

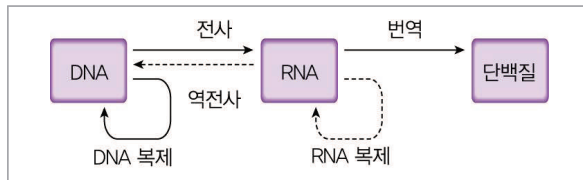


10

RNA 전사 및 단백질 번역

- 01 중심원리 by Crick
- 02 RNA의 종류
 - 02-1. mRNA
 - 02-2. rRNA
 - 02-3. tRNA
- 03 전사의 특징
- 04 원핵과 진핵의 전사와 번역
 - 04-1. 원핵세포
 - 04-2. 진핵세포
- 05 원핵생물의 mRNA 전사
 - 05-1. 프로모터 및 RNA 중합효소
 - 05-2. 원핵생물의 mRNA 전사과정
 - : 개시-신장-종결
- 06 진핵생물의 mRNA 전사
 - 06-1. 프로모터와 RNA 중합효소
 - 06-2. 진핵생물의 mRNA 전사
 - : 개시-신장-종결-가공
- 07 rRNA와 tRNA의 전사 및 가공(원핵, 진핵)
 - 07-1. rRNA의 전사 및 가공
 - 07-2. tRNA의 전사 및 가공
- 08 유전암호
 - 08-1. 유전암호
 - 08-2. 코돈의 해독
- 09 원핵세포의 번역 = 단백질의 생합성
 - 09-1. 아미노산의 활성화, tRNA의 충전
 - 09-2. 개시
 - 09-3. 신장
 - 09-4. 종결
- 10 단백질의 가공
 - 10-1. 접힘
 - 10-2. 가공
- 11 단백질 선별
 - 11-1. 진핵세포의 단백질 선별 경로
 - 11-2. 막성 세포소기관으로 단백질이 이동하는 기전
 - 11-3. 신호서열
 - 11-4. 소포체로의 수송과정
 - 11-5. 핵으로의 수송과정
 - 11-6. mt 기질 단백질의 수송과정
- 12 단백질의 분해
 - 12-1. Ubiquitin-proteasome 경로
 - 12-2. 리소좀 경로
- 13 유전자 개념의 발전
 - 13-1. 1 돌연변이 유전자-1 물질대사 저해
 - 13-2. 1 유전자-1 효소설
 - 13-3. 1 유전자-1 단백질설
 - 13-4. 1 유전자-1 폴리펩타이드설

01 중심원리(central dogma) by Crick



▶ RNA 전사(transcription)

중심원리에서 RNA는 단백질로 번역되는 RNA이다. 따라서 암묵적으로 mRNA를 의미한다.
tRNA, rRNA 기타 RNA의 경우 전사 이후 단백질로 번역되지 않으므로 중심원리에 적용되지 않는 예외 조항이 된다.

▶ 중심원리를 변형시키는 바이러스

- 인플루엔자바이러스 : RNA 복제효소(RNA replicase)를 지니므로 RNA를 주형으로 하여 RNA 복제를 진행한다.
- HIV : 역전사효소(reverse transcriptase)를 통해 바이러스의 RNA로부터 DNA를 합성한다. HIV와 같이 역전사하는 바이러스를 retrovirus라고 하며 RNA로부터 역전사된 상보적인 DNA를 cDNA(complimentary DNA)라고 명칭한다.

02 RNA(ribonucleic acid)의 종류

	mRNA	rRNA	tRNA
침강계수	매우 다양	5~28s	4s
종류	매우 다양	6~7개	30~50개
전사장소(진핵세포)	핵	핵(인)	핵
전사 후 가공	진핵 only	원핵, 진핵	원핵, 진핵

02-1. mRNA(messenger RNA)

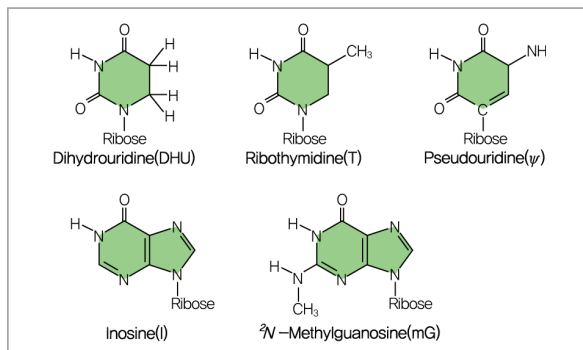
유전자 DNA의 상보적 유전 암호 정보(codon)를 지니고 있으며 이 정보는 폴리펩타이드로 번역된다.

02-2. rRNA(ribosomal RNA)

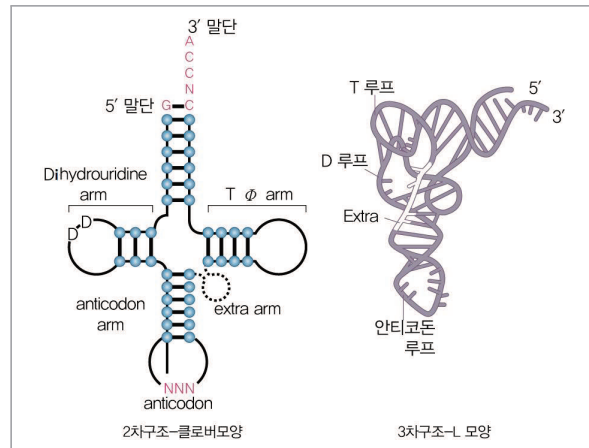
여러 단백질과 함께 단백질 합성 기구인 리보솜을 구성한다.

02-3. tRNA(transfer RNA)

- ① 단백질 번역과정에서 mRNA의 코돈과 아미노산 사이의 연결자(adaptor)로 작용한다.
- ② 안티코돈(anticodon)을 포함한다.
- ③ A, U, G, C 외에도 수십 종의 변형된 염기를 포함한다.



- ④ 5'-CCA-3' 위치에 아미노산이 공유결합된다.
- ⑤ 평균 80 뉴클레오타이드로 구성된다.
- ⑥ 모든 tRNA의 구조는 매우 유사하며, 염기간의 상보적 수소 결합으로 클로버 모양과 같은 2차 구조를 형성한다.
- ⑦ 각각의 tRNA는 오직 한 종류의 아미노산과 결합할 수 있다. 단백질에는 20가지의 아미노산이 있으므로 최소한 20가지 이상의 tRNA가 존재해야 할 것이다. 실제 대부분의 생명체의 경우 30~50개의 tRNA가 각각 다른 유전자에 암호화되어 존재한다.



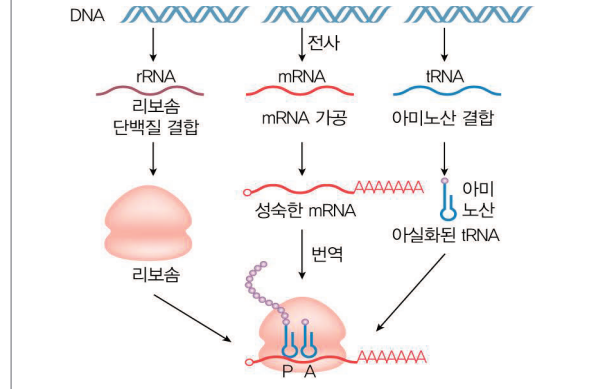
▶ 진핵세포는 m, r, tRNA 외에도 다른 종류의 RNA를 포함한다.

- snRNA(small nuclear RNA, 소형 핵 RNA) : mRNA의 splicing에 관여한다.
- snoRNA(small nucleolar RNA, 소형 인 RNA) : 인에서 rRNA 전구체의 가공을 도운다.
- SRP RNA : 신호인식인자(SRP)의 구성하는 RNA.
- siRNA(small interfering RNA)와 miRNA(micro RNA) : 상보적인 서열을 갖는 mRNA에 결합하여 mRNA를 파괴하거나 단백질로 번역되는 것을 억제한다.
→ RNA 간섭(RNAi)

▶ 원핵세포에서는 m, r, tRNA 외에도 crRNA가 발견된다.

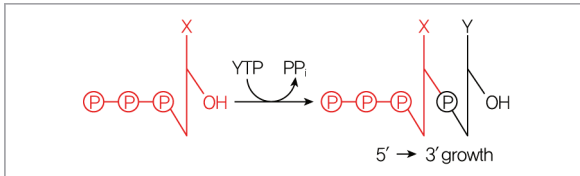
▶ 진핵생물의 전체 RNA 중 80~85%는 rRNA이며 10~15% 정도는 tRNA, miRNA, snRNA와 같은 저분자 RNA이다. mRNA는 단지 1~5% 정도만을 차지한다.

