

XRD

고압력 X-선 단백질 결정학

DOI: 10.3938/PhiT.24.044

김 채 운

High-Pressure X-ray Protein Crystallography

Chae Un KIM

High-pressure X-ray protein crystallography is a combination of high-pressure techniques and X-ray protein crystallography. In this review, we begin with the high-pressure techniques, which are now maturing for practical applications. This is followed by their scientific applications, ranging from probing high-energy intermediate structures of proteins to studying water-protein interactions at cryogenic temperatures.

들어가는 글

1895년 Wilhelm Röntgen에 의해서 X-선이 처음으로 발견된 이후, 그 우수한 투과성과 회절성으로 인해, X-선은 기초과학인 물리, 화학, 생물학뿐만 아니라, 공학, 의학 등의 광범위한 연구 영역에서 중요한 도구로 자리잡아왔다. 특히 구조 생물학 분야에서 X-선 결정학은 매우 중요한 위치를 차지하고 있는데, 이는 현재까지 알려진 3차원 단백질의 구조 중 약 95% 정도가 X-선 단백질 결정학에 의해 풀려졌다는 점에서 명확히 알 수 있다. 또한 2000년 이후 수여된 노벨 화학상 중 3개가 X-선 단백질 결정학 분야에서 배출되었다는 점에서 그 학문적 위상을 가늠해 볼 수 있다. 1958년 John Kendrew에 의해서 myoglobin의 3차원 구조가 밝혀진 이후, X-선 단백질 결정학은 이론적, 기술적으로 폭발적인 성장을 해 왔으며, 현재에는 상당부분에 있어서 성숙기에 접어든 상태이다. 이번 기고에서는 X-선 단백질 결정학의 한 분야로서 물리학자들의 기여로 새로운 연구 분야로 성장하고 있는 고압력 X-선 단백질

저자약력

김채운 교수는 코넬 대학 박사학위를 취득하고(2008년), 현재 유니스트 물리학과 조교수로 재직 중이며 High Pressure X-ray Science 실험실을 운영하고 있다(홈페이지: hiprex.unist.ac.kr).

결정학에 대해서 기술해 보고자 한다.

고압력 X-선 단백질 결정학이란 기존의 X-선 단백질 결정학과 고압(1,000~10,000 기압)기술을 결합한 기법을 일컫는다. 1914년 Percy Bridgman이 계란의 투명한 흰자에 고압력을 가하자 불투명한 흰색의 고체 상태로 변성이 일어남을 관찰한 것을 시초로 고압 생물학(High-pressure Biology)이 태동하였다. 그 이후, 압력이 분자생물학적 시스템(예를 들면 단백질)의 기능에 다양한 영향을 줄 수 있다는 것이 보고되었다.^[1] 단백질의 경우, 그 기능은 단백질의 3차원 구조와 밀접한 연관이 있기에, 압력 하에서 일어나는 단백질 기능의 변화를 이해하기 위해서는 단백질 구조의 변화를 정확히 측정하는 것이 필수적이다. 이를 연구하기 위해서 개발된 기법이 고압력 X-선 단백질 결정학이다.^[2,3] 고압력 X-선 단백질 결정학은 지난 10여 년 동안 많은 기술적 진보를 이루어 왔으며, 원래의 연구 목적인 고압에서의 단백질 구조 변화 분석 이외에도 다양한 방면에서 기술적, 과학적 응용이 가능하다는 것을 보여주었다.

고압력 X-선 단백질 결정학의 기술적 방법

고압력 X-선 단백질 결정학에서 사용되는 고압력의 기법은 크게 상온 고압력 기법과 고압력 냉각 기법으로 구분될 수 있다. 상온 고압력 기법은 단백질 결정에 수천기압에 달하는 압력을 가하고, 그 압력을 유지한 채로 X-선 결정학 실험을 행하는 것으로, 이 모든 과정이 상온(~20 °C)에서 이루어진다. 이 상온 고압력 기법은 온도를 상온으로 고정할 때 압력만을 바꾸어가면서 결정학 실험을 진행하기에, 압력의 변화에 따른 단백질 구조의 변화 등을 연구하는데 매우 효과적인 방법이다. 상온 고압력 기법은 X-선 빔라인 상에서 단백질 결정에 가해지는 압력을 유지시킬 필요가 있는데, 이를 위해서 Beryllium

