

RNA polymerase II carboxy-terminal domain with multiple connections (다양한 대사고리를 형성하는 RNA 중합효소 II의 C-말단 도메인)

양용진, 양재현, 조은정*

College of Pharmacy, Sungkyunkwan University, Suwon 440-746, Korea

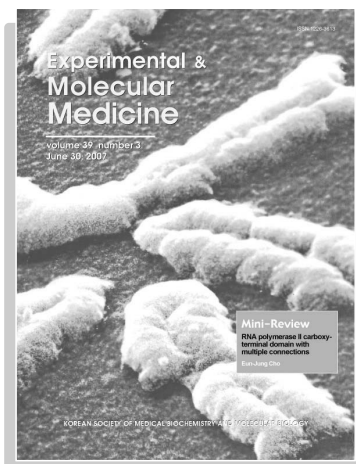
*Corresponding author : E-mail, echo@skku.edu

요약

진핵세포의 RNA polymerase II는 12개의 subunit으로 이루어져 있으며 그 중 가장 큰 subunit의 carboxy-말단에 carboxy-terminal domain (CTD)라고 불리는 독특한 도메인을 갖고 있다. CTD는 진화적으로 잘 보존된 heptapeptide 단위 반복 구조 (YSPTSPS)를 갖는다. 지난 10여년 간, mRNA processing과 chromatin remodeling의 관점에서 전사 조절에 미치는 CTD의 역할에 대한 관심이 계속 증가해 오고 있으므로 본 원고에서는 역동적인 CTD 인산화의 변화와 다양한 핵 내 대사에서의 그 역할에 관하여 최근에 진전된 연구 결과들을 간략히 소개한다.

서론

진핵세포 RNA polymerase II (pol II)의 가장 큰 subunit의 말단에 존재하는 carboxy-terminal domain (CTD)는 잘 보존된 heptapeptide repeats ($Y^1S^2P^3T^4S^5P^6S^7$)으로 구성되어 있다 (Dahmus, 1996). 포유류의 pol II CTD는 heptapeptide가 52회, 효모 (*Saccharomyces cerevisiae*)는 26~27회 정도 반복되어 나타난다. 쥐, 초파리, 효모에서 CTD가 결손된 돌연변이는 생존할 수가 없다. CTD의 heptapeptide 반복 횟수가 어느 정도 감소될 수는 있지만 CTD 없이는 생존할 수 없으므로 CTD는 필수적인 것이다. 부분적으로 절단된, 즉 반복 횟수가 감소된 CTD는 *in vivo*에서 유전자 발현을 감소시키고 여러 활성 인자들과의 반응에도 결함을 초래한다. 또한 CTD는 다양한 RNA processing/export 인자들과 히스톤 변형 인자들을 전사 복합체에 도입



Experimental & Molecular Medicine
2007. Vol.39 (3): 247-254

※ 본 논문의 원본은 EMM 홈페이지
<http://www.e-emm.org>에서 확인하시기 바랍니다.

EMM Review

함으로써 mRNA 대사와 크로마틴 기능을 유전자 전사에 연결하는 플랫폼으로 작용할 수 있다 (Bentley, 2005; Buratowski, 2005; Phatnani and Greenleaf, 2006). 이것은 유전자 발현을 적절히 조절을 하기 위해 다양한 핵 내 기능들을 체계적으로 조절 하는데 CTD가 매우 중요하다는 것을 의미한다. 그런데 이러한 기능들이 종종 인산화와 같은 CTD의 공유 변형을 필요로 하고 있다. 사실, CTD는 인산가-수용체 아미노산 잔기를 많이 갖고 있어 전사 주기 동안 가역적으로 인산화/탈인산화가 될 수 있는 구조이다.

