

# 유전자 해독 비밀 풀리나... GIST, tRNA 화학적 변형의 기작 규명

- 효소-tRNA 복합체 구조를 통해 tRNA 워블 유리딘의 화학적 변형 설명
- 고해상도의 세린-특이적 tRNA 구조 규명의 첫 사례



▲ (왼쪽부터) 화학과 김정욱 교수, 화학과 유재현 박사과정생

국내 연구진이 생명현상 핵심인 단백질 합성 과정에 관여하는 '운반 RNA(tRNA)\*'의 화학적 변형 기작 및 필수 요인을 규명했다.

\* **운반 RNA(tRNA, transfer RNA)**: 유전자 발현을 통한 단백질의 합성에 관여하는 RNA로, 유전자 암호를 해독하고 아미노산을 전달하는 역할을 한다.

\* **세린-특이적 tRNA(serine-specific tRNA)**: tRNA는 20가지 아미노산 중 하나와 결합하는데, 세린(serine)이 결합된 tRNA를 의미한다.

또한 현재까지 결정화에 사용된 기질인 세린-특이적 tRNA\*의 온전한 고해상도 구조도 알려진 바가 없었는데, 이번 연구의 **공결정(co-cocrystal)\*** 구조 규명으로 세계 최초로 확인됐다.

\* **세린-특이적 tRNA(serine-specific tRNA)**: tRNA는 20가지 아미노산 중 하나와 결합하는데, 세린(serine)이 결합된 tRNA를 의미한다.

\* **공결정(co-cocrystal)**: 하나의 결정 안에 여러 분자들이 결정형 구조를 가지고, 이온결합이나 공유결합이 아닌 방식으로 결합된 화합물

광주과학기술원(GIST, 총장 임기철) 화학과 김정욱 교수 연구팀은 **tRNA 안티코돈 워블 유리딘\***에서 **CmoM 효소에 의한 화학적 변형 기작(mechanism)**과 필수 요인들을 규명했다.

\* **안티코돈 워블 유리딘**: tRNA의 안티코돈은 단백질 번역 시 메신저 RNA(mRNA)의 코돈을 해독하는데, 여기서 첫 번째 안티코돈을 워블 위치라 하고 이 자리에 유리딘(uridine) 잔기가 있다는 것을 의미한다.

연구팀은 **효소\* tRNA 복합체 구조를 바탕으로 생체 내 화학적 변형에 대한 연구를 수행했다.**

\* **효소**: 생체 내 화학반응을 매개하는 단백질 촉매로, 기질(여기서는 tRNA에 해당한다)과 결합하여 특이적 반응을 일으킨 뒤 생성물을 내놓고 다음 반응에 참여한다.

단백질은 우리의 몸을 구성하는 핵심 요소이다. 단백질을 만드는 유전정보가 들어 있는 DNA가 RNA 형태로 복사된 뒤 단백질 생산 공장인 리보솜으로 전달돼 다양한 형태와 기능의 단백질이 만들어진다. RNA는 이 과정에서 핵심 역할을 담당한다.

세포 내 정상적으로 작동하는 단백질을 합성하려면 리보솜(ribosome)\*에서 **tRNA에 의한 번역과정이 오류 없이 일어나야 하는데**, 그렇지 못한 경우 잘못된 단백질이 합성되어 **생명 유지에 필수적인 작용들이 일어날 수 없게 된다**.

\* **리보솜(ribosome)**: 아미노산을 연결하여 단백질 합성을 담당하는 세포소기관으로 리보솜 RNA와 단백질로 이루어져 있다. 리보솜은 대단위체와 소단위체로 분리되어 있으며, 두 단위체가 결합하여 단백질 합성을 수행한다.

tRNA가 효과적으로 기능하기 위해서는 **tRNA 분자 내에 화학적 변형이 선행되어야 한다**. 각각의 화학적 변형은 서로 다른 tRNA 변형 효소에 의해 조절된다.

tRNA 변형이 진행되지 않으면 제대로 된 단백질 합성이 어려워지고 궁극적으로 생명 유지에 치명적일 수 있어 **tRNA 변형의 역할 및 효소의 조절 기작을 이해하는 것은 매우 중요하다**. tRNA 변형의 원리는 기질 tRNA와 결합된 변형 효소가 이루는 복합체의 구조를 얻음으로써 가장 효과적으로 이해할 수 있다.

