용하여 운동 에너지를 높일 수 있다. 그렇지만 이렇게 하전된 입자가 가속이 될 때에는 반드시 전자파가 발생하기 때문에

이 전자파는 이런 가속기에서는 하나의 방해 요소이자 골칫 거리였다. 그러나 과학자들은 여기서 발생하는 전자파, 방사 광의 유용함을 발견하고 이것을 활용하기 시작하였다. 이것이 발전하여 이런 빛을 만들기 위한 가속기를 만들게 되었고 이 것이 2세대 방사광가속기였다. 연구자들은 물질의 미소한 현 상을 관측하기 위해서 더 밝은 빛을 필요로 하게 되었고 이 런 요구에 따라 더 밝고 강한 빛을 낼 수 있는 삽입장치가 들어갈 수 있는 3세대 방사광가속기가 탄생하게 되었다. 현재 전 세계에 널리 건설되어 활용되고 있는 대부분의 방사광가 속기가 바로 3세대인 것이다.

그러면 가속기에서 발생하는 빛으로 어떤 연구가 이루어지 고 있을까? 이것은 물리, 화학, 생명과학, 재료과학, 기계, 반 도체, 의학 등에 다양하게 활용되고 있다. 또한 이 빛은 밝기 가 태양 표면에서의 빛의 밝기의 10억 배 정도의 밝기를 내 고 있기 때문에 연구자들은 지금까지 실험실에서 관측하지 못 했던 수많은 현상들을 새롭게 관측하여 보다 정확하게 현상을 이해할 수 있게 되었다. 하지만 이렇게 밝은 빛으로 현재 우 리가 볼 수 있는 대부분의 현상은 정적인 현상 즉 시간적으로 평균적인 현상이 대부분이다. 현재 3세대 방사광과 레이저를 이용하면 나노초에서 약 백 피코초 정도의 빠른 시간에 일어 나는 동적인 현상의 관측이 가능하다. 그러나 실제 자연에서 일어나는 미시 원자나 분자세계의 현상은 수십 피코초에서 수 펨토초 사이에서 일어나는 경우가 많이 있다. 전 세계의 수많 은 연구자들이 현재 실시간 구조 동역학 관찰을 위해 노력하 고 있지만, 펨토초 가시광이나 적외선을 이용한 간접적인 구 조의 변화 동력학이나 계산을 통한 이해 수준에 머무르고 있 어 아직까지는 미지의 세계로 존재하고 있는 것이다.

이런 현상에 대한 올바른 이해를 위해서 해답으로 제시된 것이 4세대 자유전자레이저이다. 이 4세대 자유전자레이저의 빛의 밝기는 지금의 3세대 방사광 가속기에 비하여 10억 배 더 밝고, 빛의 펄스폭이 100펨토초 이하가 된다. 원자나 분자 수준의 아주 작은 미시 세계의 아주 빠른 현상을 보기 위해서 는 이런 정도의 광원을 필요로 한다. 4세대 광원의 또 다른 특징 중 하나는 결맞음 빛이라는 것이다. 이것은 나노크기의 물질과학연구에 새로운 길을 열어 줄 것이고 지금까지 우리가 볼 수 없었던 살아있는 세포 내부를 자세히 들여다 볼 수 있 는 길을 열어 놓게 된다. 이로 인해 인류는 생명현상을 이해 하고 자연의 본질을 아는 데 한 발 더 다가가게 될 것이다.

아래에서는 이상에서 소개된 내용과 같이 4세대 광원으로 우리가 할 수 있는 연구를 크게 세 분야로 나누어 물질과학, 짧은 시간에 변하는 동적인 현상을 관측하는 동역학과 생명 과학의 바이오 이미징에 대한 응용연구에 대하여 기술한다.

지수 바이도 이미경에 대한 중중한 1에 대하여 기울한다. [이흥수]







그림 1. 처음으로 위상복원 알고리듬을 이용해서 결맞는 X-선 회절패턴 (위쪽)으로부터 구축된 비결정성 실공간 이미지(가운데)와 전자현미경으 로 관측한 이미지 (아래쪽), Jianwei Miao *et al.*, Nature **400**, 342 (1999).

#### 결맞는 X-선을 이용한 물질과학 연구

현대물질과학의 풀리지 않은 다양한 문제들을 이해하고 해 결하기 위해서 우리는 빛을 사용해 왔다. 특히 최첨단의 물질 과학연구에서는 빛의 결맞음 특성에 초점을 맞추고 광범위한 물질과학 문제 해결에 결맞음 특성을 적용해서 새로운 물질 이해의 강력한 도구로 활용하려고 노력해왔다. 방사광 X-선 광원은 20세기 과학기술의 가장 중요한 성과 가운데 하나로, 이로써 원자, 분자, 그리고 응집물질과 생체물질 과학의 구조 연구를 위한 새로운 길을 열어놓았다. 하지만 여기에 머무르 지 않고 더 나아가서 기존의 제3세대 방사광원보다 무려 10 억 배나 더 밝은 차세대방사광원인 X-선 자유전자레이저를 개발해서 새로운 미지의 세계에로의 과학연구로 21세기의 과



그림 2. (위쪽) 결맞는 X-선 회절실험의 개략도와 (아래쪽) Si wafer 위에 증착된 Pb 나노 결정체 내부의 변형장을 보여주는 3차원 위상 이미지, M. A. Pfeifer *et al.*, Nature **442**, 63 (2006).

학기술을 주도해 나가려는 시도가 현재 많은 연구자들에 의 해 진행되고 있다.

결맞음 특성은 X-선 자유전자례이저 광원의 가장 두드러진 특성이라 할 수 있다. 결맞는 X-선은 잘 정의된 X-선 파동의 위상정보로 인해 간섭현상을 일으킬 수 있는 X-선 광원을 말 한다. 이는 서로의 위상이 어떠한 규칙적인 관계도 이루지 못 하고 불규칙하게 더해진 일반 광원으로부터 나오는 X-선과는 달리, 전파되는 결맞는 X-선 광원 상에 물질이 놓여졌을 때 발생되는 위상변화를 관측할 수 있게 되어 이전에는 불가능 했던 물질과학의 나노구조 및 동역학적인 변화를 다양한 각 도에서 쉽게 연구할 수 있게 해 준다. 따라서 X-선의 결맞음 특성은 물질의 구조분석 연구에 새로운 전환점을 마련해 줄 것으로 기대한다. 선형가속기 기술에 기반을 둔 차세대광원으 로부터 나오는 X-선은 저장링에서 발생되는 제3세대 방사광 원과는 달리 발생되는 광원이 전파방향과 수직한 방향에서는 원리적으로 거의 완벽한 결맞음 특성을 보여주게 된다. 일반 적인 제3세대 방사광가속기의 언듈레이터 광원에서 발생되는 X-선의 경우 대략 빔 진행방향과 수직한 횡방향의 결맞음 특 성이 유지되는 크기가 수평방향으로는 10 µm, 수직방향으로 는 100 µm 정도이며, 빔 진행방향으로는 대략 1 µm에 달한 다. 이에 비해 차세대 광원의 경우 대개 수 mm<sup>2</sup>에 달하는 빔 단면적 전 영역에 걸쳐 결맞음 특성이 유지되고 있다. 이 는 발생되는 광원의 상상을 초월하는 세기와 결합되었을 때 이전에는 한번도 해 본적이 없는 새로운 실험과학의 영역으 로 들어갈 수 있는 꿈의 광원이 되는 것이다. 특히 광원발생 특성상 나타나는 펨토초 영역의 펄스형태의 X-선 광원은 화 학결합과 같은 매우 짧은 시간 동안에 일어나는 전자 동역학 적 현상을 실시간으로 살펴볼 수 있는 가능성도 아울러 제시 하고 있다.

기존의 제3세대 방사광원에서 나오는 X-선의 여러 가지 제 약조건에도 불구하고 X-선의 결맞음 특성을 이용해서 다양한 가능성을 보여주는 여러 실험들이 활발하게 진행되어 왔다. 여기에는 일반적으로 시간에 따른 변화 여부에 따라서 정적 인 혹은 동적인 특성 연구 분야로 나뉘어져서 연구가 진행되 어 왔다.

시간에 따른 변화가 없는 정적인 경우에는 결맞는 X-선이 마이크로 구조체와 같은 작은 크기의 물질의 실공간 이미지 를 직접 관찰하기 위한 일종의 현미경법으로 주로 사용되어 왔다(Coherent X-ray Diffraction Microscopy). 현재 다양한 종류의 새롭게 향상된 현미경 기법들이 계속 연구되어 제안 되고 있다. 시료의 표면만을 관찰하는 기존의 여러 다른 종류 의 현미경법과는 달리 X-선의 높은 투과특성 때문에 물질내 부의 미세구조까지 확인해 낼 수 있는 3차원 현미경법이라는 점에서 확연히 구분된다고 하겠다. 그리고 X-선과 물질과의 약한 상호작용으로 인해 전자현미경에 비해 다중산란의 효과 와 시료자체에 주는 손상도 매우 적다는 장점도 가지고 있다. 또한 렌즈 없이 위상복구 알고리듬을 이용해서 회절패턴으로 부터 직접 실공간 이미지를 얻어내고 있기 때문에 극히 단순 한 광학장치의 배열 또한 결맞는 X-선 회절 현미경법의 또 다른 장점이라 볼 수 있다. 결맞는 X-선을 이용한 이미징 기 법은 대개 두 가지로 구분되는데, 그 첫 번째가 결정화된 시 료로부터 산란된 결맞는 X-선에 의한 Bragg 회절피크를 살펴 서 조그마한 단결정의 모양, 내부 구조, 응력변형과 같은 정 보를 3차원구조로 살펴보는 것이다. 기존의 제3세대 광원으 로 얻은 해상도는 대략 40 nm 정도인데 차세대 광원을 이용 하게 되면 해상도를 한층 더 높일 수 있을 것이다. 두 번째로 비결정화된 시료 혹은 극단적인 예로 단분자 시료에서 나오 는 결맞는 X-선 산란패턴 연구를 들 수 있는데, 이 경우 결정

SPECIAL EDITION



그림 3. 무질서하게 구성된 입자계로부터 나오는 X-선 회절패턴. (a) 결 어긋난 X-선에 의한 산란은 연속적인 회절링을 보여주고 (b) 결맞는 X-선에 의한 산란은 스펙클 패턴을 보여주고 있다. F. van der Veen and F. Pfeiffer, J. Phys. Condens. Matter **16**, 5003 (2004).

성의 부재로 인해 전방산란 부분에 초점을 맞추어서 실험을 하게 된다. 전방산란단면적은 전적으로 시료의 전자밀도분포 에 의해 결정된다. 따라서 시료를 여러 방향으로 회전시켜 얻 은 여러 장의 2차원 회절패턴으로부터 시료의 3차원 전자밀 도 지도, 즉 실공간 구조를 밝혀낼 수 있는 것이다. 이 방법 을 통해서 현재 얻어지는 해상도는 대략 50 nm 정도이다. 특히 이 방법의 경우는 차세대광원을 활용할 경우에, 단일 세 포나 혹은 단일 단백질분자의 구조를 푸는 연구에 직접 활용 할 수 있어 생체물질연구에 획기적인 발전을 야기시키게 될 것으로 기대된다.