RNA pol II는 CTD의 인산화 정도에 따라 두 가지 형태로 구별되는데 전사 주기 동안 이들은 서로 다른 기능을 갖는 것으로 알려져 있다. 즉, 인산화 되어 있지 않은 CTD를 갖는 RNA pol II는 전사 개시 복합체를 형성하는 반면, 인산화 된 CTD를 갖는 pol II는 전사를 진행 중인 복합체를 형성한다. 인산화는 주로 CTD repeats 내에서 별개의 serines (S2, S5) 잔기에 일어나며 이 부위가 전사와 여러 가지 다양한 핵 내 대사를 연결하는 단백질들에 의해 인지되고 있다. 따라서 ‘히스톤 코드’가 히스톤 변형을 언급하듯, CTD serine 인산화는 ‘CTD 코드’로 작용할 수 있으리라 제안되었다 (Buratowski, 2003).

CTD의 인산화 코드

RNA pol II가 프로모터에 결합하고 이어 pol II가 전사 진행을 수행한다는 초기 two-step에 근거한

전사 모델은 현재 더 복잡한 CTD 인산화 주기를 갖는 전사 모델로 발전하였다. 이 모델에서는 전사 단계별로 서로 다른 형태의 pol II가 전사를 수행 한다 (Komarnitsky *et al.*, 2000). 즉, 프로모터에 결합한 pol II는 transcription factor IIIH (TFIIH)에 의해 CTD repeats의 S5가 먼저 인산화 된다. 전사 진행 단계로 진입한 후에 CTD의 S5 위치가 부분적으로 탈인산화 되며 전사가 계속 진행되면서 CTD의 S2에 인산화가 증가하여 유전자의 3' 말단 근처에 이르면 S2 인산화 상태가 최고조를 이룬다 (그림 1). 인산화 되는 위치

