

Emerging Roles of CTD Phosphatases

Youngjun Kim*

Department of Biomedical Chemistry and Nanotechnology Research Center, Konkuk University, Chungju, 27478, Korea

Received March 14, 2017 / Revised March 26, 2017 / Accepted March 27, 2017

Protein dephosphorylation is important for cellular regulation, which is catalyzed by protein phosphatases. Among protein phosphatases, carboxy-terminal domain (CTD) phosphatases are recently emerging and new functional roles of them have been revealed. There are 7 CTD phosphatases in human genome, which are composed of CTD phosphatase 1 (CTDP1), CTD small phosphatase 1 (CTDSP1), CTD small phosphatase 2 (CTDSP2), CTD small phosphatase-like (CTDSPL), CTD small phosphatase-like 2 (CTDSPL2), CTD nuclear envelope phosphatase (CTDNEP1), and ubiquitin-like domain containing CTD phosphatase 1 (UBLCP1). CTDP1 dephosphorylates the second phosphor-serine of CTD of RNA polymerase II (RNAPII), while CTDSP1, CTDSP2, and CTDSPL dephosphorylate the fifth phosphor-serine of CTD of RNAPII. In addition, CTDSP1 dephosphorylates new substrates such as mothers against decapentaplegic homologs (SMADs), cell division cycle-associated protein 3 (CDCA3), Twist1, tumor-suppressor protein promyelocytic leukemia (PML), and c-Myc. CTDP1 is related to RNA polymerase II complex recycling, mitosis regulation and cancer cell growth. CTDSP1, CTDSP2 and CTDSPL are related to transcription factor recruitment, tumor suppressor function and stem cell differentiation. CTDNEP1 dephosphorylates LIPIN1 and is related to neural tube formation and nuclear envelope formation. CTDSPL2 is related to hematopoietic stem cell differentiation. UBLCP1 dephosphorylates 26S proteasome and is related to nuclear proteasome regulation. In conclusion, noble roles of CTD phosphatases are emerging through recent researches and this review is intended to summarize emerging roles of CTD phosphatases.

Key words : CTD phosphatase, dephosphorylation, phosphorylation, protein phosphatase, stem cell differentiation

서 론

생명체에 있어 그 생명 현상의 유지를 위해 여러 가지의 신호 전달 과정이 발달되어 있는데, 이 중 인산화(phosphorylation)의 과정은 매우 중요한 의미를 가지고 있다는 점이 잘 알려져 있다[24]. 이러한 인산화의 과정은 생체 내에 존재하는 다양한 인산화 단백질(kinase)들에 의해 진행된다. 한편 이러한 인산화의 역 반응으로써 탈 인산화(dephosphorylation) 과정이 존재하여 생체의 항상성을 유지하게 된다. 이 탈 인산화 과정은 관련 탈 인산화 효소(phosphatase)들에 의해 진행된다 [9]. 이 분야에 있어 현재까지 많은 연구들이 인산화 효소(kinase)들에 집중되어 있다. 반면에 탈 인산화 효소(phosphatase)에 대한 연구는 그 중요성에 비해 소홀히 해온 측면이 있다.

단백질 탈 인산화 효소(protein phosphatase)는 세포 내에

서 매우 중요하고도 다양한 역할을 수행한다. 단백질 탈 인산화 효소는 탈 인산화 하는 잔기에 따라 serine/threonine 탈 인산화 효소들과 tyrosine 탈 인산화 효소들로 분류된다. 이러한 단백질 탈 인산화 효소들은 현재 인간의 genome에서 약 150여종이 발견된다[35]. 인간에 존재하는 단백질 탈 인산화 효소는 3가지 탈 인산화 효소 그룹으로 나눌 수 있는데, 첫 번째 그룹은 통상 PP (protein phosphatase)로 명칭 되는 serine/threonine phosphatase들로 그 효소 활성을 위해 금속을 필요로 하며 그 기질 특이성을 위해 조절 단백질(regulatory protein)들이 존재한다. 이 조절 단백질과 활성 단백질(catalytic protein)의 결합에 의해 단백질 활성이 조절되는 기작을 가지고 있다[49]. 두 번째 그룹은 통상 PTP (protein tyrosine phosphatase)들로 명칭 되는 것으로써, 그 효소 활성이 CX₅R이라는 활성 부위(active site)의 서명 모티프(signature motif)을 공통으로 가지고 있다. 이 단백질들 내에는 여러 종류의 도메인(domain)의 특이성과 활성 부위 주변부의 구조적 특이성에 의해 기질 특이성이 조절된다고 알려져 있다[10].

최근에 연구되어 새로운 역할들이 제시되고 있는 세번째 단백질 탈 인산화 효소 그룹으로 CTD (carboxy-terminal domain) 탈 인산화 효소들이 있다. 인간의 genome에는 7개의 CTD 탈 인산화 효소들이 존재한다[24]. 여기서 CTD는 RNA 중합 효소(polymerase) II의 C-말단 도메인(CTD)으로부터 유

*Corresponding author

Tel : +82-43-840-3569, Fax : +82-43-840-3929

E-mail : ykim@kku.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

래된 것이다. 이 C-말단 도메인은 RNA 중합 효소 II의 12개 단위 중에서 가장 큰 부분이며 'Y₁S₂P₃T₄S₅P₆S₇' 서열이 반복적으로 존재하고 있다. 인간 RNA 중합 효소 II에서는 'Y₁S₂P₃T₄S₅P₆S₇' 서열이 52번 반복되고 효소의 경우에는 26번 반복된다[78]. 이 영역은 세포 생존에 매우 중요한 부분이며 RNA 중합 효소 II를 여러가지 방법으로 제어하는 역할을 수행하는 것으로 알려져 있다[33]. 이 C-말단 도메인의 서열에서 알 수 있듯이 인산화가 가능한 tyrosine (Y)과 serine (S), threonine (T) 잔기가 여러 개 존재하고 있으며, 인산화 된 이 잔기들을 탈 인산화 하는 탈 인산화 효소들이 존재하게 된다. 이 중 2번째와 5번째 phosphor-serine에 대해 탈 인산화를 담당하는 효소들이 본 리뷰에서 논하고자 하는 CTD 탈 인산화 효소 중의 일부이다.

인간의 7개 CTD 탈 인산화 효소 중 최초로 알려진 것은 FCP1 (TFIIF-associating CTD phosphatase 1)으로 최근에 CTD1 (CTD phosphatase 1)으로 명칭이 바뀌게 되었다[56]. 그리고 이어서 SCP1 (small CTD phosphatase 1), SCP2 (small CTD phosphatase 2), SCP3 (small CTD phosphatase 3)가 연구되었고, 이들의 명칭 또한 CTDSP1 (CTD small phosphatase 1), CTDSP2 (CTD small phosphatase 2), CTDSPL (CTD small phosphatase-like)로 바뀌게 되었다[73]. 그리고 2002년부터 Dullard에 대한 연구가 이루어지게 되었는데, 이 단백질은 최근에 CTNEP1 (CTD nuclear envelope phosphatase 1)로 명칭 되었다[24]. 이외에 CTDSPL2 (CTD small phosphatase-like 2) [80]와 UBLCP1 (ubiquitin-like domain containing CTD phosphatase 1) [14]가 최근에 와서 관련 연구가 이루어지게 되었다. 이러한 7종의 CTD 탈 인산화 효소들은 공통으로 활성 부위(active site)에 DXDXT 서열을 가지고 있다(Fig. 1). 본 리뷰에서는 위에서 언급된 7종의 CTD 탈 인산화 효소들에 대해 최근에 연구되어 보고된 생물학적 역할을 중심으로 정리하여, 앞으로의 CTD 탈 인산화 효소들의 연구 전망에 대해 논의해보고자 한다.