시간에 따른 변화가 있는 동적인 시료의 경우, 특히 시료가 내부적으로 특성 시간대를 가지고 움직이고 있는 경우에는 결맞는 X-선이 시료에 조사되게 되면 시시각각 변화하는 간 섭에 기인하는 스펙클 패턴을 관측할 수 있게 되고, 특정 스 펙클의 시간에 따른 거동을 조사하게 되면 물질내부의 동역 학적 정보를 도출할 수 있게 되어, 시간변수를 직접 이용하는 X-선 광상관분광법으로 이용할 수 있게 된다(X-ray Photon Correlation Spectroscopy). 특히 결맞는 X-선은 나노스케일 에서의 동역학을 연구하기 위한 최적의 도구로 알려져 있다. 일반적으로 동역학이라 함은 시간에 따른 변화를 살피는 것 인데, 대개 빠른 동역학(t ≪ 1 µsec)의 경우에는 직접 시간의 함수로 실험을 하는 것이 매우 까다로워서 역관계에 있는 에 너지 영역에서, 다시 말해서 비탄성 실험기법을 통해서 연구 되어진다. 하지만 전례 없이 높은 휘도와 결맞음 특성, 그리 고 펨토초의 펄스형태의 차세대광원은 매우 광범위한 현상들 을 시간의 함수로 직접 동역학을 연구할 수 있게끔 해준다. X-선 광상관분광법은 결맞는 빛이 무질서계에 의해 산란되어 졌을 때 형성되는 스펙클 패턴의 시간에 따른 변화를 살펴보



특 집

그림 4. 다양한 실험법에 의해 다루어지는 시료의 에너지-운동량 영역.



그림 5. X-선 광상관분광법(XPCS)의 개략적인 실험도.<sup>[2]</sup>

는 실험방법이다. 오늘날의 제3세대 방사광원을 이용했을 경 우에는 단지 낮은 진동수 영역(10<sup>-3</sup>-10<sup>6</sup> Hz)의 동역학을 10<sup>-2</sup> - 수십 nm<sup>-1</sup>의 운동량전달 변수영역에서만 주로 연구가 가능 했었다. 중성자를 이용하는 비탄성산란 혹은 스핀에코나 비탄 성 X-선 산란을 통해서도 제3세대광원을 이용하는 광상관분 광법과 유사한 운동량전달영역에서 10<sup>8</sup>-10<sup>14</sup> Hz 영역의 높은 진동수영역에서의 동역학 연구를 해 왔다. 만약 차세대광원을 활용하게 된다면 한층 높은 에너지 영역 혹은 진동수 영역 (10<sup>13</sup> Hz)까지 실험 영역을 확장할 수 있게 될 것이다.

이제 차세대광원의 두드러진 특성을 위에서 제시한 결맞는 X-선을 활용하는 대표적인 연구에 적용했을 경우, 과연 어떠 한 흥미로운 물질과학의 문제해결에 실마리를 줄 수 있는지 몇 가지 대표적인 예를 들어서 살펴보도록 하자.

#### 1. 나노물질연구

물질의 크기가 점차 작아져서 나노 스케일이 되면 물질의 특성이 양자효과를 통해서 크기에 영향을 받게 된다. 이 경우 새로운 특성을 발현하기 위한 한 방법으로 물질의 구조제어 가 한층 중요해지게 되고, 나노 스케일 영역에서의 구조분석 이 반도체, 자성, 광학, 바이오 등과 같은 다양한 분야에서의 차세대 과학기술을 위해서 필수적인 요소가 된다. 설사 실제 응용에서 나노입자의 특성들이 일반적으로 많은 나노입자 무 리에 의해 발현된다고 할지라도, 각각의 단일 구성 나노입자 의 특성연구는 수많은 나노입자들의 거시적인 특성발현을 이 해하고 제어하기 위해서 매우 중요한 일이 될 것이다. 집속된 차세대방사광원을 이용하게 되면 단 한 번의 광 펄스를 100 nm 단일 나노입자에 조사해서 이로부터 나오는 회절패턴으 로 나노입자의 구조를 추정할 수 있게 된다. 물질과학에서 주 로 다루고 있는 금속합금, 반도체, 산화물 세라믹, 나아가서 Clay 물질에 이르기까지 다양한 종류의 나노입자들을 결정성 이 완벽한 단결정뿐만 아니라 결정성이 깨어져 불규칙한 원 자배열을 가진 단일 나노입자의 경우까지도 그 구조연구가 가능해질 것으로 예상된다.

#### 2. 3차원 구조연구

현대물질과학에서 다루는 금속 및 세라믹 시료에 산재해 있는 다양한 크기의 구조, 특히 낟알(Grain) 구조, 어긋나기 (Dislocation), 혹은 다양한 상들이 한데 어우러져서 복잡한 3 차원구조를 이루고 있는 경우는 어디에서나 찾아볼 수 있는 매우 흔한 현상이다. 하지만 이 경우에 나타나는 물성 이해를 위해서 다양한 조건하에서 실시간으로 3차원적 구조분석을 할 수 있는 예를 찾기가 아직까지는 매우 어려운 실정이다. 차세대방사광원은 물질 내에서 낟알이나 어긋나기 구조가 어 떻게 나타나는지, 경계에서 어떠한 일이 벌어지는지, 그리고 어떻게 변형되고 성장하는지, 기저상태가 여러 개의 상으로 축퇴되어 다양한 상들이 공존할 때 외부의 조건과 시간에 따 라서 어떻게 변화되어지는지와 같은 물질과학의 산재되어 있 는 근본 문제해결을 위한 매우 유용한 3차원 구조분석의 도 구로 활용될 수 있을 것이다.

#### 3. 응집물질 동역학연구

펨토초 영역의 펄스형태의 차세대방사광원을 활용하는 결 맞는 X-선 회절이미징 기법이 펌프-프로브 기법과 결합되게 되면 시간에 따른 변화를 감지하기 위한 이전에는 구현되지 못했던 매우 훌륭한 동역학적인 도구가 된다. 이는 결맞는 X-선과 물질과의 상호작용에 따른 변화를 나노초 혹은 피코초



그림 6. 차세대 방사광원을 이용한 단입자 회절패턴으로부터 구축된 실 공간 이미지의 전산모사 예. (a) 200 nm 직경에 접속된 10<sup>12</sup>개의 광자 로 이루어진 단일 X-선 펄스부터 계산된 단일 Cowpea Mosaic Virus 회절 패턴과 (b) 무작위로 선택된 단일입자의 여러 방향으로부터 나온 회절패턴으로부터 구축된 3차원 실공간 이미지. H. N. Chapman, Nature Materials **8**, 299 (2009).

시간 영역대에서 쉽게 살펴볼 수 있게 한다. X-선 회절을 통 해서 물질의 구조를 연구하는 경우 지금까지 펨토초 영역에 서의 강력한 결맞는 X-선 광원으로는 회절실험을 수행한 적 이 없었다. 이 경우 이전에는 무시되어 한 번도 고려해 보지 않았던 물질내의 결맞는 X-선 전파와 이에 따른 열적인 변형 현상 등과 같이 펨토초 회절실험의 해석에 직접적인 영향을 주는 여러 문제들을 심각하게 고려해야 할 것으로 본다. 다른 한편으로 비교적 넓은 영역에 조사되어 X-선을 단순한 프로 브의 수단으로 이용할 경우에는 특히 물질의 표면에서 일어 나는 여러 현상들을 연구하는 데 매우 유용하게 이용할 수 있을 것이다. 예를 들어서 에칭이 진행됨에 따른 표면구조의 변화 관찰이나 고체시료 표면에서 단결정이 어떻게 시간에 따라서 형성되는지, 온도와 같은 외부의 자극에 따라서 결정 체에서 무질서도의 동요가 어떠한 구조로 나타나는지, 또는



그림 7. 펌프-프로브 기법과 결합된 X-선 광상관분광학 실험의 개략 도.<sup>[2]</sup>

자성물질의 자화나 강유전물질의 전기분극이 레이저와 같은 외부의 섭동원을 통해서 순간적으로 교란되어졌을 경우에 이 들 질서인자가 시간에 따라서 어떻게 변화되어지는지와 같은 연구와 관련된 실험이 구체화될 수 있을 것으로 기대한다.

#### 4. 포논 분광학

물질을 구성하는 원자는 열적인 진동을 계속해서 겪고 있 는데, 이들 진동모드의 양자화된 형태가 포논이다. 일반적으 로 포논 분광학은 중성자나 X-선 비탄성산란을 통해서 연구 되어져 왔다. 하지만 차세대방사광원을 활용하게 되면 실시간 동역학 연구가 피코초에서 나노초 시간영역에서 가능해져서 새로운 포논 분광학의 기법으로 자리 잡을 것이다. 또한 전통 적인 비탄성산란 실험을 통해서 얻게 되는 밀도-밀도 상관함 수의 제약조건에서 벗어나서 고차 상관함수에 관한 정보를 스펙클패턴의 교차상관함수 분석으로부터 얻을 수 있게 됨으 로써, 함께 어우러져서 특정한 상관관계를 가지고서 나타나는 분자운동이 중요해지는 물질현상연구에 새로운 길을 열게 될 것이라 기대한다.

#### 5. 표면 광상관분광

제3세대방사광원을 이용해서 이미 생체막이나 폴리머 필름 혹은 액체 등과 같은 다양한 물질에 대해 표면 광상관분광의 실험기법을 적용해 왔다. 특히 X-선 정상파 기법과 결합해서 표면으로부터 묻혀 있는 계면의 요동에 관한 연구도 진행되 어왔다. 하지만 결맞는 X-선 세기의 제약조건으로 인해 나노 스케일에서의 표면 동역학과 관련된 연구는 많은 어려움을 가지고 있었다. 따라서 차세대 방사광원의 높은 결맞는 X-선 선속은 나노 표면 광산관분광학의 새로운 가능성을 보여주게 될 것이다.