▶ 진핵세포의 번역과정

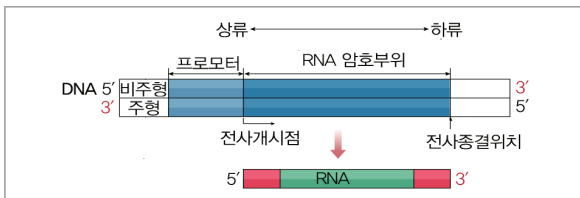


03 전사의 특징

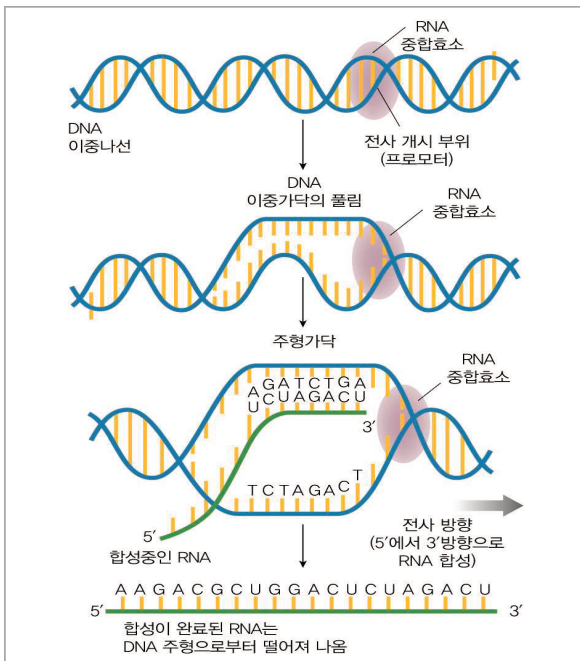
- ① 전사과정에는 DNA 주형, NTP(nucleoside triphosphate), RNA 중합효소 및 효소의 보조인자로 Mg^{2+} 이 요구된다.
- ② RNA 전사는 DNA 복제와 같이 신생가닥을 기준으로 5'에서 3' 방향(5' → 3')으로 진행된다.



- ③ DNA 복제는 주형에 있는 모든 뉴클레오타이드에 대해 상보적으로 합성되지만, 전사는 DNA의 일부분인 유전자(gene)에 대해서만 일어난다.
- ④ DNA 두 가닥 중 일반적으로 한 가닥만이 주형(template)으로 사용되며, 주형과 상보적이고 역평행인 RNA가 합성된다.
→ 전사된 mRNA는 5' 비번역부위(5' untranslated region, 5' UTR), 암호화 서열 3' 비번역부위(3' UTR)를 포함한다.



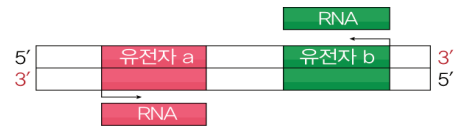
	명칭
주형가닥	template, antisense, (-), noncoding strand
비주형가닥	nontemplate, sense, (+), coding strand



- ⑤ RNA 전사체는 T 대신 U를 갖는 것을 제외하고는 DNA 비주형 가닥과 방향성 및 염기서열이 동일하다.
→ 따라서 유전자의 염기서열을 표기할 때, 종종 2개 가닥 중 하나의 가닥만을 표시하는데 이는 비주형 가닥이다.
- ⑥ RNA 전사에는 프라이머(primer)가 요구되지 않는다.
- ⑦ RNA 중합효소는 프로모터에 결합하여 전사를 시작한다.

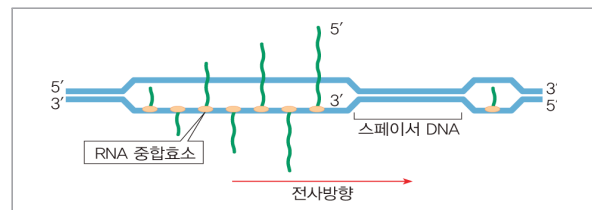
▶ 프로모터(promoter)

- 원핵과 진핵세포 모두에서 RNA 중합효소가 인식, 결합하여 전사를 개시하는 DNA 부위
- 프로모터는 전사 개시점(initiator, +1)을 포함하며 보통 전사 개시점에서 상류(upstream)로 수 십 뉴클레오타이드를 포함한다.
- 프로모터는 DNA 두 가닥 중에서 어느 가닥이 주형으로 이용될지를 결정한다.



- RNA 중합효소와 프로모터간의 친화도가 유전자마다 다르므로, 서로 다른 유전자들은 서로 다른 빈도로 전사된다.
- 진핵세포의 유전자는 일반적으로 각각 하나의 프로모터를 가진 반면, 원핵세포와 바이러스는 종종 여러 개의 유전자가 하나의 프로모터를 공유한다.

- ⑧ 전사기가 주형의 3'에서 5'쪽으로 이동하면서 합성되는 RNA는 점점 길어진다. 유전자의 가장 아래쪽으로 전사기가 이동하면 가장 긴 RNA가 만들어진다.



- ⑨ 합성된 RNA는 중합되자마자 DNA에서 즉시 방출되므로 많은 RNA 중합효소가 같은 유전자에 대해 많은 RNA를 동시에 전사할 수 있다.

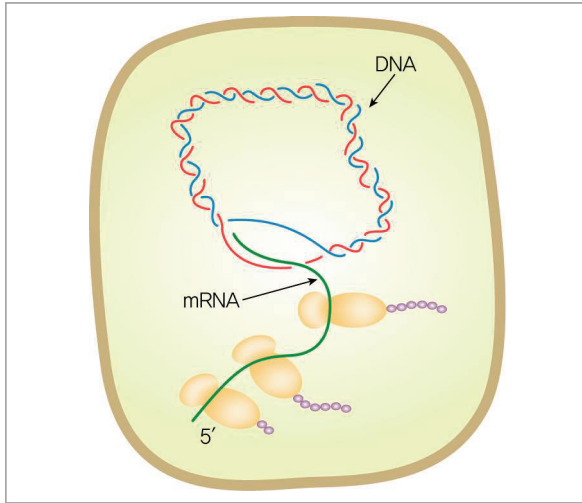
- ▶ 전사는 선택적인 과정이므로 개별 유전자들은 그들 산물이 필요할 때만 전사된다.

▶ RNA 중합효소(DNA dependent RNA polymerase)의 특징

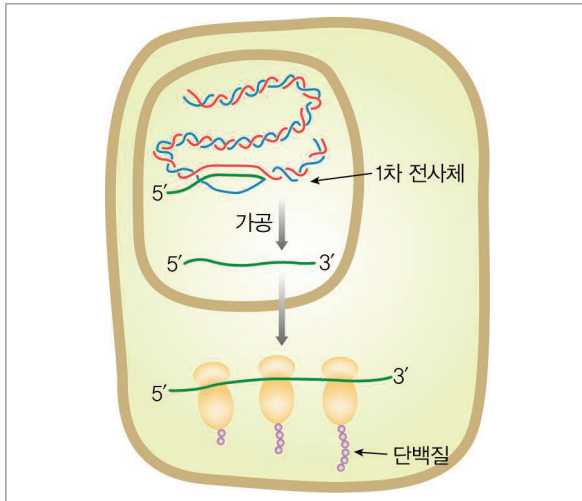
- DNA 중합효소와 달리 primer를 필요로 하지 않는다.
- 교정판독(proofreading) 기능을 지니지 않거나 또는 교정판독 기능을 가지더라도 매우 활성이 낮으므로 전사 오류는 $10^4 \sim 10^5$ 염기 당 하나 정도의 비율로 발생한다. 하지만 많은 수의 RNA 복사본이 만들어지고, RNA의 수명이 비교적 짧기 때문에 이 오류는 개체의 유전체에 남아 다음 세대로 전달되는 DNA의 돌연변이만큼 해롭지 않다.
- NTP를 기질로 사용하고, 방출된 pyrophosphate(PPi)가 2개의 자유 인산기로 분리될 때 생성되는 에너지를 이용하여 중합반응을 촉매한다.
- DNA 중합효소처럼 RNA 중합효소도 뉴클레오타이드를 3'-OH에 첨가하므로 전사방향은 DNA 복제방향과 동일하게 5' → 3' 방향으로 진행된다.

04 원핵과 진핵의 전사와 번역

04-1. 원핵세포



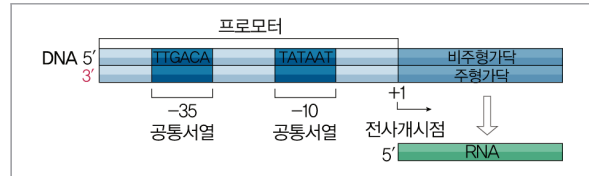
04-2. 진핵세포



05 원핵생물의 mRNA 전사

05-1. 프로모터 및 RNA 중합효소

① 구조



▶ 전사 개시점은 +1로 표시하고 전사개시점의 하류는 (+) 뉴클레오타이드 수, 상류는 (-) 뉴클레오타이드 수로 표기한다.

㉑ -10 공통서열(consensus sequence), -10 box

- 전사개시점에서 10NT 상단부를 포함하는 부위
- 프리나우 박스(pribnow box)라고도 한다.
- 5'-TATAAT-3'의 공통서열을 지닌다.

㉒ -35 공통서열, -35 box

- 5'-TTGACA-3'의 공통서열을 지닌다.

▶ 프로모터가 전사방향을 결정한다는 것은 하나의 DNA 가닥에 있는 공통서열의 방향이 어느 가닥이 전사에 대한 추형이 될 지, 어느 방향으로 전사가 일어날지를 결정한다는 것이다.

