



문의 : 담당자 연락처 (02-880-8039)
 연구책임자 김성근 교수 (02-880-6659) / 교신저자
 연구진 성기원 연구원 (02-880-8039) / 제 1저자
 박진호 연구원, 이남기 교수 / 공동 저자

자연대 김성근 교수 연구팀, 크리스퍼 유전자가위의 정확도를 결정짓는 새로운 핵심 인자 발견

- 최근 암을 비롯한 난치성 유전 질환 치료를 위한 차세대 유전자 교정 기술로 각광 받고 있는 크리스퍼 (CRISPR-Cas9) 유전자가위는 표적 유전자가 담긴 DNA 가닥만을 선택적으로 잘라내는 효소로, 표적 DNA를 식별하는 가이드 RNA와 인식된 DNA를 자르는 Cas9 단백질로 이루어져 있다. 하지만 자연 그대로의 크리스퍼 유전자가위는 표적 DNA와 비슷한 염기서열을 지닌 유사 DNA까지도 자르는 낮은 선택성이 한계로 지적되고 있는데, 이를 극복하기 위해 표적 선택성을 분자수준에서 이해하고 이를 통해 표적만 자르는 유전자가위 기술을 개발할 필요가 있는 실정이다.
- 서울대학교 화학부 김성근 교수 연구팀은 크리스퍼 유전자가위가 표적 및 유사 DNA에 결합해 이를 잘라내는 과정을 단일 분자 수준에서 실시간으로 관찰함으로써 작동 원리를 규명하는 연구를 진행해 오고 있다. 본 연구에서는 Cas9 단백질을 구성하는 다양한 내부 영역 중에서 지금까지 역할이 명확히 밝혀지지 않았던 REC2 영역이 크리스퍼 유전자가위의 표적 선택성에 큰 영향을 미친다는 사실을 발견하였다. 이 REC2 영역은 1차적으로 가이드 RNA의 식별을 통과한 표적 및 유사 DNA에 대해 이를 자르기 전에 표적이 정확한지의 여부를 한 번 더 검증하는 2차적인 안전장치로서 기능한다는 것을 최초로 밝혀냈다.
- 지금까지 크리스퍼 유전자가위의 정확도를 향상시키려는 대부분의 연구는 가이드 RNA 자체 또는 Cas9 단백질 내부 영역 중에서도 가이드 RNA와 DNA의 결합체를 인식하는 부분을 개선하는 데에 집중되어 왔다. 본 연구에서는 지금까지 관심을 끌지 못하던 REC2 영역이 표적 정확도와 관련된 새로운 핵심 요소라는 것을 밝혔고, 이는 정확도를 크게 향상시킨 크리스퍼 유전자가위를 개발하는 데에 있어 새로운

도약의 발판이 될 것으로 기대한다.

- 본 연구 결과는 6월 13일(수)자로 저명한 국제 학술지인 미국 화학회지(Journal of the American Chemical Society)에 온라인 발표되었다.

[붙임] 1. 연구결과 2. 용어설명 3. 그림설명 4. 연구진 이력사항

연구결과

Target Specificity of Cas9 Nuclease via DNA Rearrangement Regulated by the REC2 Domain

Keewon Sung, Jinho Park, Younggyu Kim, Nam Ki Lee, and Seong Keun Kim

(Published in *Journal of the American Chemical Society*)

본 연구에서는 단일분자 형광 분광법과 형광 공명 에너지 전달법을 이용하여 크리스퍼 유전자가위를 이루는 Cas9 단백질, 가이드 RNA와 표적 및 유사 DNA 간의 상호작용 시 일어나는 분자 내 구조변화를 관찰, 분석하였다. 이를 통해 우선 Cas9 단백질, 가이드 RNA와 결합한 DNA는 그 스스로 두 개의 미시 구조 사이에서 지속적인 구조변화를 겪으며 움직이고 있음을 발견하였다. 나아가, 유사 DNA의 경우 표적 DNA와 달리 Cas9 단백질 내부의 REC2 영역이 DNA를 붙잡아 Cas9 내에서 DNA를 절단하는 부위에 접근할 수 없도록 구조를 고정시킴으로써 유사 DNA에 대한 유전자가위의 효소활성을 억제한다는 새로운 표적 선택 기작을 밝혀내었다.