특 집

#### 6. 비평형 동역학

일반적으로 물질은 다양한 종류의 상을 보여준다. 시간에 따라서 변화가 없는 평형상태에 도달한 상도 있을 수 있고, 또한 관측 시간 내에서 계속 변화를 하고 있는 비평형 상도 있을 수 있다. 물질의 거동을 기술하는 열역학과 대부분의 통 계학적 법칙은 평형상태를 가정하고 있다. 하지만 예를 들어 서 균일한 무질서계가 갑작스럽게 온도를 급하게 낮추어서 섞임도 갭(miscibility gap) 아래로 떨어뜨렸을 때, 두 개의 서로 다른 상이 공간적으로 서로 연결되어 새로운 미세구조 가 나타나고 또한 이들이 아름다운 패턴을 이루며 이러한 패 턴이 계속해서 요동치는 현상은 다양한 물질군에서 많이 관 측되어왔다. 비단 화학적인 복합상뿐만 아니라 응집물질의 복 잡계에서 쉽게 관측되는 것처럼, 화학적으로는 단일상을 가진 다고 해도 전자계의 다양한 여러 복합상들이 복잡한 상호작 용의 결과로 공존하여 이들 다중 복합상 내의 각 상들로 인 해 나타나는 비정상적인 특이현상 또한 최근 응집물질과학 연구의 주요 연구과제가 되어왔다. 특히 외부에서 인가한 다 양한 변수들, 압력, 온도, 전기장, 자기장, 빛 등에 따른 특정 상의 공간구조 및 시간에 따른 동역학적 변화에 관한 연구는 차세대 결맞는 X-선 광원을 이용하는 구조분석과 분광학적 기법의 가장 흥미 있는 응용분야가 될 것이다. [구태영]

#### 자유전자레이저 X-선 광원을 이용한 Bio-imaging

연 X-선 자유전자레이저(X-ray Free Electron Laser, 이하 XFEL로 표기)인 함부르크의 FLASH가 2005년부터 운영 중 이고, 첫 경 X-선 XFEL인 LCLS가 올해 초 시험가동에 들어 가면서 XFEL을 이용하여 어떠한 Science를 할 것인지에 대 해 전 세계적으로 논의가 활발하다. 생명과학 분야에서 X-선 은 생체 내 분자들의 3차원 구조를 규명하고 세포를 관찰하

#### 참고문헌

- BASAC Report on Next-Generation Photon Sources for Grand Challenges in Science and Energy, U. S. DOE (2009).
- [2] The European X-ray Free-Electron Laser, Technical design report (2007).
- [3] SCSS X-FEL, Conceptual Design Report (2005).
- [4] Linac Coherent Light Source, Conceptual design report (2002).
- [5] Diamond Beamline Proposal on Coherent X-ray Diffraction and XPCS Beamline for the Diamond Light Source (2004).

는 용도(이를 Bio-imaging이라고 한다)로 이용되고 있으며, XFEL도 기본적으로는 그러할 것이다. 그러나 XFEL의 차별 적인 특성으로 인해 현재 X-선 광원보다 훨씬 효율적이고 고 분해능의 Bio-imaging이 가능하리라 기대된다. 본 글에서는 X-선이 생명과학에서 어떻게 활용되며 현재의 수준은 어떠한 지 먼저 설명하고, XFEL을 Bio-imaging에 활용하는 아이디 어에 대해 기술하도록 하겠다.

#### 1. X-선을 이용한 Bio-imaging

생명과학은 지구상에 존재하는 다양한 생물체들의 생명현 상을 이해하고 기능을 연구하는 학문이다. 모든 생물체를 이 루는 기본 단위는 세포이다. 그리고 모든 세포는 DNA를 유 전물질로 활용하며 이 DNA를 복제하여 다음 세대로 넘겨주 는데, 이를 세포 분열이라 한다. 세포가 살고 세포들 나름의 기능을 할 수 있는 것은 세포가 DNA에 기록되어 있는 유전 정보에 따라 RNA 분자들과 단백질 분자들을 합성하여 생명 현상 유지를 위한 실질적인 기능들을 담당시키기 때문이다.

생물체는 워낙 복잡하여서, 생명과학의 보편타당한 접근방 법은 생물체의 기본 단위인 세포의 생명현상을 세포에서의 분자들 간의 상호작용으로 설명하는 것이다. 이는 오늘날 생 명과학의 가장 중요한 방법론이고, 더 큰 단위, 이를테면 세 포조직이나 장기나 생명체 수준의 연구를 디자인하고 결과를 해석하는 근거가 된다.

생명과학에서도 X-선은 의료분야 못지않게 imaging에 있 어 중요한 역할을 하고 있다. 세포의 크기는 1~10 µm 정도 이다. 광학현미경의 해상도는 200 nm 정도인데 비해 X-선 현미경학(X-ray microscopy)을 이용하면 30~50 nm의 해상 도로 세포를 관찰할 수 있다.<sup>[6]</sup> 소각 X-선 산란(Small-angle X-ray scattering)을 통해서는 DNA, RNA, 단백질 등 생체고 분자의 크기와 3차원 구조(형태)를 1 nm의 해상도로 알 수 있다. X-선 결정학(X-ray crystallography)을 이용하면 분자 의 3차원 구조를 원자 수준의 분해능인 0.1~0.3 nm 해상도 로 규명할 수 있다.

생체고분자의 3차원 구조를 아는 것은 그 분자의 세포에서 의 기능과 기작을 이해할 수 있기 때문에 매우 중요하다. 이 러한 학문을 구조생물학(Structural biology)이라고 한다. X-선 결정학, 핵자기공명분광학(NMR spectroscopy), 전자현미 경학(Electron microscopy) 등은 원자 수준 분해능으로 생체 고분자의 3차원 구조를 규명할 수 있는 구조생물학의 주요 방법들이다. 이 중 X-선 결정학이 가장 일반적이어서, Protein Data Bank에 등록된 60,000여 생체고분자 구조들 중 X-선 결정학에 의해 규명된 것이 86%에 이른다.<sup>[7]</sup> X-선 결정학은 결정에 X-선을 조사하였을 때 각 방향으로 산란<sup>181</sup>되어 나오는 빛의 세기를 측정하여, 역으로 그 결정을 구성하고 있는 분자의 3차원 구조를 계산을 통해 규명하는 방법이다. X-선을 검출할 수 있는 스크린을 갖다 대면 각 방 향으로 산란되는 빛의 세기에 따라 점들의 밝고 어두운 패턴 을 얻을 수 있는데, 이러한 X-선 산란패턴은 결정을 구성하고 있는 분자의 3차원 구조와 수학적으로 Fourier transform의 관계가 있다.

결정은 분자가 일정하게 차곡차곡 쌓인 것이다. 소금물에 서 소금 결정이 생겨나 자라듯이 생체고분자의 결정도 용액 내에서 용해도의 한계를 넘었을 때 자연히 만들어진다. 생체 고분자의 3차원 구조를 규명하기 위해 결정이 필요한 이유는 다음과 같다. 첫째, 생체고분자는 X-선에 의해 손상을 잘 받 기 때문에 하나의 분자에 X-선을 조사하면 금방 분자가 분해 되어 고유의 3차원 구조를 잃고 만다. 그러나 결정에 대해 X-선을 조사하면 X-선에 의한 손상이 결정을 구성하고 있는 생체고분자들에 고루 분산되어서 개개의 분자들이 받는 손상 은 미미하므로, 오래 동안 X-선을 노출시켜 의미 있는 데이터 를 얻을 수 있다. 둘째, 하나의 생체고분자로부터 산란되어 나오는 빛은 매우 약하다. 그러나 결정을 이루고 있으면 산란 되는 빛이 분자 수의 제곱에 비례하여 세어지므로 선명한 신 호를 얻을 수 있다.

방사광가속기 X-선 광원을 쓸 수 있게 되면서 지난 20년 간 X-선 결정학이 대단한 발전을 이루었다. 방사광에서 나오 는 X-선의 세기가 일반 X-선 생성기에서 나오는 것보다 월등 히 세어서, 한 결정에 대한 데이터를 모으는데 3~6시간 걸리 던 것이 6분 이내에 끝나면서 효율적인 실험이 가능해졌고, 이를 계기로 결정 생성, 단백질 정제, 단백질 발현, 유전자 확 보에 이르기까지 X-선 결정학과 관련한 일련의 과정들이 자 동화되고 효율이 높아졌기 때문이다. 또한, 방사광가속기에서 는 임의의 파장의 X-선을 얻을 수 있어서 결정으로부터 산란 되어 나오는 빛의 위상정보를 알 수 있는 방법이 다양해진 것도 X-선 결정학이 선호되는 데 기여했다.

한편, X-선 결정학이 발전하고 널리 쓰이면서 X-선 결정학 으로는 답하기 어려운 새로운 요구들도 구조생물학 내에서 생겨나기 시작했다.

X-선 결정학에서 가장 문제가 되는 것은 결정을 얻는 과정 이다. 그림 8-a는 어느 Structural genomics 프로그램의 진 행 상황을 보여준다. 이 프로그램은 미생물 유전자들을 확보 하고, 단백질을 발현시키고, 그 단백질 분자의 결정을 얻어서 3차원 구조를 규명하는 대규모 연구 프로젝트이다. 유전자확 보와 발현까지 진행된 단백질들에 비해 결정화에 이른 것은 8%에 못 미친다. 이는 다른 과정들에 비해 결정화 과정의 효





b

아미노산서열 파악된 단백질 수	> 750,000	
구조가 규명된 단백질 수	47,700	< 6%
구조가 규명된 막단백질 수	460	< <b>0.1</b> %

그림 8. 단백질의 3차원 구조 규명 효율. (a) 단백질에 대한 3차원 구조 규명 작업진행 상황 (Joint Center for Structural Genomics).<sup>[10]</sup> (b) 구 조가 규명된 단백질의 수 (출처: Protein Data Bank, 2007년 7월 현 재).

율이 매우 낮다는 것을 의미한다. 그리고 결정화가 된 경우에 도 구조가 규명된 것은 절반 수준이다. 현재의 방사광가속기 X-선 광원으로는 결정을 단결정으로 크기가 최소한 20 μm 이상 되게 키워야 하고 또 결정 자체가 X-선을 잘 산란시키 는 성질이 있어야 구조를 규명할 수 있다.<sup>[9]</sup>

더군다나, 게놈 프로젝트(genome project)에 의해 많은 수 의 유전자들이 밝혀지면서 세포 내에서의 단백질들 간의 네 트워크 또는 상호작용을 알기 위해 여러 단백질들이 결합한 복합체(complex)에 대한 구조 해석에 관심이 많은데, 복합체 또는 큰 분자들은 X-선 산란을 잘하는 좋은 결정을 만들기가 더욱 어렵다. 단백질과 DNA, 단백질과 RNA, 단백질과 지질 등의 복합체도 마찬가지이다. 예로써, 리보좀(ribosome)은 60 개 정도의 단백질과 RNA 분자들로 구성된 약 20 nm 크기 의 거대 복합체인데, 이 복합체는 1981년에 처음 결정이 보 고되었으나,<sup>[11]</sup> 결정구조를 규명하는 데 무려 20년이 걸렸다.<sup>[12]</sup>

막단백질(membrane protein)도 결정화 및 구조규명이 어 렵다. 막단백질은 세포막에 존재하는 단백질로서 세포 안팎으 로의 물질수송 또는 신호전달을 담당하기 때문에 신약개발의 주요 타깃이다. 막단백질 유전자 수는 일반 수용성 단백질의 유전자 수와 비슷한 수준이나 그림 8-b에서 보듯이 매우 적 은 수의 막단백질에 대해서만 구조가 밝혀져 있다. 이는 막단 백질이 친수성 표면과 함께 넓은 소수성 표면도 가지고 있어 서 물에서 안정하지 않고, 결정화 과정에서도 막단백질 분자 들이 균일하게 쌓이는 조건을 잡기가 어렵기 때문이다.

마지막으로 X-선을 이용하여 세포에 대해 고해상도의 image를 얻는 것이다. 만약 세포의 image를 원자 또는 분자

수준의 분해능으로 얻을 수 있다면 세포에서 벌어지는 생명 현상들을 이해하는 데 큰 도움이 될 것이다. 전자현미경은 0.2~10 nm의 우수한 해상도를 가지는데, 최근에는 토모그 라피(tomography)를 구현하여 3~5 nm 해상도로 세포 내부 의 3차원 영상을 얻는 데 성공하였다.<sup>[13]</sup> 이 정도의 분해능이 면 세포내 소기관은 물론 단백질들의 거대복합체들도 볼 수 있다. 그러나 전자현미경은 시료를 매우 얇게 준비해야 하는 문제가 있다. 특히 살아있는 세포의 구조를 잘 보존하기 위해 급속 냉동법(cryo technique)을 적용한다면 시료를 얇게 준 비하기가 더 어렵다. X-선은 투과성이 좋고 분해능도 우수해 서 세포수준의 구조생물학을 구현할 수 있으리라 기대된다.