▶ 공통서열(consensus sequence)

여러 종류 DNA의 특정 서열에서 특정 염기가 높은 빈도로 나타나는 경우를 지칭한다. 예를 들어 -10 영역의 TATAAT 서열은 각 위치에서 가장 흔하게 나타나는 염기를 대표하는 것이므로 실제 대부분의 프로모터에서 -10영역의 염기서열은 TATAAT가 아니다.

	프로모터	RNA의 첫번째 염기
λP_R	5'... TGGCGGTGATAATGGTTGCATGT ... 3'	
T7A1	5'... CCTATAGGATACTTACAGGCAT ... 3'	
T7A2	5'... CATGCAGTAAGATACAAATCGCTA ... 3'	
ϕ X174A	5'... TGTATGTTTTTCATGCCTCCAAAT ... 3'	
lac	5'... CGGCTCGTATGTTGTGTGGAAT ... 3'	
SV40	5'... TGCAGCTTATAATGGTTACAATA ... 3'	
프리나우 박스		
[여러 유전자의 프로모터와 전사개시부위]		

② 원핵생물의 RNA 중합효소(RNA polymerase)

- ㉠ 모든 RNA가 한 종류의 중합효소에 의해 생성된다.
- ㉡ 효소의 활성이 강해 전사인자 없이 단독으로 프로모터에 결합할 수 있다.

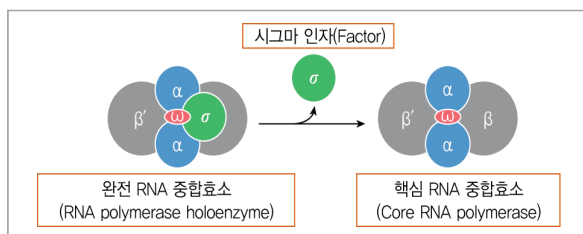
㉢ 종류

㉢(a) 완전 RNA 중합효소(holo RNA polymerase)

- subunit: $\sigma \alpha_2 \beta \beta' \omega$
- 프로모터에 결합하여 전사를 개시하는 RNA 중합효소

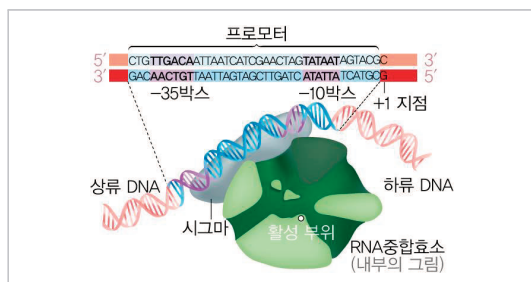
㉢(b) 핵심 RNA 중합효소(core RNA polymerase)

- subunit: $\alpha_2 \beta \beta' \omega$
- 전사 개시 후 시그마(σ) 인자가 떨어져 나간 뒤, 완전효소는 핵심효소가 되며 이는 신장 과정의 주요 효소로 작용한다.



▶ σ 소단위체(σ subunit), σ 인자(σ factor)

- RNA 중합효소가 프로모터를 인지하게 하고, 프로모터에 대한 친화력 및 결합력을 증가시켜주는 subunit으로 -10과 -35 공통서열을 인식한다. 따라서 σ 를 포함하는 완전효소가 핵심효소보다 프로모터에 대한 친화력이 높다.
- σ 인자가 없다면 RNA 중합효소는 DNA의 어떤 위치에 서나 전사를 시작하게 된다.
- -10과 -35 두 공통서열 모두 RNA 중합효소가 프로모터에 효율적으로 결합하는데 중요하게 작용하므로 염기서열이 공통서열과 다를수록 전사 효율이 낮아진다.
- σ 소단위체는 전사시작 직후에 떨어져, 분리된 σ 단위체는 다른 핵심효소와 결합하여 다시 전사 개시에 사용된다.



- 많은 원핵생물들에서 RNA 중합효소는 한 종류이지만, 여러 가지 형태의 σ 인자들을 갖는다. 따라서 각각의 σ 인자들은 특정한 프로모터에 RNA 중합효소의 결합이 이루어지도록 하여 특정 유전자 발현을 촉진한다.

예 대장균의 주 σ 인자는 σ^{70} (70,000Da)이며 그 외에도 여러 종류의 σ 가 존재한다. σ^{70} 은 항상 활성화되어 있으며 항존유전자(housekeeping gene)의 인식서열과 결합한다. 삼투압 스트레스 같은 상황에서는 σ^{32} 이 활성화되고 RNA 중합효소를 스트레스 조건에서 발현되는 다양한 유전자의 프로모터로 향하게 한다.

DNA 족적법(DNA footprinting)

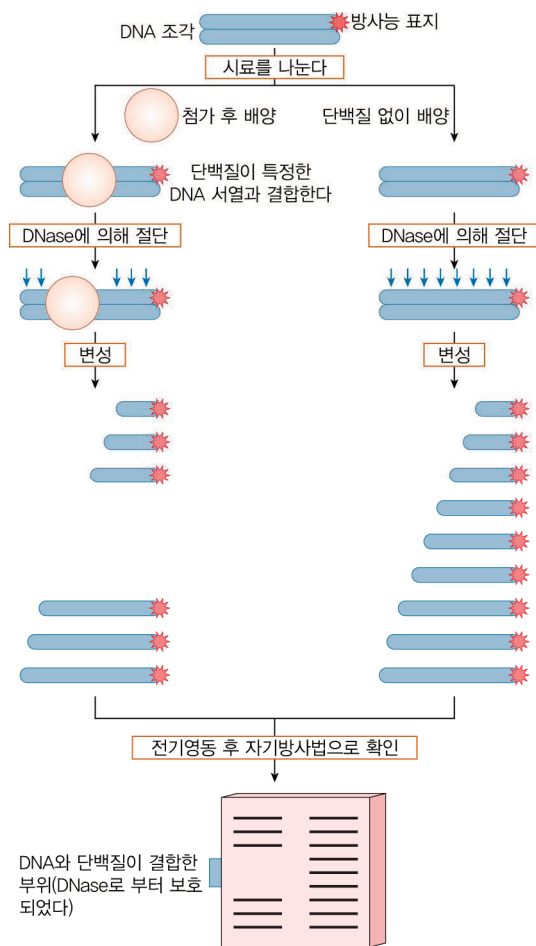
- ▶ 특정 단백질의 DNA 결합 유무 확인 또는 특정 단백질의 DNA 결합 위치 확인에 사용된다.

〈실험 과정〉

- (가) 한쪽 말단에만 방사능 표지가 된 DNA 절편 시료를 돌로 나눈다.
- (나) 한 시험관에는 RNA 완전 중합효소를 첨가한다.
- (다) 약한 농도의 DNase I을 짧은 시간 첨가하여 DNA 분자 당 평균 1번의 절단만 일으키도록 한다.
- (라) DNA-단백질 복합체를 변성시켜 DNA 만을 분리한 뒤, 전기영동하고 자기방사법으로 밴드를 확인한다.

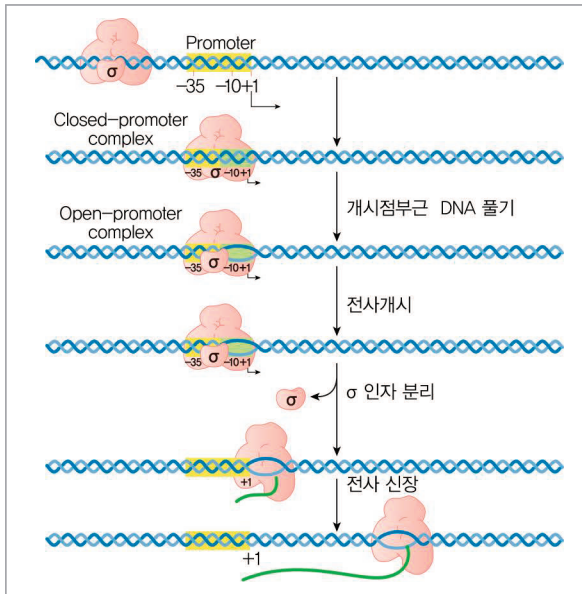
〈실험 결과〉

RNA 완전 중합효소와 결합한 DNA부위는 DNase I의 작용으로부터 보호된다. 따라서 전기영동 결과를 통해 RNA 완전 중합효소의 결합부위 및 결합여부를 확인할 수 있다.



05-2. 원핵생물의 mRNA 전사과정 : 개시-신장-종결

① 개시(initiation)



- ㉠ **프로모터(promoter)의 인식** : σ 소단위체는 핵심소와 결합하여 완전효소를 형성하고 프로모터의 -35, -10 공통서열에 결합한다.

- ㉡ **전사 버블의 형성** : RNA 중합효소에 의해 DNA가닥이 풀어진다.

