우수연구센터 소개

한국과학기술연구원 – 화학분석센터 900 MHz NMR 실

책임자 : 안희철 박사
주 소 : 서울특별시 성북구 하월곡동 39-1 한국과학기술연구원 특성분석지원단 화학분석센터
전 화 : 02-958-5955 팩 스 : 02-958-5969

1. NMR Facility 개요

[그림 1] 900 MHz NMR

한구과학기술연구원 (KIST) 900 MHz NMR Lab은 특성분석지원단 화학분석센터 (화학세계 2009년 5월호 참조)에 설치되어 있으며 기존의 300, 400, 600 MHz NMR 장비와 더불어 유기화합물, 천연물 및 단백질을 포함한 생체 고분자물질의 구조 연구에 활용되고 있다. 특히 900 MHz NMR은 2003년 KIST 연구 인프라 구축 사업의 일환으로 초고자기장 NMR 장비구축의 필요성에 의해 2005년말 한국과학기술연구원에 도입되었다. 2006년 여름, 장비의 설치 및 시험 가동을 거쳐 2007년부터 주로 생체고분자물질의 3차원 구조 규명에 대한 본격적인 연구가 진행되고 있다.

[그림 2] KIST 900 MHz NMR Lab

2. 900 MHz NMR의 주요 사양

900 MHz NMR은 전 세계적으로도 수십여기밖에 운용되지 않을 정도로 최첨단의 성능을 자랑하는 연구장비로 우리나라에는 한국기초과학지원연구원(KBSI) 오창캠퍼스와 한국과학기술연구원 두 곳 설치되어 있다. KIST 900 MHz NMR 장비의 주요 사양은 다음과 같다.

- Field strength : 21.1 T superconducting magnet (900 MHz 수소 원자 기준)
- Bore size : 54 mm
- Magnet shielding : passive
- 5 channel RF amplifier/transmitter
- 5 mm z-axis pulsed field gradient triple resonance Cold probe ($^{1}H\{^{13}C,^{15}N\}$)
- 5 mm triple-axis pulsed field gradient triple resonance RT probe ($^{1}H\{^{13}C,^{15}N\}$)
- Gradient : more than 50 G/cm for Z-axis using 10A gradient amplifier
- Non-spin line shape for ^{1}H : less than
  - a. 0.75 Hz at 50%
  - b. 7 Hz at 0.55%
  - c. 14 Hz at 0.11%
- Sensitivity : higher than (room temperature probe)
  - a. 2000 : 1 for ^{1}H of 0.1% EB in CDCl3
  - b. 400 : 1 for ^{1}H of 2mM Sucrose in 90% H2O/10% D2O
- 90° pulse width : less than
  - a. 11us for ^{1}H
  - b. 14us for ^{13}C
  - c. 39us for ^{15}N

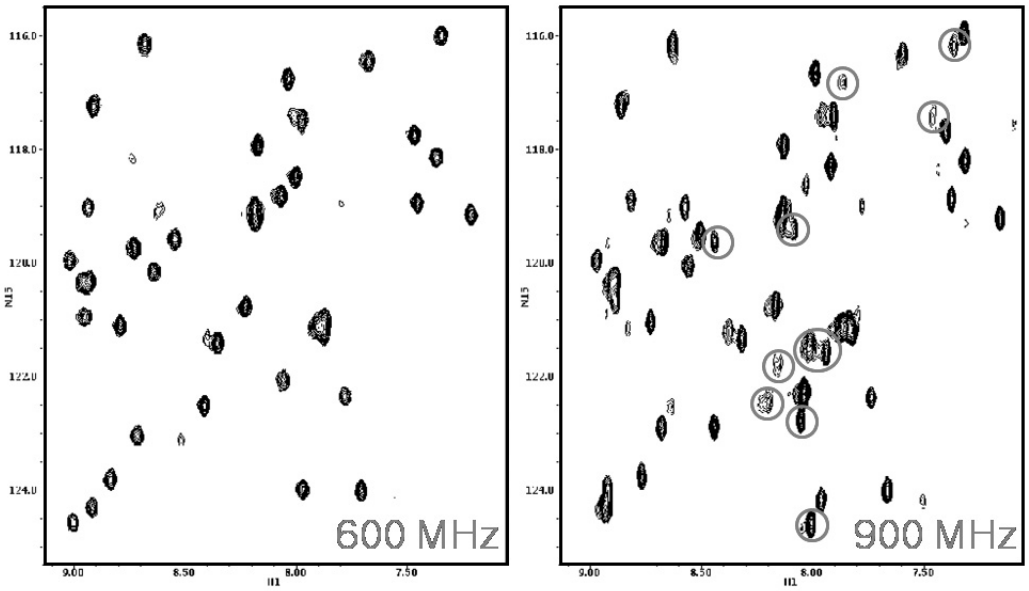
3. 900 MHz NMR의 performance

초고자장 NMR 장치는 기존의 NMR 장비에 비해 매우 획기적인 발전을 이룩하였다. 특히 자기장의 세기가 증가함에 따라 분해능, 감도 등의 향상으로 인해 40kDa 이상의 거대 생체 고분자 물질 및 그 복합체의 3차원 구조 규명 및 상호작용 연구가 가능하게 되었다.

