

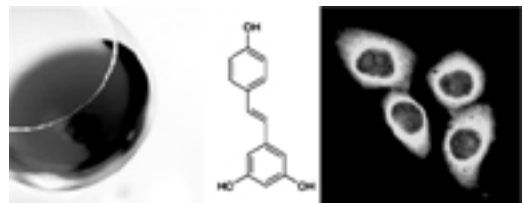
과학동향

유전자 융합방법을 이용한 효모와 포유동물세포에서의 Resveratrol 의 생합성

Resveratrol(trans-3,5,4'-trihydroxystilbene)은 적포도주에 많이 존재하는 물질로서, 현재까지 알려진 바로는 몇 종류의 식물체들이 생산하는, 심혈관계질환에 유용하게 사용되는 물질이다. 또한 효모, 초파리, 그리고 어류를 이용한 모델연구의 결과 Resveratrol이 생명체의 평균수명을 증가시킨다는 것이 알려져 있다. 이러한 resveratrol 의 생화학적 대량 생산을 위하여 현재 세가지 종류의 효소들, 즉 tyrosine ammonia lyase (TAL), 4-coumarate CoA-ligase (4CL), 그리고 stilbene synthase (STS) 이 분리 동정되었다. 우선 효모를 이용하여 4CL 과 STS 를 발현시키고 기질인 4-coumaric acid 을 처리한 경우에 resveratrol의 생산이 증가되는 것으로 알려졌으나 그 수율이 낮아서 대량생산에는 문제점을 지니고 있었다. 이를 개선하기 위하여 각 metabolic pathway 에 관여하는 효소들의 기능의 극대화를 위하여 이들 효소사이의 physical interactions이 중요하다는 점에 착안하여 본 연구에서는 유전공학적인 방법을 이용하여 두 가지 효소의 유전자를 융합시키고 이를 효모에 주입하여 resveratrol의 생산을 촉진시키는 방법을 취하였다. 즉 유전자융합방법을 통하여 새로이 만들어진 융합효소(4CL/STS)를 효모에 발현시켰을 때 4CL 과 STS를 단독으로 발현시켰을 때보다도 15 배 이상의 resveratrol 이 생산되는 것을 밝혀냈다. 구체적으로 이러한 방법을 통하여 효모에서 0.65 g · mL⁻¹ 정도의 resveratrol을 얻을수 있었으며

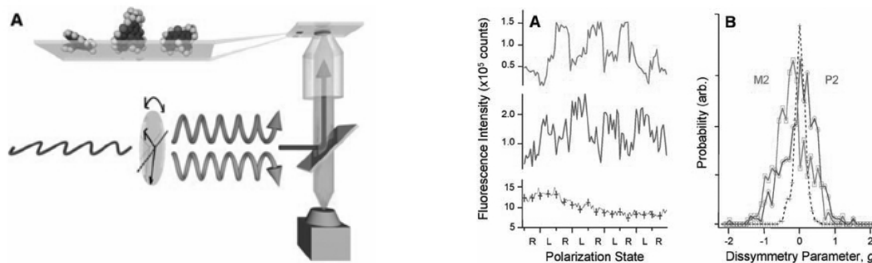
이는 기존의 방법으로 보고된 양보다 약 400배 이상 증가된 값이다. 이러한 결과로부터 4CL 과 STS 의 물리적인 융합이 resveratrol 의 생산에중요한 요소임을 알 수 있었다. 효모에서의 성공적인 결과를 바탕으로 하여 인간유래의 HEK293 kidney세포주에 이 유전자융합방법을 적용시켰을 때는 resveratrol의 생산을 0.34 g mL⁻¹ 정도까지 얻을 수 있었으며, 특히 resveratrol 이 세포내에서 다량으로 생산/합성됨을 관찰할 수 있었으며, 세포질내에 다량으로 모여있는 형태로 말미암아 분리와정에 상당히 효과적으로 사용될 수 있음을 확인할 수 있었다. 따라서 유전자 융합방법을 통하여 개개의 metabolic pathways에 해당하는 효소들의 physical interactions을 증가시키게 되면 resveratrol의 생산을 높은 수율로 얻을 수 있었으며, 인간세포에서도 resveratrol이 대량으로 합성할 수 있는 중요한 결과를 얻을 수 있었다. 이 방법은 다른 유용한 물질의 생합성에도 효과적으로 적용될 수 있을 것으로 기대된다.[그림 1]

J. Am. Chem. Soc. 2006, 128 (40), 13030 - 13031.



[그림 1]

이주대 김두현



[그림 2] (좌) 단분자 FDTD 측정의 개념도 (중) 원형편광상태에 따른 단일분자형광의 CD (우) M2/P2 diastereomer 에 의한 단분자 CD세기의 분포도.