REFERENCES

- [1] V. V. Mozhaev *et al.*, *Proteins* **24**, 81 (1996).
- [2] R. Fourme *et al.*, *Annu. Rev. Biophys.* **38**, 153 (2009).
- [3] M. D. Collins, C. U. Kim and S. M. Gruner, *Annu. Rev. Biophys.* **40**, 81 (2011).

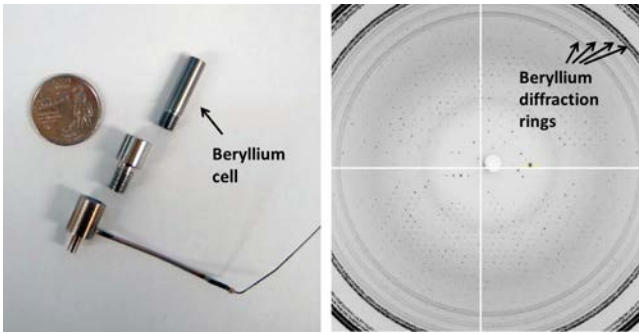


Fig. 1. (Left) Beryllium cell for high-pressure X-ray crystallography. (Right) Typical X-ray diffraction image of Beryllium cell. On top of the crystal Bragg diffraction spots, Beryllium power rings are visible in the high resolution area. Figures are adapted from References 4 and 5.

cell^[4,5]이나 diamond anvil cell^[6] 등을 이용한다. Beryllium(원자번호 Z=4)은 상온에서 단단한 고체 상태로 존재하는 낮은 원자번호(Z=4)의 물질이다. 이 낮은 원자 번호로 인해, 단위 원자 개수 당 전자의 개수가 다른 무거운 금속에 비하여 적게 되며 따라서 X-선의 투과율이 뛰어나게 된다. 이러한 이유로 Beryllium으로 고압 cell을 제작하게 되면, 압력을 유지할 수 있으면서도 X-선에는 상대적으로 투명한 샘플 cell이 되는 것이다. 하지만 Beryllium cell은 가시광선 영역에서 불투명하기에 단백질 결정을 cell 내부에 집어넣고 난 이후 샘플과 X-선을 정렬하는 것에 상당한 노력이 필요하며, X-선 회절 이미지 상에서 2.3 Å에 해당하는 영역부터 강한 powder diffraction ring을 생산해 내기에, high resolution 결정학 데이터를 받아 내기에 한계가 있다(그림 1). 또한 Beryllium 자체의 독성으로 인해 cell을 다루는데 있어서 세심한 주의가 필요하다.

상온 고압력 기법 중에서 diamond anvil cell을 이용한 방법은 diamond의 우수한 강도와 탄소 원자(원자번호 Z=6)의 상대적으로 높은 X-선 투과율을 이용하는 방법으로, Beryllium cell로 가할 수 있는 압력의 한계(약 2000 기압)보다도 훨씬 높은 압력(10,000 기압 이상)을 가할 수 있고, diamond의 특정 powder diffraction ring이 없어서 Beryllium cell에서는 얻을 수 없는 high resolution 결정학 데이터를 얻을 수가 있다. 또한 diamond는 광학적으로 투명하기에 단백질 결정과 X-선의 정렬도 용이한 장점이 있다(그림 2). 하지만 diamond anvil cell은 diamond window의 좁은 aperture를 통해서만 단백질 결정에 X-선을 조사할 수 있어서 단백질 구조 분석에 필요한 모든 결정학 데이터를 하나의 단백질 결정으로부터 받기에는 한계가 있다(그림 2). 또한 diamond에서 발생하는 후방 X-선 산란으로 인해 X-선 데이터 상의 background가 높아지게 되어, X-선 결정학 Bragg diffraction의 signal/noise가 상대적으로 미약해지는 단점이 있다. 이를 극복하기 위해서 diamond anvil cell을 이용한 고압력 실험은 통상적으로 단백질 결정학을 위해서 사용되는 X-선 에너지 영역(~ 12.4