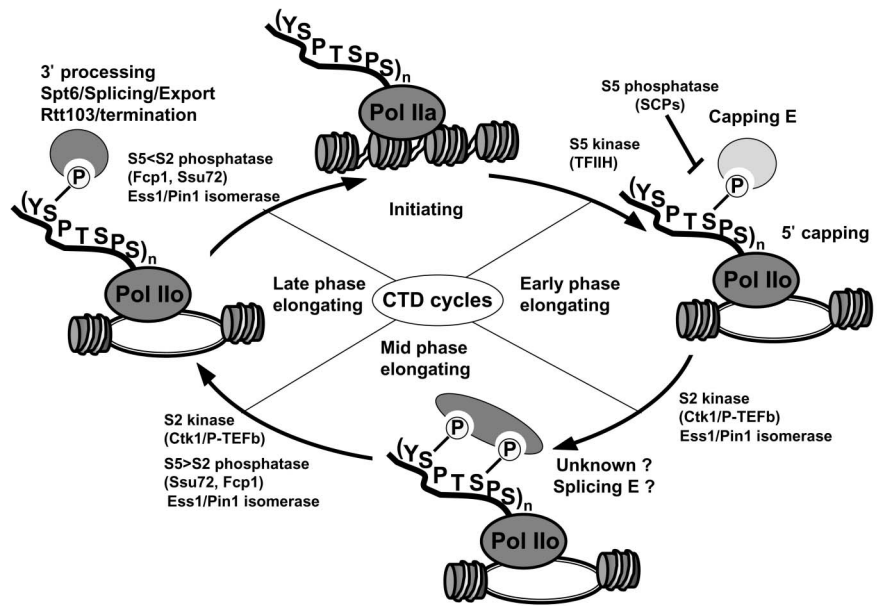


그림 1. RNA polymerase II CTD 인산화 회로. heptapeptide 반복구조 (Y¹S²P³T⁴S⁵P⁶S⁷)를 갖는 RNA pol II는 전사를 개시하기 위해 DNA에 결합한다. TFIIH에 의해 S5가 인산화 되면 capping 효소가 여기에 결합하여 RNA의 5' 말단이 충분히 길게 노출될 때까지 기다렸다가 capping 반응을 수행한다. S5 인산화에 의한 전사 진행 단계로의 진입은 SCPS와 같은 S5 탈인산화 효소에 의해 억제 될 수도 있다. pol II가 downstream을 지나면서, Ctk1 (P-TEFb in human)은 S2를 인산화하기 시작한다. 그러는 동안, Ssu72와 같은 S5 탈인산화 효소는 S5를 탈인산화 시켜 왕성한 전사 진행 단계 동안에는 pol II가 주로 S2에 인산화되어 있게 된다. Fcp1과 같은 S2 탈인산화 효소는 Ctk1/P-TEFb와 상쇄적으로 작용함으로써 S2 인산화의 균형을 유지한다. 3' processing, splicing, termination, 그리고 exporting factor들은 인산화된 S2를 인지하여 결합한다. 여러 가지 다른 위치에서 다양한 정도로 인산화된 serine들은 여러 핵 내 인자들을 유입하기 위한 결합 플랫폼으로 작용할 수 있을 것이다. pol II가 poly(A) sites를 통과하자마자, Fcp1은 Ssu72와 함께 S2 인산화를 완벽하게 제거하여 pol II가 또 다시 전사를 시작할 수 있도록 돕는다. 자세한 내용은 본문을 참조할 것.

EMM Review

와 시기가 서로 다르듯이, 두 번째/다섯 번째 serine은 전사 과정에서 별개의 기능을 가질 것으로 여겨진다 (Phatnani and Greenleaf, 2006).

CTD는 일반적으로 효소 활성을 갖는 subunit과 조절 기능의 cyclin subunit으로 이루어진 cyclin-dependent kinase (CDK) family들에 의해 인산화 되는데 이러한 효소들은 repeat 내의 서로 다른 serine 위치를 인산화 시킴으로써 그 특이적 기능을 수행한다 (reviewed in Meinhart *et al.*, 2005). 효모 TFIIH의 인산화 효소 subunit인 Kin28는 Ccl1 cyclin과 결합하여 주로 CTD의 S5를 인산화시키는 중요한 효소이다. TFIIH는 전사와 mRNA 5' 변형을 효율적으로 coupling 시키는데 필수적인데 이는 capping 효소가 전사가 진행되는 동안에 전사 복합체에 도입되고 7-methyl guanosine cap을 pre-mRNA에 연결시키는데 S5 인산화가 필요하기 때문이다 (아래 참조) (Komamitsky *et al.*, 2000; Rodriguez *et al.*, 2000; Schroeder *et al.*, 2000). 반면에, 효모의 CTD kinase 1 복합체 (CTDK1)의 인산화 활성 subunit인 Ctk1은 주로 S2를 인산화시킨다. Ctk1은 전사가 진행되는 동안에 CTD를 효율적으로 인산화시킬 수 있다 (Cho *et al.*, 2001). 고등 진핵 생물의 전사 진행 인자인 P-TEFb의 경우, Cdk9 subunit이 Ctk1과 유사하다 (Price, 2000). Cdk9이 S2를 인산화 할 수 있는 것으로 보아 Ctk1과 비슷한 기능을 수행할 것으로 생각되고 있다. 그러나 Cdk9의 경우, *in vitro*에서 Tat와의 결합을 통해 기질 특이성이 S2에서 S5로 바뀔 수도 있음이 보고된 바 있다 (Zhou *et al.*, 2000). 시간적, 공간적으로 인산화 효소의 활성이 조절되고 이에 의해 여러 serine 잔기의 인산화가 이루어지면서 이들의 인산화 구성이 특이적인 조합을 보인다면 그 결과는 CTD의 기능에 중요한 영향을 미칠 것이다.

