

細胞内の 물의 狀態

姜 思 旭
서울大 自然大 微生物學科

물分子的 一般的 性質

지금까지 알려진 지식으로는 온 宇宙空間에 存在하는 生物體 (organism)는 炭素를 근간으로 이루어져 있으며, 물이라는 간단한 화합물이 주류를 이루는 環境속에서 변형되었고 進化되어 왔다. 이렇게 볼 때 물分子가 生物體를 이루는 여러가지 化合物, 또는 細胞, 組織들과 복잡 미묘한 상호관련성을 맺고 있다는 사실이 그리 놀랄만한 것이 아닐 수도 있다.

오늘날 生化學的인 方法論은 分子水準에서 生命體를 이해하려는 노력을 끊임없이 시도하고 있으나, 生物物理學的 立場에서는 生化學이 시도해 온 生物體의 構造의 사실에 덧붙여, 그 物質들의 力動的 現象을 주도면밀하게 관찰하려는 바, 그 物質들이 表現하고 있는 行動의 영역인 環境의 가장 중요한 物質로서 물의 존재를 생각해 한다.

물이란 生命을 지속시키는 生命의 媒質로서, 多角的인 面에서 그 性質이 제한성을 갖는 독특한 液體이다. 물은 生命物質의 입장에서 볼 때, 生合成, 生命物質의 分解過程등, 제반 物質代謝에 있어서 酵素 촉매작용의 중심적인 역할을 담당하고 있으며, 특히 光合成에서는 陽性子和 電子를 供給하는 物質로도 작용한다.

물의 가장 중요한 성질의 하나는 溶媒作用 (solvation)이라고 말할 수 있다. 수많은 代謝物, 영양물, 노폐물, 저장물, hormones 등을 용해시킬 수 있는 능력은 細胞를 통해, energy와 情報를 전달할 수 있는 기초를 형성하고 있다. 다시 말하자면, 물은 細胞外環境과 細胞內環境을 연결시키고 細胞質과 酵素들을 연결시켜 주고 있다.

수많은 실험 사실에 근거해 볼 때 물의 기능이란 좋은 溶媒로 표현될 수 있지

만, 보다 폭넓은 의미에서 볼 때, 물보다 더욱 많은 물질들을 용해시킬 수 있는 용매들이 많이 존재한다. 다시말해서 물은 특정한 分子種에 대해서는 극히 좋지 못한 용매로 작용하고 있으며, 이러한 사실이 세포가 선택적인 장벽을 가지고서 존재할 수 있고, 부분적인 閉鎖系로 작용할 수 있는 기초를 마련해 주고 있다. 생물체의 행동을 반영하는 기계적 energy 전달물질이나, 여과에 관여하는 물질들은 물에 녹아서는 안 될 것이다. 이러한 물질들이 서로 연관성을 맺고 계속적으로 그 안정성을 유지하기 위해서는 물이 좋은 용매로서가 아니라 좋지 못한 용매로서 그 活性을 보여 주어야 한다.

오늘날 많은 연구가 이루어지고 있는 生體高分子物質들, 특히 DNA globular proteins, lipids 들이 갖고 있는 構造와 機能은 용매로 작용하는 물의 相反의 인 두가지 성질인 좋은 용매와 좋지 못한 용매의 성질사이에서 극히 미묘하게 평형을 이루면서 존재하고 있다.(1)

研 究 方 法

오늘날 물분자의 성질, 구조, 운동성등을 측정하기 위해서 여러가지의 물리적인 방법이 이용되고 있다. 생물체에서 熱力學的인 물분자의 성질을 이해하기 위해서 증기압 측정, 열량계에 의한 빙점, 비열의 측정, 삼투압 측정등이 이용되고, 또한 생물체에서 물분자의 구조를 이해하기 위해서 X-ray scattering, 적외선스펙트럼분석법 (Infrared spectroscopy), 核磁共鳴스펙트럼분석법 (Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, NMR) 등이 이용되고 있으며, 물분자의 운동성을 측정하기 위해 NMR, 電子스핀共鳴스펙트럼분석법 (Electron Spin Resonance Spectroscopy, ESR) 등의 방법이 이용되고 있다. 여러가지 생물재료에서 물의 상태를 엄밀하게 측정할 수 있는 가장 좋은 방법은 NMR로 오늘날 평가되고 있다. NMR이란 방법론의 가장 큰 장점은 resolution이 좋으며, 액체상태의 물질을 직접 측정할 수 있다는 것이다. NMR을 통해서 전체 물분자의 양을 결정할 수도 있으며, 특정한 물분자나 세포내의 물분자를 측정할 수도 있다.