용 어 설 명

□ 크리스퍼 유전자가위 (CRISPR-Cas9 endonuclease)

크리스퍼 시스템은 세균이 천적인 바이러스를 물리치기 위해 지니고 있는 면역체계를 일컫는 용어로, 바이러스가 침입해 들어오면 그 DNA를 인식해 절단함으로써 자신을 보호하는 기능을 한다. 크리스퍼 시스템은 바이러스 DNA를 인식하기 위한 가이드 RNA와 이를 절단하기 위한 Cas9 단백질 핵산절단효소로 구성되어 있으며, Cas9 단백질은 다시 가이드 RNA와 결합하는 부분, DNA를 직접 자르는 부분, 본 연구에서 그 역할을 밝혀낸 REC2 부분 등 여러 세부 영역으로 이루어져 있다. 이 면역체계 시스템을 이용하여 바이러스의 DNA가 아닌 일반적인 DNA의 특정 부위를 인식하고 자르는데 활용되면서 크리스퍼 유전자가위로 불리게 되었다.

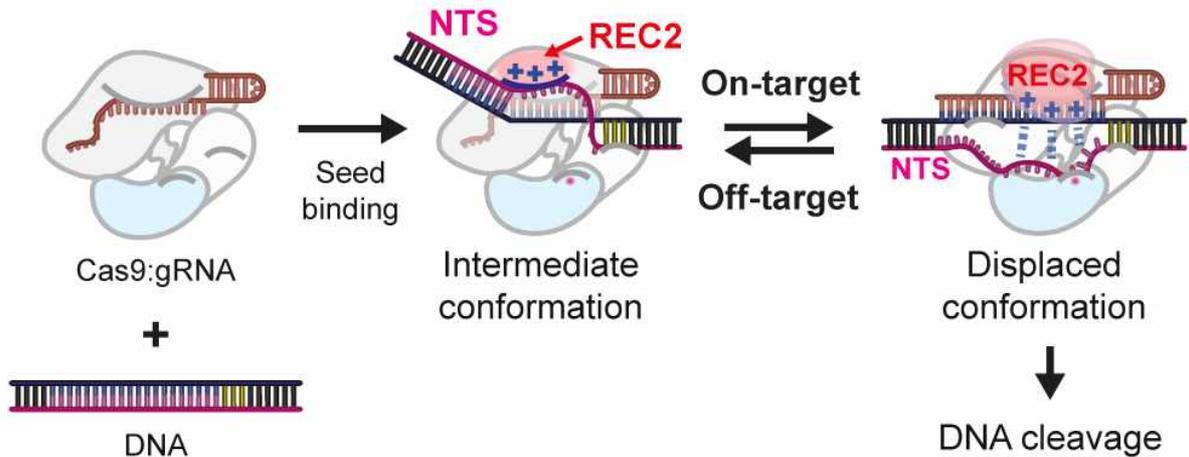
□ 단일분자 형광 분광법 (single-molecule fluorescence spectroscopy)

분자 하나하나에서 나오는 형광 신호를 실시간으로 검출 및 분석하는 첨단 실험 기법으로, 수많은 분자들로부터 발생한 신호를 함께 모아 분석하는 기존의 측정 방법들에 비해 분자의 움직임에 대한 고유한 동력학적 정보를 얻을 수 있다는 장점이 있다. 이를 통해 분자 내 혹은 분자 간 반응에서 순간적으로만 존재하는 반응 중간체, 혹은 여러 분자 구조 사이에서의 반복적인 구조변화 등을 관찰할 수 있어 미시적인 관점에서 분자 내 혹은 분자 간 반응 기작을 규명하는 데에 이용된다.