▶ RNA 완전 중합효소는 프로모터에 결합 후, helicase 활성화로 전사 진행 방향의 DNA 사슬을 풀고, 후방에서는 다시 되감는다.
따라서 전사가 진행되는 앞쪽 방향으로 양성 초나선이, 전사가 이루어지는 뒤쪽에서는 음성 초나선이 형성된다. 양성 초나선에 의한 위상학적인 문제는 topoisomerase의 작용으로 해결되는 것으로 추정된다.

㉢ NTP간의 첫 번째 결합의 형성

- ㉢ RNA 완전효소는 DNA 주형에 상보적인 NTP를 결합시킨다. 이때, 프라이머(primer)는 필요치 않다.
㉣ 신장 중인 RNA의 3' 말단의 -OH에 새로운 NTP가 결합되면 NTP의 5' 말단에 있는 3개의 인산기 중 2개 인산기(β, γ)가 떨어져 나온다.

▶ 첫 번째 뉴클레오타이드의 경우 다른 뉴클레오타이드와 달리 5' 말단에 3개의 인산기(α, β, γ)를 모두 지닌다.

② 신장(elongation)

- ㉠ 개시 이후 +6~10 뉴클레오타이드까지 합성되면 완전효소에서 σ 인자가 분리된다. 따라서 대부분의 신장과정은 핵심효소에 의해 수행된다.
㉡ 신장의 에너지원은 DNA 복제와 동일하다.
㉢ 전사되고 나면 DNA가닥은 다시 이중나선을 재생성한다.

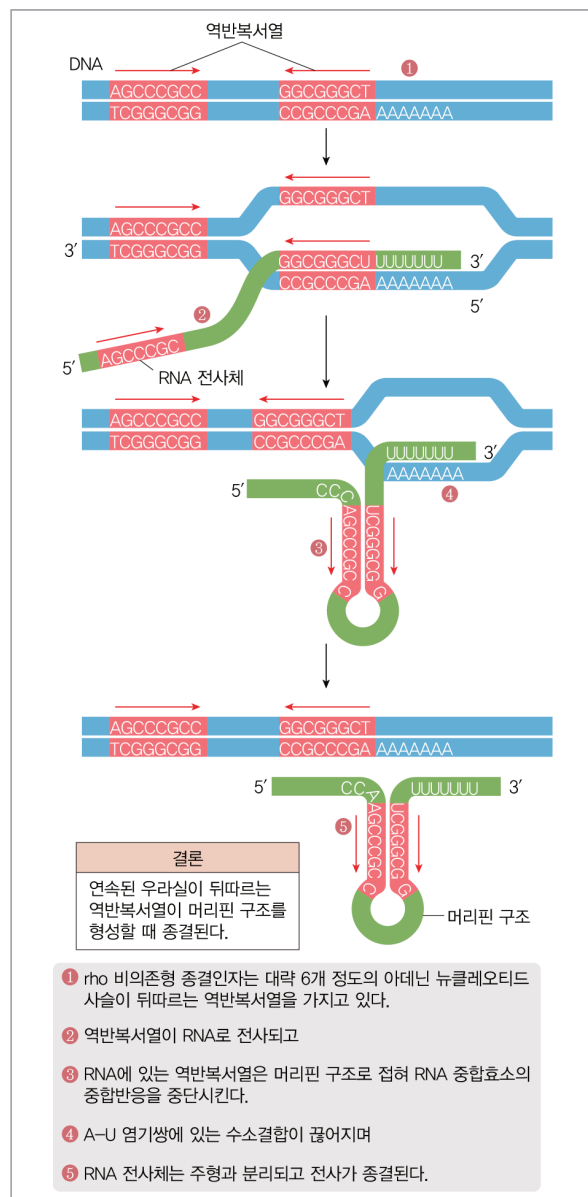
③ 종결(termination)

㉠ ρ (rho) 비의존성 종결 신호(terminator)

㉡ DNA의 구조적 특징

- 대칭적 역반복서열(inverted repeat, IR)
→ 역반복서열의 DNA가 mRNA로 전사되면 헤어핀의 2차 구조가 형성된다.
- 약 6개 정도의 아데닌(A) 뉴클레오타이드 서열
→ 연속된 아데닌(A)의 전사로 RNA 헤어핀 다음에 우라실(U)이 반복된다.

- ㉢ **종결 기전** : RNA에서 형성된 hairpin은 RNA 중합효소의 속도를 늦추고, 연속된 A와 U의 염기쌍은 비교적 불안정하므로 결국 RNA가 DNA에서 분리되어 나온다. RNA 전사체가 주형에서 분리되었을 때 RNA 합성은 더 이상 계속되지 않는다.



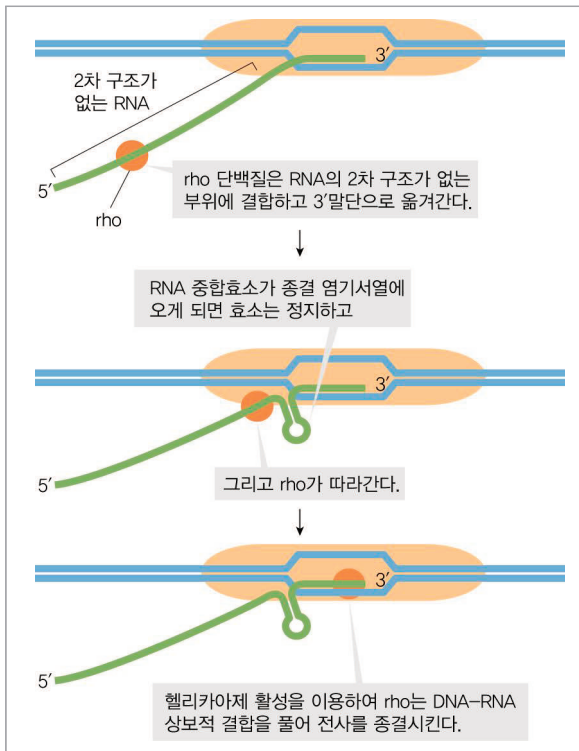
㉔ ρ 의존성 종결 신호(terminator)

㉔ DNA의 구조적 특징

- DNA 주형에 역반복서열(R)은 있으나, 반복된 아데닌(A) 뉴클레오타이드의 서열은 없다.

→ 따라서 전사된 mRNA는 헤어핀만을 형성한다.

- ㉔ 종결 기전 : RNA 중합효소는 헤어핀에서 전사를 멈추고, ρ 는 helicase 활성을 가지므로 RNA-DNA 혼성체를 해리시킨다.



▶ 전사에 영향을 미치는 물질

① 리팜피신(rifampicin), 리팜핀(rifampin)

- ① 방선균의 한 균주에서 유래한 화합물인 리팜마이신(rifamycin)의 반합성 유도체이다.
- ② 진정세균의 RNA 중합효소 β 소단위에 특이적으로 결합하여 전사개시를 저지하는 항생물질
- ③ 결핵균 치료제로 사용된다.

② α -아마니틴(amanitin)

- ① Amanita phalloides 독버섯의 독성분
- ② 진핵세포의 RNA 중합효소 II를 저해하여 mRNA 합성을 억제한다.

③ 액티노마이신(actinomycin) D

- ① 방선균의 한 균주에서 얻은 항생제
- ② 납작한 형태로 연속되는 G=C염기쌍들 사이로 끼어들어(intercalate)간다. DNA의 국소적 변화를 유발하고 RNA 중합효소의 이동이 저해된다.
- ③ 원핵과 진핵세포 모두에서 RNA 중합효소를 억제한다.
- ④ 전사를 억제시킴으로써 세포성장이 억제되는 측면을 이용하여 일부 암 치료제로 사용되기도 한다.
- ⑤ Acridine orange 색소는 actinomycin과 같은 기전으로 RNA 전사를 저해한다.

▶ Ribozyme

- ① 정의 : 정보기능과 촉매기능을 동시에 가지는 RNA를 일컫는다. 일반적으로 생체 내 촉매는 단백질성 효소이며, 리보자임은 self-splicing과 RNA 중합반응 등 한정된 반응에 관여하는 효소이다.

② 종류

- ① 진정세균의 50s 리보솜을 구성하는 23s rRNA는 펩티딜 전달효소(peptidyl transferase)의 활성을 지녀 펩타이드 결합을 촉매한다.
- ② RNase P는 RNA와 단백질로 구성되지만, 단백질은 촉매작용을 하지 않고 RNA가 tRNA 절단에 관여한다.
- ③ snRNA는 진핵세포의 mRNA 스플라이싱에 관여한다.

③ RNA가 효소로 작용할 수 있는 특성

- ① RNA는 단일가닥이므로 분자 내 수소결합을 통해 특이적인 3차 구조를 형성한다. 이러한 특이적 3차원 구조는 촉매기능에 필수적이다.
- ② 단백질효소 활성자리에 존재하는 특이 아미노산의 기능기(보통 Ser-OH, Thr-OH)처럼 RNA의 어떤 염기는 촉매작용과 관련되는 기능기를 지닌다.
- ③ RNA가 다른 RNA 또는 DNA와 수소결합을 할 수 있는 능력은 반응의 특이성을 나타낸다. 예를 들어, 스플라이싱에서 U1 snRNA가 인트론의 시작부위와 상보적으로 수소결합함으로써 스플라이싱이 특이적으로 촉매된다.