본 론

CTDP1

RNA 중합 효소 II는 초기 mRNA 합성에 사용되는 전사 장치의 핵심 구성 요소이며 mRNA의 전사 후 조절 및 변형을 매개합니다. RNA 중합 효소 II의 가장 큰 subunit인 CTD를 통해 초기 mRNA의 처리 및 조절 인자의 레퍼토리가 구성됩니다. 이 앙상블의 시간적, 구조적, 기계적 특징의 조절은 전사 및 세포주기의 타이밍에 달려있다. 주목할 만하게도 RNA 중합 효소 II의 CTD는 RNA 중합 효소 I 또는 III에서 발견되지 않기 때문에 독특하다. 세포에서 CTD에 의해 지배되는 정교한 공간적 및 일시적 규제 기능과는 달리, 그 주요 구성은 놀랄 정도로 간단하다[6]. 진핵 생물에서만 발견되는 CTD는 일반

적으로 공통 서열인 Y₁S₂P₃T₄S₅P₆S₇로 구성된다. CTD의 1차 서열은 간단하지만, 시스 또는 트랜스 펩타이드 결합 배열을 취할 수 있는 Pro 잔기의 존재 및 인산화 효소 표적으로서 Tyr, Thr 및 Ser 잔기의 포함은 RNA 중합 효소 II의 물리 화학적 다양성을 가지는 엄청난 잠재성을 나타낸다. 실제로, CTD 인산화는 세포가 유전자 발현을 조절하는 주요 기작이다[6]. Tyr, Thr 및 Ser 인산화의 정도는 세포의 생활주기를 통해 일시적으로 변화한다. 예를 들어, Ser2 및 Ser5는 Pro 구조에 의해 유도된 인산화 효소에 대한 주요 표적이지만, Tyr1 및 Thr4는 최소 범위로 인산화 된다[23]. Pro3 및 Pro6은 시스 및 트랜스 펩타이드 결합 배열에 따라 활성을 갖는 인산화 효소 및 탈 인산화 효소에 대한 CTD의 구조 및 접근 가능성을 조절할 수 있다. 중요하게도, 인산화 특이적인 proline 시스-트랜스 이성질체화 효소(petidylprolyl isomerase, PPIase)인 Pin1은 CTD에서 Pro 함유 펩타이드 결합의 시스-트랜스 비율을 변경함으로써 RNA 중합 효소 II를 통해 전사를 조절한다. CTD의 조절된 인산화 및 탈 인산화는 전사 복합체의 동원 및 조립에 필수적인 뿐만 아니라 세포주기 동안 전사 및 mRNA 프로세싱을 일시적으로 제어한다. 세포주기 효과는 주로 사이클린 의존성 인산화 효소(cyclin-dependent kinase, CDK)와 같은 proline 유도 인산화 효소의 참여를 통해 매개된다[11]. 반대로 CTD 특이적 탈 인산화 효소들은 많이 확인되지 않았다.

RNA 중합 효소 II CTD의 반복적인 Y₁S₂P₃T₄S₅P₆S₇의 서열 중에 있는 2번째 serine과 5번째 serine은 여러 효소들에 의해 인산화와 탈 인산화가 된다. 그 인산화와 탈 인산화 과정에 의해 RNA 전사과정이 조절되게 된다. CTDP1은 RNA 중합 효소 II의 CTD의 인산화 되어있는 두번째 serine을 탈 인산화시키는 것으로 알려져 있다. 이러한 탈 인산화를 통해 전사작용을 하는 RNA 중합 효소 II 복합체는 전사를 마치게 되는 것으로 알려져 있다[43]. CTDP1은 모든 진핵 생물에서 발견되는 보존된 탈 인산화 효소이며, 효모에서 CTDP1 유전자를 제거한 경우의 실험을 통해 세포 생존에 필수적인 것으로 알려져 있다. 이러한 이유가 CTDP1의 탈 인산화 활성이 RNA 중합 효소 II의 재순환에 필수적으로 작용하기에 그러한 것으로 생각되고 있다[56]. CTDP1은 RNA 중합 효소 II와의 상호작용에 필요한 BRCA1 C-Terminus (BRCT) domain을 가지고 있다. 이 BRCT domain의 C-말단이 Transcription factor IIF (TFIIF)의 한 부분인 RAP74와 상호작용을 통해 CTDP1의 활성이 커지게 되는 것으로 알려져 있고, 그 복합체의 구조가 NMR에 의해 규명되었다(Table 1). 그리고 CTDP1의 금속 친화적인 DXDXT motif에서 첫번째 Asp 잔기가 활성에 있어 매우 중요한 것으로 알려져 있다(Fig. 1) [17].

최근의 다양한 연구를 통해 CTDP1과 관련된 다양한 생물학적 역할에 대해 보고된 바가 있다(Table 2). 새롭게 제기되는 CTDP1 관련 생물학적 역할 중에서 유전적 이상에 의해 나타나는 것으로 알려진 선천성 백내장 얼굴 이형성 이상 증

Table 1. Biochemical characteristics of CTD phosphatases

CTD phosphatase	Alias	Subcellular location	Substrates	Related PDB IDs
CTDP1	FCP1	Nucleus	RNAPII CTD (Serine 2)	1ONV
CTDSP1	SCP1 NIF3	Nucleus	RNAPII CTD (Serine 5) SMADs, CDCA3, Twist1 (Serine 68) PML (Serine 518), c-Myc (Serine 62)	4YGY, 4YH1, 3PGL, 3PGL 3L0B, 3L0C, 3LOY 2GHQ, 2GHT, 1T9Z, 1TA0
CTDSP2	SCP2 OS4 NIF2	Nucleus	RNAPII CTD (Serine 5) SMADs PML (Serine 518)	2Q5E
CTDSPL	SCP3 HYA22 NIF1	Nucleus	RNAPII CTD (Serine 5) SMADs PML (Serine 518)	2HHL
CTDSPL2	HSPC058 HSPC129	Chromosome	SMADs RNAPII CTD (Serine 5 and 7)	-
CTDNEP1	Dullard	Nuclear envelope	LIPIN1 (Serine 106)	-
UBLCP1	CPUB1	Nucleus	26S Proteasome	2M17, 2LGD, 3SHQ, 2KX3

Table 2. Biological roles of CTD phosphatases

CTD phosphatase	Main roles	References
CTDP1	RNA Polymerase II Complex Recycling	[17]
	Congenital Cataracts-Facial Dysmorphism-Neuropathy	[62]
	Mitosis Regulation	[13, 64]
	Cancer Cell Growth	[13, 81]
CTDSP1	Transcription Factor Recruitment	[72, 73]
	Neuronal Gene Silencing	[36, 71]
	Tumor Suppressor	[8, 27]
	Cancer Cell Invasion, Metastasis	[22]
CTDSP2	Osteoblastic Differentiation	[46]
	Transcription Factor Recruitment	[73]
	Promoter Clearance	[60]
CTDSPL	Ras Activation	[26]
	Tumor Suppressor	[27]
CTDSPL2	ϵ - and γ -Globin Expression	[29]
	Hematopoietic Stem Cell Differentiation	[29, 66]
	Osteoblastic Differentiation	[79]
CTDNEP1	Neuronal Tube Formation	[47]
	Nuclear Envelope Formation	[24]
UBLCP1	Nuclear Proteasome Activity Regulation	[14]

(Congenital Cataracts-Facial Dysmorphism-Neuropathy, CCFDN) 증후군이 있다[62]. 이것은 복합체상 염색체 열성 유전의 발달 장애로써 현재까지 CCFDN은 로마 집시 인종의 환자에서만 독점적으로 발생하는 것으로 알려져 있고, CTDP1 유전자에서 돌연변이에 의해 나타나는 것으로 알려져 있다. 아직은 CTDP1의 RNA 중합 효소 II의 CTD 잔기 중 2번째 serine에 대한 탈 인산화 효소 활성화의 이 유전적 표현형 상관관계는 자세히 설명되지는 않았다[62].

가역성 단백질 인산화는 세포주기 제어의 중요한 조절 기작이다. 세포 분열 동안, 유사 분열 진행은 단백질 인산화 과정이 매우 중요하다. 이러한 과정은 사이클린 B-의존성 인산화 효소(CDK)의 활성화-불 활성화 사이클에 의존한다. 유사 분열 유출(mitosis exit)에서 주요 탈 인산화 효소에 대한 지식은 상당히 부족하다. 진행 생물에서의 유사 분열의 올바른 수행은 M-phase-promoting factor (MPF)인 사이클린 B-의존성 인산화 효소 1(CDK1)의 활성화 및 불 활성화에 의존한다. 일단



Fig. 1. The multiple sequence alignment of 7 human CTD phosphatases produced by T-Coffee[37].

활성화되면 MPF는 CDK1의 억제성 인산화와 사이클린 B의 유비퀴틴 의존성 분해를 막는 것이 지속됩니다. 이러한 과정에서 MPF의 불활성화를 위해서는 CTDP1에 의한 탈 인산화가 중요하다는 점과 이를 통해 세포의 유사 분열 유출(mitosis exit)이 이루어진다는 것이 알려져 있다. 유사 분열이 진행되는 동안, CTDP1은 CDK1 및 Greatwall (Gwl) 비활성화를 조절하는 과정을 통해 유사 분열 진행을 유도하는 것으로 연구되었다[64]. 한편, 누룩 곰팡이 (*Aspergillus nidulans*)에서 연구된 바에 따르면, CTDP1이 유사 분열에서 잠재적 기능이 있음을 확인하여 보고된 바가 있다[54]. 그리고 다른 연구에 따르면, 유사 분열 과정에서 CTDP1 의존적인 Wee1 재 활성화가

CDK1 활성을 낮추고, spindle assembly checkpoint (SAC) 의 존성 유사 분열 정지를 약화시켜서 유사 분열을 유도하는 것으로 알려져 있다[63]. 이러한 연구들을 토대로 CTDP1에 의한 유사 분열 과정의 조절에 대한 새로운 역할이 제시되고 있다는 점을 주의 깊게 지켜봐야 된다고 본다.