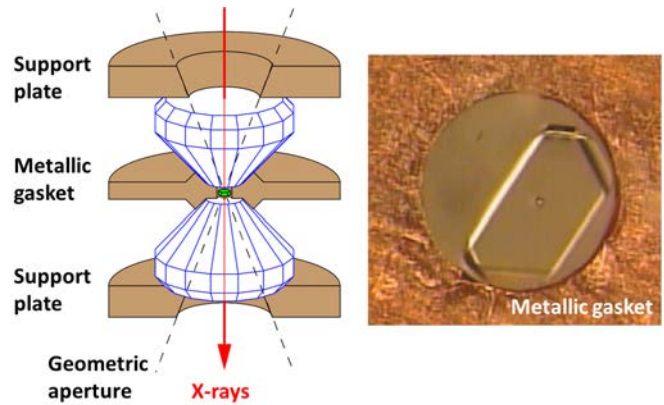


Fig. 2. (Left) Schematic description of a diamond anvil cell. (Right) A urate oxidase crystal loaded in the diamond anvil cell gasket (adapted from Reference 6 with copyright permission from IUCr).

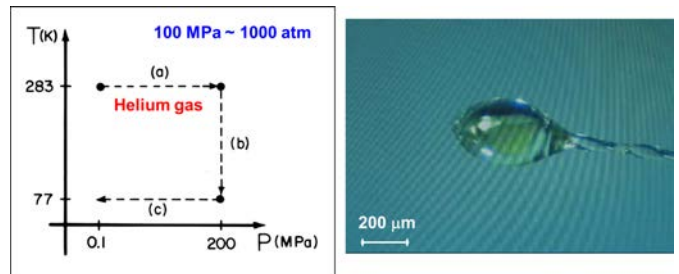


Fig. 3. (Left) Schematic diagram of high-pressure cryocooling (adapted from Reference 7). (Right) An example of high-pressure cryocooled crystal mounted in an X-ray beamline. Once frozen, the crystal can be handled at ambient pressure and the pressure effects captured inside the crystal can be maintained as long as the crystal temperature is kept below 110 K.

keV, 혹은 ~ 1 Å 파장)보다도 훨씬 높은 고에너지 영역(>30 keV, 혹은 < 0.4 Å 파장)에서 진행될 필요가 있다.

고압력 냉각 기법(high-pressure cryocooling method)은 1973년 Thomanek에 의해 처음으로 선보여진 뒤, 2005년에 이르러 Cornell group에 의해 완성이 된 기법이다.^[3,7] 고압력 냉각 기법에서는 헬륨 기체를 이용하여 단백질 결정에 고압을 가한 후 (2000에서 4000기압 사이), 고압을 유지한 채로 단백질 결정을 액체질소 온도(-196 °C)로 급속 냉각시킨다. 그 이후, 액체질소 온도에서 1기압으로 감압을 하게 된다(그림 3). 이러한 과정을 통하여, 압력의 효과가 극저온에서 단백질 결정 안에

REFERENCES

[4] B. Barstow, Direct correlation of protein structure and function using high-pressure x-ray crystallography, PhD Thesis, Cornell University (2009).
 [5] M. Collins, High-pressure x-ray crystallography and core hydrophobicity of T4 lysozymes, PhD Thesis, Cornell University (2006).
 [6] E. Girard *et al.*, J. Appl. Cryst. **40**, 912 (2007).
 [7] C. U. Kim, R. Kapfer and S. M. Gruner, Acta Cryst. D **61**, 881 (2005).

