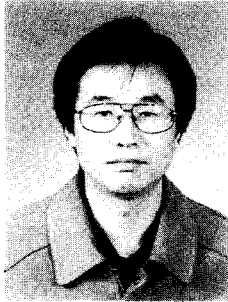


# 동물학 논문

## 미세소관의 형성과 $\gamma$ -tubulin



이 주 현

1974-1978 연세대학교 이과대학 생물학과 (이학사)  
 1982-1989 미국 퍼츠버그대학교 생물학과 (이학박사)  
 1991-현재 연세대학교 생물학과 부교수

### 1. 미세소관의 형성

진핵세포의 형태, 분열, 분화, 운동, 세포 내 물질의 이동, 세포소기관의 분포결정과 같은 세포의 기본 기능은 미세소관계 (Microtubule System), 미세섬유계 (Microfilament System), 및 Intermediate Filament System으로 이루어진 세포골격계 (Cytoskeletal System)에 의하여 수행된다. 미세소관은  $\alpha$ -와  $\beta$ -tubulin으로 이루어진 직경 약 24 nm의 관으로 세포분열 시 염색체의 이동, 세포 내 물질의 이동, 세포소기관의 분포, 및 편모와 섬모를 이루어 세포의 운동에 관여한다. 1980년대 중반까지의 미세소관에 대한

연구는 주로 미세소관을 이루는 단백질의 규명과 유전자의 cloning (예, tubulin) 및 시험관에서의 이들의 중합 기작 등에 대한 기본적인 연구가 진행되었다. 1980년대 후반 이후, 이 분야의 연구는 분자생물학, 세포학, 유전학의 여러 방법을 이용하여 급진적으로 진행되어 방추사에 의한 염색체의 이동 기작, 미세소관과 미세섬유계에 의한 세포 내 물질의 이동 및 분포조절, 발생과정 중 세포극성 결정 및 세포 골격계와 연관하여 기능을 수행하는 새로운 단백질의 규명과 이들의 기능 등이 알려지기 시작하였다. 이 글에서는 미세소관계의 형성에 관여하는 미세소관형성중심 (Microtubule Organizing Center, MTOC)중 centrosome의 구성과 미세소관의 nucleation에 관여하는  $\gamma$ -tubulin에 대하여 지난 몇 년간에 일어난 발전에 대해 간단히 논하고자 한다.

### 2. Centrosome

순화된  $\alpha$ -와  $\beta$ -tubulin은 시험관에서 스스로 중합하여 미세소관을 형성할 수 있다. 그러나 세포 내 미세소관의 형성은 미세소관형성중심 (Microtubule Organizing Center, MTOC)에서 시작되며, 세포 내에서 MTOC의 기능을 수행하는 기관으로는 centrosome, spindle pole body, basal body 등이 있다 (그림 1). Centrosome은 대부분의 동물세포의 MTOC로서, 이

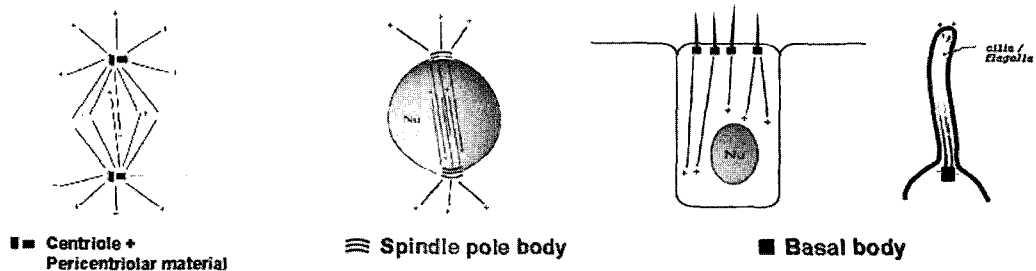


그림 1. 미세소관 형성중심 (Microtubule Organizing Center; MTOC)

곳에서부터 미세소관이 형성되어 세포 내로 분포해 나간다. 이 centrosome은 세포 분열 전에 복제되어 세포분열시기에는 복제된 centrosome에서 방추사가 형성되어 염색체의 분리를 수행한다. Spindle pole body는 효모와 같은 단세포 진핵생물에서 발견되는 MTOC로 핵막에 존재하며, 그 기능은 centrosome과 동일하다. Basal body는 섬모나 편모의 형성에 MTOC로서 작용하며, 일부 세포에서는 centrosome의 역할을 수행하기도 한다. 따라서 MTOC의 구성성분, 형성, 기능에 대한 연구는 미세소관계 형성에 대한 연구의 중요부분을 차지한다.