최근 CTDP1의 종양 형성 과정에서 역할이 여러 가지 연구에 의해 제기되고 있다. 먼저 인간 폐암에서 CTDP1의 기능에 대한 연구를 수행하였는데, 4종의 인간 폐암 세포주를 가지고 CTDP1의 발현 정도를 비교 연구하였다. 그리고 병리적으로 폐암으로 확인된 환자조직을 정상조직과 비교 연구를 수행하여 CTDP1의 세포증식에 미치는 영향에 대해서도 연구하였다

[81]. 그리고 CTDP1의 짧은 헤어핀 RNA를 발현하는 렌티 바이러스 벡터(short hairpin RNA, shRNA)를 제작하여 인간의 폐 세포에 감염시켜 그 역할에 대한 연구를 수행하였다[13]. 그 결과 CTDP1은 4 종의 모든 인간 폐암 세포에서 발현되었고 종양 환자조직에서의 CTDP1의 발현이 정상조직보다 유의하게 높았다. 그리고 CTDP1의 짧은 헤어핀 RNA를 발현하는 렌티 바이러스 벡터(shRNA)에 의해 감소된 CTDP1 발현은 세포 성장을 유의하게 억제하였다. 이러한 연구의 결과는 CTDP1이 세포 증식에 중요한 역할을 한다는 것을 나타냈다. 한편 다른 연구에서는 역 전사-정량적 중합 효소 연쇄 반응 분석을 사용하여 다양한 위암(gastric cancer, GC) 세포주에서 CTDP1 전령 RNA 발현을 검출 하여, CTDP1이 특정 GC 세포주에서 높게 발현된 것을 확인 하였다. CTDP1의 짧은 간섭 RNA를 발현하는 렌티 바이러스 벡터(small interfering RNA, siRNA) 감염에 의해 GC 세포에서 발현을 억제한 경우를 통해 CTDP1 억제는 세포 증식을 감소시키고, G0/G1 단계에서 세포주기를 정지시키고 GC 세포에서 세포 사멸을 증가시키는 결과를 얻었다. 한편 CTDP1을 억제함으로써 GC 세포의 콜로니 형성 능력도 억제되었다. 이러한 결과를 종합하면, CTDP1은 GC 세포의 종양 형성 능력에 중요한 역할을 하는 것으로 생각되고 있다. 이러한 연구들을 통해 CTDP1의 암 생성 및 조절에 대한 역할이 새롭게 제기되었으며, CTDP1이 인간의 다양한 암 치료의 유용한 치료 표적일 수 있다는 점을 제시하고 있다.

CTDSP1, CTDSP2, CTDSPL

Small CTD phosphatase 1 (SCP1, CTDSP1)은 RNA 중합 효소 II C-terminal domain (CTD)의 서열 중에 있는 5번째 serine을 탈 인산화(De phosphorylation)하는데 관여되는 단백질이다[73]. 그래서 CTDSP1은 Ser5를 탈 인산화 시키는 과정을 통해 RNA 전사 과정에서 관여된 여러 단백질들이나 인자(factor)들을 모집(recruitment) 하는 기능을 수행하게 되는 것으로 알려져 있다. 결국 CTDSP1은 RNA 중합 효소 II의 CTD를 탈 인산화 시켜서 전사 과정을 조절하는 기능을 가진 단백질이다. 현재 다양한 연구 그룹 등에 의해 그 3차원적인 자체 구조와 기질인 CTD의 phosphopeptides와 결합된 Complex 구조가 잘 알려져 있다(Table 1) [31, 32, 76-78]. 이러한 측면에서 CTDSP1뿐만 아니라 밀접한 관련성이 있는 구성원으로 CTDSP2과 CTDSPL도 함께 알려져 있다. CTDP1과 CTDSP1 사이의 주목할 만한 차이는 탈 인산화에 있어 CTD의 두 가지 serine에 대한 각각의 선호이다. CTDP1은 5번째 serine보다 2번째 serine에 대해 10 배 이상 활성을 가지는 반면, CTDSP1은 5번째 serine를 기질로 선호한다. 이 촉매 선택성은 전사 및 mRNA 프로세싱의 타이밍 조절에 중요한 역할을 한다. 예를 들어, 5번째 serine 인산화는 mRNA 캡핑 인자의 모집 및 조절에 중요한 역할을 하며, 5번째 serine 인산화의 출현은 전

사 개시(transcript initiation)의 특징으로 여겨진다. mRNA 신장 동안, 5번째 serine 인산화는 5'-mRNA 프로세싱 인자의 방출과 동시에 탈 인산화가 되는 반면, 2번째 serine의 인산화는 3'-mRNA 프로세싱 인자의 모집을 유도한다. 2번째 serine의 탈 인산화는 RNA 중합 효소 II가 다음 전사를 시작하기 위해 필요한 저 인산화 된 CTD의 재생에 중요한 역할을 하게 되는 것이다. CTDP1과 달리 CTDSP1, CTDSP2 그리고 CTDSPL은 BRCT 도메인이 없으며, 구조적으로 매우 유사한 것으로 알려져 있다[78]. 한편 RNA 중합 효소 II의 CTD에 대한 다른 탈 인산화 효소로 최근에 밝혀진 것은 SSU72와 같은 탈 인산화 효소 들이 알려지고 있다[75]. 이들은 CTD 탈 인산화 효소 그룹에 소속되어 있지 않아서 여기서는 자세히 다루지 않겠지만, 이를 통해 보면 여러 개의 탈 인산화 효소가 RNA 중합 효소 II CTD의 탈 인산화에 관여됨을 알 수 있고, 이러한 과정의 기능적 복잡성을 보여준다고 할 수 있기에 향후 이에 대한 좀 더 체계적인 연구의 필요성이 제기된다고 할 수 있다.

현재까지의 연구에 의해 잘 알려진 CTDSP1의 생물학적 역할은 신경세포 유전자 발현 억제(neuronal gene silencing)의 기능을 가지고 있음이 잘 알려져 있다(Table 2) [71]. 이에 대해서는 P19이라는 마우스 배아 암 줄기 세포(mouse embryonic carcinoma stem cell)을 이용하여 CTDSP1이 REST/ NRSF라는 신경세포 유전자 발현 억제 인자(neuronal gene silencing factor)들과 함께 신경세포 관련 유전자(neuronal gene)의 발현을 억제함이 밝혀짐을 통해 증명되었다. 그리고 이러한 역할이 CTDSP2와 CTDSPL에 의해서도 기능적으로 유사하게 나타남이 알려져 있다. 이러한 연구에서 주목할 것은 P19 줄기 세포에서 인산화 된 CTD에 결합할 수 있는 CTDSP1의 불활성화 돌연변이(D96ED98N) [46]를 이용하여 P19 줄기 세포의 뉴런 유전자 발현과 신경 세포 분화 유도를 발견했다는 점이다. 다능성 줄기 세포에서 신경 세포 특이적 유전자의 부적절한 발현을 제한하는 CTDSP1의 역할을 살펴봄으로써 향후 적절한 억제제를 개발한다면 이러한 줄기 세포에서 신경 세포 분화를 유도할 수 있는 방안이 마련됨을 통해 신경 세포 재생 등의 영역에서 활용될 수 있으리라 본다. 한편 CTDSP1의 새로운 역할로써 TGF-beta/bone morphogenetic protein (BMP) 신호 전달 경로에 놓여 있는 SMADs (Mothers against decapentaplegic homologs) family의 탈 인산화에 관여됨[42, 46, 70]이 제시되고 있어 이에 대한 좀 더 많은 연구 등을 통해 추가적인 역할 규명이 될 것으로 예측된다. 현재 진행되고 있는 여러 연구 결과를 보아 주로 줄기 세포 등의 분화 기능 조절이나 특정 세포 발현 조절에 중요하게 작용할 것으로 예상된다. 그리고 추가적으로 최근 연구를 통해 cell division cycle-associated protein 3 (CDCA3)를 탈 인산화는 것으로도 알려져 있다[25]. 이는 CTDSP1이 세포 주기 조절과도 상관성이 있음을 예상할 수 있다. 최근 연구에 따르면 CTDSP1이 c-Myc를 탈

인산화 시킴으로써 c-Myc의 단백질 안정성과 기능을 조절하는 것으로 알려져 있다[65]. 그리고 Twist1과 같은 암세포의 침입과 전이에 중요한 역할을 하는 단백질을 탈 인산화 시키는 것으로 알려지게 되었다[22]. 이는 CTDSP1이 암 발생 조절과 전이 조절의 가능성을 보여주는 사례들이며, 향후 암과의 관련성 연구가 주요하게 이루어지리라 예측된다.

한편 CTDSP2는 남성 스테로이드 호르몬인 테스토스테론, 5 α -디 하이드로 테스토스테론에 의해 중재 되는 전사의 과정에 관여됨이 밝혀져서 남성의 성적 특징에 중요한 역할을 한다고 생각된다[60]. Androgen receptor (AR)은 핵 수용체(nuclear receptor)중 하나의 스테로이드 수용체 계열에 포함된다. 이러한 연구를 통해 살펴본 바에 따르면 CTDSP1, CTDSP2 그리고 CTDSPL이 LNCap 세포에서 비정상적으로 발현되어 있고, 이는 전립선 암에서의 AR 관여 전사 전립선 특이 항원(prostate specific antigen, PSA) 프로모터를 약화시키는 것으로 생각되고 있다. 그리고 CTDSPL2는 TGF-beta의 신호전달 과정에서 SMADs의 탈 인산화에도 관여되는 것이 알려져 있다[79]. 한편 FOXO에 의해 일반적으로 규제되는 일련의 유전자를 확인한 결과 CTDSP2가 FOXO 표적 유전자이며, 세포 주기의 진행에 관여하는 유전자로서 p21Cip1/Waf1, Ras의 활동을 증가시킴으로써 신호 전달을 증가시켜 세포 주기를 조절하는 것으로 생각되고 있다 (Table 2) [26].