물분자란 두개의 수소원자와 한개의 산소원자로 구성된 물질이기 때문에, 두 종류의 서로 다른 原子核 (atomic nucleus) 으로 되어 있다. 수소는 proton (^1H) deuterium (^2H), tritium (^3H) 등 세 종류의 핵스핀 (nuclear spin) 을 갖고 있는 동위원소가 존재하여 NMR의 방법으로 측정이 가능하다. 산소의 경우는 동위원소중 ^{17}O 만이 핵스핀을 가지고 있어서 이것만이 NMR로 측정이 가능하다. 그러나 자연계에 존재하는 물분자의 구성원 수소원자는 99.98%가 ^1H 으로 되어 있고 산소는 ^{17}O 이 오직 0.037% 뿐, 나머지는 핵스핀이 없는 동위원소로 되어 있어서, 다른 동위원소로 치환하지 않고 일반적으로 쉽게 사용되고 있는 것은 ^1H 이다. 실험목적상 ^2H 로 치환된 重水 (D_2O , $^2\text{H}_2\text{O}$) 나 三重水 (T_2O , $^3\text{H}_2\text{O}$) 등이 이용되기도 한다. 그러나 三重水는 放射性 物質이기 때문에 다루기 어려우나, 放射線生物學的 실험에 적용될 수 있을 것이기 때문에 개발되어 가고 있다.

물분자의 연구에서 가장 유용하게 사용되는 NMR parameter는 spin-lattice relaxation time인 T_1 과 Spin-spin relaxation time인 T_2 라고 할 수 있다.(2) 물분자에 대한 확산상수나 correlation times의 분포등은 바로 이 relaxation times으로부터 계산해 낼 수가 있다. 또한 ^1H , ^2H , ^{17}O 등의 relaxation 과정은 여러가지 요인에 의해 크게 영향을 받고 있기 때문에, 여러가지 系子 核들의 relaxation time을 비교 분석함으로써 물분자의 상태를 보다 더 명확하게 이해할 수 있다. Linewidth는 정상적인 steady-state spectrum을 가지고 쉽게 측정될 수 있다. 100 Hz 이상의 broad lines을 갖는 경우는 $T_2 \approx (2\pi \times \text{linewidth})^{-1}$ 의 관계식으로 개략적인 T_2 를 계산할 수 있다. 하지만, 믿을 만한 값은 pulse echo 방법을 사용해서 얻을 수 있다. 이렇게 해서 얻어진 relaxation time에 근거해서 확산상수나 Correlation time이 계산될 수 있는 바, 이는 곧 분자의 운동성을 예상할 수 있는 기초자료가 된다. 특히, Correlation time이란 충돌사이에 걸리는 시간을 의미하는 바, 분자의 운동능력을 평가하는 중요한 변수가 될 수 있다. 巨視的으로 볼 때나, 微視的으로 볼 때나 粘性을 한편으로 表現하고 있다.

물 분자의 一般的 狀態

生物體에서 물에 대해 이야기할 때는 일반적으로 生體高分子物溶液과 細胞의 두가지 수준에서 생각하게 된다. 本節에서는 주로 고분자물의 표면과 그 주위에 위치해서 상호작용을 강하게 나타내는 물분자에 대해 생각해 보겠다. 이 물분자들은 媒質을 이루는 물분자들과는 그 성질이 매우 달라서, 증기압이 낮으며, 운동성도 적고, 빙점강하가 크게 일어난다. (1) 이러한 물분자를 가리켜 bound water 라고 부르기도 한다. 그러나 이런 표현은 단지, 그 물분자의 행동에 근거해서 붙여진 것이다. 다시 말해, 측정방법에 따라 그것은 bound water의 성질을 갖지 않을 수도 있다. 또한 이러한 성질은 고분자물 표면으로부터 거리가 멀어질수록 연속적으로 적어지기 때문에 그 한계를 규정짓기가 어렵고, 실제로는 엄밀한 정의라고 볼 수는 없다. 그럼에도 오늘날 고분자물로 인해서 그 행동에 제한을 받는 물분자를 이와 같이 통상 부르고 있으며, 나머지 부분을 bulk water라고 말하고 있다.