Centrosome은 한 쌍의 centriole과 그 주변부의 물질로 이루어져 있다. Centriole은 아홉 개의 3중 미세소관 (triplet microtubules)이 마차 바퀴살과 같이 분포하는 구조를 하고 있으며, 미세소관을 이루기 위해서는 이미 알려진  $\alpha$ -와  $\beta$ -tubulin외에  $\delta$ -tubulin이 필요하다 (Ducher 등, 1998). 이외에 centriole의 성분으로 centrin (Salisbury 등, 1984)과  $\gamma$ -tubulin (Ruiz 등, 1999)이 여러 세포의 centriole에 공통적으로 존재하는 것이 밝혀졌다 (Review: Marshall과 Rosenbaum, 2000). Centrosome이 centriole과 그 주변물질로 이루어진 것이 밝혀진 이후, 이의 기능에 대한 많은 연구가 진행되어왔다. 현재까지 밝혀진 바로는 미세소관의 nucleation은 centriole의 주변물질 (pericentriolar materials)에서 일어나고 centriole은 이 과정에 직접관여하지 않는다. 그러나 세포의 centrosome에서 Centriole을 제거하면, 미세소관의 nucleation을 수행하는 물질이 세포 내로 흩어지며, centrosome이 사라진다 (Bobiniec 등, 1998; de Saint Phalle과 Sullivan, 1998). 이런 세포 (acentriolar cells)에서도 방추사의 형성은 일어난다. 그러나 이때 형성되는 방추사는 정상체를 형성하지 못한다. 이 실험결과는 세포분열 시 centriole의 일차적인 기능이 방추사의 정상적인 분포(Spindle pole)를 이루는데 있음을 보여준다.

Centrosome은 세포가 한 번 분열하는 과정에 한 번 복제되고, 세포분열과정에서 각각의 딸세포로 나뉘어진다. 즉 centrosome의 복제는 cell-cycle과 밀접하게 연관되어 있으며, 따라서 분열하지 않는 세포에는 하나의 centrosome이 존재하게 된다. 이런 MTOC의 복제 및 형성 기작에 대한 연구에 의하여 Kochanski와 Borisy (1990)는 centrosome의 성분인

centriole의 복제가 conservative하게 일어남을 보였다. 효모의 spindle pole body 역시 conservative 하게 복제되며, 이때 새로 형성되는 spindle pole body가 딸세포로 이동함이 보고되었다 (Vallen 등, 1992). 이러한 세포주기에 따른 centrosome의 복제 및 기능 조절에 대한 연구는 주로 interphase microtubule과 mitotic microtubule의 상호변환에 대하여 진행되고 있다. Borisy 그룹의 연구에 의하여 centrosome의 성분 일부가 cell-cycle에 따라 인산화되는 것이 밝혀진 이후 (Rudzinska 등, 1983; Vandre 등, 1984), MTOC 성분 단백질의 인산화와 cell-cycle에 따른 MTOC 기능 변화에 대한 연구는 CDK(cyclin/p34)에 집중되어졌다. 이러한 연구결과 p34 kinase가 centrosome에 존재하는 것이 밝혀졌으며 (Riabowol 등, 1989; Bailly 등, 1989; Rattner 등, 1990), Cyclin B와 A의 분포가 밝혀졌다 (Maldonado-Codina 등, 1992; Pines 등, 1991). Karsenti 그룹은 미세소관의 in vitro assembly를 이용한 실험으로 cyclinA/p34 처리는 미세소관의 nucleating activity를 증가시키나 cyclin B는 기능이 없음을 보고하였다 (Buendia 등, 1992). Verde 등 (1992)은 cyclin B가 미세소관의 catastrophe frequency를 증가시켜 미세소관의 길이를 감소시키는 것을 보고하였다. 이런 결과를 바탕으로 cyclin/p34 kinase의 target protein을 찾기 위한 연구결과, Ookata 등 (1995)은 미세소관-연관단백질인 MAP4가 cyclin B와 직접 결합하는 것을 보였으며, MAP4의 인산화에 의하여 미세소관의 turn over rate가 증가함을 관찰하였다. 이러한 현재까지의 연구결과는 MTOC의 미세소관 형성에 미치는 역할이 cell-cycle과 밀접하게 연결되어있음을 보여주고 있으나, cyclin/p34 kinase의 in vivo target과 조절 기작에 대하여는 더 많은 연구를 필요로 한다. 그러나 이런 연구결과는 MTOC 복제의 기본적인 문제인 cell-cycle에 따른 MTOC 복제의 조절기작과 MTOC의 복제가 어떻게 항상 이미 존재하고 있는 MTOC 근처에서 일어나는가에 대한 답은 아직 주지 못하고 있다.