④ RNA 세계(RNA world) 가설

RNA는 유전정보를 가지고 있을 뿐만 아니라 촉매 기능 및 복제기능을 지니고 있다. 따라서 생명체의 진화과정에서 RNA는 우리가 생각하는 유전물질로서의 DNA와 효소로서의 단백질이 기능하게 되는 시점보다 훨씬 앞서 핵심역할을 했을 것으로 생각된다. 이처럼 생명체 진화과정에 있었을 것으로 추정되는 RNA에 의한 가상의 시기를 RNA world 라고 한다.

06 진핵생물의 mRNA 전사

06-1. 프로모터와 RNA 중합효소

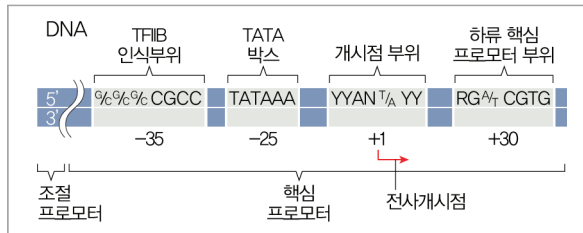
① 프로모터

㉠ 특징

- ㉡ 진핵세포의 서로 다른 RNA 중합효소 I, II, III는 서로 다른 프로모터를 인식한다.
- ㉢ 진정세균에서는 완전효소가 프로모터를 인식하고 결합한다. 그러나 진핵세포의 경우 프로모터의 인식은 프로모터에 결합하는 보조 단백질들에 의해 수행되고 그 이후에 각 프로모터에 특정한 RNA 중합효소(I, II, III)가 결합한다.

▶ 보조단백질에는 모든 세포에서 모든 유전자의 전사과정에 관여하는 일반전사인자(general transcription factor, GTF)와 특정 유형의 세포에서 특정 유전자의 전사과정에만 관여하는 특수전사인자(specific transcription factor, STF)가 있다.

㉣ II급 프로모터

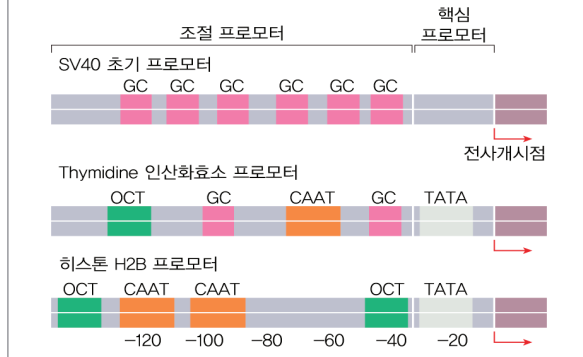


- ㉡ **핵심프로모터(core promoter)** : 유전자의 바로 위쪽에 위치하며 일반전사인자가 결합하는 부위. TATA box와 같은 공통서열을 포함한다.

▶ **TATA box (Hogness box)** : TATAAA의 공통서열로 일반전사인자인 TFIID의 인식서열. 거의 대부분의 2급 프로모터에 존재하지만, housekeeping gene에는 TATA box가 없다.

- ㉢ **조절프로모터(regulatory promoter)** : 핵심프로모터의 바로 위쪽에 위치한 서열로 다양한 공통서열(GC box, CAAT box, OCT box)의 조합이 발견되었다. 특수전사인자가 결합하는 서열이다.

▶ 공통서열 조합의 다양성



▶ 진핵세포는 핵심프로모터와 조절프로모터 외에도 프로모터 상단부요소를 지니는 경우가 있다.

상단부요소는 프로모터 근접요소(promoter proximal element)인 상류활성서열(upstream activator sequence, UAS)과 인핸서(enhancer), 시일렌서(silencer), 절연인자(insulator) 등을 일컫는다.

② RNA 중합효소의 종류

㉠ 특징

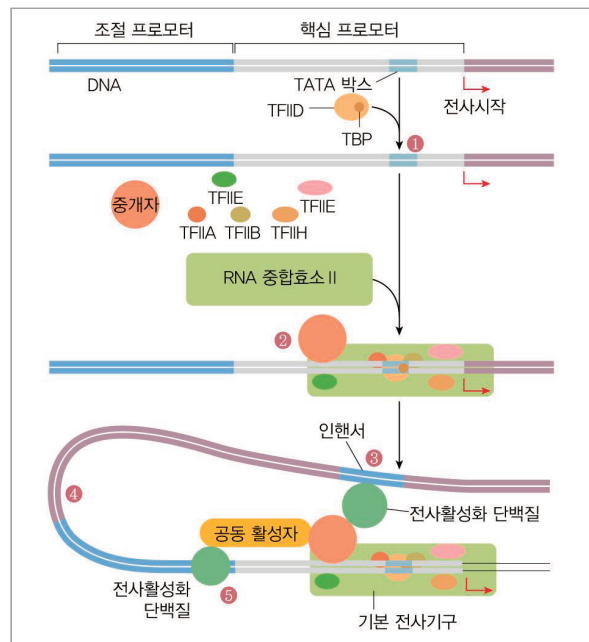
- ㉡ 세 종류의 RNA 중합효소에 의해 전사가 유발되며 전사인자를 요구한다.
- ㉢ RNA 중합효소 II는 독버섯(*Amanita phalloides*)의 물질인 α -amanitin에 강하게 저해받는다.
- ㉣ RNA 중합효소 II에는 프로모터 DNA에 결합된 히스톤 구조를 제거하는 단백질이 포함된다.

㉣ 종류

중합효소	전사체	장소
RNA pol I	45s rRNA → 5.8s, 18s, 28s rRNA	핵(인)
RNA pol II	mRNA, 일부 snRNA, miRNA	핵
RNA pol III	tRNA, 5s rRNA, 일부 snRNA와 miRNA	핵

▶ RNA 중합효소 I, II, III는 모든 진핵세포에서 발견되며, 중합효소 IV와 V는 식물에서 발견된다.

06-2. 진핵생물의 mRNA 전사 : 개시-신장-종결-가공



① 개시(initiation)

- ㉠ TFID가 핵심프로모터 내의 TATA box를 인식하여 결합한다.

▶ 진핵세포의 전사인자인 TFID는 DNA 프로모터의 인식에 관여한다. 따라서 TFID는 진정세균의 σ 와 유사하다.

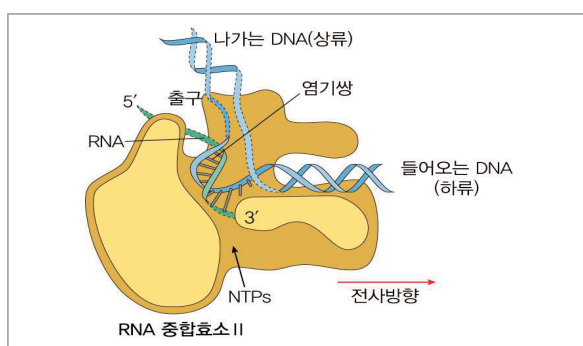
- ㉡ RNA 중합효소와 나머지 일반전사인자들도 핵심프로모터에 결합하여 전사개시복합체를 형성한다.
 ㉢ 전사활성화단백질(activator)은 인핸서(enhancer)에 결합한다.
 ㉣ DNA가 고리모양(loop)으로 구부러져 인핸서에 결합된 단백질이 일반전사기구와 반응하게 한다.
 ㉤ 또 다른 전사활성화단백질은 조절프로모터에 있는 염기서열에 결합하고 중개자(mediator)를 통해 일반전사기구와 반응한다.
 ㉥ TFIIH는 인산화효소(kinase) 활성으로 ATP의 인산기를 중합효소의 CTD(C 말단 도메인, carboxyl terminal domain)에 결합시켜 효소를 활성화시킨다. 또한 helicase 활성으로 프로모터 DNA의 풀림을 촉진한다.
 ㉦ 전사개시점 주변의 11~15 염기쌍이 풀어져 주형의 단일가닥 DNA가 노출되고 전사가 개시된다.

▶ RNA pol II와 일반전사인자들의 상호작용은 진핵세포의 전사 조절에 단백질-단백질 상호작용이 중요함을 나타낸다.