4세대 광원으로 일컬어지는 XFEL은 이러한 새로운 요구들 에 대해 부응할 수 있는 광원으로 여겨지고 있다. 현재 계획 중인 경 X-선 FEL들의 성능 parameter들을 요약하면 다음 과 같다.

XFEL에서 나오는 X-선은 10~100 fs(10<sup>-14</sup>~10<sup>-13</sup>초)의 짧 은 pulse이며, 이는 현재 방사광가속기에서 구현하는 pulse 보다 1/10,000~1/1,000배 더 짧기 때문에 시간적인 분해능 을 대폭 향상시킬 수 있다.

이 한 pulse는 10<sup>12</sup>개의 광자를 갖고 있으며 그 대역폭은 △E/E~10<sup>-2</sup>이다. 이 정도의 빛의 세기면 하나의 pulse만으 로 작은 결정(< 10 μm)에 대해 X-선 산란 데이터를 얻을 수 있고, 또 이 빛은 결맞음성이 매우 우수하여 위상정보를 얻는 데도 유리하다.

XFEL에서 나오는 빛은 휘도(brilliance)가 대단히 좋아서 광자의 손실 없이 100 nm 이하로 집속시킬 수 있으리라 기 대되며, 이는 매우 강한 빛이어서(10<sup>8</sup>개 광자/nm<sup>2</sup>) 생체고분 자를 순식간에 plasma 상태로 분해할 수 있다.

이후로는 이러한 XFEL 광원을 이용하여 생체고분자와 세 포에 대한 3차원 구조를 규명하고자 제안되어 학계에서 활발 히 논의 중인 아이디어들을 소개하도록 하겠다.

### 2. 순간노출 X-선 나노결정학(Flash X-ray Nano-crystallography)

크기가 매우 작은 결정에 대해 X-선 산란 데이터를 모을 때 결정에 조사하는 X-선 광원의 크기가 클 필요는 없다. 결 정에 맞지 않고 지나가는 X-선은 데이터에 기여하지 않기 때 문이다. 한편, 결정이 작으면 그만큼 X-선 산란도 약해서, 결 정에 맞는 X-선의 세기가 세어야 노이즈 레벨보다 선명한 신 호를 얻을 수 있다. 그래서 크기가 작은 결정에 대해 X-선 산 란패턴을 얻을 때는 X-선을 집속(focusing)함으로써 결정에 대한 X-선 조사 효율을 높인다.

현재 최적화된 방사광가속기 기술로는 µm 단위의 결정에



그림 9. XFEL pulse를 단백질 나노결정에 순간 노출하여 X-선 산란패 턴을 얻는 개념도.<sup>[15]</sup>

대해 실험이 가능하여서 이를 X-선 마이크로결정학(X-ray micro-crystallography)이라고 부르는데, XFEL은 휘도가 좋고 빔이 강해서 µm 이하의 결정들에 대해서도 X-선 산란 데 이터를 모을 수 있으므로 X-선 나노결정학 시대를 열 것이다. 이 경우 결정이 작기 때문에 Bragg peak 이외의 지점에서도 신호가 보이는 X-선 산란 패턴을 얻을 것이고, 이를 이용하면 산란되어 나오는 빛의 위상정보도 알아낼 수 있다.

한 가지 고려할 것은, 결정의 크기가 작으면 X-선 노출에 의한 손상(Radiation damage) 문제가 심각하다는 것이다. 만 약 XFEL pulse의 길이가 길다면 검출기 스크린에 기록된 X-선 산란패턴에는 결정의 생체고분자들이 X-선에 의해 손상되 어가는 과정까지도 누적되어 있어서 해석하기가 불가능할 것 이다. 그러나 현재 계획 중인 XFEL pulse는 10~100 fs 정 도로 매우 짧아서 생체고분자들의 손상이 채 진행되기 전에 이미 결정을 떠나 검출기 스크린에 도달하므로, 검출기 스크 린에 기록된 X-선 산란패턴은 결정이 손상되기 전의 온전한 상태에서의 신호이다.<sup>[14,15]</sup> 이러한 실험을 순간노출 회절 실 험(Flash diffraction experiment)이라고 부르고, 연 X-선 FEL인 FLASH에서 25 fs의 pulse를 이용한 실험을 통하여 실현가능성이 입증되었다.<sup>[16,17]</sup>

XFEL을 이용한 순간노출 회절 실험을 통해 1 μm 이하의 작은 결정에 대해서도 X-선 산란 신호를 극대화할 수 있으나 빛이 너무 강해서 결정이 한 pulse 이상을 견뎌내지 못 할 것이다. 3차원 구조 해석을 위해서는 결정의 각도를 돌려가며 여러 orientation에서 X-선 산란패턴을 모아야 하는데, 결정 이 손상되어 버려서 XFEL 실험에서는 적용할 수 없다. 따라 서 수백 개의 결정에 대해 각각 산란 패턴을 얻은 뒤 (그림 9), 이들의 orientation을 잘 분류해서 온전한 데이터 set를 재구성해야 한다.<sup>[18]</sup>

XFEL 광원을 이용한 순간노출 X-선 나노결정학이 가능해

지면 생체고분자의 3차원 구조 규명에 있어 결정의 크기에 구애를 받지 않게 되기 때문에 구조생물학의 발전에 획기적 으로 기여할 것이다. 결정의 크기가 작은 경우는 물론, 어렵 게 결정이 생겼으나 그 성질이 좋지 않은 경우라 하더라도 작게 나노결정으로 부수어서 구조 규명이 가능할 것이기 때 문이다. 이는 생체고분자의 복합체나 막단백질과 같이 현대 생물학의 중요 현안들의 3차원 구조 연구를 용이하게 함으로 써 생명과학 전반에 지대한 파급효과가 있을 것이다.

특히 분자들이 한 겹으로 성장하는 막단백질의 이차원 결 정들에 대해서도 3차원 구조를 해석할 수 있으리라 기대되 며,<sup>[19]</sup> 이는 신약개발연구를 선도할 것이다.

#### 3. 단분자(single molecule)에 대한 3차원 구조 규명

생체고분자의 결정을 만드는 것이 어렵기 때문에, XFEL을 이용하여 결정화 과정 없이도 고분해능으로 3차원 구조를 규 명하는 방법에 대해서 활발히 논의되고 있다. 아예 단분자에 대해 X-선 산란패턴을 얻어서 3차원 구조를 밝히겠다는 아이 디어이다. 이때 X-선 조사에 따른 생체고분자의 손상이 문제 가 되는데, 앞서 설명한 순간노출 회절 실험을 통하여 산란신 호를 극대화함으로써 이를 극복할 수 있다. 즉, 매우 짧은 X-선 pulse를 조사하여 생체고분자가 손상되기 전의 온전한 상 태에서의 산란패턴만 검출하겠다는 것이다.

그림 10은 lysozyme 단백질 분자에 대해 simulation한 결 과를 보여준다.<sup>[20]</sup> 생체고분자에 강력한 XFEL pulse를 조사 하면 광전효과와 Raman 산란, Auger 효과에 의해 전자들이 튕겨 나가고, 생체고분자에 남아 있는 원자들은 정전기적인 반발력에 의해 폭발하게 된다. 그런데 이 과정은 빛의 속도에 비해 훨씬 느리게 이뤄지기 때문에, XFEL pulse가 충분히 짧다면 이 pulse가 지나가는 것과 생체고분자가 해체되어 폭 발하는 것 사이에는 상당한 시간지연이 있게 된다.

그림 10(a)는 X-선 pulse의 반폭이 2 fs일 때이다. 이 pulse에 노출되는 동안 lysozyme에는 거의 변화가 없다가 빛이 지나간 이후에야 분해가 진행되는 것을 알 수 있다.

그림 10(b)는 pulse의 반폭이 5 fs일 때이다. 빛이 가장 강 한 *t* = 0 fs때까지도 거의 변화가 없다가 모든 빛이 지나간 무 렵에 10% 가량의 형태 변화가 생겼다. 이 경우, X-선 산란패 턴에 기여하는 대부분의 신호는 lysozyme 분자의 형태가 온 전한 때에 나오므로 검출기에 기록되는 산란패턴도 lysozyme 의 3차원 구조를 규명하기에 유효하다.

그림 10(c)는 pulse의 반폭이 50 fs일 때이다. 빛이 가장 강한 t=0 fs부터 50 fs에 이르기까지 lysozyme 분자의 분해 가 많이 진전되어서, 이 시간 동안 산란되어 검출기에 기록되 는 빛은 오히려 lysozyme의 3차원 구조 해석에 좋지 않은

а

b



그림 10. Lysozyme 분자에 XFEL pulse를 쬐었을 때 시간대별 분자의 구조 변화에 대한 시뮬레이션 결과.<sup>[20]</sup> 3×10<sup>12</sup>개의 12 keV의 광자를 직경 100 nm에 집속시킴을 가정함. (a) 반폭이 2 fs인 Gaussian 형태 의 pulse에 노출되었을 때. (b) 반폭이 10 fs인 Gaussian 형태의 pulse 에 노출되었을 때. (c) 반폭이 50 fs인 Gaussian 형태의 pulse에 노출 되었을 때.



그림 11. 단분자에 대한 3차원 구조 규명을 위한 실험 장치의 개략 도.<sup>[21]</sup>

#### 영향을 준다.

즉, XFEL pulse가 충분히 짧다면, 매우 강한 빛으로 산란 신호를 극대화하면서도 온전한 상태의 생체고분자에 대한 X-선 산란패턴을 얻을 수 있는 것이다.

이 아이디어를 어떻게 실험적으로 구현하는지를 그림 11에 나타내었다. 생체고분자 한 분자를 electrospray 방법으로 진 공 중으로 날려 보내고, 이를 XFEL pulse로 맞춰서 산란패 턴을 얻어낸다.

하나의 분자는 하나의 orientation에 대한 X-선 산란패턴 을 줄 뿐이므로, 분자의 3차원 구조 규명을 위해서는 많은 분 자에 대해 X-선 산란패턴을 얻어서 이들의 orientation을 잘



특 집

그림 12. X-선 산란패턴의 orientation 결정 방법.<sup>[22]</sup> (a) Lysozyme 분 자에 XFEL pulse를 조사하였을 때의 X-선 산란패턴에 대한 시뮬레이션 결과. (b) X-선 산란패턴들을 공통된 부분을 겹치게 하여 공간 상에 배 치.