□ 형광 공명 에너지 전달 (fluorescence resonance energy transfer)

두 형광체가 인접해 있을 때 높은 에너지를 지닌 하나의 형광체로부터 다른 형광체로 에너지가 전달되는 현상을 일컫는다. 이 전달 현상의 효율은 두 형광체 사이의 거리에 따라 민감하게 변하기 때문에 이 전달 효율을 측정함으로써 매우 짧은 거리 (약 2 ~ 10 나노미터)에서 일어나는 구조 변화를 관찰할 수 있다. 특히, 2 ~ 10 나노미터는 단백질, DNA, RNA 등의 생체분자의 크기 수준과 일치하기 때문에 생체 시스템의 작동 과정 분석 및 작동 기작 규명에 활발히 활용되고 있다.

그림 설명



크리스퍼 유전자가위 (Cas9 단백질 + 가이드 RNA = Cas9:gRNA)와 결합한 DNA는 그 스스로 두 개의 미시 구조(intermediate conformation과 displaced conformation) 사이에서 지속적인 구조변화를 겪으며 움직인다. 특히, 유사 DNA (off-target)에 대해서는 가이드 RNA와의 결합으로 인해 풀어진 유사 DNA의 반대편 가닥(NTS, non-target strand)을 Cas9 단백질 내의 REC2 부분이 정전기적 인력을 통해 붙잡음으로써 DNA를 절단하는 부분(하늘색) 근처로 이 DNA 가닥 (NTS)이 접근하지 못하도록 미시 구조를 intermediate conformation에 고정하여, 결국 유사 DNA의 절단 (cleavage)을 저해하는 효과를 발휘하게 된다.

연구자 이력사항(김성근 교수)

1. 인적사항

- 소 속 : 서울대학교 자연과학대학 학장
서울대학교 화학부 교수
- 전 화 : 02-880-6659
- E-mail : seongkim@snu.ac.kr



2. 학력

- 1977 - 1980 서울대학교 이학사 (화학)
- 1981 - 1982 미국 하버드대학교 이학석사 (물리학)
- 1983 - 1987 미국 하버드대학교 이학박사 (화학물리학)

3. 경력사항

- 1983 - 1984 미국 하버드대학교 Polaroid Foundation Fellow
- 1987 - 1989 미국 시카고대학교 박사 후 연구원
- 1989 - 현재 서울대학교 화학부 / 생물물리 및 화학생물학과 교수
- 1996 - 1997 서암 Fellow
- 1996 - 1997 서울대학교 최다인용논문 선정 (1996년 및 1997년 시행)
- 1996 - 1997 미국 하버드대학교 방문학자
- 1997 - 1999 롯데 Fellow
- 1998 - 현재 Pacificchem 분과조직위원장
- 1999 일본 학술진흥회 (JSPS) Fellow
- 1999 - 2002 과학기술부 창의적연구사업단장
- 2002 프랑스 파리 13대학 석좌초빙 교수
- 2002 - 2003 미국 하버드대학교 방문학자
- 2005 - 2010 과학기술부 국가지정연구실 사업단장
- 2006 교육인적자원부 선정 제 1회 국가석학
- 2006 - 2010 국제학술지 *Phys. Chem. Chem. Phys.* Advisory Board Member
- 2006 - 2013 일본 문부과학성 지정 Priority Area Group 국제자문이사
- 2006 - 현재 아시아 분광학회 국제운영위원