가두어지게 된다. 상온 고압력 기법에 비하여 고압력 냉각 기법은 X-선 결정학 실험을 수행할 때, 고압을 유지할 필요가 없어서 결정학 데이터의 수집이 매우 용이하며, 고압 cell로부터 생성되는 불필요한 X-선 산란이 없어, 단백질 결정이 허락하는 최고 해상도의 X-선 결정학 데이터를 받을 수 있다. 또한 상온 고압력 기법은 압력에 따른 단백질 구조의 변화 연구에 한정되어 사용될 수 있는 것에 반해 고압력 냉각 기법은 보다 다양한 연구 분야에 유용하게 적용이 될 수 있다. 다음에는 이러한 고압력 기법들을 이용한 고압력 X-선 단백질 결정학의 주요 연구 분야들을 소개한다.

고압력 X-선 단백질 결정학을 이용한 연구

1. 단백질의 Energy Landscape 연구

단백질은 세포 내의 DNA 유전 정보로부터 만들어지는 거대 분자로서, 특정한 3차원 상의 구조를 유지하면서 세포 내에서 여러 가지 주어진 특징적인 역할을 수행한다. 단백질의 3차원 구조와 활동성은 물리적으로 Energy Landscape의 개념 위에서 설명될 수 있다. 단백질이 3차원 공간상에서 활발한 움직임을 보이는 동안, 각기 조금씩 다른 구조를 conformational coordinate로써 기술할 때, 서로 다른 conformational coordinate는 물리적 관점에서 각기 다른 Gibbs free energy를 가지게 된다. 이 Gibbs free energy를 conformational coordinate의 함수로 기술한 것이 Energy Landscape이다(그림 4). Energy Landscape 상에서 국소적 최소값(local minima)은 국소적으로 안정한 단백질의 구조의 에너지에 해당하며, 가장 낮은 에너지의 구조가 가장 안정된 단백질의 구조(native structure)가 된다. 단백질은 상온에서 가장 안정된 구조를 중심으로 활발한 구조적 변화를 보이는데, 이 구조적 변화가 가장 안정된 구조와 주변의 준안정 구조들(intermediate structures)간의 전이로 설명되어진다. 이러한 전이는 단백질의 활동성과 기능을 이해하는데 매우 중요하며, 따라서 준안정 구조를 이해하는 것은 단백질의 활동성과 기능을 이해하는데 매우 중요하다. 하지만 상온에서 단백질의 준안정 구조는 가장 안정된 구조에 비해서 상대적으로 낮은 확률로만 존재를 하며, 끊임없이 안정된 구조와 전이를 하기 때문에 준안정 구조의 분석은 가장 안정된 구조의 분석에 비해 기술적으로 어려움이 있어 왔다.

한 가지 주목할 일반적인 사실은, 단백질이 물에 녹은 상태에서 차지하는 부피를 지칭하는 단백질의 유효 부피(effective volume)는 단백질의 구조가 안정화될수록 커진다는 점이다.^[8] 이는 단백질의 가장 낮은 에너지 상태가 3차원적으로 접힘(folding)이 가장 많은 구조에 있게 되고, 접힘이 많을수록 단백질 내부 구조에 아무것도 들어 있지 않은 빈공간이 많이 생

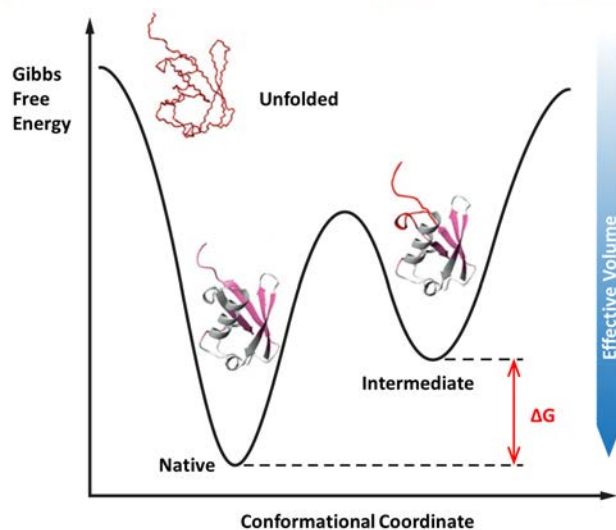


Fig. 4. Schematic representation of energy landscape (modified from Reference 8). Note that the intermediate structure has a smaller effective volume than the native structure. Therefore, the intermediate structure can be more stabilized under pressure.