분류하여 온전한 데이터 set를 구성해야 한다. 임의의 두 X-선 산란패턴 사이에는 적어도 한 줄 이상 동일한 산란패턴이 존재하는데, 이 부분이 서로 겹쳐지게끔 공간상에 배치하면 산란패턴 간의 상대적인 orientation을 알 수 있다 (그림 12).<sup>[22]</sup>

생체고분자의 3차원 구조는 앞서 공간상에 mapping한 X-선 산란패턴 데이터 set을 역 Fourier transform하여 얻는 다. 단, 아직 모르고 있는 것이 각 방향으로 산란된 빛의 위 상정보이다. 이를 알아내기 위해 X-선 산란신호를 생체고분자 의 크기에 해당하는 간격(= 생체고분자의 크기의 역수)보다 더 세밀한 간격으로 측정하고(이를 oversampling이라고 한 다), 역 Fourier transform하였을 때 생체고분자의 크기에 해당하는 부분에만 생체고분자의 전자밀도가 보이게끔 각 산 란된 빛의 위상정보를 조정해 주면서 재귀적으로 찾아나간 다.<sup>[23]</sup>

경 X-선 XFEL이 없는 상태에서 이런 혁신적인 개념의 실 험을 할 수 있는 방법이 없기 때문에 컴퓨터 시뮬레이션을 통해 그 실현가능성을 입증하고자 한 연구들을 소개하겠다.

그림 13은 한 개의 Rubisco 단백질 분자에 대해 XFEL pulse를 조사하였을 때 X-선 산란패턴들이 어떻게 나오는지



그림 13. 단분자에 대한 3차원 구조 규명의 실현 가능성에 대한 시뮬레 이션. 생성한 X-선 산란패턴들의 orientation은 안다고 가정함.<sup>[24]</sup> (a) Rubisco 단백질의 실제 3차원 구조(PDB 고유번호: 2RUS). (b) (a)의 활성 중심 확대 그림. (c) 시뮬레이션으로 생성된 300,000장의 생성된 X-선 산란패턴들에 대해 구조해석 결과. (d) (c)의 활성 중심 확대 그 림.

simulation한 뒤, 역으로 위의 알고리즘을 써서 단백질의 3 차원 구조를 다시 계산한 결과이다.<sup>[24]</sup> Rubisco 단백질은 분 자량이 106 kDa인데, 300,000개의 동일한 분자로부터 0.25 nm 해상도로 X-선 산란패턴을 얻었다고 가정하였고, 또 각 산 란패턴의 orientation도 알고 있다고 가정하고서 oversampling 을 하여 3차원 구조를 계산하였다.

그림 14는 Chigonin이라는 10개의 아미노산으로 구성된 펩타이드에 대하여 0.18 nm 해상도로 72,000장의 X-선 산 란패턴을 얻었다고 가정하고서, 각 X-선 산란패턴에 대해 orientation까지도 결정한 뒤 분자의 3차원 구조를 규명한 것 이다.<sup>[25]</sup>

결정화 없이 생체고분자의 3차원 구조를 밝히는 것은 환영 받을 일이고 또 simulation 결과들도 그 가능성을 뒷받침하 고 있으나, 이를 구현하기 위해서는 아직 많은 연구가 선행되 어야 한다.

첫째, 단분자의 X-선 산란신호는 매우 약해서 이 방법을 적 용하려면 분자량이 100 kDa 이상이어야 한다.<sup>[26]</sup> 분자량이 작은 생체고분자는 결정을 만들거나, 또는 구조를 알고 있는 거대한 생체고분자에 융합시켜서 전체 크기를 키워주어야 해 석할 만한 X-선 산란패턴을 얻을 수 있다.

둘째, Electrospray를 통해 생체고분자를 진공 중으로 쏘



그림 14. 단분자에 대한 3차원 구조 규명의 실현 가능성에 대한 시뮬레 이션.<sup>[25]</sup> 72,000장의 생성한 X-선 산란패턴들에 대해 orientation에 대 한 정보 없이 3차원 구조를 계산함. Chignolin은 10개의 아미노산으로 구성된 펩타이드임 (PDB 고유번호: 1UAO).

아 보낼 때 생체고분자가 물 분자를 잃어버리면서 3차원 구 조에 변화가 일어날 수 있다.<sup>[27]</sup> 컴퓨터 시뮬레이션 결과에 의하면 단백질 분자는 물이 두 분자 이상의 두께로 둘러쌓 고 있어야 원래의 형태를 유지한다. 단백질 분자가 진공으로 들어가면서 분자와 상호작용이 강한 위치에 있는 물 분자들 은 계속 붙들고 있겠지만 그 외의 분자들은 잃어버리게 될 것인데, 그 결과 3차원 구조에 어느 정도 변화가 생긴다. 이 변화된 상태에 대해 3차원 구조를 얻으면, 시뮬레이션을 통 하여 물속에 들어있을 때의 3차원 구조를 재계산해야 할 것 이다.

셋째, 쏘아 보낸 생체고분자가 X-선 광원의 집속 지점을 정확 히 지나가게 해 주어야 한다. 최근 보고에 의하면 Electrospray 를 이용하여 100 nm 크기의 시료를 150 m/s의 속력으로 날려서 직경 250 µm, pulse 길이 15 fs의 연 X-선에 맞춰 X-선 산란패턴을 얻는데 성공하였다.<sup>[28]</sup> 그러나 단분자에 대 한 3차원 구조규명을 위해 현재 계획 중인 XFEL의 광원의 직경은 100 nm이어서, 아직 이 목표치와 차이가 많이 난다.

#### 4. 세포에 대한 고해상도 imaging

세포에 대해 고해상도 image를 얻는 방법도 앞서의 두 실 험과 다르지 않다. 즉, 세포 시료에 대해 XFEL pulse를 조사 하고, 거기서 나오는 X-선 산란패턴을 읽어서 계산을 통해 세 포의 image를 알아내는 것이다. 다만, 생체고분자는 같은 조 건에서 3차원 구조가 서로 동일하나 세포는 성장하고 운동하 고 각기 환경에 적응해야 하기 때문에 같은 종류라 하더라도 서로 형태와 내부 구조가 같을 수 없다. 따라서 세포에 대한 imaging은 생체고분자와는 달리 단 하나의 시료에 대해서 한 번의 XFEL pulse의 조사만으로 이뤄져야 한다.

### 특 집





그림 15. 결맞는 X-선을 이용한 세포 이미징. (a) E. coli 박테리아에 대한 이미지.<sup>[30]</sup> (b) 효모에 대한 이미지. N은 세포핵, V는 액포, M은 세포막을 각각 나타냄. (c) (b) 시료에 대한 주사투과X-선현미경 이미 지.<sup>[29]</sup>

가장 단순한 활용은 시료에 대해 2차원 image를 얻는 것 이다. 현재 방사광가속기의 언듈레이터에서 나오는 결맞는 X-선을 이용하여 30 nm 해상도로 세포의 이미지를 얻고 있다 (그림 15).<sup>[29,30]</sup> XFEL의 pulse를 이용한 순간포착 회절 실험 을 통하여서는 해상도를 극대화시킬 수 있을 것이며, 1 nm 보다 좋은 분해능을 구현할 수 있으리라 예상된다.<sup>[31]</sup>

XFEL에 의한 실험이 1회로 제한될 수밖에 없기 때문에, 3 차원 imaging을 위해서는 여러 방향으로부터 XFEL pulse가 들어와 시료에 동시에 조사되게 실험 장치를 꾸며야 한다. 이 렇게 하면 X-선 조사에 의한 손상이 진행되기 전의 산란패턴 들을 각 방향에 대해 얻을 수 있다. 이 산란패턴들은 또한 중 첩되어 간섭을 일으키는데, 위상정보를 갖고 있으므로 image 를 규명하는 데 도움이 될 수 있다.

#### 5. 맺음말

지금까지 4세대 방사광가속기로 일컬어지는 XFEL을 이용 하여 생명과학에서 가장 중요한 연구 수단인 imaging을 구현 하는 방법을 살펴보았다. XFEL은 생체고분자들의 형태와 세 포에서의 행동양식, 그리고 세포의 구조를 고분해능으로 관찰 하는 또 다른 차원을 엶으로써 생명과학과 신약연구 발전에 획기적인 기여를 하게 될 것이다.

강한 빛, 고휘도, 결맞음성, pulse로 대표되는 XFEL은 X-

선 실험을 하는 사람들에게 너무나 매력적인 광원인 동시에, 빛의 세기가 너무 센 것이 오히려 제약이 된다고 생각될 수 있다. 왜냐하면 기존의 광학 장치로는 이렇게 강한 빛을 견뎌 낼 방법이 없고, 시료도 1회 조사만으로 손상될 것이기 때문 이다.

3세대 방사광가속기를 사용하여 실험하는 연구자들은 에너 지 스캔을 하는 실험을 제외하고 모두 XFEL을 이용하여 실 험을 할 수 있다. 그러나 각자의 실험에 맞게 빛의 세기를 약 화시킬 필요가 있을 것이며, 이를 위해 불활성 기체로 채운 관을 100 m 길이로 만들어 두어 빛이 기체를 통과하는 동안

#### 참고문헌

- [6] Le Gros, M. A., G. McDermott and C. A. Larabell, Curr. Opin. Struct. Biol. 15, 593 (2005).
- [7] Protein Data Bank는 규명한 생체고분자의 3차원 구조를 등록 하는 데이터베이스이다. http://www.rcsb.org.
- [8] 본 글에서는 산란(scattering)과 회절(diffraction)을 구별하지 않겠다.
- [9] P. Sliz, S. C. Harrison and G. Rosenbaum, Structure 11, 13 (2003).
- [10] http://www.jcsg.org/.
- [11] K. Appelt, et al., J. Biol. Chem. 256, 11787 (1981).
- [12] M. Selmer, et al., Science 313, 1935 (2006).
- [13] R. McIntosh, D. Nicastro and D. Mastronarde, Trends Cell. Biol. 15, 43 (2005).
- [14] http://fel.web.psi.ch/public/xfel/science/Berne\_Workshop\_ April\_2007/Talks/Schiltz.pdf.
- [15] http://fel.web.psi.ch/public/xfel/science/Coherent%20Dif fraction%20Workshop/Talks/Coh\_Diff\_Pfeiffer.pdf.
- [16] H. N. Chapman, et al., Nature Physics 2, 839 (2006).
- [17] H. N. Chapman, et al., Nature 448, 676 (2007).
- [18] R. Neutze, *et al.*, Radiation Physics and Chemistry **71**, 905 (2004).
- [19] http://fel.web.psi.ch/public/xfel/science/Coherent%20Dif fraction%20Workshop/Talks/Coh\_Dif\_Kewish.pdf.
- [20] R. Neutze, et al., Nature 406, 752 (2000).
- [21] http://xray.bmc.uu.se/molbiophys/experiment/images/ experim2.png.
- [22] G. Huldt, A. Szoke and J. Hajdu, J. Stru. Biol. 144, 219 (2003).
- [23] J. Miao, et al., Annu Rev Phys Chem. 59, 387 (2008).
- [24] J. W. Miao, K. O. Hodgson and D. Sayre, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 98, 6641 (2001).
- [25] R. Fung, et al., Nature Physics 5, 64 (2009).
- [26] R. Henderson, Quar. Revi. Biophysics 28, 171 (1995).
- [27] A. Patriksson, E. Marklund and D. van der Spoel, Biochemistry 46, 933 (2007).
- [28] M. J. Bogan, et al., Nano Letters 8, 310 (2008).
- [29] D. Shapiro, *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. **102**, 15343 (2005).
- [30] J. Miao, *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. **100**, 110 (2003).
- [31] M. Bergh, *et al.*, Quarterly Reviews of Biophysics **41**, 181 (2008).