Isomerization 과정에 의해 더욱 증폭되는 CTD 인산화 코드

Peptidyl-prolyl cis/trans isomerase (PPIase)는 proline 잔기의 아미노-말단 쪽에서 펩티드 결합의 회전을 촉매 하여 새로 합성되는 단백질의 적절한 접힘을 조절하는 효소이다 (Schiene and Fischer, 2000). 고등 진핵 생물의 Pin1과 효모 homologs인 Ess1은 매우 흥미로운 PPIase로 특히 전사와 관련되어 있다. Pin1/Ess1이 세포 주기에 관계하고 있는 것으로 알려져 있지만 인산화 되어 있는 CTD와 직접, 선택적으로 결합함으로써 전사에도 관계하는 것으로 보고되고 있다 (Morris *et al.*, 1999; Verdecia *et al.*, 2000). Pin1/Ess1은 N-terminal WW domain과 C-terminal PPIase domain으로 구성되어 있는데 WW domain은 다양한 신호전달경로에 관계하는 여러 단백질들의 proline-rich domain에 결합 할 수 있는 능력을 가진 motif로 (Sudol and Hunter, 2000) Pin1/Ess1에서도 같은 domain이 인산화된 CTD와의 결합을 담당한다. 효모 모델의 유전학적, 생화학적 연구에 의하면 Ess1의 PPIase 활성과 전사 기능은 서로 밀접한 연관성이 있으며 이 경우 Ess1이 CTD를 표적으로 하여 CTD 코드를 재구성할 수 있는 중요한 2차 조절자로 작용할 가능성이 있음을 의미한다 (Wu *et al.*, 2000; Wilcox *et al.*, 2004). 현 모델에 의하면, PPIase 활성을 갖는 Ess1은 WW domain을 통해 인산화된 CTD에 결합하고 proline 펩티드 결합의 isomerization을 유도하여 CTD의 구조를 바꿀 수도 있을 것이다 (Buratowski, 2003). 다량으로 인산화 되어있는 pol II는 전사 진행과 연관되어 있기 때문에, Ess1의 결합은 특히 전사 진행 중인 pol II의 기능에 영향을 줄 수 있을 것이다. 이 모델에서, Ess1에 의한 CTD의 구조적 변화는 3' processing 인자들과 같은 많은 CTD-결합능력을 갖는 단백질들의 CTD 결합과 분리 또는 그들의 효소 활성에 영향을 줄 수 있다. 또한 pol II의 재순환을 촉진하는 것으로 알려진 Fcp1 CTD 탈인산화 효소의 경우, isomerization된 CTD를 더 선호하기도 한다 (Kops *et al.*, 2002). Pin1/Ess1은 CTD 코드를 변화시킴으로써 전사를 조절할 수 있는 잠재성을 가지고 있는 것이다.

EMM Review

CTD 코드의 해독

CTD 인산화 코드의 작용을 이해하기 위해서는 무엇이 이러한 코드를 인지하고 그것을 해독하는지 아는 것이 중요하다. 코드 해독에 기반한 대사 과정 중에 전사와 RNA processing 사이의 coupling 기전이 잘 알려진 좋은 예이다. 지난 몇 년간의 연구에 의하면 RNA processing이 전사체와 직접적으로 연결됨으로써 전사가 진행되는 것과 동시에 신생 (nascent) RNA processing이 이루어진다. 여기서 CTD는 RNA processing machinery를 도입하고 동시에 그 활성을 조절하는 데에 중요한 역할을 담당하고 있다.