기게 됨을 감안하면 직관적으로 이해될 수 있다. 다시 말해서, 가장 안정된 구조가 에너지가 높은 준안정 구조에 비해서 유효 부피가 크다는 것이다. 이렇게 유효 부피가 차이가 나는 단백질의 구조들에 압력이 가해지게 되면, $P\Delta V$ (P 는 가해진 압력, ΔV 는 가장 안정된 구조와 준안정 구조의 유효 부피의 차이) 만큼 준안정 구조의 에너지 준위가 상대적으로 낮아지게 되고, 따라서 준안정 구조가 1기압에서의 가장 안정된 구조보다도 더욱 안정화될 수 있다. 예를 들어, 20 °C에서 안정 준위와 준안정 준위의 에너지 차이(ΔG)가 2 kcal/mole이며, 유효 부피의 차이(ΔV)가 -50 ml/mole인 단백질의 경우, 1 기압에서는 준안정 구조의 비율이 3% 정도로 안정 구조에 비하여 미약하지만, 4000 기압에서는 약 83% 정도로 두드러지게 된다.^[2] 이에 기초하여 고압력 X-선 단백질 결정학에서는 1기압에서는 안정화되기 힘든 준안정 상태의 단백질 구조를 안정화 시킴으로써 그 구조의 분석이 직접적으로 가능하다는 점에서 기존의 X-선 단백질 결정학의 기법과 차별화된다.

예를 들어, T4 lysozyme(박테리아의 세포벽을 분해하는 단백질)의 경우, Beryllium cell을 이용한 상온 고압력 기법을 사용하여, 압력이 높아질수록 단백질 구조의 비어있는 내부에 물 분자가 협동적으로 침투하는 것을 관측함으로써, 고압력 하에서 일어나는 단백질의 풀림(unfolding) 현상에 대한 이론적 해석에 결정적인 증거를 제공하였다.^[9] Citrine(노란색을 내는 형

REFERENCES

- [8] R. Fourme, E. Girard and K. Akasaka, *Curr. Opin. Struct. Biol.* 22, 6363 (2012).
- [9] M. D. Collins *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102, 16668 (2005).

광 단백질의 일종의 경우에는, 고압력 냉각 기법을 사용하여, 고압력 하에서 관측된 Citrine의 형광 스펙트럼의 red-shift가 단백질 내부에 존재하는 발색단(chromophore)의 구조적 비틀림에 의해 일어난다는 것을 원자 레벨에서 규명을 하였다.^[10] 참고로 단백질 결정 내부에서 일어나는 압력에 의한 단백질 구조의 변화는 통상적으로 미세하게 일어나기 때문에 실험 결과에 대한 정교한 분석이 필요함을 유의하여야 한다.

2. 단백질 결정 냉각법으로의 응용

X-선 단백질 결정학 기법을 이용하여 단백질의 3차원 구조를 풀어내기 위해서는, 우수한 단백질 결정이 필수적이다. 단백질의 발현과 정제, 결정화 과정을 통하여 우수한 단백질 결정이 길러지게 되면, 높은 해상도의 X-선 결정학 데이터를 받아내는 과정이 그 다음으로 필요하다. 하지만 단백질 결정은 X-선에 매우 민감해서, 구조해석에 필요한 데이터를 받기 전에 쉽게 손상이 된다. 단백질 결정이 X-선 손상을 입게 되면 점진적으로 X-선 데이터의 해상도가 낮아지게 되어, 결국 구조해석이 불가능해지게 되거나 필요한 해상도로 구조 분석을 할 수 없게 된다. 현재 알려진 단백질 결정의 X-선 손상을 줄이는 방법 중에서 가장 효과적인 방법은 단백질 결정을 극저온(액체질소 온도, 약 $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$)으로 급속 냉각시키는 것이다. 이렇게 단백질 결정이 낮은 온도로 얼려지게 되면, X-선에 의해 단백질 결정 내에서 발생하는 불안정한 라디칼의 확산을 막을 수 있게 되어, 단백질 결정의 수명이 100배에서 1000배가량 늘어나게 된다고 알려져 있다. 이러한 이유로 현재 X-선 단백질 결정학 실험의 대부분 (90% 이상)이 극저온에서 진행되고 있다.