단일 분자의 CD (circular dichroism) 측정

(Hassey et al., *Science* 2006, 314, 1437)

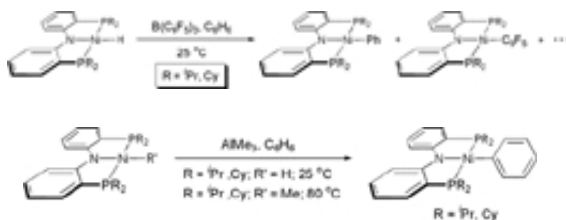
유기분자의 chirality는 화학의 역사만큼이나 오래된 개념이며 자연물 합성연구 및 생화학연구에 있어서 반응 물질을 규명하는 데 필수적인 개념으로 쓰이고 있다. 분자의 chirality를 관찰하는 방법 중 하나인 CD (circular dichroism)는 무작위적으로 배향하는 chiral 분자가 왼쪽원형편광 (left-circularly polarized light, LCP) 혹은 오른쪽원형편광 (right-circularly polarized light, RCP)을 더 잘 흡수하는가의 여부를 가시광선-자외선 영역에서 조사하는 방법이다. 하지만 통상적으로 실험적으로 측정되는 CD는 (LCP와 RCP의 흡수 차이)는 0.1% 미만이며 이러한 작은 차이 때문에 CD를 동력학 및 속도론적인 연구에 쉽게 응용이 되지 못하고 있다. CD가 이렇게 작은 이유는 CD현상에 관여하는 magnetic transition dipole moment의 크기가 매우 작기 때문으로 생각되고 있다. 하지만 2006년 12월호 *Science*잡지에 발표된 Hassey et al.의 실험결과는 이러한 통상적인 생각이 잘못되었을 수 있다는 것을 시사하며 더 나아가 CD현상의 단분자 수준에서의 연구가능성을 제시하고 있다.

이 실험에서는 고분자 필름위에 (bridged triarylamine) helicene을 뿌리고 457 nm의 원형편광 (LCP/RCP)된

빛을 쬐어 원형편광의 회전방향에 따른 단일 분자형광의 차이(fluorescence-detected circular dichroism, FDCD)를 측정하였다[그림 2]. 놀랍게도 개별적인 helicene분자에서 10-20% 나 되는 FDCD를 관측할 수 있었으며, 표면에서의 분자배향에 따라 FDCD의 값이 달라지는 것 또한 관찰 되었다. 이 실험결과는 bulk 상태에서 측정되는 작은 CD측정치가 약한 magnetic dipole에 의한 결과가 아니라 무작위적인 분자의 배향에 의한 cancellation effect에 의한 것일지도 모른다는 가능성을 보여준다.