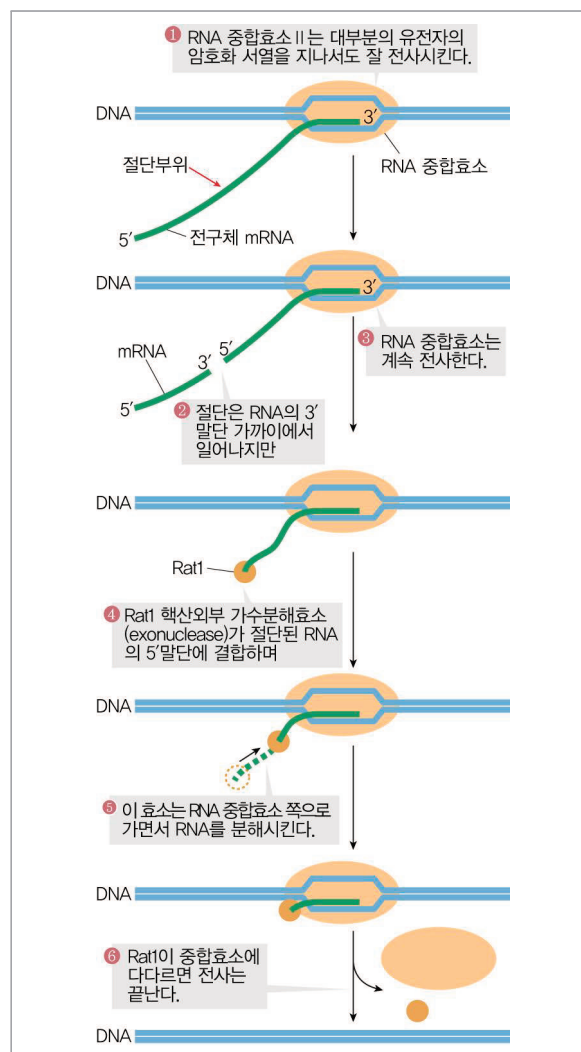
▶ 유전자가 전사되기 이전에 염색질 구조가 변형되어 전사기구가 좀 더 근접할 수 있도록 한다. 즉, 히스톤은 아세틸화되고 염색질 리모델링 단백질이 결합하여 프로모터와 다른 영역들의 뉴클레오솜의 위치를 바꾼다.

② 신장(elongation)

약 30bp 길이의 mRNA가 합성된 후, RNA 중합효소 II는 프로모터에서 벗어나 신장단계로 들어선다. 그러나 많은 전사인자들이 여전히 프로모터에 남아 또 다른 RNA 중합효소 II와 전사개시복합체를 형성한다.



③ 종결(termination)



- ㉠ RNA 중합효소 II에 의한 전사종결은 원핵세포처럼 DNA의 특정 서열에서 나타나지 않는다. 따라서 실질적으로 전사는 성숙한 전사체의 3' 말단이 될 위치로부터 수백~수천 뉴클레오타이드 하류까지 진행된다.

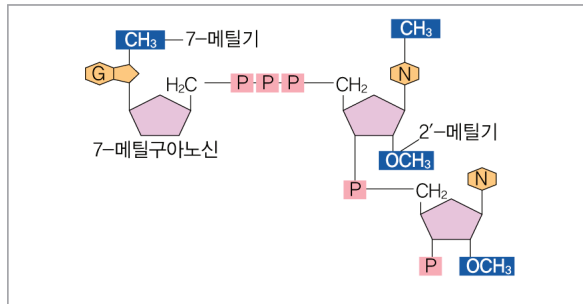
- ㉡ RNA 내부핵산가수분해효소(endonuclease)는 mRNA 하류의 AAUAAA를 인지한 후 전사체를 절단한다. 따라서 암호화될 mRNA와 RNA 중합효소가 지닌 RNA조각으로 나누어진다.

▶ 3' 절단위치 = AAUAAA = poly(A) 자리 = 폴리아데닐화 신호

- ㉢ Rat1 외부핵산가수분해효소(exonuclease)가 중합효소를 향해 움직이면서 RNA 중합효소에 결합된 RNA를 분해하고, Rat1이 전사기구에 도달하면 전사가 종결된다.

④ 가공(processing)

▶ 진핵세포의 mRNA는 전사됨과 ‘동시에’ 핵 내부에서 가공 단계를 거친다. 가공되기 전 상태를 1차 전사체(pre-mRNA, pre mRNA)라고 부른다.



⑦ 5' 캡의 첨가(5' capping)

③ 약 25 뉴클레오타이드의 RNA가 전사되고 있을 때 5' 말단에 7-methylguanosine이 첨가된다.
또한 1~3번째 뉴클레오타이드의 당의 2'-OH에 메틸기가 첨가된다.

② 기능

- **번역 개시에 필수적 역할**: 리보솜은 mRNA의 cap 결합 단백질을 인식하고 결합한 뒤 개시코돈을 찾아 이동한다.
- **안정성을 높인다.**

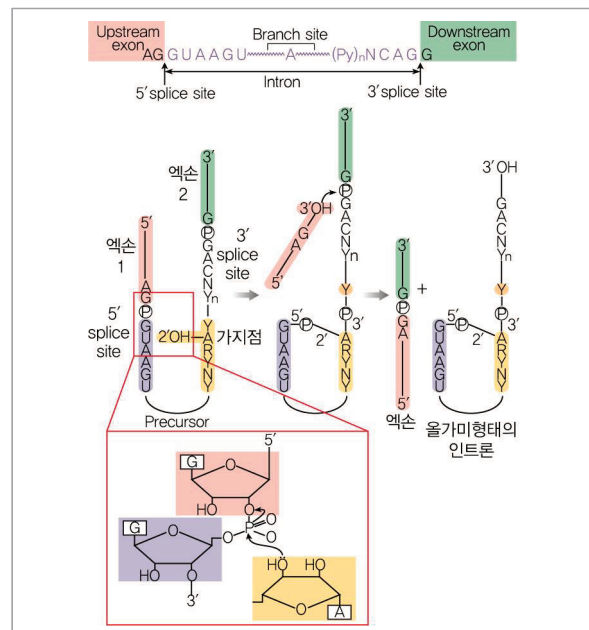
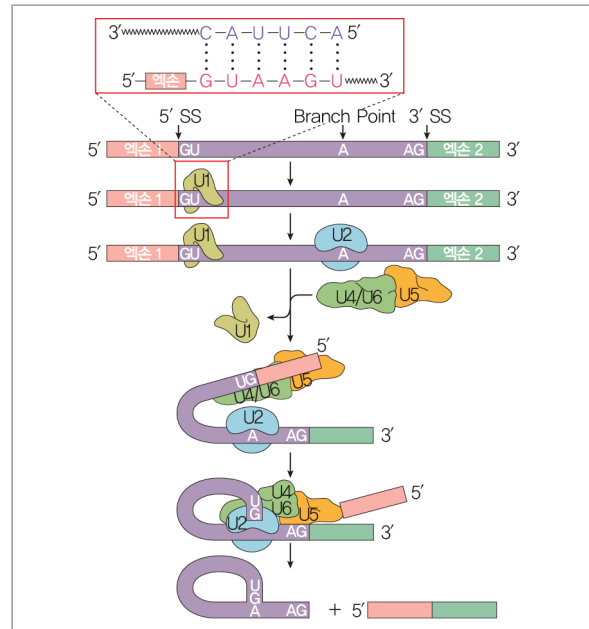
④ 스플라이싱(splicing)

③ 진행세로의 대부분 유전자는 전사 후 일반적으로 번역되는 엑손(exon)과 비번역부위인 인트론(intron)으로 구성된다. 스플라이싱은 전구체 mRNA에서 인트론을 제거하고 엑손으로 묶는 과정이다.

② 과정

- snRNA(small nuclear RNA, u1,2,4,5,6)와 단백질이 결합하여 snRNP 형성한다.
 - **snRNA + 단백질 = snRNP**
- 전구체 mRNA에 snRNP들이 결합하여 스플라이싱복합체(spliceosome)을 형성하며 반응을 시작한다.
 - **snRNPs + pre mRNA = spliceosome**
- intron이 5'에서 순서대로 올라가(lariat) 형태로 제거되고 exon으로 연결된다.
- 제거된 intron은 분해되어 사라지며 성숙한 mRNA는 번역을 위해 핵공을 통해 세포질로 방출된다.

▶ 스플라이싱은 인트론에 3개의 서열이 있어야만 일어난다.
이는 5' 스플라이싱 자리(5' splice site), 3' 스플라이싱 자리(3' splice site), 분지점(branch point)이다.



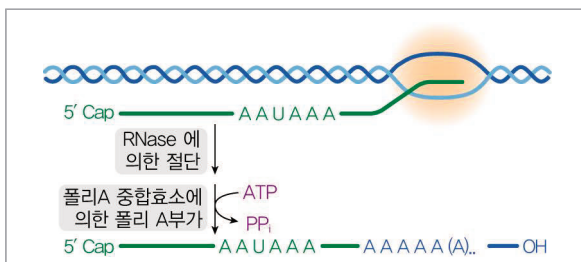
▶ snRNA와 mRNA 간의 상보적인 염기결합은 스플라이싱을 촉매하는 장소를 정확하게 지정한다.

㉔ 3' 폴리 A 꼬리의 첨가(3' poly A tailing)

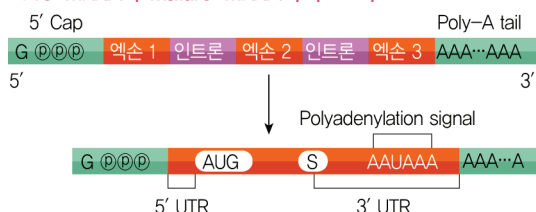
② 전사체에 5'-AAUAAA-3'서열이 나타나면 약 20 뉴클레오타이드 하단부를 RNase가 잘라내고 이후 poly A 중합효소가 100~200개의 아데닌(A)을 첨가한다.

② 기능

- 안정성을 높인다.
- 핵으로부터 mRNA의 유출을 돕는다.