XFEL pulse의 다른 성질들은 유지하면서 빛의 세기만 약해 지게 해 주어야 한다.

문제는 XFEL의 광원의 세기를 조절하여 마치 3세대 방사 광가속기의 연장으로서 사용하는 것이 합당한지, 그리고 세기 를 조절하기 위한 장치를 유지 보수하는 것이 경제적으로 현 실성이 있는지 하는 것이다.

XFEL은 3세대 방사광가속기와는 달라서 설치할 수 있는 빔라인의 수가 대단히 적다. 3세대 방사광가속기가 저장링 주 위에 40여기의 빔라인을 설치할 수 있는 반면에 XFEL은 기 껏 3개 정도이다. XFEL에서 할 수 있는 실험은 다른 방사광 가속기에서는 수행할 수 없을 뿐만 아니라 그 실험들이 지닌 가치가 매우 높다. 왜냐하면 인류가 아직 그렇게 극단적으로 강한 빛을 경험해본 적이 없어서 이로 인한 science는 어떤 물리적 현상이 발견될지 어떤 응용이 있을지 모르는 전인미 답의 처녀지이기 때문이다.

따라서 합리적인 안은 XFEL은 그 고유의 응용 실험들을 수행하고, 3세대 방사광가속기는 성능을 최적화시키고 삽입장 치들을 설치하여 빛의 세기가 XFEL보다는 약한 상태에서 안 전하게 우수한 실험결과를 낼 수 있게 하는 것이다.

XFEL과 3세대 방사광가속기는 공통적으로 X-선 science 를 하지만 접근방법이 다르고 고유의 영역이 있으므로 서로 상호보완적으로 활용되어야 함을 첨언하며 이 글을 마친다.

[임재홍]

# 엑스선 자유전자레이저를 이용한 구조 동역학 연구 (Structural Dynamics Using X-ray Free Electron Laser)

우리가 일상에서 마주치는 많은 현상들은 물질이 다른 물 질로 변화되는 화학반응과 밀접한 관련이 있다. 화학반응에 참여하는 분자들은 화학반응 중에 구성 원자들 사이의 결합 의 분해, 형성, 재배치 등을 통하여 새로운 구조를 가진 분 자들로 변화하게 된다. 만일 화학반응에서 일어나는 구조 변 화를 관찰하고 이를 제어할 수 있게 된다면 새로운 물질을 합성하거나 생명 현상에서 일어나는 반응을 이해하고 이용 하는 데 큰 도움이 될 것이다. 반응메커니즘은 반응물로부터 생성물이 이루어지는 반응 경로 중에 나타나는 중간체 (intermediate)들의 분자 구조에 의해서 결정된다. 그러나 원 자들의 작은 크기 (~10<sup>-10</sup> m)와 원자들 사이에서 일어나는 결합의 분해 및 형성에 관련되는 시간(~10<sup>-12</sup> s, 피코초)을 고려할 때 실험적으로 이를 관찰하는 것은 매우 어렵고도 도 전적인 연구 주제이다.

그러면 매우 빠른 시간 스케일에서 변하는 분자 구조 변화

를 어떻게 관찰할 수 있을까? 현대의 레이저 기술의 발달로 아주 짧은 시간 폭을 가지는 펄스 형태의 빛을 쉽게 만들어 내는 것이 가능하게 되었고 이를 반응메커니즘 연구에 응용 할 수 있게 되었다. 캘리포니아 공대의 Zewail 교수는 짧은 시간 폭을 가지는 두 레이저 펄스를 이용하여 이원자분자의 진동 현상을 실험적으로 관찰하였고 이러한 펚토화학을 개척 한 공로로 1999년 노벨화학상을 수상하였다.<sup>[32]</sup> 일반적으로 자외선 및 가시광선 영역의 레이저 펄스가 사용되는 이 기술 은 간단한 분자에 적용되어 화학반응의 반응메커니즘에 대한 많은 정보를 제공해 주었지만 가시광선 및 자외선 영역의 레 이저 펄스를 이용해서 분자 구조에 대한 직접적인 정보를 알 아내기는 힘들다. 이러한 제한점을 극복하기 위해서 최근에는 짧은 시간 폭을 가지는 엑스선 펄스를 레이저 펄스 대신 사 용하여 빠른 시간에 변하는 분자 구조 변화를 관찰하고 측정 하는 연구가 진행되고 있다. 이 연구는 최근 급속하게 발전한 짧은 시간 폭을 가지는 극초단 엑스선 펄스 생성 기술과 밀 접한 관련이 있으며 엑스선 자유전자레이저가 현실화된다면 지금까지 연구되지 못했던 많은 현상들이 연구될 수 있을 것 이다. 본 총설에서는 현재 연구되고 있는 엑스선 펄스를 이용 한 구조 동역학(structural dynamics) 연구 결과와 이와 관 련된 여러 가지 제한점을 기술하고 엑스선 자유전자레이저의 설치 등이 가져올 관련 분야의 기대 효과 등을 조명해보고자 하다.

#### 1. 구조 동역학 연구의 원리 및 엑스선 펄스의 소스

엑스선 펄스를 이용한 구조 동역학 연구는 들뜸-탐색 방법 (pump-probe method)을 기본으로 하고 있다. 연구 대상인 분자 시스템에 극초단 레이저 펄스(들뜸)를 사용하여 화학 반 응을 시작시키면 여러 가지 구조 변화가 나타난다. 이 변화의 시간대는 빠르게는 펨토초에서 느린 것은 피코초, 나노초, 더 나아가서 밀리초가 걸리는데 이러한 구조변화를 직접적으로 관찰하기 위해서 엑스선 펄스(탐색)를 반응이 일어나는 분자 시스템에 보내어 분자 구조에 대한 직접적인 정보를 담고 있 는 엑스선 회절 신호나 엑스선 흡수 신호를 잡아내게 된다. 반응을 시작시킨 레이저 펄스와 구조를 탐지하는 엑스선 펄 스 사이의 시간차(time-delay)를 바꾸어 주면서 신호를 얻게 되면 그 신호는 각 시점에서의 분자 구조에 대한 직접적인 정보를 담고 있어 실시간으로 변하는 분자 구조 변화를 관찰 할 수 있다. 탐색 펄스로 사용되는 엑스선 펄스의 시간 폭이 시간분해능(time-resolution)을 결정하기 때문에 엑스선 펄스 를 이용한 구조 동역학 연구는 극초단 엑스선 생성 기술과 매우 밀접한 관련이 있다. 현재 구조 동역학 연구에 사용되는 엑스선 펄스는 고차조화파(high harmonic generation),<sup>[33]</sup>



그림 16. 구조 동역학 연구에 적합한 극초단 강엑스선 펄스를 발진할 수 있는 방법들의 엑스선 펄스 강도 비교.

레이저 플라즈마 방법,<sup>[34]</sup> 그리고 3세대 방사광가속기에서 주 로 얻어진다(그림 16).

고차조화파(soft X-ray) 생성 기술을 이용하면 펨토초 시 간 폭을 가지는 500 eV 이하의 에너지를 가지는 연엑스선 이 주로 얻어진다. 이 엑스선 펄스를 이용하여 원자 내의 전 자동역학에 대한 연구 결과가 보고되었지만 2-20 keV 영 역의 강엑스선(hard X-ray) 펄스가 필요한 구조 동역학 연 구에는 적합하지 않다. 펨토초 레이저 펄스가 고체 표면에 조사될 때 생성되는 플라즈마로부터 수 keV의 영역의 펨토 초 엑스선 펄스가 발생되며 이 펄스를 이용한 구조 동역학 연구가 보고되어 있지만 다른 방법들에 비해서 상대적으로 광자 밀도가 작고 발생되는 엑스선 펄스의 안정성 등의 문 제로 다양한 시스템의 구조 동역학 연구에 응용되기에는 한 계가 있다. 반면에 3세대 방사광가속기에서 얻어지는 엑스 선 펄스는 다른 방법들에 비해 탁월한 안정성, 높은 광자 밀 도, 변환 가능한 넓은 파장 범위 등의 특성을 가지고 있어서 다양한 구조 동역학 연구에 응용되고 있다. 그러나 일반적인 3세대 방사광가속기에서 얻어지는 엑스선 펄스는 다른 엑스 선 펄스보다는 큰 약 30-100피코초 정도의 시간 폭을 가 진다. 다음 섹션에서는 3세대 방사광가속기의 엑스선 펄스 를 이용한 다양한 상태에 있는 분자구조 동역학 연구들을 기술하고자 한다.



특 집

그림 17. (A) 시분해 엑스선 라우에 결정법으로 얻어진 카복시미오글로 빈 단결정의 광분해전(분홍색) 및 광분해후(녹색)의 전자 밀도 함수.<sup>[36]</sup> (B-G) 넓은 시간 범위(100피코초-3.16마이크로초)에서의 발색단의 전 자 밀도 함수 맵.

#### 2. 엑스선 펄스를 사용한 다양한 구조 동역학 연구

엑스선 회절 방법은 일반적으로 반복적인 구조적 규칙성을 가진 여러 종류의 결정들의 3차원 구조를 규명하는 데 널리 사용되어 왔다. 예를 들면 미오글로빈 단백질의 엑스선 결정 구조 규명에서 비롯된 다양한 종류의 생체분자의 3차원 구조 에 대한 연구는 1950년대 시작된 이후로 지금까지도 계속 생체분자의 작용 및 기능에 대한 중요한 정보를 제공하고 있 다. 최근에는 전술한 바와 같은 들뜸-탐색 방법을 사용하여 정지상태의 안정한 단백질 구조뿐만 아니라 단백질이 고유의 기능을 수행하는 화학 반응의 역동적인 메커니즘을 연구하 고 있다. 좋은 회절 패턴을 나타내는 단백질 단결정에 레이 저를 사용하여 반응을 시작시키고 3세대 가속기의 엑스선을 조사시켜 얻어진 회절 패턴을 정지상태의 회절 패턴과 비교 분석하게 되면 단백질 단결정의 구조 변화를 실시간으로 추 적할 수 있다. 이와 같은 방법으로 광활성 노란 단백질 (photoactive yellow protein),<sup>[35]</sup> 잔톱신, 미오글로빈<sup>[36]</sup>과 같은 단백질 단결정의 구조 변화가 나노초 이상의 시간 스케일에서 연구되었다. 가장 대표적인 연구 업적으로는 카복시미오글로빈 의 시분해 라우에 회절(time-resolved Laue Crystallography) 결과를 들 수 있다. 극초단 레이저를 사용하여서 카복시미오 글로빈에서 일산화탄소 분자를 광분해시키고 시간차를 조절 하면서 100피코초 시간 폭을 가지는 엑스선 펄스로부터 얻어 지는 회절 패턴을 분석하여서 그림 17에 나타낸 것과 같은 카복시미오글로빈에서 일산화탄소가 이동할 때 변화하는 분 자 구조를 얻어내었다.<sup>[36]</sup> 광분해 후 미오글로빈 안에서의 일



그림 18. 액체 상태의 구조 동역학 연구를 위한 시분해 엑스선 회절 기 술 개요.