고려대 김지환

니켈(II)을 이용한 방향족 화합물의 탄소-수소결합의 활성화



[그림 3] 니켈(II) 화합물에 의한 탄소-수소 화학결합의 활성화

금속에 의한 탄소-수소 결합의 활성화는 합성 화학자에게 학문적으로나 실용적으로나 근래에 매우 중요한 이

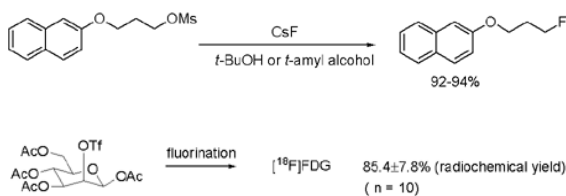


슈중 하나이다. 탄소-수소 결합의 활성화에 대한 이해와 방법론적인 탐색은 다양한 유기물체의 손쉬운 작용기 도입을 가능하게 해줄 것으로 여겨진다. 이런 이유로 많은 합성 화학자들의 탄소-수소 결합 활성화 방법에 대한 도전이 있어왔고 현재 상당한 진전을 거두고 있다. 향후 경제적인 활성화 방법이 되기 위해서는 좀 더 가격이 싼 금속에 의한 탄소-수소 결합의 활성화가 필요하다. 최근 타이완의 국립 선양센 대학(National Sun Yat-sen University)의 Liang 연구팀은 니켈(II)을 이용하여 방향족 화합물의 분자간 탄소-수소 결합 활성화를 성공적으로 수행, 그 연구결과를 2006년 12월 현재 미국화학회지(JACS) asap에 소개하였다. 우선 Ni(COD)₂를 그림 3에 나타나있는 PNPH 형태의 리간드와 반응시켜 니켈 하이dra리드 집게형(pincer) 화합물을 합성하였다. 일반적으로 같은 분자내에서의 탄소-수소 결합 활성화는 상대적으로 수월하지만 서로 다른 분자간 반응으로 탄소-수소 결합이 활성화 되는 것은 매우 제한된 수의 연구가 이루어졌다. 그림 3에 있는 Liang 연구팀의 화합물은 강한 루이스 산 (tris(pentafluoroboron), trimethylaluminum)하에서 벤젠과 반응하여 벤젠에 있는 탄소-수소 결합을 활성화할 수 있는 것으로 밝혀졌다. 나아가 톨루엔, 자일렌 등의 다른 방향족 화합물과도 쉽게 반응하여 방향족 링에 있는 탄소-수소 결합의 활성화에 좋은 반응성을 보여 주었다. 탄소-수소 결합이 쪼개어서 생성된 작용기가 붙여있는 화합물들은 X-선 단결정 분석을 통하여 구조규명이 이루어졌다. 이 연구는 기존의 팔라듐 혹은 백금 화합물이 보여주던 탄소-수소 결합의 활성화 반응을 값싼 니켈을 이용하여 대체할 수 있다는 것을 보여주고 있다. 더불어 값비싼 금속에 비해 매우 온화한 조건에서도 탄소-수소결합의 활성화를 가능하게 하는 등의 더 뛰어난 반응성을 보여주고 있다.

성균관대 손성욱

양전자 용매에서의 효과적인 플루오르화 반응

양전자 단층촬영(PET; Positron Emission Tomography)에 의한 영상촬영은 사람의 질병을 진단하고 신진대사를 관찰하는데 중요한 역할을 한다. 이 과정에서 양전자를 방출하는 방사성 의약품이 필요하며, ¹⁸F로 표지된 의약품의 역할의 중요성이 플루오린(fluorine)이 종종 의약품에서 치환체로 사용된다는 점과 ¹⁸F이 비교적 긴 반감기(110 min)를 가진 점에서 점점 더 커지고 있다. 일반적으로 특정위치에 플루오린기를 도입하는 방법은 해당하는 sulfonate나 halide를 fluoride ion(F⁻)로 치환하는 방법이다. 효과적인 S_N2 반응을 위해서 친핵체의 친핵성도(nucleophilicity)를 증가시키는 극성 비양성자성 용매(polar aprotic solvent)를 사용하거나 crown ether나 상이동(phase transfer)법을 통한 "naked" F⁻의 생성이 일반적으로 사용되어 왔으나 후자의 경우 F⁻이온의 강한 염기성이 문제점으로 대두되었다. 최근에 국내의 한 연구팀은 alkali metal fluoride의 친핵성 치환반응을 비극성 양성자 용매인 *t*-부탄올, *t*-아밀알콜과 같은 3차 알콜 용매에서 실행하여 기존의 방법과 비교하여 부산물을 줄이고 획기적으로 반응속도를 증가시킨 효과적인 플루오르화 반응방법을 발표하였다. (*J. Am. Chem. Soc.*, 2006, ASAP) CsF와 3차 알콜 용매를 사용하여 80-90 °C에서 6 h 반응 후에 생성물인 fluoroalkane을



[그림 4]

높은 수득률로 얻을 수 있었으며, 이 방법은 경쟁적인 제거반응을 최소화하여 알켄 부산물의 생성을 최소화 할 수 있었다.[그림 4]

또한 sulfonate(tosylate)의 반응속도가 같은 iodide 화합물에 비해 12배 정도 빠른 것으로 조사되었으며, 이는 3차 알콜 용매와 sulfonate 이탈기 사이의 상호 작용이 영향을 미친 것으로 보여진다. 이 새로운 플루오르화 반응은 중요한 PET 방사성의약품과 후보물질의 ¹⁸F labeling에 응용되어 높은 방사화학적 수득률을 보여 주었다. 상대적으로 온화한 조건에서 빠르게 진행되는 이 새로운 플루오르화 반응법은 ¹⁸F PET 방사성 의약품의 제조에서 중요성을 더해 가리라고 본다.