CTDSPL은 CTDSP1, CTDSP2와 구조적으로나 기능적으로 매우 유사한 것으로 알려져 있다(Fig. 1, Table 1 & 2). 다른 탈 인산화 효소와 유사하게 CTDSPL도 TGF-beta에 의해 유도되는 신호전달 과정에서 SMADs의 탈 인산화에 관여되는 것으로 알려져 있다[57]. 그리고 여러 가지 암세포나 조직을 가지고 돌연변이의 빈도에 대해 조사한 바에 따르면 CTDSPL이 매우 높은 돌연변이를 보여주는 것으로 나타났다[1, 2, 20, 21, 48, 53]. 이는 CTDSPL의 암 억제 단백질로서 기능에 대한 연구가 매우 필요함을 보여준다 하겠다. 이와 같이 현재 SCP2 (CTDSP2)는 암세포 발현 억제와 전사 조절에 관여됨이 여러 모델에서 제시되고 있으며 SCP3 (CTDSPL)는 SCP2와 유사하게 암세포 발현 억제 역할을 하는 것으로 잘 알려져 있다[55, 82].

CTDSP1, CTDSP2 그리고 CTDSPL은 tumor-suppressor protein promyelocytic leukemia (PML)을 탈 인산화 시켜 PML 유비퀴틴화를 차단하고 Pin1 및 KLHL20에 의해 매개되는 분해를 조절하는 것으로 알려져 있다[27]. 그리고 임상 시료를 통해 연구된 바에 따르면 CTDSP1과 CTDSPL은 clear cell renal cell carcinoma (ccRCC)에서 하향 발현되며 이러한 증상은 PML의 Ser518의 인산화와 관계가 있다. 이때 CTDSP1은 PML 안정화를 통해 종양의 증식, 이동, 침범이라는 ccRCC의 악성적인 특징을 억제하였다. 그리고 이 연구에서 밝혀진 바에 따르면 CTDSP1은 종양에서의 angiogenesis뿐만 아니라 mTOR-HIF 경로를 억제하는 것으로 나타났다. 이러한 과정의

연구를 통해 CTDSP1, CTDSP2, 그리고 CTDSPL의 암 발현과 조절에 있어 매우 중요한 역할을 수행하고 있다는 점이 밝혀지고 있어 향후 이에 대한 치료제 개발의 필요성이 제기되리라 예측한다.

CTDNEP1

CTD phosphatase 중 하나가 Dullard (CTDNEP1)라는 단백질이 있는데, 이는 일본의 연구 그룹에 의해 2002년에 처음 보고되었다[47]. *Xenopus laevis*에서 antisense morpholino oligonucleotide을 이용하여 연구한 결과 개구리의 신경세포 발생에 문제가 있음이 밝혀져 있다. 그러므로 CTDNEP1은 현재 신경 관련조직이나 기관의 발생과정에 관여될 것으로 예상되고 있으며 신경세포의 발생과정 규명에 있어 새롭게 각광받고 있는 단백질이다. *Xenopus laevis*의 연구 이후 CTDNEP1은 몇 개의 연구 그룹에 의해 여러 가지 실험 모델을 가지고 다양한 방향에서 연구되어 오고 있다(Table 2).

이 중에서 먼저 연구된 분야는 CTDNEP1의 yeast homolog protein인 Nem1p에 대한 것으로 영국에 있는 연구 그룹에 의해 관련 연구가 수행되었다[3, 5, 69]. 그 내용은 이 단백질을 yeast에서 knock-out 시키면 그 핵막 (nuclear envelope)이 세포 분화 과정에서 중단된 것 같이 뒤틀어진 모양을 가지고 있는 표현형을 보이는 것으로 알려져 있다. 그리고 이 단백질은 Spo7p이라는 단백질과 함께 상호 작용함이 알려져 있으며 이 상호 작용을 통해 Pap1p (Smp2p)라는 phosphatidic acid (PA) 탈 인산화 효소를 탈 인산화 시키는 것으로 알려져 있다 [5, 7, 15, 68]. 이와 같은 연구를 통해 yeast Nem1p은 Spo7p이라는 단백질과의 복합체를 이룸으로써 Pap1p을 탈 인산화 시키고 이를 통해 핵막의 PA level를 조절하게 되며, 이 조절은 핵 지질(nuclear lipid) 합성에 관여되는 유전자들의 전사를 향상시키는 과정으로 연결된다. 이에 대해 자세히 살펴보면 효모(yeast)에서 nucleoporin Nup84p와의 유전자 상호 작용 연구를 통해 두 단백질 인 Nem1p와 Spo7p를 처음 발견하였다. 이어서, Nem1p와 Spo7p가 단백질 복합체를 형성하고, 이 두 단백질이 Smp2p의 활성을 조절함으로써 핵막 형성에 역할을 한다는 것이 증명되었다. Smp2p는 세포주기 관련 인산화 효소에 의해 인산화 되고 Nem1p와 Spo7p의 복합체에 의해 탈 인산화 된다[19, 45]. 이어서 탈 인산화 된 Smp2p는 PA를 탈 인산화 시키고 효모에서 diacylglycerol (DAG)을 생성한다. 이 DAG는 지질 합성에 사용되며 PA의 탈 인산화는 지질 합성 조절 단백질인 inositol protein 1 (Opi1p)의 소포체 (endoplasmic reticulum)에서 nucleus 로의 이동을 유도한다. 핵 안의 Opi1p는 지질 합성 관련 유전자의 전사를 약화시킨다[16, 30, 38]. 따라서, Nem1p/Spo7p 복합체에 의한 Smp2p의 탈 인산화는 효모에서 세포 분열 동안 핵막 형성의 중요한 조절 기작이다. 이는 핵막의 형성에 있어 새롭게 밝혀진 기작으로 현재 새롭게 조명 받고 있으며 향후 추가적인 연구를 통해 좀 더

구체적인 기작 규명이 필요한 분야이다.

한편 인간 CTDNEP1는 기능적으로 yeast Nem1p와 유사함이 여러 측면에서 밝혀졌다[24]. 이는 단백질 서열상의 유사성과 세포내의 localization도 유사함이 알려져 있다. 위의 연구와 더불어 인간 CTDNEP1는 yeast Pap1p의 human homolog protein인 LIPIN1을 탈 인산화 시킴을 확인하였고(Table 1), 결론적으로 인간에게도 yeast와 같은 핵막 지질(nuclear membrane lipid) 합성을 조절하는 기작의 존재가 제시되었다. yeast Smp2p의 포유류 ortholog는 LIPIN 인 것으로 알려져 있다[15]. 그리고 다양하게 연구된 바에 따르면 LIPIN의 돌연변이가 지방 이상증을 유발하는 것으로 알려져 있다[12, 28, 34, 39-41, 50-52, 58, 67]. Smp2p와 마찬가지로 LIPIN은 PA 탈 인산화 효소이며 포유류 세포에서 DAG을 생산한다. LIPIN은 인슐린이나 올레산과 같은 세포 자극제에 의해 인산화 되고 탈 인산화 될 수 있으며, 이 조절은 지방 세포 발달의 기능과 관련이 있다. LIPIN은 적어도 19개 잔기에서 인산화되며 여러 인산화 효소에 의해 인산화 될 수 있다. LIPIN의 탈 인산화는 세포질로부터 핵막과 소포체 망막으로의 이동을 초래하여 DAG를 생성하게 된다. 흥미롭게도 LIPIN과 Smp2p는 동일한 촉매 특이적 모티프(motif)인 DIDGT를 가지고 있으며 Nem1p와 CTDNEP1는 동일한 촉매 특이적 모티프 DLDET을 가지고 있다. 두 모티프는 모두 halo acid dehalogenase (HAD) superfamily에서 유래했다. 이 신호 전달 계통은 DXDX(T/V) 모티프를 갖는 두 개의 탈 인산화 효소로 구성되어 있다. 결국 효모에서는 Nem1p는 Smp2p를 탈 인산화 시키고, 이어서 탈 인산화 된 Smp2p는 PA를 탈 인산화 시키고, 포유 동물에서는 CTDNEP1는 LIPIN을 탈 인산화한 다음 이 탈 인산화 된 LIPIN은 PA를 탈 인산화 시킨다. 이러한 결과가 결국 핵막 발생의 조절에 큰 영향을 미치는 것으로 나타나게 된다. 이러한 신호전달 과정은 현재 다양한 접근방법으로 연구 되는 분야로써 미국에 있는 하나의 연구 그룹은 LIPIN knock-out mice을 중심으로 하여 그 상관성 규명을 연구 중이다(unpublished data). *C. elegans*을 모델 생물로 하여 CTDNEP1의 신경세포 발달 과정에 대한 규명 연구가 진행 중인데, 이 *C. elegans* 모델을 가지고 CTDNEP1이 억제될 경우 yeast와 마찬가지로 핵막 형성에 문제가 생긴다는 점을 발표한 바 있다[4]. 그리고 최근 yeast Spo7p와 같이 인간 CTDNEP1과 상호 작용하는 단백질인 Nuclear envelope phosphatase 1-regulatory subunit 1 (formerly TMEM188, NEP1-RE1)이 현재 밝혀져 CTDNEP1과의 상호 작용을 통해 LIPIN 신호전달에 관여되는 것으로 알려져 있다[15]. 그러므로 CTDNEP1 또한 CTDSPL1과 마찬가지로 줄기 세포 분화와 관련된 측면에서 연구가 많이 진행될 것으로 예상된다.