생화학 분야에서 구조 연구에 이용되는 **X-선 결정학\***은 반세기 넘게 마이오글로빈을 시작으로 수많은 단백질과 핵산 등의 구조를 밝혀냈지만 안정적인 단결정이 있어야 분석이 가능하다.

\* **X-선 결정학(X-ray Crystallography)**: 결정에 X-선을 투사하면 결정을 구성하는 원자들에서 회절이 일어난데, 이 회절 패턴을 분석하여 원자들의 3차원 공간에서의 배열과 나아가 전체 분자의 구조를 얻어 낼 수 있다.

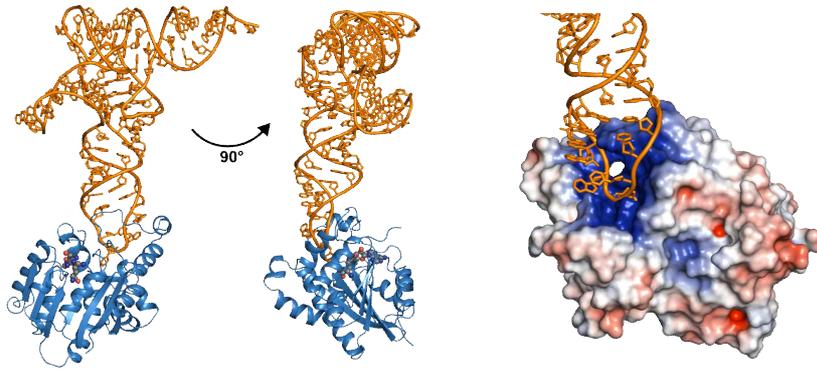
특히 단백질과 RNA의 복합체는 결정화하기 쉽지 않은데, 생체 분자의 구조들이 등록되어있는 데이터베이스(Protein databank, PDB)에 따르면 **단백질-RNA 복합체의 구조가 차지하는 비율은 전체 5% 정도에 불과하다**.

연구팀은 **CmoM 효소와 세린-특이적 tRNA의 고해상도 공결정 구조를 X-선 결정학을 통해 규명**하고, 이 구조를 통해 효소가 어떻게 기질인 tRNA를 선택적으로 인식하고 메틸기를 안티코돈 워블 유리딘에 전달하는지 확인했다.

세린-특이적 tRNA가 지니고 있는 안티코돈 워블 유리딘 위치는 **화학적 변형이 다른 위치에 비해 극심하게 일어나고 유전자 암호 해독에 특히 중요하다고 알려져 있다**.

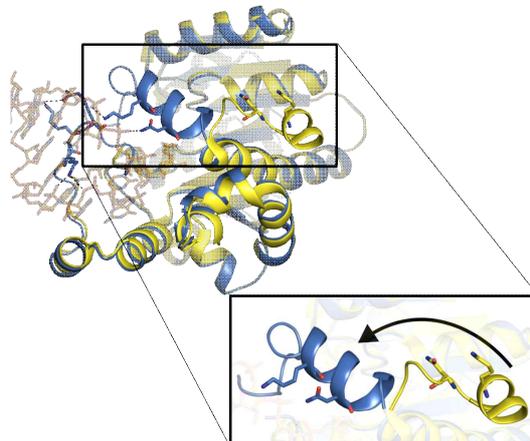
지금까지 복합체 구조가 부재해 CmoM 효소의 작동원리 및 메틸기를 받아들이는 기질 tRNA를 원자 수준에서 이해하기에 많은 한계가 있었는데, 연구팀이 새로운 구조를 밝혀냄으로써 이 한계를 극복한 것이다.

연구팀은 대장균(*E. coli*)에서 과발현된 CmoM 효소와 세린-특이적 tRNA를 정제하였고, 메틸전달 대사물질인 SAM의 유사체인 sinefungin을 사용해 공결정을 제작, X-선 결정학 실험을 통해 그 구조를 규명했다[그림1]. 이 구조에 의하면 CmoM은 tRNA 분자의 전체적인 형태보다는 **안티코돈이 위치한 루프와만 주로 상호작용하며 특이적으로 결합하는** 것으로 밝혀졌다.



▲ 연구팀이 밝혀낸 효소 CmoM과 기질 tRNA 복합체 구조. 왼쪽 그림은 일반적인 리본 묘사법으로, 파랑색은 CmoM, 주황색은 tRNA에 해당한다. 오른쪽 그림은 CmoM을 구역별 전하를 통해 묘사한 그림으로, 파랑색일수록 양전하를, 빨간색일수록 음전하를 띤다. tRNA는 인산기로 인해 음전하를 띄는데, 이것이 CmoM 활성 부위의 양전하 주머니에 들어가 결합함을 확인할 수 있다.