성균관대 윤재숙

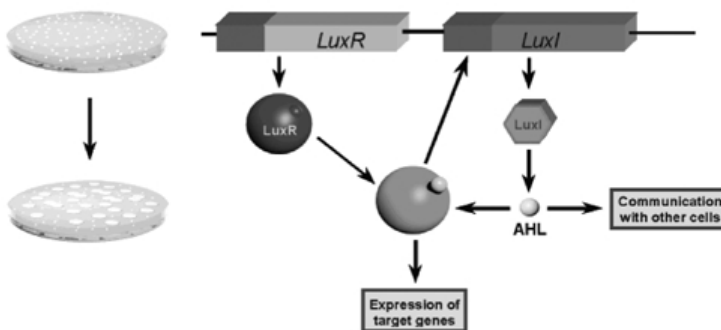
박테리아 간의 signaling 분자 검출을 위한 바이오센서 시스템

세포-세포 signaling은 거의 모든 세포에서 이루어지는 기본적인 활동이다. 박테리아는 세포내에서 signaling을 위하여 특정한 분자들을 합성하여 세포외 주위환경에 배출하고 받아들이는 방법으로 이웃한 박테

리아 간에 communication을 한다. 이러한 signaling을 “quorum sensing (QS)”이라 하며, 이때 signaling을 매개하는 분자를 autoinducer라 한다. N-Acylhomoserine lactones (AHLs)과 같은 signaling 분자들이 communication을 매개한다. 이러한 signaling 분자들의 농도는 존재하는 박테리아의 개체수 또는 개체밀도를 반영하며, 일단 특정 수준의 농도에 도달하면 박테리아는 개체밀도를 면밀히 감지할 수 있고, 특정한 유전자의 발현을 조절할 수 있다. “Quorum sensing”은 박테리아의 병원성 (pathogenicity, 미생물이 질병을 일으키는 능력)을 포함한 여러 가지 과정을 조절한다. S. Daunert 팀은 11월에 발표된 논문(*Anal. Chem.*, 2006, Vol. 78(No. 22) 7603)에 이러한 박테리아 간의 signaling 과정을 이해하기 위하여 관련된 분자의 검출 시스템에 관한 내용을 보고하였다. 그들은 침 등으로부터 빠르고 감도가 좋으며 정량적으로 AHLs를 검출할 수 있는 방법을 개발하였다. 바이오센서의 인식요소로서 QS 조절시스템을 사용하고, reporter로서 *luxCDABE* gene cassette를 사용하여 전체 세포를 sensing할 수 있는 시스템을 만들었다. 이 방법으로 장황한 시료준

비 없이 실제 시료의 분석에서 분석물질의 농도를 1×10^{-9} M 이하까지 검출할 수 있었다. 따라서 이 방법을 통해 QS 분자들을 질병에 대한 잠재적인 biomarker로서 사용하여 다양한 박테리아 관련된 질환을 진단하고 조치할 수 있는 새로운 바이오센서 시스템을 구축할 수 있을 것이며, 가격의 효율성 및 처리량의 증대를 가져올 수 있 것이다.[그림 5]

공주대 이석우



[그림 5] LuxR/LuxI-형 시스템에서 quorum sensing의 AHL 의존적 조절에 관한 도식

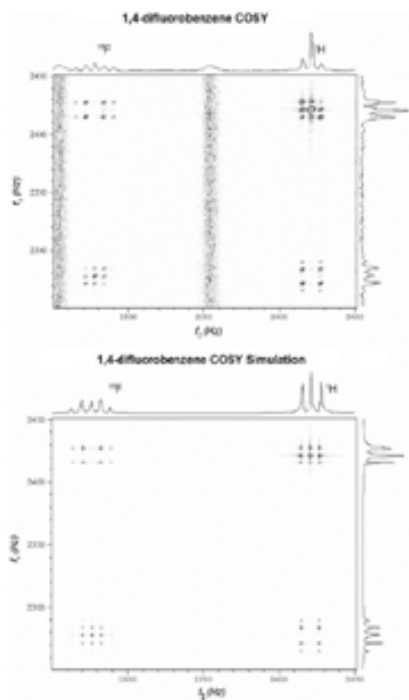
지구자기장을 이용한 2차원 NMR 분광법개발

핵자기공명분광법(NMR)은 BT분야의 발달과 함께 고분해능의 실현을 위해 점점 고자장화되어, 상업적으로는 900MHz(21.15 T) 시스템이 우리나라를 비롯하여 전세계적으로 설치되어 연구에 활용되고 있다. 특히 다차원기법을 이용한 분자내 또는 분자간 이핵종간의 상호작용에 대한 정보를 얻게 됨으로 해서 NMR의 활용성이 더 부각되게 되었다. 최근에 뉴질랜드 과학자들에 의해 개발된 지구자기장(~60 μT)을 이용한 2차원 NMR 분광법(Earth's Field NMR, EFNMR)의 개발은 자석을 사용하지 않음에 따른 이동측정이 가능하게 하고 자연계의 모든 생명체는 지구자기장속에 있음으로 인해 다양한 응용이 가능하게 되었다. (*J. Mag. Reson.*, 2006, 182, 343-347) 실제 EFNMR은 1954년부터 연구해져온 역

사가 오래된 분야이다. 이 기법은 분광학 분야 뿐 만 아니라, 자기공명영상학(MRI) 분야에서도 응용이 가능하다.