#### 산화탄소 궤적을 영상화한 결과라고 할 수 있다.

단백질 단결정에 비해서 액체에서 일어나는 화학 반응의 구조 변화를 시분해 엑스선 회절(time-resolved X-ray diffraction) 기술을 이용하여 추적하는 것은 기술적으로 더 어 렵다. 그 이유는 결정과는 달리 액체에서는 분자 사이의 배열 의 규칙성이 사라지고 무질서하게 끊임없이 움직이고 있기 때문이다. 또한 액체상에는 우리가 관심 있는 용질 분자 외에 수많은 용매 분자가 존재하여 용질-용매 복합체를 형성하기 때문에 그 해석이 더 어렵다. 그러나 최근 발표된 연구 결과 에 따르면 시분해 엑스선 회절 기술을 사용하여서 액체 상태 에서 존재하는 분자 구조의 변화 관찰이 가능하다는 것이 보 고되었다.<sup>[37,38]</sup> 그림 18은 액체 상태의 구조 동역학을 연구하 는데 사용되는 시분해 엑스선 회절 기술의 개요를 나타낸다. 이 연구에서는 마찬가지로 들뜸-탐색 방법을 사용하는데 펚토 초 레이저를 사용하여 액체 내의 용액에 원하는 반응을 시작 시키고 3세대 방사광가속기의 엑스선 펄스를 일정한 시간 뒤 에 조사시켜 원하는 회절 패턴을 얻는다. 레이저를 조사시키 지 않는 회절 패턴을 특정한 시간에서의 회절 패턴에 빼게 되면 그 시각에서의 구조 정보를 직접적으로 담고 있는 회절 패턴을 얻을 수 있다. 이 실험은 매우 높은 정밀도와 정확성 을 요구하는데 이는 용질 분자의 회절 신호가 수많은 용매 분자에 의한 회절 신호에 묻혀 버리기 때문이다. 모델 시스템 으로 1,2-diiodoethane(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>I<sub>2</sub>) 분자의 광분해에 적용하였 다.<sup>[37]</sup> 얻어진 회절 신호 차이를 분석하기 위해서는 용질 분 자의 구조 변화에 의한 회절 신호, 용질-용매 분자의 상호 작 용에 의한 회절 신호, 그리고 마지막으로 용질 분자의 여기로 인한 에너지 전달로 말미암은 용매 분자 자체의 열적 팽창에 의한 회절 신호를 모두 고려해야 한다. 이를 위해 범밀도 함 수 이론 계산과 분자동역학 이론 계산을 수행하고 용질 분자 의 구조 변화로부터 얻어지는 시각에 따른 에너지를 용매의 열적 팽창 이론과 연관시켜서 분석하였다. 그 결과 유기화학 에서 입체 반응 선택성을 설명하는데 매우 중요한 삼원자 링



그림 19. 시분해 엑스선 회절 연구로 규명된 메탄올에 녹아 있는 C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>I<sub>2</sub> 분자의 광분해의 구조동역학.<sup>[38]</sup> (A-B) C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>I 라디칼의 구조 결정, (C) C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>I<sub>2</sub> 분자의 광분해 구조 동역학.

구조의 대칭형 중간체를 직접적으로 관찰하는데 처음으로 성 공하였으며 일련의 반응에서 일어나는 구조 변화를 관찰하였 다(그림 19). 그 후 시분해 엑스선 회절 기술은 액체 상태에 서 일어나는 다양한 반응에 적용되어서 기존의 시분해 분광 법으로 관찰할 수 없었던 구조 동역학 연구에 성공적으로 적 용되었다.

위에서 언급된 시분해 엑스선 회절 기술이 "액체 상태에 존 재하는 단백질의 구조 동역학 연구에 적용될 수 있지 않을 까?"하는 의문이 된다. 이는 위의 경우와 같은 간단한 분자의 경우보다 실험적으로 훨씬 도적적인 과제이다. 왜냐하면 일반 적으로 단백질과 같은 큰 분자는 용액 중에 아주 작은 농도 (수 mM)로 존재하기 때문에 구조 변화에 의한 회절 신호를 측정하기 매우 어렵고 큰 분자 사이즈에 대한 구조적인 분석 도 힘들기 때문이다. 그러나 최근에 발표된 결과는 액체 상태 로 존재하는 단백질의 구조 동역학을 시분해 엑스선 회절 기 술을 사용하여 연구할 수 있다는 것을 보여준다.<sup>[39]</sup> 이 결과 에서는 시분해 엑스선 회절을 카복시헤모글로빈의 리간드 광 분해에 적용하였다. 나노초 레이저 펄스가 카복시헤모글로빈 의 리간드를 광분해시키고 조사된 엑스선 펄스에 의한 회절 신호가 리간드 광분해 후 일어나는 단백질의 3, 4차 구조 변 화에 대한 정보를 포함하고 있다는 것을 보여주었으며 일련 의 분석을 통해서 구조 변화의 시간 스케일이 기존의 시분해 분광법의 결과보다 훨씬 짧은 수 마이크로초라는 것을 보여 주었다(그림 20). 또한 이 연구 결과에서는 카복시헤모글로빈



그림 20. 시분해 엑스선 회절 연구로 규명된 단백질 수용액의 구조 동 역학 연구.<sup>[39]</sup> (A) 헤모글로빈, 카복시헤모글로빈, 마오글로빈 및 물의 회절 패턴 계산 결과. (B) 시분해 엑스선 회절로 얻어진 카복시헤모글로 빈 리간드 광분해의 신호 변화 크기. (C) 회절 패턴 계산에 사용된 분자 들의 구조.

의 리간드 광분해와 같은 가역적인 구조 변화뿐만 아니라 사 이토크롬 씨 단백질 분자의 접힘 과정과 같은 비가역적인 변 화에 수반되는 구조 변화도 실험적으로 관찰할 수 있다는 것 을 보여주고 있다. 비록 분자 수준의 구조 변화 분석은 이루 어지지 않았지만 이 결과는 단백질과 같은 거대분자의 구조 변화에 대한 처음으로 수행된 시분해 엑스선 회절 실험으로 시분해 엑스선 회절 기술의 넓은 확장성과 범용성을 보여주 는 것이라 생각할 수 있다.

전술된 바와 같이 3세대 방사광가속기의 엑스선 펄스를 이 용하는 시분해 엑스선 회절 기술은 결정 상태 및 액체 상태 로 존재하는 분자 시스템의 구조 동역학 연구에 매우 유용하 다. 시분해 엑스선 흡수 분광법(time-resolved X-ray absorption spectroscopy)은 엑스선 회절과는 약간 다른 개념 으로 엑스선 펄스에 의한 핵심부전자의 전이에 기인한다. 엑 스선 흡수 분광법은 원소마다 다른 흡수 끝머리(absorption edge)로 결정되는데 흡수 끝머리 근처의 XANES(X-ray nearedge structure)와 EXAFS(extended X-ray absorption fine structure)의 두 영역으로 표현된다. 이러한 엑스선 흡수 곡 선의 특징은 원자가 엑스선을 흡수한 뒤 발생되는 광전자과 와 이웃 원자에 의해서 반사된 광전자과 사이의 중첩에 의한 것으로 흡수 원자 주변의 구조에 대한 정보를 담고 있다. 일 반적으로 엑스선 회절 신호는 분자 시스템 전체의 구조에 대



그림 21. 시분해 엑스선 흡수 분광법으로 규명된 Fe<sup>II</sup> 스핀 교차 화합물 의 구조 동역학.<sup>[41]</sup> (A) Fe<sup>II</sup> 스핀 교차 현상의 포텐셜 에너지 곡선, (B) 50피코초 및 300펨토초 시간에서의 Fe K-edge 엑스선 에너지 흡수 곡 선, (C) (B) 그림의 B 에너지의 시간에 따른 흡수 차이.

한 정보를 포함하지만 엑스선 흡수 분광법은 원소 선택적인 신호로 주변에 대한 구조를 주로 포함하고 있다. 이러한 특성 때문에 시분해 엑스선 흡수 분광법은 주로 액체상에 존재하 는 전이금속을 포함하는 분자 시스템의 구조 동역학 연구에 주로 이용되었다. 시분해 엑스선 분광법의 대표적인 응용 예 는 Fe<sup>2+</sup>를 포함하는 분자시스템의 스핀 교차 현상에서 일어나 는 구조 동역학을 들 수 있다.<sup>[40,41]</sup> 이러한 분자 시스템의 대표 적인 화합물로 iron-tris-bipyridine ([Fe<sup>II</sup>(byp)<sub>3</sub>]<sup>2+</sup>)이 있는데 이 화합물은 바닥상태에서 저스핀 상태로 존재하게 되며 가 시광선 레이저 펄스에 의해 전하-이동이 일어나는 들뜬 상태 로 전이되어 빠른 시간 안에 고스핀 상태의 중간체로 이완되 게 된다. 그림 21에 나타낸 것처럼 펨토초 레이저로 들뜬 상 태로 전이된 후 70피코초의 펄스폭을 가지는 엑스선을 조사 해 엑스선 흡수 곡선을 측정하고 구조 분석을 통해 고스핀 상태의 Fe-N 사이의 결합 길이가 0.20 Å 증가한다는 것을 밝혀내었다. 시분해 엑스선 흡수 분광법은 금속-포피린 화합 물<sup>|42|</sup>과 같은 액체 상태로 존재하는 다양한 금속 화합물의 구 조 동역학 연구에 응용되었으며 최근에는 수화된 이온 주변 의 용매 껍질의 구조 변화도 실시간으로 관찰하는데 이용되 었다.

#### 3. 엑스선 자유전자레이저의 구조 동역학에의 응용

지금까지 수행된 3세대 방사광가속기의 엑스선 펄스를 이 용한 구조 동역학 연구는 전 섹션에서 기술한 바와 같이 기 존의 시분해 분광법으로는 관찰할 수 없었던 다양한 분자 시 스템의 구조 변화를 관찰하는데 어느 정도의 성공을 가져왔 다. 그러나 전술한 바와 같이 3세대 가속기는 기술적인 특성 으로 인하여 약 100피코초 정도의 시간 폭을 가지는 엑스선 펄스를 제공하며 이를 사용한 시분해 엑스선 회절 및 분광 법은 제한된 약 100피코초 정도의 시간분해능을 가지게 된 다. 이에 비해 선형 전자 가속기 기반의 엑스선 자유전자레 이저는 자연 방출된 빛의 자가 증폭(self amplification of spontaneous emission)에 의해 피크광채와 결맞음(peak brilliance and coherence)에서 100펨토초의 시간폭을 가지 는 엑스선 펄스를 제공할 것이라 예상된다.<sup>[43]</sup> 또한 예상되는 펄스당 광자 밀도도 3세대 방사광가속기보다 뛰어난 약 10<sup>12</sup>(photons/pulse) 정도가 될 것이라 예상된다. 이러한 엑 스선 펄스의 특성은 광학레이저와 결합하여 기존의 시분해 엑스선 회절 및 분광법의 시간분해능을 획기적으로 개선시킬 것이며 지금까지 관찰할 수 없었던 매우 빠른 시간 안에 일 어나는 결합의 분해 및 형성, 이성질화, 분자 진동 등과 같은 과정에 대한 구조 동역학 연구를 가능하게 할 것이다. X-선 분광학의 선택성은 단순 매트릭스(passive matrix)로부터 주 위의 수많은 원자들로부터 오는 배경신호가 없는 선택된 활 성부위의 시간적 변화의 관찰을 가능하게 하여 콜로이드나 불균질 촉매 같은 분산시스템에 접근할 수 있게 된다. 또한 높은 피크 광채를 이용하여 x-선에 의해 유도된 동역학이 처 음으로 가능하게 되는데 이로 성간먼지(interstellar dust)에 서 방사광에 의해 유도되는 일련의 과정들이나 상층 대기권 에서 일어나는 입자의 화학반응에 대한 새로운 조사법을 제 공할 수 있다. 엑스선 자유전자레이저에서 얻어지는 엑스선 펄스의 특성을 다른 방법과 함께 그림 16에 비교하였다. 본 섹션에서는 엑스선 자유전자레이저의 엑스선 펄스의 응용과 관련된 기초 실험 결과 등을 기술하고 엑스선 자유전자레이 저의 구조 동역학 연구에의 응용을 예상해보고자 한다.