한편 CTDNEP1이 BMP 수용체 II를 탈 인산화 시켜 BMP 경로의 하향 조절을 유도한다는 것이 최근 보고된 바가 있다[18, 44, 59, 61]. 이 연구는 CTDNEP1의 생물학적 기능에 대한

유용한 통찰력을 제공할 수도 있지만, 현재까지 밝혀진 바에 따르면 CTDNEP1와 BMP 수용체의 위치는 세포내 다른 위치에 있을 것으로 확인되었기에 발견된 연구 결과를 논리적으로 완벽하게 설명하는 것은 어려움이 있다고 본다. 그리고 Satow et al. 의 연구 결과를 살펴보면 CTDNEP1의 발현에 있어 CTDNEP1의 N-말단에 태그(tag)를 사용하였기에, 단백질의 세포내 위치가 다르게 된다는 문제점이 있으리라 예상된다. 또한, 배양된 세포에서 탈 인산화 효소의 과 발현은 비 특이적인 탈 인산화를 유도할 수 있다는 문제점 또한 예상된다. 그러므로 CTDNEP1의 BMP 수용체 신호 전달 경로에서 역할을 명확히 하기 위해서는 추가적으로 좀 더 섬세하게 디자인된 연구가 필요할 것으로 보인다

마지막으로, CTDNEP1의 비활성화가 원래 *Xenopus laevis*의 두뇌 발달에 중대한 영향을 미쳤다는 것을 주목하는 것이 필요하다고 본다[47]. 현재까지 연구된 바에 따르면 CTDNEP1은 핵막 형성을 변화시키는 것으로 알려져 있는데, 이러한 결과가 어떻게 두뇌 발달에 중대한 영향을 미칠 수 있는지 추가적인 연구가 필요하다고 본다. 또는 CTDNEP1의 관찰된 표현형이 현재까지 밝혀지지 않은 여러 생화학적 경로를 통해 설명될 수도 있다고 본다. 현재까지 CTDNEP1의 생물학적 기능을 밝히는데 상당한 발전을 이루었다고 볼 수 있으나, 해결해야 할 많은 의문점이 남아 있다. 그러한 의문점 중에 하나로써, 포유류 세포에서 지질 합성에 관여하는 유전자의 발현을 조절하는 측면에서 탈 인산화 된 LIPIN의 역할을 규명하는 것이다.

CTDSPL2, UBLCP1

CTDSPL2 (CTD small phosphatase like 2, HSPC129)는 CD34+ 조혈 모/전구 세포(hematopoietic stem/progenitor cells, HSPC)로부터 이전에 정의되지 않은 유전자에 대한 전체 오픈 리딩 프레임(ORF)의 발굴을 통해 발견되었다[29]. 전체적인 구조를 살펴보면 N-말단에 세포막 통과하는 부위가 존재하고 다른 CTD 탈 인산화 효소들과 비슷한 탈 인산화 효소 도메인을 가지고 있는 것으로 알려져 있다(Table 1). 제대혈(umbilical cord blood, UCB)에서 CTDSPL2의 전사 수준이 성인 골수(bone marrow, BM)보다 매우 높은 것이 확인되었다. 그리고 적혈구 분화 과정에서 CTDSPL2 유전자의 전사가 유의하게 증가되는 것으로 밝혀졌다. 또한, CTDSPL2의 과발현이 K562 세포에서 ϵ - 및 γ - 글로빈 유전자의 발현을 증가시키며, RNA 간섭에 의한 CTDSPL2의 억제는 ϵ - 및 γ - 글로빈 유전자의 발현을 감소 시키는 것으로 나타났다. 이러한 연구를 통해 CTDSPL2는 혈액 줄기세포의 분화에 있어 글로빈 유전자의 발현을 향상시키는 과정으로 관여됨이 알려져 있다 (Table 2).

한편 최근 연구에 의해 CTDSPL2가 SMADs의 탈 인산화 효소로서 보고된 바가 있다[79]. CTDSPL2는 SMAD1/5/8과 물리적으로 상호 작용하고 SMAD1/5/8을 특이적으로 탈 인

산화 시킴을 통해 BMP 유발 전사 반응을 약화시키게 된다. 이러한 과정이 BMP에 의해 유도된 골 형성 과정에 관여되게 된다고 보고되었다(Table 2).

CTDSPL2는 HeLa 세포에서의 siRNA 매개 knock-down을 통해 연구된 바에 따르면 RNA 중합 효소 II CTD의 5번째와 7번째 serine의 인산화 수준을 증가 시켰지만 2번째 serine의 인산화는 증가되지 않았다. 그리고 CTDSPL2는 염색질에서 국소화되어 존재하는 것으로 밝혀졌고, 특히 전사가 silenced 염색체 영역에서 많이 발견되었다. 그리고 적혈구 분화 과정에서 염색질 분획으로부터 CTDSPL2가 점진적으로 방출되어 세포질에 축적되는 것으로 나타났다. 따라서 CTDSPL2는 염색체에 분포하고 적혈구 분화 동안 유전자 조절에 참여할 수 있는 독특한 염색질 관련 CTD 탈 인산화 효소로 추정되고 있다[66].

한편 UBLCP1 (Ubiquitin like domain containing CTD Phosphatase 1)은 인간 태아 뇌 cDNA 라이브러리의 대규모 서열 분석을 통해 새로운 탈 인산화 효소 유전자를 분리하는 과정에서 발견되었다[80]. 그 cDNA는 유비퀴틴 유사 도메인과 CTD 탈 인산화 효소 도메인을 포함하는 318 아미노산 폴리펩타이드를 암호화하는 2215 bp이다. 역 전사 PCR (RT-PCR)을 통해 UBLCP1이 대부분의 성인 정상 조직에서 상대적으로 낮은 수준으로 발현되었고 빠른 성장 또는 종양 조직에서는 높은 수준으로 발현된다는 것을 밝혀냈다. UBLCP1은 시험관 내에서 실험을 통해서 GST-CTD를 탈 인산화 시킬 수 있는 것으로 알려져 있다. UBLCP1에 대한 구조적인 연구를 통해 UBL 도메인은 NMR로 규명되었고[74], 탈 인산화 효소 도메인은 X-ray 결정화를 통해 규명되었다(Table 1) [14].

UBLCP는 최근의 연구에 의해 proteasome 탈 인산화 효소로 알려져 nuclear proteasome 활성을 조절하는 탈 인산화 효소이다(Table 2) [14]. 26S 프로테아좀(proteasome)에 의한 단백질 분해는 광범위한 세포 활동에 관여하는 기본적인 과정이지만, 프로테아좀 활성이 어떻게 조절되는지는 잘 알려져 있지 않다. UBLCP1은 UBL 도메인을 통해 프로테아좀과 직접 상호 작용하며 독점적으로 핵에 존재한다고 알려져 있다. UBLCP1은 26S 프로테아좀을 탈 인산화 시켜서 그 활성을 억제하는 것으로 밝혀졌다. 그 활성의 억제 과정은 UBLCP에 의한 26S 핵 프로테아좀의 탈 인산화가 프로테아좀의 코어 및 조절 입자(CP 및 RP)가 성숙된 26S 프로테아좀으로 조립되는 것을 막게 되어 핵 프로테아좀의 단백질 분해 활성이 감소하게 되는 것으로 간주된다.

