

NMR Spectroscopy and NMR Microscopy

정재준

한국기초과학지원연구원 자기공명팀

본 세미나에서는 현재 수행하고 있는 연구과제 결과 및 향후 연구계획에 대해 간략히 소개하고자 한다.

1. 효모 *Saccharomyces cerevisiae* 바이러스의 VBS RNA 구조연구

효모의 double-stranded 바이러스에 존재하는 viral binding site (VBS)에 대한 구조적 연구를 수행하였다. VBS는 ScV-M1(1.9 kb)의 경우 SL1과 SL2, 두 개의 site가 있으며 둘 다 viral protein이 RNA를 인식하는데 결정적인 역할을 담당한다. SL1, SL2 모두 5개 염기의 loop 구조를 가지며 stem bulge 부위는 역동적인 구조변화를 보인다. SL1과 SL2는 유사한 점도 있지만 역동성은 차이가 있다.

2. 국가지정연구실 사업 계획

본 사업에서는 NMR spectroscopy를 이용하여 virus RNA의 구조를 규명하고자 한다. RNA는 주로 single strand 상태로 존재하기 때문에 단백질과 같이 folding을 하여 3차원적 입체구조를 취하며 그 기능도 다양하다. 인체에 질병을 일으키는 RNA virus는 mutation 비율이 높기 때문에 백신이나 치료제 개발이 용이하지 않다. 본 과제에서는 HCV(C형 간염)와 FMDV(구제역) 등의 RNA 중 변이가 없는 non-coding region RNA의 구조를 규명함으로써 이를 target으로 하는 drug lead를 발굴하고자 한다.

3. 유전자 발현 *in vivo* 추적기술 개발

불투명한 고등동물에서 특정유전자의 발현을 실시간으로 가시적인 방법을 통해 관찰할 수 있다면 많은 분야에서 응용이 가능할 것이다. 일반적으로 유전자의 발현은 *in situ* hybridization이나 chromogenic substrate를 이용해 발현양상을 관찰해 왔으나 이러한 방법들은 반드시 biopsy 또는 조직의 절개를 수반한다. 최근의 많은 연구들은 관찰대상이 살아 있는 상태에서 유전자 발현을 관측할 수 있는 방법들을 제시하고 있으며 이러한 방법들 중에는 μ PET(micro-positron emission tomo-

graphy), gamma camera, SPECT(single-photon emission computed tomography)과 MRI(magnetic resonance imaging) 등이 있다. 이 중 MRI는 관찰대상으로부터 3차원적인 영상을 고해상도로 매우 빠른 시간 안에 얻을 수 있다는 장점이 있으나 아직 기술개발은 초기단계에 있다.

본 연구에서는 MRI를 이용하여 불투명한 개체에서 특정유전자의 발현을 살아있는 상태에서 실시간으로 관찰할 수 있는 방법을 개발하고 있다. MRI를 이용한 고해상도의 유전자 발현관측 시스템을 구축하기 위해서는 reporter gene, ligand 및 조영제 개발이 필수적이며 이를 위해 다음과 같은 연구들이 수행중에 있다.

첫째, reporter gene으로 pyrimidine nucleotide의 catabolism 과정의 주효소인 human dihydropyrimidine dehydrogenase (hDPD) gene을 이용하고 fluorine 유도체인 5-fluorouracil을 기질로 하여 반응산물의 서로 다른 chemical shift로부터 fluorine 영상을 얻는 시스템을 구축하고 있다. 이를 위해 hDPD gene을 가지는 transgenic (TG) mice를 제조하였으며 이로부터 hDPD 유전자의 발현을 추적하고 있다.

둘째, 발현되는 reporter gene과 ligand의 cell toxicity 및 noise를 최소화하기 위해 식물 hormone 인 auxin의 receptor (Auxin binding protein 1; ABP1)를 protein engineering하여 cell display시키고 이와 병행하여 ligand 물질인 indole acetic acid (IAA)를 fluorine 또는 조영제와 결합하여 MRI 영상획득에 이용하는 방법을 개발중에 있다.

셋째, 발생단계에 따른 유전자 발현을 추적하는 기초단계로서 *Xenopus laevis*의 oocyte 및 embryo에서 human glucose transporter gene (GLUT1)을 *in vitro* transcription하여 mRNA를 만든 후 microinjection하여 발현시킨 다음 cell내로 유입된 glucose 유도체인 2-fluoro-2-deoxy-glucose (2-FDG)에 대한 fluorine 영상획득을 위해 노력하고 있다.

이러한 과정들과 더불어 embryogenesis 전 과정에 대한 정밀영상을 획득하였을 뿐만 아니라 localized spectroscopy를 이용한 세포내 물질구성 차이를 구분하고 characterization함으로써 NMR을 이용한 subcellular characterization도 진행되어지고 있다.