하지만 단백질 결정을 극저온으로 냉각시키는 과정은 특별한 주의를 필요로 한다. 단백질 결정은 단백질 분자들이 규칙적으로 배열이 되면서 만들어지는데, 이때 단백질 분자들 사이의 빈 공간은 물 분자들로 채워지게 된다. 단백질 결정 내의 물의 함량은 단백질 결정의 종류에 따라 다르며(일반적으로 30%에서 80% 정도 사이에 분포함), 평균적으로 약 50% 정도의 물을 함유하고 있다. 단백질 결정이 극저온으로 냉각될 때, 많은 경우 결정 내의 물 분자들이 결정화되면서 단백질 결정을 손상시키게 된다. 따라서 단백질 결정을 극저온으로 냉각시킬 때에는 내부의 물이 결정화되지 않도록 하는 것이 매우 중요하다. 현재 가장 보편적으로 사용되는 방법은 단백질 결정 내부에 글리세롤 등의 화학적 결정화 방지제(chemical cryoprotectants)를 주입하는 것이다. 이 방법을 통하면 단백질 내부에 함유된 물의 점도(viscosity)가 높아져서 물의 결정화가 억제된다. 하지만 결정화 방지제를 찾는 것 또한 특별한 주의를 필요로 한다. 단백질 결정은 보통 좁은 범위의 물리적, 화학적 조건에서 길러지게 되며, 이 조건에서 벗어나게 되면 생성된 단

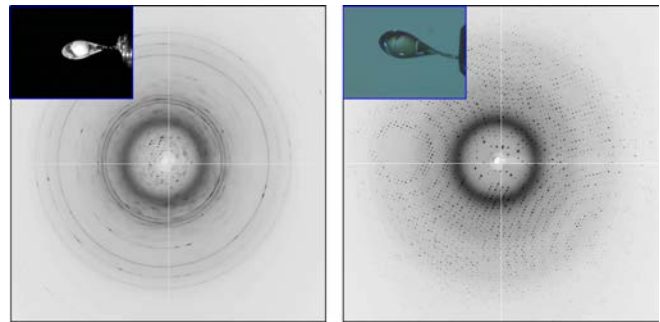


Fig. 5. Glucose Isomerase crystals frozen by flash-cooling method at ambient pressure (Left) and by high-pressure cryocooling (Right) (Adapted from Reference 7). Note that the high-pressure cryocooled crystal looks clear and crystalline ice rings are suppressed with superior crystal Bragg spots.

백질 결정에 손상이 일어나게 된다. 아직까지 특정 단백질 결정을 손상시키지 않으면서 최적화된 결정화 방지제를 찾는 방법은 그 원리와 규칙이 명확하게 규정되어 있지 않은 상태이며, 따라서 어떤 경우에는 오랜 시간 동안 노력을 기울이더라도 단백질 결정에 최적화된 조건을 찾지 못하는 경우도 있다.

이와는 다르게, 고압력 X-선 단백질 결정학의 고압력 냉각 기법을 사용하게 되면, 화학적 결정화 방지제를 첨가하지 않고도, 물의 결정화를 억제시키면서 단백질 결정을 성공적으로 냉각시킬 수 있음이 밝혀졌다(그림 5).^[7,11] 고압력 냉각 기법은 보통 2000기압에서 단백질 결정을 냉각시키게 되는데, 가해진 압력이 물의 결정화 방지제의 역할을 하게 된다. 현재 이 방법은 여러 다른 단백질 결정들에 성공적으로 적용이 되었을 뿐만 아니라,^[12,13] Krypton이나 Xenon을 이용한 Diffraction Phasing 기법과도 결합이 가능해진 상태이다.^[14,15]

