

2021. 8. 20.(금) / 즉시

문의 : 담당자 연락처 (02-880-4264)

연구책임자 백대현 교수 (02-880-4264), 신찬석 교수 (02-880-4643) / 교신저자
연구진 김석준, 김소영, 장희령, 김도연 연구원 (02-880-4265) / 공동 제1저자

마이크로RNA 타겟팅에 지대한 영향을 주는 RNA-결합 단백질들의 새로운 기능 발견

- 마이크로RNA 타겟 발굴 정확도의 대폭 향상 기대 -

□ 연구 개요

- 서울대 생명과학부 백대현 교수 연구팀과 농업생명과학대학 신찬석 교수 연구팀은 1,500개에 이르는 대부분의 RNA-결합 단백질(RNA-binding protein, RBP)들이 마이크로RNA에 의한 유전자 발현 억제 과정인 마이크로RNA 타겟팅에 지대한 영향을 미치고 있음을 밝혔다.
- 연구팀은 생물정보학적 분석법과 다양한 검증 실험들을 통해 RBP들이 마이크로RNA 표적 위치 가까이에 결합할수록 더욱 효율적인 유전자 발현 억제를 일으킨다는 결과를 얻었다. 마이크로RNA 타겟팅에서 RBP들의 역할을 밝혀냄으로써 마이크로RNA에 의한 유전자 발현 조절 원리를 더욱 정확하게 이해할 수 있게 되었다.
- 마이크로RNA 타겟팅 효율을 결정한다고 알려진 기존 요인들과 더불어 다양한 RBP들의 결합 정보를 추가로 활용한다면 마이크로RNA 타겟 발굴의 정확도가 크게 향상될 것으로 기대된다.
- 이번 연구결과는 네이처 출판 그룹이 발간하는 세계적 과학 전문지인 ‘네이처 커뮤니케이션즈 (Nature Communications, IF 14.919)’ 지에 2021년 8월 20일 18시(한국시간) 온라인으로 게재됐다.

□ 연구 배경

- 마이크로RNA(microRNA)가 표적 메신저RNA(target mRNA)를 인식하고 그들의 발현을 억제시키는 기작을 마이크로RNA 타겟팅(microRNA targeting)이라고 한다.
- 마이크로RNA 타겟팅 분야에 남아있던 난제 중 하나는 마이크로RNA 타겟팅을 더욱 효율적으로 만들어주는 결정자들을 찾아내는 것이다. 기존까지의 연구들은 모두 마이크로RNA, 아고넷 단백질(AGO), 표적 메신저RNA 사이의 단순한 상호작용과 관련된 특성들에만 의존하여 마이크로RNA 타겟팅을 연구해왔다.
- 한편, 인간 세포 내에 존재하는 약 1,500 종의 RBP들은 RNA에 결합하여 다양한 기능을 수행하는 것으로 알려져 있으나, 핵심적인 유전자 발현 조절 기작 중 하나인 마이크로RNA 타겟팅에 RBP들이 미치는 영향에 대해서는 체계적으로 연구된 바가 거의 없다.
- 최근 몇몇의 개별 RBP들에 대해서는 마이크로RNA 타겟팅을 조절하고 있다는 연구들이 산발적으로 보고된 바 있다. 하지만 이들 연구는 다수의 RBP들을 체계적으로 분석하지 않았기 때문에, 얼마나 많은 수의 RBP들이 마이크로RNA 타겟팅의 조절에 관여하는지, 또한 각각의 RBP가 얼마나 많은 수의 표적 메신저RNA 조절에 영향을 미치는지 판단하기가 어려웠다.

□ 연구 결과

- 마이크로RNA 타겟팅에 영향을 미치는 RBP들을 포괄적으로 발굴하기 위해 다양한 종류의 마이크로RNA들을 각각 과발현시킨 후 이에 반응하는 메신저RNA의 발현량 변화를 정밀하게 측정된 대규모 전사체 데이터를 제작하였고, 수백 종의 RBP들의 RNA-결합 위치 정보를 담은 대규모 eCLIP-seq 데이터를 분석하였다.
- 마이크로RNA가 결합하는 표적 메신저RNA들 중에서도 마이크로RNA 표적 위치(miRNA target site, MTS)로부터 RBP가 결합하는 위치(RBP binding site, RBS)가 가까울수록 더욱 강한 억제 효과를 보임을 관찰하였다. 이는

RBP의 결합이 마이크로RNA 타겟팅을 더욱 효율적으로 일으키도록 도와주는 방향으로 작용한다고 해석할 수 있다.

