

레이저를 이용한 단일 생체 분자의 관측 및 제어

Single-molecule detection and manipulation using a laser

홍 성 철*

서울대학교 물리.천문학부*

shohng@phy.snu.ac.kr

지난 십여 년 전부터 발전하기 시작한 홀분자 분광학 기술(single-molecule spectroscopy)은 나노미터 영역에서 일어나는 분자의 운동을 실시간으로 관찰할 수 있다는 장점 때문에 생체 분자의 자세한 작동열개를 이해하는데 큰 기여를 해 왔다. 이 논문에서는 분자생물학 연구에 큰 기여를 해온 중요한 홀분자 기술들을 소개하고자 한다.

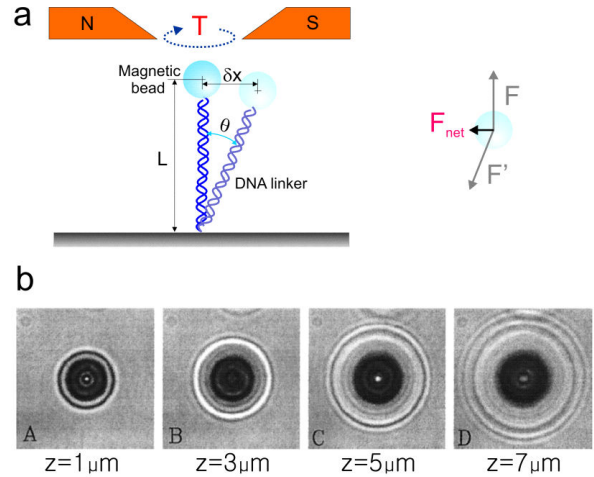
홀분자 분광학 기술 중 첫 번째로 소개할 것이 홀분자 프렛(FRET: Fluorescence Resonance Energy Transfer)이다. 프렛은 두 개의 형광 분자 사이의 근접장 상호 작용에 의해 일어나는 에너지 이동 현상을 말하는데 이 에너지 이동 효율이 두 분자 사이의 거리에 아주 민감하게 의존하기 때문에 두 분자의 형광 신호의 상대적인 세기를 비교함으로써 수 나노미터 영역에서 일어나는 나노미터 이하의 작은 거리 변화도 측정할 수 있다. 이러한 프렛의 특성을 이용하면 생체 분자의 모양 변화나 서로 다른 생체 분자 사이의 상호 작용을 연구할 수 있다. 백여 년 전부터 알려져 온 프렛 현상은 1996년 하택집 박사 등에 의해 홀분자 프렛이 실현됨으로써 다양한 생물학 문제에 이용되어 왔다[1]. 이것은 홀분자 프렛이 앙상블 프렛 실험과 비교하여 다음과 같은 장점들을 가지기 때문이다. 첫째, 생체 분자가 가지는 여러 가지 상태를 구별하고 각 상태의 분포를 그릴 수 있다. 둘째, 실시간으로 분자의 운동을 관찰할 수 있기 때문에 보다 정확한 분자의 작동 모델을 만들 수 있다. 최근 현광 분자의 광표백 문제(photobleaching)와 점멸 현상(blinking) 문제를[2] 완화시키는 방법의 발견과 함께 홀분자 삼색 프렛(single-molecule three-color FRET)과[3] ALEX(Alternating Laser Excitation)[4] 등 측정 기술 상의 발전에 힘입어 홀분자 프렛은 더욱 다양한 생물학 문제를 해결하는데 기여하리라 기대된다.

다음으로 소개할 피오나(FIONA: Fluorescence Imaging with One-Nanometer Accuracy) 기술은 근래에 홀분자 형광 분광학에서 큰 관심을 받고 있는 기술이다. 프렛의 경우 형광 신호의 밝기 정보를 이용하는데 비해 피오나 기술은 CCD 카메라 상의 단일 형광 분자의 이미지를 분석함으로써 형광 분자의 위치를 나노미터의 정확도로 결정하는 방법이다. 피오나 기술은 형광 이미지의 중심 위치 결정 오차는 수집하는 빛알(photon)의 수를 늘림으로써 얼마든지 줄일 수 있다는 원리에 바탕을 두고 있다. 실험적으로 Paul Selvin 그룹에 의해 처음으로 입증되었으며[5] 지금까지 moysin이나 kinesin 등의 다양한 운동 단백질의 운동 원리를 이해하는 연구에 주로 이용되어 왔다.