3. 극저온에서 물의 상전이와 물-단백질의 상호작용 연구

위에서 기술하였듯이, 단백질 결정이 2000기압에서 극저온으로 냉각되면, 단백질 결정 내부의 물은 결정화 과정을 피할 수 있다. 흥미로운 사실은, 단백질 결정이 고압력 냉각 기법에 의해 얼려지게 되면, 그 내부의 물은 상온의 액체상태의 물보다 훨씬 무거운 고밀도 비결정(high-density(1.17 g/cm^3) amorphous: HDA) 상태로 변환된다는 점이다. 단백질 결정의 좁은

REFERENCES

- [10] B. Barstow, N. Ando, C. U. Kim and S. M. Gruner, Proc. Natl. Acad. Sci. USA **105**, 13362 (2008).
- [11] C. U. Kim *et al.*, J. Appl. Cryst. **46**, 234 (2013).
- [12] R. A. Albright *et al.*, Cell **126**, 1147 (2006).
- [13] A. V. Toms *et al.*, Nat. Struct. Mol. Biol. **20**, 1221 (2013).
- [14] C. U. Kim, Q. Hao and S. M. Gruner, Acta Cryst. D **62**, 687 (2006).
- [15] C. U. Kim, Q. Hao and S. M. Gruner, Acta Cryst. D **63**, 653 (2007).

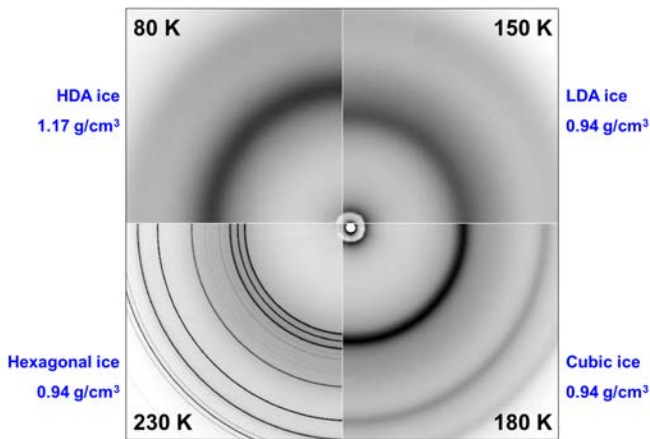


Fig. 6. X-ray diffraction images of a high-pressure cryocooled aqueous solution. Upon warming, water phase transforms from HDA to LDA, cubic, and hexagonal ice (Modified from Reference 16).

내부(지름 2–4 nm)에서 갇힌 물(confined water) 뿐만 아니라, bulk 상태의 물도 고압력 냉각 기법에 의해 얼려지게 되면 HDA로 변하게 됨이 X-선 회절법을 통하여 보고가 되었다.^[16] 이 HDA 상태의 물은 1 기압, 77 K에서 준안정(metastable) 상태에 있다고 알려져 있는데, 온도를 올리게 되면 110–130 K 부근에서 보다 안정한 상태인 저밀도 비결정(low-density (0.97 g/cm³) amorphous: LDA) 상태로 상전이가 일어난다. 그리고 160 K 이상에서는 cubic phase와 hexagonal phase라 불리는 결정 상태(crystalline phase)의 물로 변화하게 된다(그림 6).

극저온에서의 HDA와 LDA에 대한 연구는 전 세계적으로 많은 물리 화학자들에 의해서 매우 심도있게 연구되고 있는 주제로서, 특히 최근에 HDA-LDA의 상전이 중에 액체 상태의 물이 존재할 수 있다는 실험 결과들이 나오고 있다.^[17–19] 이러한 관측은 120 K 부근에서 액체 상태의 물이 존재함을 예측하는 것으로서, 물의 과냉각 상태의 최저 한계온도(homogeneous nucleation temperature)가 1기압에서 약 230 K임을 생각할 때, 매우 놀라운 현상이다. 하지만 이는 이론적으로 예측이 되어 있는 상태이며, 과냉각 상태에 있는 물의 특이한 물리적인 성질(예를 들어, 물의 isobaric heat capacity나 isothermal compressibility가 물의 과냉각 영역에서 발산하는 것처럼 보이는 현상 등)을 설명하기 위해 제시가 된, 물의 제2차 임계점(2nd critical point)의 존재와 밀접한 관련이 있다.^[20] 물의 제2차 임계점을 예측하는 이론은 극저온의 온도에서 고밀도 상태의 물(High-density liquid, HDL)과 저밀도 상태의 물(Low-density liquid, LDL)이 각각 존재하며 그 둘 사이는 first order phase transition으로 분리되어 있다고 예측한다. 이 이론에 따르면 실험적으로 관측이 되는 HDA와 LDA는 HDL과 LDL이 유리화된 상태(glass state)이다.