결 론

인간의 유전체에는 CTD 탈 인산화 효소로 알려진 CTDP1, CTDSP1, CTDSP2, CTDSPL, CTDSPL2, CTDNEP1, UBLCP1과 같은 7종의 단백질이 존재한다. 현재까지 연구된 바에 따르

면 대부분의 CTD 탈 인산화 효소는 RNA 중합 효소 II의 CTD에 존재하는 인산화 되어 있는 serine 들에 대한 탈 인산화 효소 활성을 가지고 있는 것으로 알려져 있다. 그런데 최근의 새로운 연구를 통해 새로운 기질과 생물학적인 역할이 밝혀지고 있다. 지금까지 연구되어 제시된 CTD 탈 인산화 효소들에 대한 기질, 관련 구조 정보 등과 생물학적인 역할에 대해서는 Table 1과 Table 2에 정리하여 제시하였다. 예를 들어 CTDSP1, STDSP2, CTDSPL의 경우 암 세포 발현 조절에 대한 역할이 새롭게 여러 연구를 통해 제기되고 있으며, CTDSPL2의 경우에는 혈액 줄기세포의 분화에 연관성이 제기된 바가 있다. 그리고 CTDNEP1의 경우에는 핵막 형성에 대한 그 역할 관련성이 여러 연구를 통해 밝혀졌고, UBLCP1은 핵 프로테아좀 탈 인산화효소 기능을 수행함을 통해 핵 프로테아좀 활성을 조절하는 것으로 알려지게 되었다. 향후 CTD 탈 인산화 효소들에 대한 다양한 연구들을 통해 좀 더 새로운 역할들이 제기될 것으로 예상된다. 특히 새로운 탈 인산화 기질의 발굴은 생물학적 역할 규명에 앞서 생화학적이고 세포 생물학적인 연구 방법을 통해 연구되어야 함이 매우 필요하다고 생각된다. 이것은 우리가 여러 가지 인간의 질병을 해결하기 위한 새로운 접근법을 제안하는데 필수적인 과정일 것이다.

그리고 CTD 탈 인산화 효소는 새롭게 연구되는 분야로서 앞으로 여러 가지 측면에서 검토될 것으로 예상된다. 특히 줄기 세포분야에서 그 역할 규명이 주요하게 이뤄질 것으로 판단되며 생명현상의 기초적인 질문에 대한 답변을 제시하는 방향에서도 검토되리라 본다. 특히 CTDNEP1의 경우 LIPIN과의 연관성을 가지고 있는 측면에서 생체 내 지질 생합성 과정에서의 역할이 주요하게 연구되리라 보며, CTDSP1의 경우 암 세포 조절 관련 신호전달 기작 규명 측면에서 진행되리라 본다.

한편 CTD 탈 인산화효소는 줄기 세포와의 연관성 차원에서 그 조절 물질 발굴 연구가 주요하게 이루어지리라 본다. 이러한 줄기세포 분화 조절물질 발굴을 위한 연구는 혈액 줄기세포나 신경줄기세포 분화 조절의 방향에서 다양하게 이루어지리라 생각한다. 이러한 연구에 있어 좀 더 성공적인 연구 결과를 얻기 위해서는 다양한 연구 결과 마련이 필요하며, 주도적인 연구 수행을 위한 노력이 필요하리라 본다.

감사의 글

이 논문은 건국대학교 KU학술연구비 지원에 의한 논문임.

References

1. Anedchenko, E. A., Dmitriev, A. A., Krasnov, G. S., Kondrat'eva, T. T., Kopantsev, E. P. and Vinogradova, T. V., *et al.* 2008. Down-regulation of RBSP3/CTDSPL, NPRL2/G21, RASSF1A, ITGA9, HYAL1 and HYAL2 genes

- in non-small cell lung cancer. *Mol. Biol. (Mosk.)* **42**, 965-976.
2. Anedchenko, E. A., Kiseleva, N. P., Dmitriev, A. A., Kiselev, F. L., Zabarovskii, E. R. and Senchenko, V. N. 2007. Tumor suppressor gene RBSP3 in cervical carcinoma: copy number and transcriptional level. *Mol. Biol. (Mosk.)* **41**, 86-95.
 3. Bahmanyar, S. 2015. Spatial regulation of phospholipid synthesis within the nuclear envelope domain of the endoplasmic reticulum. *Nucleus* **6**, 102-106.
 4. Bahmanyar, S., Biggs, R., Schuh, A. L., Desai, A., Muller-Reichert, T. and Audhya, A., et al. 2014. Spatial control of phospholipid flux restricts endoplasmic reticulum sheet formation to allow nuclear envelope breakdown. *Genes Dev.* **28**, 121-126.
 5. Barbosa, A. D., Sembongi, H., Su, W. M., Abreu, S., Reggiori, F., Carman, G. M. and Siniouoglou, S. 2015. Lipid partitioning at the nuclear envelope controls membrane biogenesis. *Mol. Biol. Cell* **26**, 3641-3657.
 6. Buratowski, S. 2009. Progression through the RNA polymerase II CTD cycle. *Mol. Cell* **36**, 541-546.
 7. Campbell, J. L., Lorenz, A., Witkin, K. L., Hays, T., Loidl, J. and Cohen-Fix, O. 2006. Yeast nuclear envelope subdomains with distinct abilities to resist membrane expansion. *Mol. Biol. Cell* **17**, 1768-1778.
 8. Dai, M., Al-Odaini, A. A., Arakelian, A., Rabbani, S. A., Ali, S. and Lebrun, J. J. 2012. A novel function for p21Cip1 and acetyltransferase p/CAF as critical transcriptional regulators of TGFbeta-mediated breast cancer cell migration and invasion. *Breast Cancer Res.* **14**, R127.
 9. Denu, J. M., Stuckey, J. A., Saper, M. A. and Dixon, J. E. 1996. Form and function in protein dephosphorylation. *Cell* **87**, 361-364.
 10. Dixon, D. P., Fordham-Skelton, A. P. and Edwards, R. 2005. Redox regulation of a soybean tyrosine-specific protein phosphatase. *Biochemistry* **44**, 7696-7703.
 11. Egloff, S. and Murphy, S. 2008. Cracking the RNA polymerase II CTD code. *Trends Genet.* **24**, 280-288.
 12. Fawcett, K. A., Grimsey, N., Loos, R. J., Wheeler, E., Daly, A. and Soos, M., et al. 2008. Evaluating the role of LPIN1 variation in insulin resistance, body weight, and human lipodystrophy in U.K. Populations. *Diabetes* **57**, 2527-2533.
 13. Fu, H., Yang, D., Wang, C., Xu, J., Wang, W., Yan, R. and Cai, Q. 2015. Carboxy-terminal domain phosphatase 1 silencing results in the inhibition of tumor formation ability in gastric cancer cells. *Oncol. Lett.* **10**, 2947-2952.
 14. Guo, X., Engel, J. L., Xiao, J., Tagliabracci, V. S., Wang, X., Huang, L. and Dixon, J. E. 2011. UBLCP1 is a 26S proteasome phosphatase that regulates nuclear proteasome activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **108**, 18649-18654.
 15. Han, S., Bahmanyar, S., Zhang, P., Grishin, N., Oegema, K. and Crooke, R., et al. 2011. Nuclear envelope phosphatase 1-regulatory subunit 1 (formerly TMEM188) is the metazoan Spo7p ortholog and functions in the lipin activation pathway. *J. Biol. Chem.* **287**, 3123-3137.
 16. Han, S., Binns, D. D., Chang, Y. F. and Goodman, J. M. 2015. Dissecting seipin function: the localized accumulation of phosphatidic acid at ER/LD junctions in the absence of seipin is suppressed by Sei1p(DeltaNterm) only in combination with Ldb16p. *BMC Cell Biol.* **16**, 29.
 17. Hausmann, S. and Shuman, S. 2002. Characterization of the CTD phosphatase Fcp1 from fission yeast. Preferential dephosphorylation of serine 2 versus serine 5. *J. Biol. Chem.* **277**, 21213-21220.
 18. Hayata, T., Ezura, Y., Asashima, M., Nishinakamura, R. and Noda, M. 2015. Dullard/Ctdnep1 regulates endochondral ossification via suppression of TGF-beta signaling. *J. Bone Miner. Res.* **30**, 947.
 19. Irie, K., Takase, M., Araki, H. and Oshima, Y. 1993. A gene, SMP2, involved in plasmid maintenance and respiration in *Saccharomyces cerevisiae* encodes a highly charged protein. *Mol. Gen. Genet.* **236**, 283-288.
 20. Kashuba, V. I., Li, J., Wang, F., Senchenko, V. N., Protopopov, A. and Malyukova, A., et al. 2004. RBSP3 (HYA22) is a tumor suppressor gene implicated in major epithelial malignancies. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **101**, 4906-4911.
 21. Kashuba, V. I., Pavlova, T. V., Grigorieva, E. V., Kutsenko, A., Yenamandra, S. P. and Li, J., et al. 2009. High mutability of the tumor suppressor genes RASSF1 and RBSP3 (CTDSPL) in cancer. *PLoS One* **4**, e5231.
 22. Khan, M. A., Tania, M., Wei, C., Mei, Z., Fu, S. and Cheng, J., et al. 2015. Thymoquinone inhibits cancer metastasis by downregulating TWIST1 expression to reduce epithelial to mesenchymal transition. *Oncotarget* **6**, 19580-19591.
 23. Kim, H., Erickson, B., Luo, W., Seward, D., Graber, J. H. and Pollock, D. D., et al. 2010. Gene-specific RNA polymerase II phosphorylation and the CTD code. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **17**, 1279-1286.
 24. Kim, Y., Gentry, M. S., Harris, T. E., Wiley, S. E., Lawrence, J. C. Jr. and Dixon, J. E. 2007. A conserved phosphatase cascade that regulates nuclear membrane biogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **104**, 6596-6601.
 25. Kim, Y. J. and Bahk, Y. Y. 2014. A study of substrate specificity for a CTD phosphatase, SCP1, by proteomic screening of binding partners. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **448**, 189-194.
 26. Kloet, D. E., Polderman, P. E., Eijkelenboom, A., Smits, L. M., van Triest, M. H. and van den Berg, M. C., et al. 2015. FOXO target gene CTDSP2 regulates cell cycle progression through Ras and p21(Cip1/Waf1). *Biochem. J.* **469**, 289-298.
 27. Lin, Y. C., Lu, L. T., Chen, H. Y., Duan, X., Lin, X. and Feng, X. H., et al. 2014. SCP phosphatases suppress renal cell carcinoma by stabilizing PML and inhibiting mTOR/HIF signaling. *Cancer Res.* **74**, 6935-6946.
 28. Lindegaard, B., Larsen, L. F., Hansen, A. B., Gerstoft, J., Pedersen, B. K. and Reue, K. 2007. Adipose tissue lipin expression levels distinguish HIV patients with and without lipodystrophy. *Int. J. Obes. (Lond.)* **31**, 449-456.
 29. Ma, Y. N., Zhang, X., Yu, H. C. and Zhang, J. W. 2010. CTD small phosphatase like 2 (CTDSPL2) can increase epsilon- and gamma-globin gene expression in K562 cells and CD34+ cells derived from umbilical cord blood. *BMC Cell Biol.* **11**, 75.
 30. Masuda, M., Oshima, A., Noguchi, T. and Kagiwada, S.