### 3. $\gamma$ -tubulin

지난 10년 간 이 분야의 연구성과 중 가장 중요한 업적의 하나는 Oakley 등 (1989)에 의한  $\gamma$ -tubulin

의 발견이라고 생각된다. Oakley는 *Aspergillus nidulans* 를 이용하여  $\beta$ -tubulin 돌연변이에 대한 suppressor 를 찾는 과정에서 기존에 알려진 두 종류의 tubulin ( $\alpha$ 와  $\beta$ )과는 다른 새로운 tubulin을 발견하여  $\gamma$ -tubulin이라 명명하였다. 이어서 초파리와 사람 (Zheng 등, 1991), *Xenopus*와 *S. pombe* (Stearns 등, 1991), 쥐 (Joshi 등, 1992) 등에서 유사한 유전자의 cDNA 가 보고됨에 따라  $\gamma$ -tubulin의 기능에 대한 연구가 활발히 시작되었다. Oakley 그룹은  $\gamma$ -tubulin 이 spindle pole body에 존재하는 것을 보고하였고 (Oakley 등, 1990), 이어서 Oakley, Kirshiner, Cleveland 그룹의 연구에 의하여  $\gamma$ -tubulin이 척추동물의 centrosome에 cell-cycle 전반에 걸쳐 존재하고 있음이 밝혀졌으며, Palacios 등 (1993)과 Gueth- Hallonet 등 (1993)은  $\gamma$ -tubulin이 acentrional centrosome에도 존재하는 것을 보여줌으로써,  $\gamma$ -tubulin이 centriole의 성분이 아닌 pericentriolar materials의 성분일 가능성을 제시하였다. 이어서 ciliated epithelial cell의 MTOC 역할을 수행하는 basal body 근처 (Muresan 등, 1993)와 식물에서도  $\gamma$ -tubulin의 존재가 입증되어 (Liu 등, 1993), 이 단백질이 MTOC의 중요 성분임이 확인되었다.  $\gamma$ -tubulin의 기능에 대한 지속적인 연구에 의하여 이 단백질이 in vitro microtubule nucleation에 필수적인 것이 알려졌다 (Raff 등, 1993; Melki 등, 1993). 1995년에 Moritz 등 (1995)과 Zheng 등 (1995)은 미세소관의 nucleation 과정에  $\gamma$ -tubulin이 다른 단백질과 함께 직경이 약 25 nm인 고리형의 구조 ( $\gamma$ -tubulin ring complex,  $\gamma$ -TuRC)를 형성함을 보고하였고, 이  $\gamma$ -TuRC에서 미세소관의 nucleation이 일어남을 밝혔다. 최근  $\gamma$ -TuRC의 성분에 대한 연구는 이 구조를 이루는 단백질의 일부가 효모에서 사람에게 이르기까지 공통적으로 존재함을 보여주고 있다 (Martin 등, 1998; Murphy 등, 1998; Tassin 등, 1998; Oegema 등, 1999). 이러한 일련의 연구결과 들은  $\gamma$ -tubulin과 일부 이에 결합하여  $\gamma$ -TuRC를 이루는 단백질들이 pericentriolar materials의 성분으로 미세소관 형성의 초기단계 (nucleation)에 중요한 역할을 수행하고 있음을 보여 준다.

$\gamma$ -tubulin은 centrosome뿐 아니라 세포질에도 존재하며, 이 두 pool 사이에서 지속적인 교환이 일어난다. 즉 centrosome에 있는  $\gamma$ -tubulin의 양은 세

포주기에 따라 변화한다 (Khodjakov와 Rieder, 1999; Dichtenberg 등, 1998). 이 결과는 centrosome의 복제에 중요한 단서를 제공하고 있으나, 아직까지 어떤 기작에 의해  $\gamma$ -tubulin이 교환되는가에 대하여는 밝혀져 있지 않다.