고압력 X-선 단백질 결정학의 고압력 냉각 기법을 사용하게

되면, 단백질 결정 내부의 물이 HDA에서 LDA로 상전이가 일어나는 동안 단백질의 활동성이 어떻게 변화하는지 직접적으로 관측을 할 수 있다. 물리화학적으로 단백질의 활동성은 단백질 자체의 고유한 특성이 아니라, 단백질 분자와 단백질 주위의 물의 상호 작용에 기인한다. 흥미롭게도, 모든 수용성 단백질은 220 K 부근에서 활동성에 급격한 변화를 겪는다고 알려져 있다. 220 K 아래에서는 낮은 활동성과 함께 단백질의 기능이 상실되었다가, 220 K 위에서는 단백질의 활동성이 급격히 증가하며, 단백질의 기능이 회복되는 것이 관측된 것이다.^[21] 이와는 다르게 고압력 냉각 기법에 의해 냉각된 단백질 결정 안에서는 HDA에서 LDA로의 물의 상전이가 일어날 때 단백질의 활동성이 급격히 증가한다는 새로운 사실이 발견되었다.^[22] 이 때의 온도는 110 K 부근으로, 기존에 알려진 온도인 220 K 보다는도 100 K 이상 낮으며, 전 세계적으로 보고된 단백질이 활동성을 나타낼 수 있는 온도 중에서 가장 낮은 온도이다. 이렇게 고압력 냉각 기법과 결합한 X-선 단백질 결정학을 통하여, 기존에는 불가능하게 여겨졌던 극저온에서의 물과 단백질의 상호작용에 관한 연구가 가능해지게 되었다.

나오는 글

고압력 X-선 단백질 결정학은 고압력 기법과 X-선 단백질 결정학이 결합된 X-선 회절 기법으로, 단백질의 준안정 구조의 분석, 단백질 결정의 냉각, 극저온에서의 물-단백질의 상호 작용 연구 등, 기존에는 어려웠거나 불가능했던 연구를 가능하게 해준다. 지난 10여 년간 고압력 X-선 단백질 결정학은 기술적으로 많은 진보를 이루어 냈으며, 현재는 고압력 기술에 익숙하지 않은 일반 X-선 이용자들도 비교적 쉽게 이용을 할 수 있을 정도로 기술적으로 성숙기에 접어든 상태이다. 향후 고압력 X-선 단백질 결정학의 고압력 냉각 기법은 제4세대 방사광 가속기를 이용한 연구 분야 중의 하나인 biological coherent X-ray imaging의 바이오 샘플 냉각 기법 등으로 확장되어 응용될 수 있을 것으로 기대된다.

REFERENCES

- [16] C. U. Kim, Y.-F. Chen, M. W. Tate and S. M. Gruner, *J. Appl. Cryst.* **41**, 1 (2008).
- [17] C. U. Kim, B. Barstow, M. W. Tate and S. M. Gruner, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **106**, 4596 (2009).
- [18] K. Amann-Winkel *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **110**, 17720 (2013).
- [19] C. U. Kim, M. W. Tate and S. M. Gruner, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, in press (2015).
- [20] O. Mishima and H. E. Stanley, *Nature* **396**, 329 (1998).
- [21] D. Ringe and G. A. Petsko, *Biophys. Chem.* **105**, 667 (2003).
- [22] C. U. Kim, M. W. Tate and S. M. Gruner, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **108**, 20897 (2011).