- 이러한 효과는 단지 몇 종류의 RBP에만 해당되는 것이 아니라 대부분의 RBP들에서 관찰됨을 확인하였고 다양한 인간 세포주에 대해서 관찰되는 것으로 보아 **매우 일반적으로 나타나는 현상임**을 의미한다.
- 또한, 발굴한 RBP들이 마이크로RNA 타겟팅에 실제로 영향을 미친다는 것을 **다양한 검증 실험을 통해 밝혔다**. RBP의 결합이 RNA 구조를 변화시켜 마이크로RNA가 더욱 쉽게 MTS에 결합할 수 있음을 EMSA 방법을 통해 밝혀내었고, MTS 주변의 RBP 결합 여부에 따른 마이크로RNA 타겟팅의 효율 변화를 luciferase reporter assay를 통해 비교하여 실제로 RBP 결합이 마이크로RNA에 의한 유전자 발현 억제를 강화시킬 수 있음을 확인하였다.

□ 연구 의의

- 본 연구는 효율적인 마이크로RNA 타겟팅에 있어 그간 간과되어 왔던 수백 종류의 RBP들의 역할을 체계적으로 규명하여 **마이크로RNA에 의한 유전자 조절 기작에서 RBP라는 또 하나의 조절 기작이 존재함을 시사**한다.
- 다양한 종류의 RBP들의 결합 정보를 함께 고려함으로써 마이크로RNA에 의한 유전자 발현 조절과 관련된 생명 현상을 더욱 잘 이해할 수 있다. 특히, RBP 결합 정보의 활용은 **마이크로RNA 타겟 발굴의 정확도를 대폭 향상시킬 것으로 기대**된다.

□ 기타

- 이번 연구는 과학기술정보통신부의 재원으로 한국연구재단 바이오·의료 기술개발사업, 중견연구자지원사업, 선도연구센터(SRC) 지원사업, 포스트게놈 다부처 유전체사업, 집단연구지원(R&D)사업; 보건복지부의 재원으로 한국보건산업진흥원의 보건의료기술연구개발사업; 농촌진흥청 공동연구개발사업의 지원을 받아 수행되었다.

- (교신저자) 백대현, 신찬석 교수, (제1저자) 김석준 박사, 김소영 박사, 장희령 석박통합과정생, 김도연 박사

[붙임] 1. 연구결과 2. 용어설명 3. 그림설명

연구 결과

The regulatory impact of RNA-binding proteins on microRNA targeting

Sukjun Kim*, Soyoung Kim*, Hee Ryung Chang*, Doyeon Kim*,
Junehee Park, Narae Son, Joori Park, Minhyuk Yoon, Gwangung Chae,
Young-Kook Kim, V. Narry Kim, Yoon Ki Kim, Jun-Wu Nam,
Chanseok Shin and Daehyun Baek

(Nature Communications, 2021)

마이크로RNA(microRNA)는 표적 메신저RNA(target mRNA)에 결합해 그들의 작용을 억제함으로써 생명체를 제어하는 핵심적인 기능을 수행한다. 이러한 마이크로RNA에 의한 유전자 발현 조절 기작을 마이크로RNA 타겟팅(microRNA targeting)이라 하는데, 이는 지금까지 마이크로RNA, 아고넛 단백질(AGO) 및 표적 메신저RNA의 단순한 상호작용으로만 설명되어왔다.

하지만, 본 연구에서는 생물정보학적 분석방법과 다양한 실험적 검증을 통해 그간 간과되어왔던 수백 종의 RNA-결합 단백질들(RNA-binding proteins, RBPs)이 마이크로RNA 타겟팅에 미치는 영향을 체계적으로 분석하였다. 흥미롭게도 RBP들이 마이크로RNA가 결합하는 부위 근처에 결합할수록 유전자 발현 억제 효과가 더욱 강하게 일어났다. 또한, 이는 몇몇 RBP들에만 국한되지 않고 대부분의 RBP들이 보이는 일반적인 현상임을 밝혀내었다.

이는 기존에 고려되지 않았던 다양한 종류의 RBP 결합 정보를 활용하여 마이크로RNA와 이에 대한 생명 현상의 이해를 폭을 크게 넓혔다는 점에서 의의가 있다.

용어 설명

1. 마이크로RNA (microRNA 또는 miRNA)

- 마이크로RNA는 약 22개의 염기서열로 이루어진 짧은 non-coding RNA로서 유전자 발현 과정에서 전사 후 조절인자로 기능한다. 이들은 상보적 염기서열을 가진 표적 메신저RNA(target mRNA)에 특이적으로 결합함으로써 표적 메신저RNA를 분해시키거나 단백질로의 번역을 억제하는 역할을 한다.

2. 마이크로RNA 타겟팅 (microRNA targeting)

- 마이크로RNA가 표적 메신저RNA에 결합하는 기작과 원리를 일컫는다. 어떠한 방식으로 마이크로RNA가 표적 메신저RNA에 결합하는지, 그 효율은 어떻게 결정되는지에 대한 연구가 중점적으로 많이 이루어져 왔다.

3. RNA-결합 단백질 (RNA-binding protein, RBP)

- RNA에 결합하는 기능을 가진 단백질을 일컫는다. 인간에는 약 1,500 종의 RNA-결합 단백질이 있다고 알려져 있다. 세포 내에서 전사 발현 조절, 스플라이싱 조절, 번역 조절 등의 중요한 기능을 수행한다.