※ 600 MHz NMR과 900 MHz NMR의 성능 비교
- 분해능 : 1.5배 향상, 자기장의 세기에 비례
- 감도 : 약 2배 향상, (자기장 세기)$^{3/2}$ 비례
- Cryogenic cooled probe를 도입함으로써 감도가 기존에 비해 약 4배 이상 향상

따라서, 분해능과 감도의 개선으로 인해 연구가능한 생체고분자물질이 더욱 더 커졌을 뿐만아니라 20kDa 이하의 생체고분자물질의 경우 측정 시간이 훨씬 단축되어 연구의 효율성이 매우 개선되었다.

[그림 3]은 약 40kDa에 달하는 UfSP1 단백질과 Ufm1 단백질 복합체로 600 MHz NMR과 900 MHz NMR을 사용하였을때의 NMR spectra를 비교한 것이다. 같은 농도의 단백질 시료를 사용하였을 때 600 MHz NMR spectrum에서는 오직 결합에 참여하지 않은 Ufm1 단백질의 신호만 관측되는 것으로 보였으나 900 MHz NMR 측정 결과 Ufm1 단백질 중 일부가 UfSP1 단백질과 복합체를 형성(원으로 표시)하고 있으며 이 신호를 해석함으로써 Ufm1 과 UfSP1의 상호작용에 대한 구조정보를 확인하였다. (*J Biol Chem. 283* 14893-900 (2008))



[그림 3] UfSP1과 복합체를 형성한 상태에서의 Ufm1 단백질의 NMR spectra. 600 MHz (왼쪽) 및 900 MHz (오른쪽) NMR 장비에서 측정한 data로 900 MHz NMR spectrum에서 더 많은 peak(원으로 표시함)들이 관측되며 이들은 복합체를 형성한 Ufm1의 단백질 신호임. UfSP1과 Ufm1 단백질 복합체의 분자량은 약 40kDa임. (J Biol Chem. 283 14893-900 (2008))

4. 주요 연구 성과

2007년 900 MHz NMR이 본격적으로 운영된 후 현재까지 다양한 종류의 단백질 및 단백질-리간드 상호작용에 관한 연구가 수행되었다. 주로 KIST 연구진간 또는 KIST 연구진과 국내 타기관 연구진과의 공동 연구를 통하여 이루어 졌다.

- B-Z DNA transition에 관한 DNA-단백질 상호작용 연구 (경상대 화학과 이준화, KAIST 최병석 교수)

  Kang YM, Bang J, Lee EH, Ahn HC, Seo YJ, Kim KK, Kim YG, Choi BS, Lee JH. NMR Spectroscopic Elucidation of the B-Z Transition of a DNA Double Helix Induced by the Zalpha Domain of Human ADAR1., J. Am. Chem. Soc. in press (2009)

- 단백질 복합체의 3차원 구조 연구 (연세대학교 이원태 교수)

  Ko S, Ahn KE, Lee YM, Ahn HC, Lee W. Structural basis of the auto-inhibition mechanism of nonreceptor tyrosine kinase PTK6. Biochem. Biophys. Res. Commun. 384 236-42 (2009)

- 단백질 3차원 구조 및 단백질-단백질 상호작용 연구 (서울대학교 이봉진 교수)

  Hong YH, Ahn HC, Lim J, Kim HM, Ji HY, Lee S, Kim JH, Park EY, Song HK, Lee BJ Identification of a novel ubiquitin binding site of STAM1 VHS domain by NMR spectroscopy., FEBS Lett. 583 287-92 (2009)

- X-ray crystallgraphy와 상호보완적인 연구 결과 (KIST 김은경박사)
Ha BH, Ahn HC, Kang SH, Tanaka K, Chung CH, Kim EE. Structural basis for Ufm1 processing by UfSP1., J Biol Chem. 283 14893-900 (2008)

5. 향후 활용 방안

앞에서 서술한 바와 같이 KIST 900 MHz NMR은 국내 NMR을 활용한 연구분야에 있어 KBSI 자기공명 연구그룹과 함께 독보적인 위치를 차지하고 있으며, 관련 연구분야의 국내 역량 강화에 일차적인 목표를 두고 있다. KIST 원내/외의 활발한 협동연구를 통하여 또한 여타의 관련 학문과의 상호협력을 통하여 상승효과를 기대하고 있으며 국가적인 고가연구장비로서 모든 연구자에게 문호가 개방되어 있기 때문에 더욱 더 많은 활용과 그에 따른 우수한 연구 결과를 생산하기를 기대한다.

6. Contact Information

안희철 박사
한국과학기술연구원 특성분석지원단 화학분석센터
Tel) 02-958-5955 Fax) 02-958-5969
hcahn@kist.re.kr