▶ Pre-mRNA와 mature-mRNA의 구조 비교

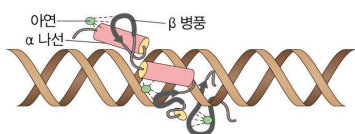


- ▶ 5' 비번역부위(untranslated region, 5'-UTR, 5'-leader)
- ▶ 3' 비번역부위(untranslated region, 3'-UTR, 3'-tailer)
- ▶ ORF(open reading frame, 열린번역틀), cistron

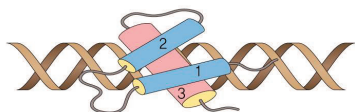
▶ 전사인자는 두개의 독립적인 Domain을 지닌다.

① DNA 결합 도메인(DNA binding domain, DBD)

- ㉠ zinc-finger domain



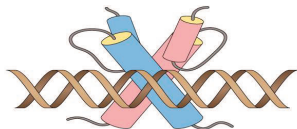
- ㉡ helix-turn-helix domain : 예 Homeo box 결합단백질



- ㉢ leucine zipper domain : 예 전사인자 AP-1



- ㉣ helix-loop-helix domain



② 활성화 도메인(activation domain, AD)

- ㉠ 글루타민 풍부 도메인(glutamine-rich domain)
- ㉡ 프롤린 풍부 도메인(proline-rich domain)
- ㉢ 산성도메인(acidic domain) : Asp, Glu rich domain

▶ DNA에 결합하는 조절단백질은 DNA의 특정서열을 인식하여 (공유/비공유) 결합한다.

▶ 인트론(intron), 개재서열(intervening sequence)

- ① 엑손(exon)은 일반적으로 유전자 내의 번역부위, intron은 유전자 내 비번역부위이다.
- ② exon과 intron의 용어는 RNA와 DNA에서 모두 사용된다.
- ③ 유전자의 처음과 끝이 exon으로 구성되므로 항상 exon이 intron보다 개수가 많다.
- ④ 많은 유전자에서 intron이 exon보다 상대적으로 훨씬 길다.
- ⑤ 각각의 intron은 GU에서 시작하여 AG서열로 끝난다.
- ⑥ 진핵세포의 대부분의 유전자는 intron을 포함한다. 그러나 히스톤 유전자에 intron이 없는 것으로 보아 진핵세포의 유전자가 기능하는데 intron이 꼭 필요하지는 않는 것 같다. 또한 효모와 같은 간단한 진핵생물의 유전자에는 intron이 없다.

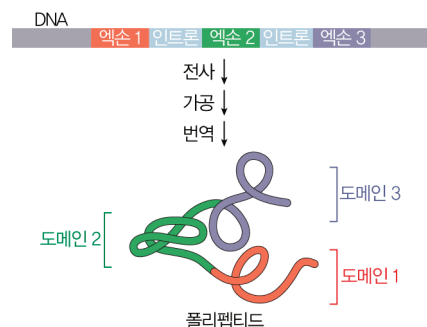
→ 오랫동안 원핵세포의 유전자에는 intron이 없는 것으로 알려져 왔으나 최근 박테리오파지, 고세균, 진정세균 및 미토콘드리아와 엽록체의 유전체에서도 발견되었다. 따라서 intron은 원핵과 진핵을 나누는 절대적 기준은 될 수 없다.

⑦ 종류

	장소	스플라이싱
I	몇몇 rRNA 유전자	자가 스플라이싱
II	mtDNA, ctDNA	자가 스플라이싱
III	핵의 단백질 유전자	spliceosome에 의한 스플라이싱
IV	tRNA 유전자	특정 효소에 의한 스플라이싱

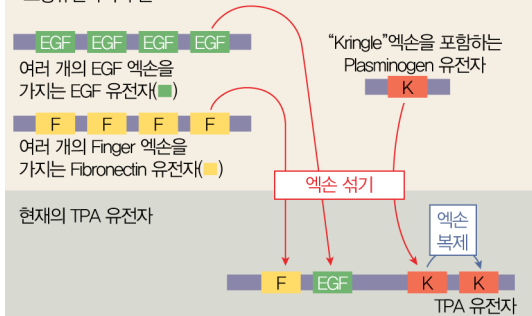
⑧ intron을 가짐으로써 생명체가 얻는 이점

- ㉠ 선택적 스플라이싱을 통해 하나의 유전자에서 다양한 단백질이 생산될 수 있다.
- ㉡ intron은 서로 다른 기능을 수행하는 exon을 구분한다.



- ㉢ 엑손 섞기(shuffling) : 서로 다른 intron 사이에서 재조합이 일어나게 되면 새로운 조합의 exon을 지니는 유전자가 만들어 질수 있다. 따라서 새로운 단백질의 진화가 촉진될 수 있다.

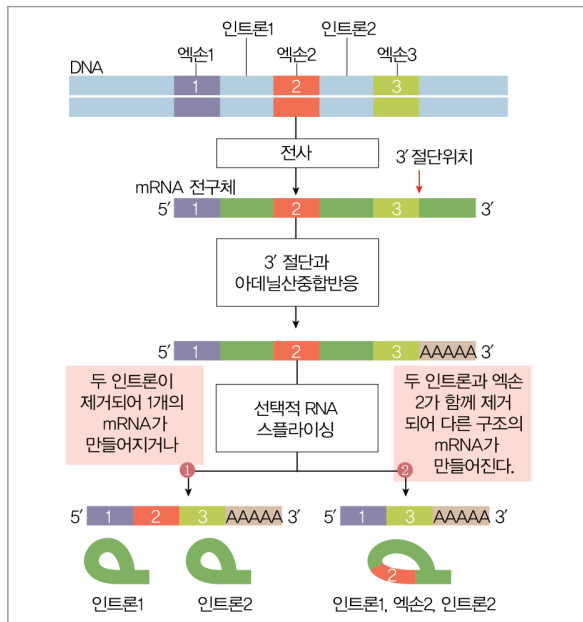
조상유전자의 부분



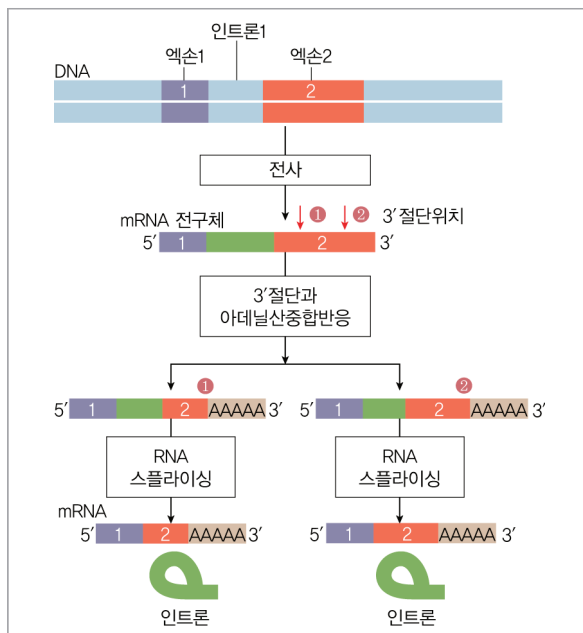
㉔ 진행세포 mRNA 가공과정의 대체경로

㉔ 선택적 스플라이싱(alternative splicing)

- mRNA 전구체로부터 exon을 선택적으로 제거함으로써 한 유전자로부터 다양한 mRNA와 단백질을 생산할 수 있다.
- 초파리의 성차이는 특정 유전자에서 전사되는 RNA를 스플라이싱 하는 방식이 암컷과 수컷에서 서로 다르기 때문에 나타난다.
- 인간유전자의 약 50~60%가 선택적 스플라이싱을 통해 유전자를 발현하고 있다고 알려져 있다.

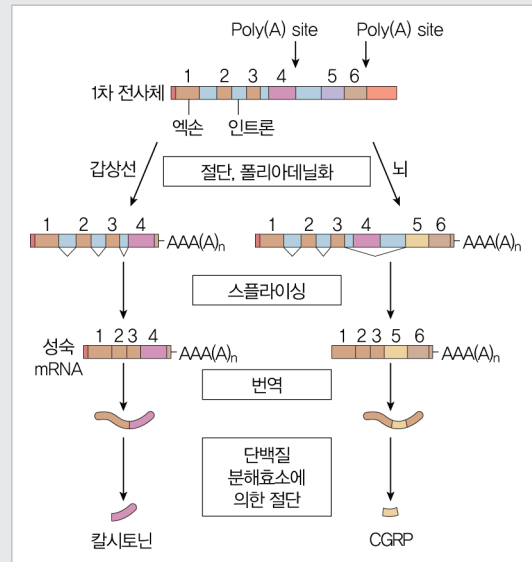


㉔ 다수의 3' 절단위치가 존재하여 한 유전자로부터 다양한 mRNA와 단백질을 생산할 수 있다.



▶ 선택적 스플라이싱과 다수의 3' 절단위치 현상을 통해 진행 세포에서 합성되는 단백질은 유전자의 개수보다 훨씬 많다.