모든 RNA pol II의 RNA 전사체는 pol II 특이적 반응으로 그 5' 말단에 RNA cap을 형성하는데 이는 첫 번째 RNA 잔기와 7-methylguanosine이 5'-5' triphosphate bridge에 의해 연결된 것으로 바로 cap 구조를 이룬다. Capping은 RNA 5'-triphosphatase, guanylyltransferase 그리고 RNA (guanine-7) methyltransferase 3가지 효소 활성화에 의해 이루어진다. TFIIF에 의해 CTD의 S5가 인산화 되면 Ceg1 subunit (효모)이나 guanylyltransferase domain (metazoan에서는 bifunctional 펩티드로서 RNA 5'-triphosphatase의 활성을 동시에 갖는 한 개의 펩티드로 합성된다.) 을 통해 Capping 효소가 pol II의 CTD에 직접 결합한다 (Komarnitsky *et al.*, 2000; Schroeder *et al.*, 2000). 뿐만 아니라, capping 효소의 활성화는 인산화가 이루어진 CTD와 결합함으로써 더욱 활성화 되고 이는 다시 초기 전사를 촉진한다. 이러한 과정은 초기 전사와 capping의 coupling에 의해 이루어지는데, 결과적으로 capping된 RNA만이 좀 더 효율적으로 계속 연장될 수 있도록 하는 기전으로 생각된다 (Cho *et al.*, 1998; Ho and Shuman, 1999; Kim *et al.*, 2004a; Schroeder *et al.*, 2004).

반면, capping 반응과는 달리 splicing machinery들의 경우, 신생 (nascent) RNA와의 직접 결합을 매개하는 결합 위치가 RNA에 이미 존재한다. 그래서 전사와 동반한 splicing이 기능적으로 꼭 필요한 것이 아니라면 단순히 RNA 결

합에 의해 기계적으로 일어나는 것인지 (예를 들어 RNA 합성 또는 전사와 상관없이 RNA splicing이 되는 경우)에 대해서는 아직 논의가 벌어지고 있다 (Kornblihtt *et al.*, 2004). 효모와 고등 진핵 생물에서 수행된 Chromatin immunoprecipitation 실험 결과에 의하면 splicing 반응에서 중요한 부분은 splicing machinery가 신생 RNA에 직접 결합하는 것이다 (Listerman *et al.*, 2006; Moore *et al.*, 2006; Tardiff *et al.*, 2006). 하지만 CTD도 splicing 반응에서 중요한 역할을 수행할 것으로 생각된다. 즉, CTD는 splicing machinery들을 위한 플랫폼의 역할을 하여 이들을 끌어들이고, 또 전사 부위에서 splicing 단백질들의 밀도를 증가시킴으로써 alternative exon의 선택을 조절한다 (de la Mata and Kornblihtt, 2006). small nuclear ribonucleoprotein particles (snRNPs)이나 serine/arginine-rich (SR) 단백질들과 같은 non-snRNP 단백질들의 splicing 인자들은 pol IIa와 결합하지 못하고 pol IIo와 결합할 수 있다 (Mortillaro *et al.*, 1996; Kim *et al.*, 1997). SR family protein의 arginine-serine rich (RS) domain은 인산화된 CTD와 결합하는데 필수적이며 (Misteli and Spector, 1999), 효모의 splicing factor인 Prp40도 인산화된 CTD와 결합한다고 보고되었다 (Morris and Greenleaf, 2000). 특히 고등 진핵 생물의 Spt6는 SH2 domain을 통해 인산화된 CTD의 S2와 선택적으로 결합하여 hIws1가 관계하는 mRNA splicing을 전사와 coupling 시킨다 (Yoh *et al.*, 2007). 실제로 효율적인 *in vitro* splicing 반응에도 인산화된 CTD가 필요하다 (Bird *et al.*, 2004; Millhouse and Manley, 2005). 즉, RNA pol IIo를 *in vitro* reconstituted splicing 반응에 첨가할 경우 반응이 활성화 되는 반면 인산화되지 않은 CTD 펩티드를 첨가해주면 그 반응이 억제되는데 (Du and Warren, 1997; Hirose *et al.*, 1999), 이는 인산화된 CTD를 갖는 elongating pol II가 splicing 반응의 중요한 구성 요소라는 것을 의미한다. Capping의 경우와 마찬가지로, pol II CTD는 splicing machinery의 도입을 매개할 뿐만 아니라 splicing 반응의 효율성과 특이성을 조절하는 중요한 역할

EMM Review

을 담당하고 있는 것이다. 하지만 여기서 두 개의 다른 serine 잔기의 기능적 특이성에 대해서는 아직 알려진 바가 없다.