그림 설명

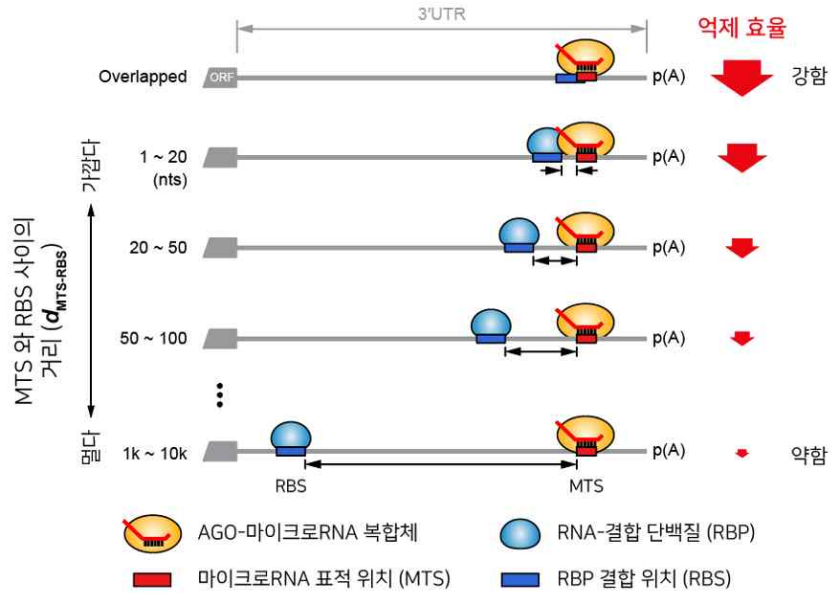


그림 1. MTS 와 RBS 사이의 거리에 따른 유전자 발현 억제 효율

마이크로RNA의 표적이 되는 메신저RNA(mRNA)의 3' 비번역 지역 (3' UTR)에는 마이크로RNA 표적 위치(MTS)가 존재한다. 이러한 표적 메신저RNA들의 경우 RNA-결합 단백질(RBP)이 결합하는 위치(RBS)가 MTS에 가까이 위치할수록 마이크로RNA에 의한 유전자 발현 억제 효율이 강해지는 것으로 나타났다.

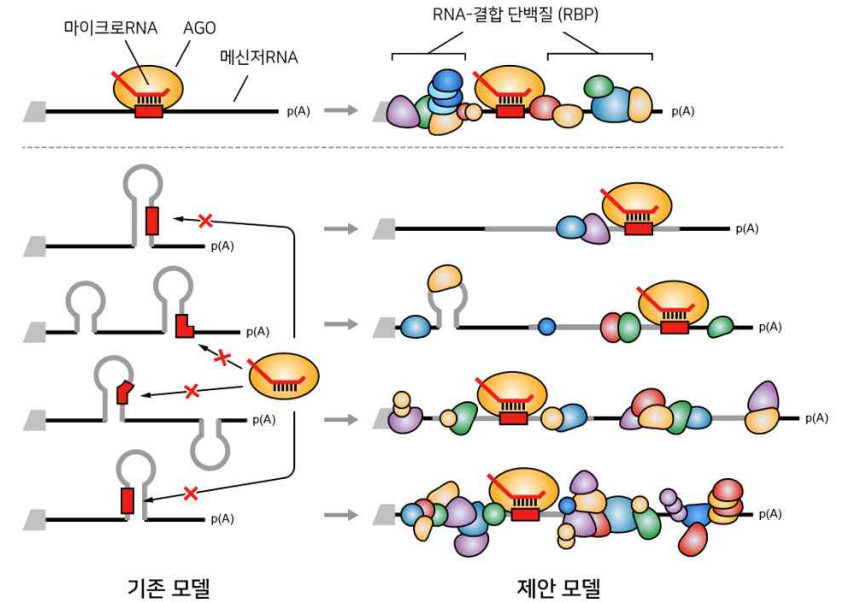


그림 2. 본 연구에서 제안하는 마이크로RNA 타겟팅 모델

기존 연구들에서는 마이크로RNA 타겟팅을 단순히 AGO-마이크로RNA-메신저 RNA 간의 상호작용으로만 설명한다. 따라서 기존 모델(왼쪽)로는 일부 마이크로RNA 표적 위치(MTS)들이 유전자 발현 억제에 있어 잘 기능하는 이유를 설명하지 못했다. 하지만 본 연구에서 제안하는 모델(오른쪽)에서는 수백 종의 RNA-결합 단백질(RBP)과의 상호작용도 같이 고려하였기 때문에 기존 모델로 설명하지 못했던 MTS들의 기능을 이해할 수 있게 된다. 이렇게 RBP 결합 정보를 활용하면 더욱 높은 정확도를 갖는 마이크로RNA 타겟 발굴을 기대할 수 있다.