2015. Induction of intranuclear membranes by over-production of Opi1p and Scs2p, regulators for yeast phospholipid biosynthesis, suggests a mechanism for Opi1p nuclear translocation. *J. Biochem.* **159**, 351-361.
31. Mayfield, J. E., Burkholder, N. T. and Zhang, Y. J. 2016. Dephosphorylating eukaryotic RNA polymerase II. *Biochim. Biophys. Acta* **1864**, 372-387.
 32. Mayfield, J. E., Fan, S., Wei, S., Zhang, M., Li, B. and Ellington, A. D., *et al.* 2015. Chemical tools to decipher regulation of phosphatases by proline isomerization on eukaryotic RNA polymerase II. *ACS Chem. Biol.* **10**, 2405-2414.
 33. Meinhart, A., Kamenski, T., Hoepfner, S., Baumli, S. and Cramer, P. 2005. A structural perspective of CTD function. *Genes Dev.* **19**, 1401-1415.
 34. Mul, J. D., Nadra, K., Jagalur, N. B., Nijman, I. J., Toonen, P. W. and Medard, J. J., *et al.* 2011. A hypomorphic mutation in Lpin1 induces progressively improving neuropathy and lipodystrophy in the rat. *J. Biol. Chem.* **286**, 26781-26793.
 35. Mustelin, T. 2007. A brief introduction to the protein phosphatase families. *Methods Mol. Biol.* **365**, 9-22.
 36. Nesti, E., Corson, G. M., McCleskey, M., Oyer, J. A. and Mandel, G. 2014. C-terminal domain small phosphatase 1 and MAP kinase reciprocally control REST stability and neuronal differentiation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **111**, E3929-3936.
 37. Notredame, C., Higgins, D. G. and Heringa, J. 2000. T-Coffee: A novel method for fast and accurate multiple sequence alignment. *J. Mol. Biol.* **302**, 205-217.
 38. O'Hara, L., Han, G. S., Peak-Chew, S., Grimsey, N., Carman, G. M. and Siniossoglou, S. 2006. Control of phospholipid synthesis by phosphorylation of the yeast lipin Pah1p/Smp2p Mg²⁺-dependent phosphatidate phosphatase. *J. Biol. Chem.* **281**, 34537-34548.
 39. Payne, V. A., Grimsey, N., Tuthill, A., Virtue, S., Gray, S. L. and Dalla Nora, E., *et al.* 2008. The human lipodystrophy gene BSCL2/seipin may be essential for normal adipocyte differentiation. *Diabetes* **57**, 2055-2060.
 40. Peterfy, M., Phan, J., Xu, P. and Reue, K. 2001. Lipodystrophy in the fld mouse results from mutation of a new gene encoding a nuclear protein, lipin. *Nat. Genet.* **27**, 121-124.
 41. Phan, J. and Reue, K. 2005. Lipin, a lipodystrophy and obesity gene. *Cell Metab.* **1**, 73-83.
 42. R, H. R., Kim, H., Noh, K. and Kim, Y. J. 2014. The diverse roles of RNA polymerase II C-terminal domain phosphatase SCP1. *BMB Rep.* **47**, 192-196.
 43. Rosonina, E. and Blencowe, B. J. 2004. Analysis of the requirement for RNA polymerase II CTD heptapeptide repeats in pre-mRNA splicing and 3'-end cleavage. *RNA* **10**, 581-589.
 44. Sakaguchi, M., Sharmin, S., Taguchi, A., Ohmori, T., Fujimura, S. and Abe, T., *et al.* 2013. The phosphatase Dullard negatively regulates BMP signalling and is essential for nephron maintenance after birth. *Nat. Commun.* **4**, 1398.
 45. Santos-Rosa, H., Leung, J., Grimsey, N., Peak-Chew, S. and Siniossoglou, S. 2005. The yeast lipin Smp2 couples phospholipid biosynthesis to nuclear membrane growth. *EMBO J.* **24**, 1931-1941.
 46. Sapkota, G., Knockaert, M., Alarcon, C., Montalvo, E., Brivanlou, A. H. and Massague, J. 2006. Dephosphorylation of the linker regions of Smad1 and Smad2/3 by small C-terminal domain phosphatases has distinct outcomes for bone morphogenetic protein and transforming growth factor-beta pathways. *J. Biol. Chem.* **281**, 40412-40419.
 47. Satow, R., Chan, T. C. and Asashima, M. 2002. Molecular cloning and characterization of dullard: a novel gene required for neural development. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **295**, 85-91.
 48. Senchenko, V. N., Anedchenko, E. A., Kondratieva, T. T., Krasnov, G. S., Dmitriev, A. A. and Zabarovska, V. I., *et al.* 2010. Simultaneous down-regulation of tumor suppressor genes RBSP3/CTDSPL, NPRL2/G21 and RASSF1A in primary non-small cell lung cancer. *BMC Cancer* **10**, 75.
 49. Shi, Y. 2009. Serine/threonine phosphatases: mechanism through structure. *Cell* **139**, 468-484.
 50. Sim, M. F., Dennis, R. J., Aubry, E. M., Ramanathan, N., Sembongi, H. and Saudek, V., *et al.* 2012. The human lipodystrophy protein seipin is an ER membrane adaptor for the adipogenic PA phosphatase lipin 1. *Mol. Metab.* **2**, 38-46.
 51. Sim, M. F., Talukder, M. M., Dennis, R. J., O'Rahilly, S., Edwardson, J. M. and Rochford, J. J. 2013. Analysis of naturally occurring mutations in the human lipodystrophy protein seipin reveals multiple potential pathogenic mechanisms. *Diabetologia* **56**, 2498-2506.
 52. Sim, M. F., Talukder, M. U., Dennis, R. J., Edwardson, J. M. and Rochford, J. J. 2014. Analyzing the functions and structure of the human lipodystrophy protein seipin. *Methods Enzymol.* **537**, 161-175.
 53. Sinha, S., Singh, R. K., Alam, N., Roy, A., Roychoudhury, S. and Panda, C. K. 2008. Frequent alterations of hMLH1 and RBSP3/HYA22 at chromosomal 3p22.3 region in early and late-onset breast carcinoma: clinical and prognostic significance. *Cancer Sci.* **99**, 1984-1991.
 54. Son, S. and Osmani, S. A. 2009. Analysis of all protein phosphatase genes in *Aspergillus nidulans* identifies a new mitotic regulator, fcp1. *Eukaryot. Cell* **8**, 573-585.
 55. Su, Y. A., Lee, M. M., Hutter, C. M. and Meltzer, P. S. 1997. Characterization of a highly conserved gene (OS4) amplified with CDK4 in human sarcomas. *Oncogene* **15**, 1289-1294.
 56. Suh, M. H., Ye, P., Zhang, M., Hausmann, S., Shuman, S., Gnat, A. L. and Fu, J. 2005. Fcp1 directly recognizes the C-terminal domain (CTD) and interacts with a site on RNA polymerase II distinct from the CTD. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **102**, 17314-17319.
 57. Sun, G., Hu, Z., Min, Z., Yan, X., Guan, Z. and Su, H., *et al.* 2015. Small C-terminal Domain Phosphatase 3 Dephosphorylates the Linker Sites of Receptor-regulated Smads (R-Smads) to Ensure Transforming Growth Factor beta (TGFbeta)-mediated Germ Layer Induction in *Xenopus* Embryos. *J. Biol. Chem.* **290**, 17239-17249.
 58. Szymanski, K. M., Binns, D., Bartz, R., Grishin, N. V., Li, W. P. and Agarwal, A. K., *et al.* 2007. The lipodystrophy protein seipin is found at endoplasmic reticulum lipid drop-