Splicing과 마찬가지로, mRNA의 3'-end processing은 비록 신생 RNA 선상에 직접 결합할 수 있지만 세포 내에서는 pol II CTD가 결손되거나 CTD 인산화 여부에 따라 영향을 받고 있다 (Fong and Bentley, 2001; Proudfoot *et al.*, 2002; Skaar and Greenleaf, 2002; Ahn *et al.*, 2004). pre-mRNA의 3'-end 변형은 2 단계로 일어난다: 우선 mRNA 전구체 (precursor)에 endonucleolytic 절단이 일어난 후, 이어 절단된 mRNA에 poly(A)가 붙게 된다. 효모의 CF1A, CF1B, CF1I, 혹은 고등 진핵 세포에서 비슷한 역할을 하는 복합체인 CstF, CPSF, CF1과 CF2가 이러한 기능을 수행하며, 두 경우에서 poly(A) polymerase가 polyadenylation을 형성한다. 3'-end processing 인자들은 CTD affinity column에 결합할 수 있는데 (McCracken *et al.*, 1997). Pcf11, Pta1, Rna14과 같은 단백질들은 CTD가 인산화 되었을 때 더 잘 결합 한다 (Rodriguez *et al.*, 2000; Barilla *et al.*, 2001; Licatalosi *et al.*, 2002; Meinhart and Cramer, 2004), 특히 효모의 3'-end processing 인자들은 전사 중인 pol II가 유전자의 3'-end에 도달했을 때 CTD의 S2가 인산화 되면서 때 맞춰 그 부위에 결합하게 된다. S2가 Ctk1에 의해 인산화되므로, Ctk1은 3'-end processing 인자들의 선택적 결합을 조절하는 역할을 하는 것이다 (Ahn *et al.*, 2004). 결론적으로 S2가 인산화된 CTD는 이러한 인자들을 끌어들이는 플랫폼으로 작용한다. 한편 인산화된 CTD나 탈인산화된 CTD는 모두 *in vitro*에서 RNA cleavage 반응을 활성화 할 수 있다. 전반적으로 CTD가 3'-end RNA processing에 필수적이지는 않겠지만, 위의 두 대사를 연결시킴으로써 그 반응의 효율성을 증가시키는 것은 분명하다.

RNA 3'-processing 신호 요인들은 다시 효율적인 전사 종결에 영향을 미친다. 고등 진핵 생물이나 효모에서 poly(A) signal이 적절한 전사 종결을 위해 필요한 것임을 고려하면