$\gamma$ -tubulin 외에 그 기능이 일부 규명된 MTOC의 성분으로 그 유전자가 cloning된 단백질은 Kirshiner 그룹에 의해 발견된 pericentriolar materials의 assembly에 필요한 pericentrin (Doxsey 등, 1994)과 spindle pole body의 복제에 필요한 centrin (Salisbury 등, 1986), 미세소관의 절단에 관여하는 katanin (MaNally 등, 1996) 등이 있으며, 이 들 외에도 몇 종의 단백질이 MTOC에 존재한다고 보고되었다 (Review: Kalt와 Schliwa, 1993). 이중 pericentrin은  $\gamma$ -tubulin과 함께 거대한 단백질 구조의 한 성분임이 최근에 밝혀졌다 (Dichtenberg 등, 1999). 그러나 이런 단백질은 centrosome의 성분으로 예상되는 약 200 종류의 단백질 중 극히 일부이다 (Salisbury, 1995). 따라서 MTOC의 기능을 이해하기 위해서는 이 세포기관을 이루는 새로운 단백질의 규명 및 기능에 대한 연구가 진행되어야한다.

### 참 고 문 헌

- Bailly, E., et al. 1989 *EMBO J.* **8**: 3985-3995.  
 Buendia, B., et al. 1992 *J. Cell Biol.* **116**: 1431-1442.  
 Bobinnec et al. 1998 *J. Cell Biol.* **143**: 1575-1589.  
 de Saint Phalle, B. and Sullivan, W. 1998 *J. Cell Biol.* **141**: 1383-1391.  
 Dichtenberg, J. B. et al. 1999 *J. Cell Biol.* **141**: 163-174.  
 Doxsey, S. J., et al. 1994 *Cell* **76**: 639-650.  
 Ducher S.K. and Trabuco, E. C. 1998 *Mol. Biol. Cell.* **9**: 1293-1308.  
 Gueth-Hallonet, C., et al. 1993 *J. Cell Sci.* **105**: 157-166.  
 Joshi, H. C., et al. 1992 *Nature* **356**: 80-83.  
 Kalt, A. and Schliwa, M. 1993 *Trends Cell Biol.* **3**: 118-128.  
 Khodjakov, A., and Rieder, C. L. 1999 *J. Cell Biol.* **146**: 585-596.

- Kochanski, R. S., *et al.* 1990 *J. Cell Biol.* **110**: 1599-1605.
- Liu *et al.* 1993 *J. Cell Sci.* **104**: 1217-1228.
- Maldonado-Codina, G., *et al.* 1992 *J. Cell Biol.* **116**: 967-976.
- Marshall, W.F. and Rosenbaum, J.L. 2000 *Curr. Opin. Cell Biol.* **12**: 119-125.
- Martin *et al.* 1998 *J. Cell Biol.* **141**: 675-687.
- McNally, F.J., *et al.* 1996 *J. Cell Sci.* **109**: 561-567.
- Melki, R., *et al.* 1993 *J. Cell Biol.* **122**: 1301-1310.
- Moritz *et al.* 1995 *Nature* **378**: 638-640.
- Muresan *et al.* 1993 *J. Cell Sci.* **104**: 1229-1237.
- Oakley, B.R., *et al.* 1990 *Cell* **61**: 1289-1301.
- Oakley, C.E., *et al.* 1989 *Nature* **338**: 662-664.
- Okada, Y., *et al.* 1995 *Cell* **81**: 769-780.
- Oegema *et al.* 1999 *J. Cell Biol.* **144**: 721-733.
- Ookata, K., *et al.* 1995 *J. Cell Biol.* **128**: 849-862.
- Palacios, M.J., *et al.* 1993 *J. Cell Sci.* **104**: 383-389.
- Pines, J., *et al.* 1991 *J. Cell Biol.* **115**: 1-7.
- Raff, J. W., *et al.* 1993 *J. Cell Biol.* **121**: 823-835.
- Rattner, J.B., *et al.* 1990 *Cell Motil. Cytoskeleton* **17**: 227-235.
- Riabowol, K., *et al.* 1989 *Cell* **57**: 393-401.
- Rudzinska, M.A., *et al.* 1983 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **80**: 2966-2970.
- Ruiz *et al.* 1999 *Curr. Biol.* **9**: 43-46.
- Salisbury J. L. *et al.* 1986 *Cell Motil. Cytoskeleton* **6**: 193-197.
- Salisbury J. L. 1995 *Curr. Op. Cell Biol.* **7**: 39-45.
- Stearns, T., *et al.* 1991 *Cell* **65**: 825-836.
- Tassin *et al.* 1998 *J. Cell Biol.* **141**: 689-701.
- Vallen, E.A., *et al.* 1992 *Cell* **69**: 505-515.
- Vandre, D.D., *et al.* 1984 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **81**: 4439-4443.
- Verde, F., *et al.* 1992 *J. Cell Biol.* **118**: 1097-1108.
- Zheng, Y., *et al.* 1991 *Cell* **65**: 817-823.
- Zheng, Y., *et al.* 1995 *Nature* **378**: 578-583.