NMR relaxation time에 근거해서 볼 때, 세가지 유형의 물분자를 생물체내에서 생각해 볼 수 있다. (2) 첫째는 bulk water로 high-frequency dielectric dispersion을 나타내어 Correlation time $\tau_c \sim 10^{-11}$ sec을 보이며, rotation, translation 등의 행동양상은 이들의 고분자물에 결합되어도 변화되지 않는다고 생각된다. 둘째는 bound water로 low-frequency dielectric dispersion ($\tau_c \sim 10^{-9}$ sec)을 갖고 high-frequency T_1 dispersion을 가지며, 이 물분자는 고분자물 표면과 상호작용할 때, rotation, 빙점들이 크게 변화하게 된다. 셋째는 irrotationally bound water로서 low-frequency T_1 dispersion ($\tau_c \sim 10^{-5} - 10^{-7}$ sec)을 가지고 있어 고분자물에서 보여지는 양상과 같다. 이 물분자는 microsecond 정도의 시간동안은 고분자물의 특정부위에 결합되어 고분자물과 같이 행동한다.

세포내의 물분자에 대해 설명할 때, 오늘날 두가지의 견해가 서로 대립되어 있다. 세포내에 존재하는 물분자들은 대부분이 정상적인 液體와 유사하다는 것이

그 하나이고, 다른 견해는 모든 물분자가 bound water 라는 것이다. (3,4) 이 견해들은 세포생물학에서 관찰되는 여러가지 생물학적 양상들을 서로 다르게 해석할 수 있다는 데서 중요성을 가지고 있다.

Hydration Water

생체고분자물은 그 주위에 물분자가 독특한 구조를 형성하도록 유도하는 성질이 있다. 이런 현상은 고분자물과 물분자 사이의 상호작용에 기인하는 바, 물분자의 dipole moment 가 상당히 큰 편이기 때문에, electrostatic forces 에 의해 용질과 상호작용을 갖게 될 뿐 아니라, 水素結合의 形成이 그 중요한 몫을 차지하고 있다. 그렇기 때문에 고분자물은 용액속에서 뿐 아니라, DNA, Collagen 같은 水化된 線狀物質, 세포, 조직, 생체막등의 생물학적 시료에서도 독특한 hydration layer 를 형성한다. Hydration layer 를 구성하고 있는 물분자들은 그 위치가 力動的으로 방향성을 갖게 되고, 운동에 제한을 받게 되며 고분자물과 물분자 사이의 상호작용에 의해서 물분자의 translation 이나 rotation 이 급격히 감소하게 된다. 그렇기 때문에 hydration water 는 bulk water 가 갖고 있는 빠르고 무질서한 행동과는 전혀 다른 행동을 취하고 있다. 더우기, hydration layer 에 있는 물분자의 행동은 단순히 분자 상호작용에 기인하는 것이 아니라, 다른 요인에 의해 영향을 받고 있다. 따라서 hydration water 가 갖고 있는 열역학적 양상, 역동적 양상, 구조적 양상등 세가지의 양상을 종합적으로 생각함으로써 비로소 hydration 이라는 현상을 정확히 기술할 수 있을 것이다. (5)

Hydration water 가 가지고 있는 일반적인 성질을 살펴보면 다음과 같이 정리해 볼 수가 있다. (6)

- ① 0°C 이상의 온도에서는 물분자의 translation 과 rotation 이 제한을 받고, -80°C 이하의 낮은 온도에서는 운동이 거의 정체상태에 들어 간다.
- ② 고분자물사슬의 입장에서 볼 때, H₂O 분자는 부분적으로 방향성을 갖는다.
- ③ 분자운동과 Correlation time (τ_c) 의 frequency 는 hydration layer 에 존

재하는 모든 분자에 비해 동일하지 않다. 이때 correlation times 이란 분자가 충돌하는 사이의 시간을 말하며, 앞에서 언급한 바와 같이 hydration layer 에서는 $10^{-5} \sim 10^{-9}$ sec, bulk water 에 대해서는 $\sim 10^{-11}$ sec 정도이다.