형광 분석 기술과 더불어 홀분자 분광학의 대표적인 기술이 생체 분자 하나를 역학적으로 조절하는 분자집게 기술이다. 그 중 광학집게는 1969년 벨 연구소에서 일하던 Ashikin이 강한 레이저 빛을 초점에 맞추으로써 마이크론 크기의 폴리스틸렌 입자를 포획할 수 있다는 발견에서부터 시작되었다.[6] 이렇게 포획된 입자를 생체 분자와 연결시키고 생체 분자에 피코 뉴턴 단위의 힘을 가하는 방법은 1990년대 중반 Carlos Bustamante 그룹과 Steven Block 그룹에 의해 개발, 발전되었다. 생체 분자에 가해지는 힘

은 포획된 입자와 표면에 고정된 생체 분자 사이의 거리를 변화시킴으로써 조절할 수 있다. 주로 DNA의 역학적 성질과 RNA 이차 구조의 풀림 현상 등이 주로 연구되어 왔고 kinesin, RNA polymerase 등 다양한 운동단백질 (motor protein)의 작동 열개를 이해하는 것도 주된 응용 분야였다. 광학 집게 기술은 그 동안 정밀도와 기기 안정성 면에서 발전을 거듭하여 충분히 강한 힘을 가한다면 (10 피코 뉴턴 이상) 나노미터 이하의 거리 변화까지 측정할 수 있는 단계에 이르렀다.

분자를 제어하는 기술 중 자기집게(magnetic tweezers) 기술은 광학집게 기술과 비교하여 위치 정밀도가 떨어지고 시간 분해능이 높지 않다는 단점이 있지만 손쉽게 토크를 가할 수 있다는 장점이 있다. 기술적인 발전은 주로 Bustamante 그룹과 David Bensimon 그룹에 의해 이루어졌다. 자기 집게의 작동 원리는 비교적 간단하다. 그림 1a에 보이듯이 자성 입자가 DNA에 의해 유리 표면에 연결되어 있다. 가해지는 힘 F 는 자석과 자성 입자와의 거리를 바꿈으로써 조절할 수 있다. 그림 1b에 보이듯이 DNA 길이는 높이에 따라 달라지는 자성 입자의 이미지를 분석함으로써 구할 수 있다. 자기집게는 DNA과도꼬임 (supercoiling) 현상과 topoisomerase의 작동 열개에 대한 연구에 주로 이용되어 왔지만 최근에는 RNA polymerase의 open complex 형성 과정 등으로 그 응용 분야가 점점 더 다양해지고 있다.[7]



C. Gosse & V. Croquette, *Biophys. J.* **82**, 3314 (2002).

그림 1 자기집게의 원리

[참고문헌]

[1] T. Ha et al. Probing the interaction between two single molecules: fluorescence resonance energy transfer between a single donor and single acceptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 93, 6264–6268 (1996).

[2] I. Rasnik et al. Nonblinking and long-lasting single molecule fluorescence imaging. *Nature Methods* 3, 891–893 (2006).

[3] S. Hohng et al. Single-molecule three-color FRET. *Biophys. J.* 87, 1328–1837 (2004).

[4] A. N. Kapanidis et al. Fluorescence-aided molecule sorting: analysis of structure and interactions by alternating-laser excitation of single molecules. *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.* 101, 8936–8941 (2004).

[5] A. Yildiz et al. Myosin V walks hand-over-hand: Single fluorophore imaging with 1.5 nm localization. *Science*, 300, 2061 (2003).

[6] A. Ashikin, acceleration and trapping of particles with radiation pressure. *Phys. Rev. Lett.* 24, 156–159 (1970).

[7] A. Revyakin et al. Promoter unwinding and promoter clearance by RNA polymerase: detection by single-molecule DNA manipulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 101, 4776–4780 (2004).