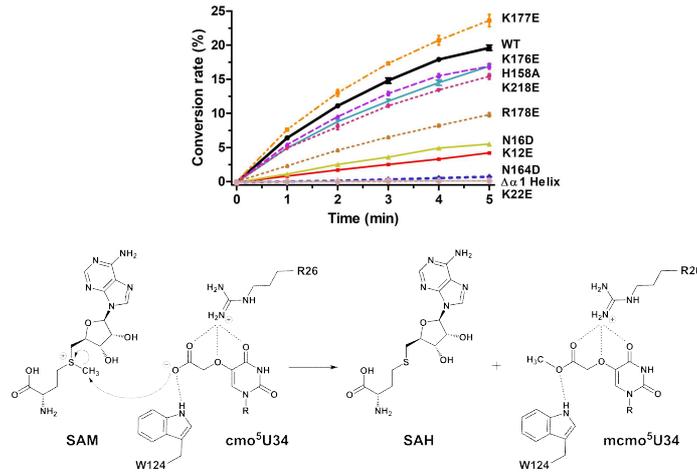
또한 효소에 기질 tRNA가 결합하면서 CmoM의 일부 구조의 재배치가 일어나 tRNA를 감싸는 형태 변화가 일어났으며[그림2] tRNA도 마찬가지로 안티코돈 루프의 형태가 복합체를 이루며 국지적으로 변한 것을 확인할 수 있었는데, 특히 워블 유리딘이 효소를 향해 상당히 젖혀진 형태로 활성 부위에 결합되어 있었다.



▲ 효소와 기질의 결합으로 인해 일어나는 구조 변화. 기질이 없을 때는 알파-1 나선이 자유로이 있는데 반해 (노란색), tRNA를 인식할 때 해당 나선이 tRNA를 지지하며 결합하는 형상을 취하게 된다 (파란색).

공결정 구조를 통해 파악한 tRNA와 상호작용하는 CmoM 효소의 아미노산 잔기들을 **점돌연변이\*** 시켰을 때 효소의 tRNA 변형 능력이 크게 감소하거나 아예 사라짐을 관측하여 X-선 구조에서 얻은 정보를 기능적으로 확인할 수 있었다[그림3].

\* **점돌연변이(point mutation)**: 단백질에서 본래의 잔기가 다른 아미노산으로 치환된 형태이다. 이 연구에서는 해당 잔기의 역할과 효소의 활성을 측정하기 위해 인위적으로 가해졌다.



▲ **필수 아미노산 잔기를 돌연변이 시켰을때의 활성 측정 및 전반적인 메틸 전달 기작.** 위의 그림에서는 야생형(WT, wild-type) 대비 상호작용을 하는 CmoM의 아미노산 잔기들을 점돌연변이 시켰을 때 효소의 활성이 떨어짐을 보여준다. 아래 그림은 CmoM에 의한 위블 유리딘 변형을 묘사한 반응식으로 본 연구에서 얻은 실험 결과를 바탕으로 제안한 화학적 기작이다.

김정욱 교수는 "이번 연구 성과는 **단백질 번역에 필수적인 tRNA, 그리고 tRNA 변형에 관여하는 단백질 효소의 구조 기반 메커니즘 연구**로 생체 내에서 **변형 활성이 어떻게 일어나는지, 또한 변형이 부재하면 어떤 결과가 초래되는지를 이해**하는데 중요한 실마리를 제공할 것"이라고 말했다.

화학과 김정욱 교수가 지도하고 유재현 박사과정생이 수행한 이번 연구는 한국연구재단(NRF) 개인연구지원사업(중견)의 지원을 받았으며, 생화학 분야 국제학술지인 'Nucleic Acids Research'에 2023년 8월 17일에 온라인 게재됐다.

## 논문의 주요 정보

### 1. 논문명, 저자정보

- 저널명 : Nucleic Acids Research (IF: 14.9, 2022)
- 논문명 : Structural basis for the selective methylation of 5-carboxymethoxyuridine in tRNA modification
- 저자 정보 : 유재현 박사과정생 (제1저자, GIST 화학과), 이장민 박사과정생 (공저자, GIST 화학과), 김정욱 (교신저자, GIST 화학과)