④ 고분자물의 사슬을 따라 anisotropic diffusion 이 일어나고 proton transfer 가 증진된다.

⑤ Anisotropic rotation 이 나타나고, 고분자물과 물분자의 상호작용때문에, H_2O 분자의 translation 과 rotation 이 decoupling 된다.

Hydration layer 에 있는 물분자의 proton 들은 고분자물사슬에서 $3-6A^\circ$ 정도 떨어져 있으며 (7), 물분자의 proton NMR relaxation 은 cross-relaxation effect 와 부합하고 있다. (8) 이는 물분자의 proton 과 고분자물의 proton 사이에서 spin 의 교환이 일어나고 있음을 의미한다. 이러한 현상들은 물분자들 몇몇이 단백질분자에서부터 수 A° 거리내에 고착되어 있음을 의미하고 있다.

Hydration 의 성질이 수많은 생물재료를 가지고 NMR 을 통해 이미 연구되어 왔다. 이 방법론을 토대로 해서 보면 그 재료들은 크게 두가지 군으로 분류될 수가 있다. (9) : randomly oriented systems 과 oriented samples 이 그것이다. Randomly oriented systems 이란, 고분자물 용액, 세포가 들어 있는 현탁액, 근육, 조직, 생체막 같은 것으로 냉동과 같은 낮은 온도에서 물분자의 proton 이나 deuteron resonance signals 이 단하나의 peak 을 보이는 재료이고, Oriented samples 이란 DNA 나 Collagen 같은 섬유상 물질들로 그 NMR spectra 가 단일의 broad resonance line 을 보이거나 두개의 line 으로 signal 이 분리되는 재료이다.

오늘날은 건강한 근육, 뇌조직같은 재료에서부터 종양을 가진 조직에 이르기 까지 동물성 재료들이 수없이 많이 연구되어 그 relaxation time 이 조직에 따라 차이를 보이고 있음을 알게 되었고 (9), 그외에도 식물재료와 미생물재료에 적용이 되어 가고 있다. 특이할 점은 Cell cycle 을 따라 relaxation time 이 크게 변화를 보이고 있다는 것이다. HeLa Cell 의 경우 restriction point 를 지나

G₁ Phase 가 진행되는 동안 물분자에 위치한 proton 의 spin lattice relaxation time 이 감소하고 S phase 에서 최저값을 가지며 S phase 후기부터 다시 증가해서 M phase 에 최대값을 갖는 것으로 보고 되었다. (10) 이것은 물론 DNA 합성의 정도와 연관되어 있을 것이며 세포의 성장과 분열이 고분자물의 구조적 변화를 의미한다. 그에 따라 물분자의 동적, 정적상태가 변화되고 있음을 의미한다.

參 考 文 獻

1. Kuntz, I. D. and W. Kauzmann, 1974, Adv. Protein Chem. 28:239
2. Cooke, R. and I. D. Kuntz, 1974, Ann. Rev. Biophys. Bioeng. 3 : 95-126
3. Ling, G., 1972, In Water and Aqueous Solutions, ed. R. A. Horne, 663-700, New York: Wiley-Interscience
4. Hazlewood, C. F., ed. 1973, Ann. New York Acad. Sci. 204:1-631
5. Berendsen, H.J.C., 1975, In Water : A Comprehensive Treatise, ed. F. Franks, Vol. 5, 293-349, New York ; Plenum Press
6. Mathur-de-Vré, R. and J. Binet, 1984, Prog. Biophys. molec. Biol. 43; 161-193
7. Clegg, J. S., 1982, In Biophysics of Water, ed. F. Franks, 365-383, New York ; John Wiley and Sons Ltd.
8. Eisenstadt, M., 1981, Biophys. J. 33: 469-474
9. Mathur-de-Vré, R., 1979, Prog. Biophys. molec. Biol. 35 : 103-134
10. Beall, P.T., C.F. Hazlewood and P.N. Rao, 1976, Science 192 : 904-907