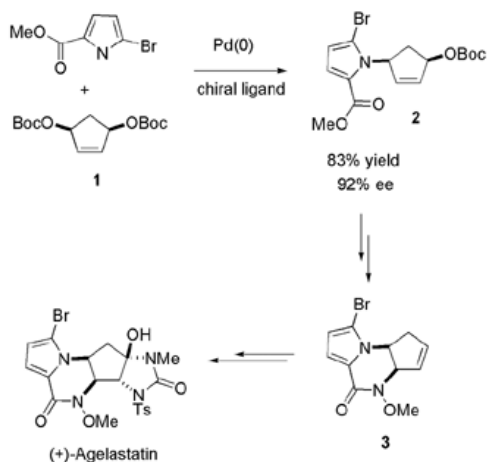
논문에서는 분자내 전자 오비탈에 의해 coupling하고 있는 ¹⁹F와 ¹H 스핀 시스템을 갖는 trifluoroethanol과 para-difluorobenzene에 대한 전형적인 2차원 COSY 실험을 시연하였다. 또한 실험을 구현하기 위해 rf 펄스외에 pre-polarising 펄스를 이용하였다. 그림 6은 실험적 스펙트럼(상)의 multiplet separation을 확인하기 위해 simulated 스펙트럼(하)과 비교하여, 실험결과가 이론적 예측과 일치함을 보여주고 있다. 실험결과가 초전도자석을 이용한 NMR 시스템의 결과 유사한 분해능을 보여주고 있으나, 많은 양의 시료(500 ml)를 실험에 사용하고, 긴 실험시간(16 h) 등 해결해야 할 부분이 남아있다. 이러한 기술적 문제를 해결한다면 EFNMR은 저가 및 이동성 등의 여러 장점으로 인한 응용분야가 매우 많을 것으로 예측된다.

울산대 이영일



[그림 6]

촉매를 이용한 입체선택적 알릴 치환 반응을 통한 (-)-Agelastatin의 전합성



[그림 7]

Agelastatin은 glycogen synthase kinase-3b의 저해제로 알려져 있으며 Alzheimer's disease를 치료할 수 있는 후보 물질의 하나로 많은 연구자들로부터 주목을 받고 있다. 최근 스탠포드 대학의 Trost 그룹에서는 Pd 촉매를 이용한 입체 선택적 allylic alkylation 반응을 통하여 쉽게 얻을 수 있는 화합물 1로부터 8 단계로 13%의 총수율로 (-)-Agelastatin을 손쉽게 합성하였다 (*J. Am. Chem. Soc.* 2006, 128, 6054). 이

합성 단계의 중요한 단계는 (1) 분자간 allylic alkylation을 통한 중간체 2의 합성 (2) 분자내 allylic alkylation을 이용한 중간체 3의 합성 및 (3) Cu 촉매를 이용한 aziridination을 통하여 나머지 질소 원자를 입체 선택적으로 도입하는 것이다.[그림 7]

포항공대 이영호

2007년도 대한화학회 화학세계 과학전문위원

성명	소속	분야	E-mail
김두현	아주대	생화학	do ohun kim@ajou.ac.kr
김영독	이화여대	무기화학	ydkim@e wha.ac.kr
김지환	고려대	물리화학	zhkim@korea.ac.kr
손성욱	성균관대	무기화학	sson@skku.e du
윤상운	단국대	물리화학	sangwoon@dan kook.ac.kr
윤재숙	성균관대	유기화학	jaesook@skku .edu
이석우	공주대	분석화학	jisa nrhee@ko ngju.ac.kr
이영일	울산대	분석화학	nmryil@ulsa n.ac.kr
이영호	포항공대	유기화학	yhrhee@poste ch.ac.kr
장순민	세종대	생화학	sjang@sejo ng.a.c.kr
장우동	연세대	유기화학	wdjan g@yon sei.a.c.kr
조재필	금오공대	무기화학	jpcho @kumoh .ac.kr
최성신	세종대	분석화학	sschoi@sejo ng.ac.kr
표승문	건국대	물리화학	pyo sm@konkuk.a.c.kr
허용석	건국대	생화학	ysheo@konkuk.a.c.kr
홍창섭	고려대	무기화학	cshon g@korea .ac.kr