▶ 아래 유전자의 경우 선택적 스플라이싱과 다수의 3' 절단위치를 동시에 가지는 경우로 이로 인해 동일한 유전자를 가진 세포에서 서로 다른 단백질을 합성한다.
갑상선에서는 첫 번째 3' 절단위치가 절단되고, 엑손 1~4로 연결된 성숙한 mRNA를 형성하여 칼시토닌을 합성한다. 반면 뇌세포에서는 두 번째 3' 절단위치가 절단되고, 엑손 1, 2, 3, 5, 6으로 연결된 CGRP(calcitonin gene related peptide)를 생산한다.



㉔ 스플라이싱 관련 질환

• 지중해성 빈혈증, 탈라세미아(thalassemia)

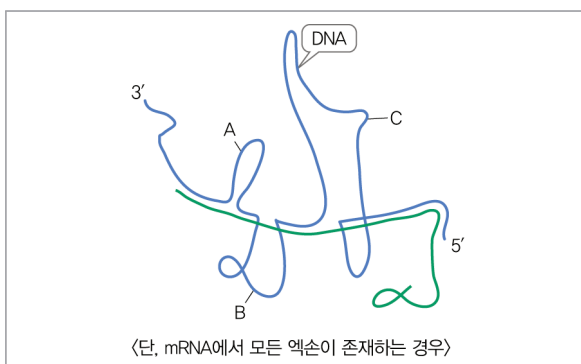
글로빈 유전자에서 일어나는 돌연변이에 기인하는데, 일부 돌연변이는 intron 내의 공통서열에서 일어나 splicing에 영향을 미친다. 이때 비정상적으로 성숙된 mRNA는 보통 번역되기 보다는 분해된다. 따라서 헤모글로빈 형성이 저하되고 빈혈증상을 나타내게 된다.

• 전신성홍반성 낭창

(systemic lupus erythematosus, SLE)

자가면역질환의 일종으로 U1-snRNP에 대한 자가 항체가 만들어져서 splicing이 저해된다. 관절염과 신경장애 등이 유발된다.

㉔ 성숙 mRNA와 주형 DNA의 혼성화



▶ RNA 편집(editing)

- mRNA의 염기서열을 변형하는 가공과정으로, 처음 유전자에 암호화된 것과는 다른 아미노산을 가지는 단백질이 만들어지게 한다.
- 삽입, 삭제, 치환 등 RNA 편집의 여러 유형이 다양한 생명체의 mRNA, tRNA, rRNA에서 관찰되었다.

예 아프리카수면병의 원인인 트리파노소마의 mRNA 경우 광범위하게 편집과정이 일어난다.

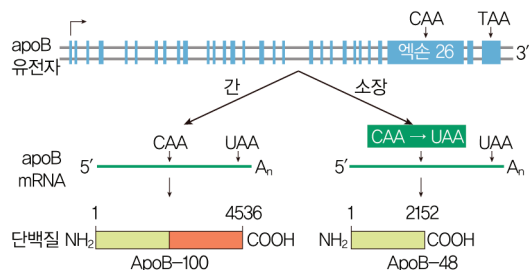
• 기전

– gRNA에 의한 RNA 편집

예 편집되기 전의 mRNA에 안내 RNA(guide RNA, gRNA)가 상보적으로 결합한 뒤, mRNA를 절단하고 염기의 절단, 첨가 또는 변환을 유발한다. 이후 가공된 mRNA는 서로 연결된다.

– 효소에 의한 RNA 편집

예 사람의 Apo 단백질 유전자 : 소장에서 발현되는 apo 단백질 mRNA에서 시티딘 탈아미노화효소(cytidine deaminase)에 의한 탈아미노 반응을 통해 시토신(C)이 우라실(U)로 치환된다.



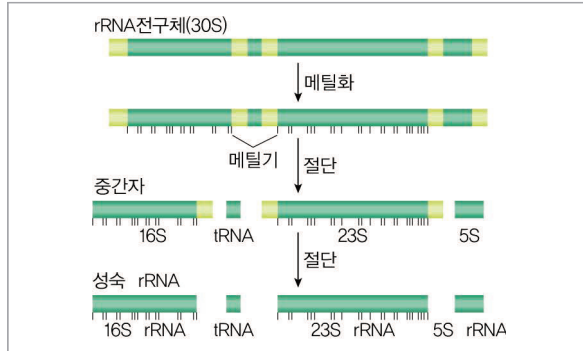
mRNA	원핵세포	진핵세포
개시		
신장	핵심 RNA pol에 의해 DNA와 상보적으로 합성된다. (5' → 3')	RNA pol II에 의해 DNA와 상보적으로 합성된다. (5' → 3')
종결	· ρ(rho) 비의존성 종결 · ρ(rho) 의존성 종결	mRNA에서 AAUAAA 서열이 나타나면 RNase가 절단한다.
가공	X	· 5' capping · splicing · 3' tailing
장소		

07 rRNA와 tRNA의 전사 및 가공(원핵, 진핵)

07-1. rRNA의 전사 및 가공

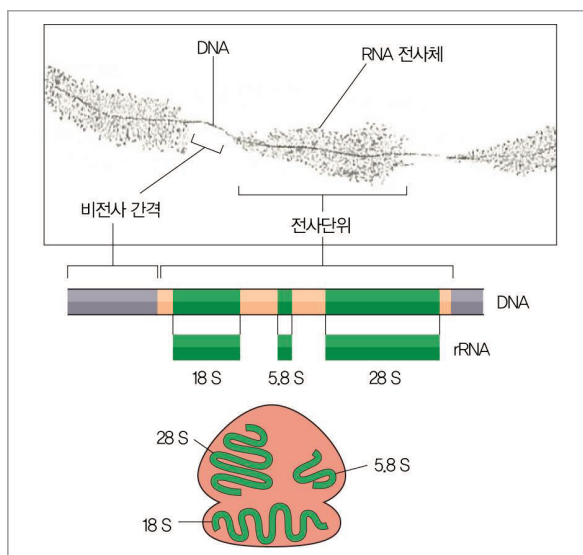
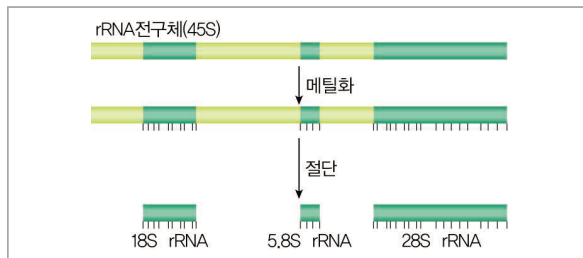
① 원핵세포

30S rRNA의 1차 전사체가 전사된 뒤 리보오스의 2'-OH의 메틸화, 절단 등의 가공이 일어난다.

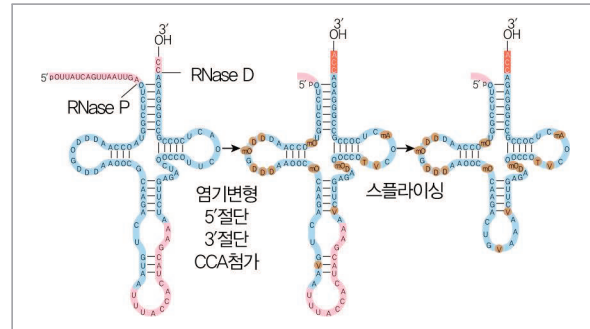


② 진핵세포

- ① 인에서 1차 전사체(45S rRNA)가 전사된다.
- ② snoRNA(small nucleolar RNA)는 메틸화 및 염기 변형 및 절단을 돕고, 인 밖에서 전사된 5S rRNA를 결합시켜 인에서 리보솜 소단위체(subunit)를 조립한다.
- ③ 리보솜 소단위체는 각각 핵공을 통해 세포질로 이동한다.



07-2. tRNA의 전사 및 가공



- ① 원핵세포와 진핵세포 모두에서 tRNA의 가공이 일어난다.
- ② 전사 이후 tRNA-변형효소(tRNA modifying enzyme)의 작용으로 리보티미딘, 유사유리딘(pseudouridine) 등과 같은 tRNA 특이적인 변형 염기들이 나타난다.
- ③ 위 그림은 원핵과 진핵세포의 tRNA에서 일어나는 가공과정을 나타낸다. 그러나 각각의 tRNA는 서로 다르게 가공되어 하나의 가공과정으로 일반화하기는 어렵다. 예를 들어 어떤 원핵세포에서는 tRNA의 CCA 서열이 유전자에 의해 암호화되어 있으나, 그 외의 원핵세포와 모든 진핵세포에서의 CCA 서열은 주형 없이 효소에 의해 합성된 것이다. 또한 어떤 진핵세포와 고세균의 tRNA 유전자는 인트론을 포함하여 가공과정동안 제거된다.
- ④ 진핵세포의 rRNA와 tRNA는 핵에서 전사된 이후 가공과정을 거치고, 세포질로 이동하여 단백질 번역과정에 참여한다.

rRNA, tRNA		
	원핵세포	진핵세포
가공 유무		
전사 장소		

This image shows a single sheet of white paper with horizontal ruling lines. The lines are evenly spaced and run across the width of the page. There is no text or other markings on the paper.