엑스선 자유전자레이저의 응용과 관련된 기초 결과는 3세 대 방사광가속기에서 약 200펨토초 정도의 시간 폭을 가진 엑스선을 얻어내는 펨토-슬라이싱 방법<sup>[44]</sup>의 응용에서 찾아볼 수 있다. 이 방법은 펨토초 레이저를 방사광가속기 내의 전자 뭉치(electron bunch)와 함께 진행시켜 그 일부분을 추출해 서 결과적으로 펨토초 엑스선을 생성하는 방법이다. 이때 추 출되는 전자 뭉치는 전체의 극히 작은 부분으로 펨토초 엑스 선의 광자 밀도도 매우 작다(≤10<sup>4</sup> photons/s). 그러나 이 방 법으로 얻은 펨토초 엑스선을 이용하여 구조 동역학 연구가



그림 22. SPPS의 엑스선 펄스를 사용한 구조 동역학 연구의 예.<sup>[46]</sup> 극 초단 시간에서의 Bi (111) 엑스선 회절 신호의 변화.

성공적으로 수행되었다.[41] 하나의 예로 전술한 액체 상태의 [Fe<sup>II</sup>(byp)<sub>3</sub>]<sup>2+</sup>에 대한 시분해 엑스선 흡수 분광법의 연구를 들 수 있다. 이 연구에서는 Fe-N 사이의 결합 길이에 대한 정보 를 포함하고 있는 XANES 영역의 엑스선 흡수 세기를 펨토초 시간 영역에서 관찰하였다(그림 16). 결과는 고스핀 상태(<sup>5</sup>T) 가 금속-리간드 전하이동(metal-to-ligand charge transfer, <sup>3</sup>MLCT) 들뜬 상태로부터 이완되며 약 150펨토초 정도의 시 간 스케일에서 일어난다는 것을 보여주고 있다. 이러한 시간 스케일은 고스핀 상태의 Fe-N 결합의 진동 모드와 밀접한 관 련이 있다는 것을 시사하고 있다. 이 결과는 기존의 100피코 초 엑스선 펄스를 사용한 시분해 엑스선 흡수 분광법 결과로 부터 얻을 수 없는 정보로서 펨토초 엑스선 펄스를 이용한 구 조 동역학 연구의 중요성을 알 수 있다. 이 연구와 더불어서 VO2 결정의 rutile 형태에서 metallic 형태로의 상전이 구조 동역학 연구도 펨토-슬라이싱 방법을 이용하여 연구되었다.[45] 또 다른 기초 결과는 엑스선 자유전자레이저의 테스트 시설 중 하나인 Stanford Linear Accelerator Center(SLAC)의 Sub-Picosecond Pulse Sourse(SPPS)의 최근 결과들에서 볼 수 있다.<sup>[46-48]</sup> SPPS에서 발진되는 짧은 시간 폭과 높은 광자 밀도를 가지는 엑스선 펄스가 InSb 반도체의 비열적 녹음 (nonthermal melting) 현상의 연구에 이용되었다. 극초단 레 이저 펄스를 InSb 표면에 조사시키면 원자들 사이의 퍼텐셜 에너지가 변하게 되고 이로 인해서 원자들의 움직임이 일어난 다. 결국에는 결정성 고체에서 무질서한 액체의 형태로 상전 이가 일어난다. 이러한 과정의 구조 동역학이 SPPS의 펨토초 엑스선 펄스를 이용한 시분해 엑스선 회절법으로 연구되었다 (그림 22).<sup>[46]</sup> 비슷한 방법이 Bi 결정의 결합 연화 동역학 및 레이저 기화의 nucleation 현상에 응용되었다.<sup>[47,48]</sup>

전술된 펨토-슬라이싱 방법 및 SPPS에서 얻어지는 펨토초

엑스선 펄스를 이용한 구조 동역학 연구는 그동안 관찰되지 않는 극초단 영역의 구조 동역학 연구가 가능함을 보여주고 있다. 그러나 두 방법에서 생성되는 엑스선 펄스의 상대적으 로 낮은 광자 밀도로 인해 현재까지의 응용은 상대적으로 회 절 신호가 큰 결정 상태의 분자 시스템에 제한되었고, 액체 상태의 시분해 엑스선 흡수 분광법 결과는 상대적으로 그 신 호의 변화가 매우 큰 신호만 검출하였다. 그러나 테스트 실험 을 마치고 곧 펨토초 엑스선 펄스를 제공할 예정인 SLAC의 Linac Coherent Light Source(LCLS)는 테스트 시설인 SPPS 에 비해서 매우 강한 광자밀도를 가지고 있는 펨토초 엑스선 펄스를 발생시킬 것이라 기대된다. 이러한 펨토초 엑스선 펄 스의 특성은 특히 상대적으로 신호 대 잡음비(signal-to-noise ratio)를 나타내는 액체 상태의 구조 동역학 연구에 있어서 적용 분자시스템을 획기적으로 넓힐 것이라 생각된다. 또한 단일 펄스 회절 및 이미징이 가능해서 상대적으로 샘플이 쉽 게 변형되는 거대분자에의 적용이 가능할 것이라 생각된다. 그러나 선형 가속기 특성으로 인한 레이저 펄스와 펨토초 엑 스선 펄스 사이의 시간차를 고정시키는 문제는 실험상으로 극복해야 할 하나의 과제이다. 이를 해결하기 위한 방법이 최 근에 독일의 FLASH 가속기에서 시도되었는데 펨토초 극자외 선 FEL 펄스(39.5 eV, < 50 fs, < 16 µJ)로 GaAs를 여기 시킨 후 광학레이저 펄스로 광학 반사율의 순간 변화(ΔR/R) 를 보여주어(그림 23)<sup>[49]</sup> 앞으로 X-선/가시광 교차상관관계 (cross correlation)를 얻기 위한 이상적인 방법을 제공하였 다. 또한 기존의 액체 상태 분자들의 시분해 엑스선 회절 기 술에 이용되는 분석 방법 또한 더 이상 유효하지 않으므로 새롭게 고려해야 할 문제이다.

#### 4. 맺음말

극초단 엑스선 펄스를 이용하는 시분해 엑스선 회절 및 흡 수 분광 방법은 다양한 과정에서의 분자 구조 변화를 관찰할 수 있는 실험 방법이다. 현존하는 가장 안정적인 엑스선 소스 인 3세대 가속기를 이용한 시분해 엑스선 회절 및 흡수 분광 법은 다양한 상태에 존재하는 많은 분자들의 구조 동역학 연 구에 이용되어 지금까지 관찰할 수 없었던 많은 현상들을 규 명하였다. 그러나 사용되는 엑스선의 시간 폭 및 광자밀도 등 과 같은 특성으로 인하여 지금까지 개발된 시분해 엑스선 회 절 및 흡수 분광법은 그 한계 및 제한점이 있는 것도 사실이 다. 이러한 실험상의 한계들은 빠른 시간 안에 제공될 엑스선 자유전자레이저에서 발진되는 펨토초 엑스선 펄스가 사용된 다면 극복될 수 있다. 엑스선 자유전자레이저를 이용하면 구 조 동역학 연구 관련 기술의 적용 범위를 혁명적으로 넓힐 수 있을 것이라 예상되며 이를 이용하여 지금까지 불가능하



특 집

그림 23. (A) X-선에 의해 유도된 순간 광 반사율(ΔR/R) 측정의 개요 도 (B) 펨토초 x-선/가시광 지연시간에 따른 반사율 변화.

다고 생각되었던 화학반응에서 매우 빠른 시간 동안에 일어 나는 화학결합의 형성 및 분해에 대한 구조 변화도 관찰할 수 있을 것이다. 극초단 엑스선 펄스를 이용한 구조 동역학 연구는 최근에 들어와 많은 관심을 받고 있으며 선진국들은 이에 발맞추어 엑스선 자유전자레이저의 건설 및 시분해 빔 라인 확충에 최선을 다하고 있다. 그 예로 미국의 LCLS 및 독일의 FLASH 등이 빠른 시간 안에 극초단 엑스선 펄스를 제공할 예정이다. 아직 국내에서 시분해 엑스선 회절 및 흡수 분광법을 실험할 수 있는 연구 설비 및 빔라인이 없지만 연 구자의 관심 여부에 따라서 얼마든지 외국의 첨단 설비를 사 용할 수 있다. 이번 물리학과 첨단기술의 엑스선 자유전자레 이저를 이용한 연구 관련 특집을 계기로 국내에서 극초단 엑 스선 펄스를 이용한 구조 동역학 연구에 많은 연구자들이 관 심을 가질 수 있기를 기대한다. [김태규, 박재헌, 이효철]

#### 참고문헌

- [32] A. H. Zewail, Angew. Chem. 112, 2688 (2000).
- [33] J. Itatani et al., Nature 432, 867 (2004).
- [34] A. Casvalleri et al., Phys. Rev. Lett. 87, 237401 (2000).
- [35] H. Ihee et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 102, 7145 (2005).
- [36] F. Schotte et al., Science 300, 1944 (2003).
- [37] H. Ihee et al., Science 309, 1223 (2005).
- [38] J. H. Lee et al., J. Am. Chem. Soc. 103, 5834 (2008).
- [39] M. Cammarata et al., Nat. Methods 5, 881 (2008).
- [40] W. Gawelda et al., Phys. Rev. Lett. 98, 057401 (2007).
- [41] C. Bressler et al., Science 323, 489 (2009).
- [42] L. X. Chen et al., J. Am. Chem. Soc. 129, 9616 (2007).
- [43] R. Tatchyn et al., Nucl. Instrum. Methods A375, 274 (1996).
- [44] R. W. Schoenlein et al., Science 287, 2237 (2000).
- [45] A. Casvalleri et al., Phys. Rev. Lett. 95, 067405 (2005).
- [46] D. M. Fritz et al., Science 315, 633 (2007).
- [47] A. M. Lindenberg et al., Science 308, 392 (2005).
- [48] K. J. Gaffney et al., Phys. Rev. Lett. 95, 125701 (2005).
- [49] C. Gahl et al., Nat. Photonics 2, 165 (2008).