- let junctions and is important for droplet morphology. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **104**, 20890-20895.
59. Tanaka, S. S., Nakane, A., Yamaguchi, Y. L., Terabayashi, T., Abe, T. and Nakao, K., *et al.* 2013. Dullard/Ctdnep1 modulates WNT signalling activity for the formation of primordial germ cells in the mouse embryo. *PLoS One* **8**, e57428.
 60. Thompson, J., Lepikhova, T., Teixeira-Travesa, N., Whitehead, M. A., Palvimo, J. J. and Janne, O. A. 2006. Small carboxyl-terminal domain phosphatase 2 attenuates androgen-dependent transcription. *EMBO J.* **25**, 2757-2767.
 61. Urrutia, H., Aleman, A. and Eivers, E. 2016. Drosophila Dullard functions as a Mad phosphatase to terminate BMP signaling. *Sci. Rep.* **6**, 32269.
 62. Varon, R., Gooding, R., Steglich, C., Marns, L., Tang, H. and Angelicheva, D., *et al.* 2003. Partial deficiency of the C-terminal-domain phosphatase of RNA polymerase II is associated with congenital cataracts facial dysmorphism neuropathy syndrome. *Nat. Genet.* **35**, 185-189.
 63. Visconti, R., Della Monica, R., Palazzo, L., D'Alessio, F., Raia, M. and Improta, S., *et al.* The Fcp1-Wee1-Cdk1 axis affects spindle assembly checkpoint robustness and sensitivity to antimicrotubule cancer drugs. *Cell Death Differ.* **22**, 1551-1560.
 64. Visconti, R., Palazzo, L., Della Monica, R. and Grieco, D. 2012. Fcp1-dependent dephosphorylation is required for M-phase-promoting factor inactivation at mitosis exit. *Nat. Commun.* **3**, 894.
 65. Wang, W., Liao, P., Shen, M., Chen, T., Chen, Y. and Li, Y., *et al.* 2015. SCP1 regulates c-Myc stability and functions through dephosphorylating c-Myc Ser62. *Oncogene* **35**, 491-500.
 66. Wani, S., Sugita, A., Ohkuma, Y. and Hirose, Y. 2016. Human SCP4 is a chromatin-associated CTD phosphatase and exhibits the dynamic translocation during erythroid differentiation. *J. Biochem.* **160**, 111-120.
 67. Wee, K., Yang, W., Sugii, S. and Han, W. 2014. Towards a mechanistic understanding of lipodystrophy and seipin functions. *Biosci. Rep.* **34**, e00141
 68. Witkin, K. L., Friederichs, J. M., Cohen-Fix, O. and Jaspersen, S. L. 2010 Changes in the nuclear envelope environment affect spindle pole body duplication in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics* **186**, 867-883.
 69. Wolinski, H., Hofbauer, H. F., Hellauer, K., Cristobal-Sarramian, A., Kolb, D. and Radulovic, M., *et al.* 2015. Seipin is involved in the regulation of phosphatidic acid metabolism at a subdomain of the nuclear envelope in yeast. *Biochim. Biophys. Acta* **1851**, 1450-1464.
 70. Wrighton, K. H., Willis, D., Long, J., Liu, F., Lin, X. and Feng, X. H. 2006. Small C-terminal domain phosphatases dephosphorylate the regulatory linker regions of Smad2 and Smad3 to enhance transforming growth factor-beta signaling. *J. Biol. Chem.* **281**, 38365-38375.
 71. Yeo, M., Lee, S. K., Lee, B., Ruiz, E. C., Pfaff, S. L. and Gill, G. N. 2005. Small CTD phosphatases function in silencing neuronal gene expression. *Science* **307**, 596-600.
 72. Yeo, M. and Lin, P. S. 2007. Functional characterization of small CTD phosphatases. *Methods Mol. Biol.* **365**, 335-346.
 73. Yeo, M., Lin, P. S., Dahmus, M. E. and Gill, G. N. 2003. A novel RNA polymerase II C-terminal domain phosphatase that preferentially dephosphorylates serine 5. *J. Biol. Chem.* **278**, 26078-26085.
 74. Yun, J. H., Ko, S., Lee, C. K., Cheong, H. K., Cheong, C., Yoon, J. B. and Lee, W. 2013. Solution structure and Rpn1 interaction of the UBL domain of human RNA polymerase II C-terminal domain phosphatase. *PLoS One* **8**, e62981.
 75. Zhang, D. W., Mosley, A. L., Ramisetty, S. R., Rodriguez-Molina, J. B., Washburn, M. P. and Ansari, A. Z. 2012. Ssu72 phosphatase-dependent erasure of phospho-Ser7 marks on the RNA polymerase II C-terminal domain is essential for viability and transcription termination. *J. Biol. Chem.* **287**, 8541-8551.
 76. Zhang, M., Cho, E. J., Burstein, G., Siegel, D. and Zhang, Y. 2011. Selective inactivation of a human neuronal silencing phosphatase by a small molecule inhibitor. *ACS Chem. Biol.* **6**, 511-519.
 77. Zhang, M., Liu, J., Kim, Y., Dixon, J. E., Pfaff, S. L. and Gill, G. N., *et al.* 2010. Structural and functional analysis of the phosphoryl transfer reaction mediated by the human small C-terminal domain phosphatase, Scp1. *Protein Sci.* **19**, 974-986.
 78. Zhang, Y., Kim, Y., Genoud, N., Gao, J., Kelly, J. W. and Pfaff, S. L., *et al.* 2006. Determinants for dephosphorylation of the RNA polymerase II C-terminal domain by Scp1. *Mol. Cell* **24**, 759-770.
 79. Zhao, Y., Xiao, M., Sun, B., Zhang, Z., Shen, T. and Duan, X., *et al.* 2014. C-terminal domain (CTD) small phosphatase-like 2 modulates the canonical bone morphogenetic protein (BMP) signaling and mesenchymal differentiation via Smad dephosphorylation. *J. Biol. Chem.* **289**, 26441-26450.
 80. Zheng, H., Ji, C., Gu, S., Shi, B., Wang, J., Xie, Y. and Mao, Y. 2005. Cloning and characterization of a novel RNA polymerase II C-terminal domain phosphatase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **331**, 1401-1407.
 81. Zhong, R., Ge, X., Chu, T., Teng, J., Yan, B. and Pei, J., *et al.* 2015. Lentivirus-mediated knockdown of CTDP1 inhibits lung cancer cell growth *in vitro*. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* **142**, 723-732.
 82. Zohn, I. E. and Brivanlou, A. H. 2001. Expression cloning of *Xenopus* Os4, an evolutionarily conserved gene, which induces mesoderm and dorsal axis. *Dev. Biol.* **239**, 118-131.

초록 : CTD 탈 인산화 효소의 기능과 역할

김영준*

(건국대학교 의생명화학과)

단백질 탈 인산화는 단백질 탈 인산화 효소에 의해 매개되는 과정으로 세포 생존에 매우 중요하다. 단백질 탈 인산화 효소 중에서 최근 CTD (carboxy-terminal domain) 탈 인산화 효소들이 등장하고 있으며 이들에 대한 새로운 생물학적 역할이 밝혀지고 있다. 이 효소의 그룹에는 CTD 탈 인산화 효소 1(CTDP1), CTD 소형 탈 인산화 효소 1(CTDSP1), CTD 소형 탈 인산화 효소 2(CTDSP2), CTD 소형 탈 인산화 효소 유사(CTDSPL), CTD 소형 탈 인산화 효소 유사 2(CTDSPL2), CTD 핵 탈 인산화 효소(CTDNEP1) 및 유비퀴틴 유사 도메인 함유 CTD 탈 인산화 효소 1(UBLCP1)들이 존재한다. CTDP1은 RNA 중합 효소 II (RNAPII)의 CTD의 두 번째 인산화 된 세린을 탈 인산화 시키고, CTDSP1, STDSP2 및 CTDSPL은 RNAPII의 CTD의 다섯 번째 인산화 된 세린을 탈 인산화 시킨다. 그리고 CTDSP1은 SMAD들, CDCA3, Twist1, 종양억제 단백질인 PML, c-Myc과 같은 새로운 기질을 탈 인산화 시키는 것으로 밝혀지고 있다. CTDP1은 유사 분열 조절 및 암세포 성장과 관련이 있다. CTDSP1, CTDSP2 및 CTDSPL은 종양 억제 기능 및 줄기 세포 분화와 관련이 있다. CTDNEP1은 LIPIN1을 탈 인산화 시키고 핵막 형성과 관련이 있다. CTDSPL2는 조혈 줄기 세포 분화와 관련이 있다. UBLCP1은 26S 프로테아좀을 탈 인산화 시키고 핵 프로테아좀 활성 조절과 관련이 있다. 결론적으로, CTD 탈 인산화 효소의 새로운 기능과 역할은 최근의 연구에서 밝혀지고 있으며, 이 리뷰는 CTD 탈 인산화 효소의 새롭게 밝혀진 역할들을 요약하고자 정리한 것이다.