- 2007 과학기술부 우수연구과제 50선 및 국가연구개발 우수과제 100선 선정
- 2008 - 2013 교육과학기술부 WCU 사업단장
- 2008 - 2009 아시아 분광학회 조직위원장
- 2009 - 2010 세계화학회 (IUPAC) 광화학 심포지움 국제운영위원
- 2010 - 현재 국제학술지 *Phys.Chem.Chem.Phys.* Editorial Board Member
- 2011 - 2013 국제학술지 *Phys.Chem.Chem.Phys.* Associate Editor
- 2012 - 현재 국제학술지 *Chem.Phys.* Advisory Editorial Board Member
- 2013 대한민국 홍조근정훈장
- 2013 - 현재 영국 왕립화학회 펠로우 (Fellow of the Royal Society of Chemistry)
- 2013 - 현재 국제학술지 *Chem.Sci.* Advisory Editorial Board Member
- 2014 국제학술지 *Phys.Chem.Chem.Phys.* Deputy Chair of Editorial Board
- 2014 국제학술지 *Annu.Rev.Phys.Chem.* Guest Advisor
- 2015 - 현재 국제학술지 *Phys.Chem.Chem.Phys.* Chair of Editorial Board

4. 기타 정보

학내 봉사

- 1993 - 1996 전국기초과학교육연구공동기지원 기기부장
- 2004 - 2007 분자과학연구소장
- 2005 - 2006 자연과학대학 기획부학장
- 2008 - 2013 생물물리 및 화학생물학과장
- 2010 - 2014 산학협력단 이사
- 2011 법인화추진위원
- 2012 - 2014 외국인교수 초빙위원
- 2012 - 현재 재경위원
- 2013 - 2014 자체평가위원
- 2014 - 현재 자연과학대학 학장
- 2014 - 현재 서울대학교 기초과학연구원 원장
- 2014 - 현재 차세대융합기술연구원 이사
- 2015 - 현재 서울대학교 기술지주회사 이사

학외 봉사 (정부, 공공기관 및 산업체 관련)

- 2000 대한화학회 총무이사
- 2005 - 2007 바른정책연구소 운영위원

- 2008 - 2013 생물물리 및 화학생물학과장
- 2008 국가과학기술위원회 국가과학기술위원회 위원
- 2008 - 2013 대통령 직속 미래기획위원회 제 1기 및 2기 위원
- 2008 - 2012 국가과학기술위원회 기초과학연구진흥협의회 제 1기 및 2기 위원/부위원장
- 2009 - 2010 대통령 직속 미래기획위원회 과학기술 Task Force 위원장
- 2009 - 2010 교육과학기술부 과학기술장기비전위원회 위원
- 2010 - 2012 기초기술연구회 전문위원
- 2010 - 2012 한국연구재단 Review Board 위원
- 2010 교육과학기술부 글로벌 프론티어 사업 추진위원
- 2010 - 2013 청와대 과학기술비서관 정책자문위원
- 2010 - 2013 한국연구재단 BK21 사업 운영위원
- 2010 - 2014 국무총리 직속 정부업무평가위원회 제 3기 및 4기 위원
- 2011 - 2015 기초과학연구원 이사
- 2012 - 현재 한국과학기술나눔포럼 감사
- 2013 - 2015 삼성종합기술원 미래기술연구회 회장
- 2013 - 현재 국가과학기술심의회 다부처공동기술협력특별위원
- 2013 - 2016 삼성미래기술육성재단 이사
- 2013 - 현재 과학기술정책평가원 (KISTEP) 자문위원
- 2013 - 현재 과학기술정책평가원 (KISTEP) 정책위원장
- 2013 - 2016 삼성미래기술육성센터 운영위원
- 2014 국가연구개발 우수성과 선정위원장 (기초/인프라 분야)
- 2014 - 현재 한국연구재단 대학특성화사업관리위원회 위원
- 2014 - 현재 전국자연과학대학장협의회 회장
- 2014 - 현재 전국기초과학연구원장연합회 회장
- 2015 - 현재 한국경제신문 주관 스트롱코리아 포럼 자문위원
- 2015 - 2016 과총 창립 50주년 기념 세계과학기술인대회 학술위원장
- 2015 - 현재 과학기술정책평가원 (KISTEP) 이사
- 2016 - 현재 한국과학창의재단 이사