3'-cleavage/polyadenylation과 전사 종결은 밀접히 연결되어 있는 것임이 분명하다 (Bauren *et al.*, 1998; Birse *et al.*, 1998). 3'-end processing, CTD 인산화와 전사 종결 사이의 관련성은 최근에 3'-end mRNA processing 인자인 Rtt103이 밝혀지면서 실마리가 풀리고 있는데 이 Rtt103가 CTD와 결합할 수 있는 domain을 갖는다. Rtt103은 S2 인산화에 의존적으로 CTD와 결합하여 5' → 3' RNA exonuclease를 불러들이고 이러한 일련의 반응은 pol II로 하여금 전사 종결 지점에서 DNA 주형으로부터 떨어지게 하는 역할을 한다 (Kim *et al.*, 2004b; West *et al.*, 2004). 효모에서는 mRNA export이 TREX (transcription export) 복합체를 매개로 하여 전사와 연결되어 있다 (reviewed in Aguilera, 2005). TREX는 4개의 subunit으로 이루어진 THO 복합체 (Tho2, Hpr1, Mft1와 Thp2)와 진화적으로 잘 보존된 RNA export 단백질인 Sub2 (인간의 UAP56)과 Yra1 (인간의 REF/Aly)로 구성되어 있다. 각각의 THO subunit들이 결손되면 전사에 결함이 생기고, 전사 의존적 재조합이 증가하며 mRNA export에 결함이 발생 한다 (Jimeno *et al.*, 2002; Strasser *et al.*, 2002). 뿐만 아니라 SUB2와 YRA1 돌연변이는 THO 돌연변이 존재시 생존하지 못하며 (synthetic lethal) Sub2을 과발현 시킬 경우 THO 돌연변이의 표현형 (phenotype)이 억제되는 것으로 보아 (Fan *et al.*, 2001) mRNA export와 전사 진행이 잠재적으로 연관되어 있음을 뒷받침한다. 또한 THO와의 유전적 상호작용외에 Sub2/Yra1는 THO와의 물리적 결합을 통해 전사가 활발히 일어나는 부분에 직접적으로 위치하게 되는데 (Strasser *et al.*, 2002; Zenklusen *et al.*, 2002) 이것은 전사가 진행되는 동안에 export 가능한 mRNP가 one-step 으로 생성되고 있음을 의미한다. 하지만 이 과정에 있어 pol II CTD와 CTD 인산화가 어떤 역할을 하는지는 아직 불분명하다. 다만, 효모의 경우, TREX 복합체는 S2 kinase인 Ctk1과 무관하게 전사가 일어나는 부위에 들어오며 (Ahn *et al.*, 2004) human TREX 복합체도 전사 자체보다 splicing을 통해 어느정도 간접적으로 mRNA

EMM Review

와 결합하는 것으로 생각되고 있다 (Masuda *et al.*, 2005). 반면 재미있는 것은 인산화된 CTD S2에 선택적으로 결합할 수 있는 Spt6가 Iws1를 매개로 REF/Aly와 UAP56를 동시에 불러들인다는 것이 최근에 Jones와 동료들 의해 보고되었는데 (Yoh *et al.*, 2007), 이는 고등 진핵 생물 시스템에서는 THO 혹은 splicing과는 상관없이 CTD 인산화에 의해 mRNA export를 전사와 coupling 시킬 수 있는 또 다른 기전이 있음을 제안하는 것이다. 결론적으로, 5' capping에서 mRNA export에 이르기까지 mRNA 대사의 많은 부분이 전사와 동시에 일어나며, pol II CTD와 CTD 인산화를 매개로하여 전사를 통해 서로 조절되고 있음을 알 수 있다.

히스톤 코드에 반영되는 CTD 코드

유전자의 전사 상태는 크로마틴 (chromatin)의 상태와 밀

접하게 연관되어 있다 (그림 2) (Gerber and Shilatifard, 2003; Hampsey and Reinberg, 2003; Saunders *et al.*, 2006). 크로마틴의 기본 요소인 nucleosome은 146 bp의 DNA가 2개의 H2A, H2B, H3, H4로 구성된 히스톤 팔량체 (histone octamer)를 약 두 바퀴 감고 있는 형태로 이루어져 있다 (Luger, 2003). 아세틸화 (acetylation), 메틸화 (methylation), 인산화 (phosphorylation), 유비퀴틴화 (ubiquitination), 수모화 (sumoylation)와 같은 히스톤의 공유 변형 (posttranslational modification)에 따라 여러 전사 인자들의 크로마틴 접근이 조절되므로 히스톤 공유 변형은 궁극적으로 유전자 발현을 조절하게 된다 (Cheung *et al.*, 2000; Nathan *et al.*, 2003; Martin and Zhang, 2005). 그 중에서 히스톤 H3의 lysine 잔기 4와 36(H3 K4, H3 K36)의 메틸화는 활발한 전사 활성을 의미하는 것으로 잘 알려진 메틸화들이다. H3 K4는 Set1 family에 의해 메틸화되는 반면 K36은 Set2 단백질에 의해

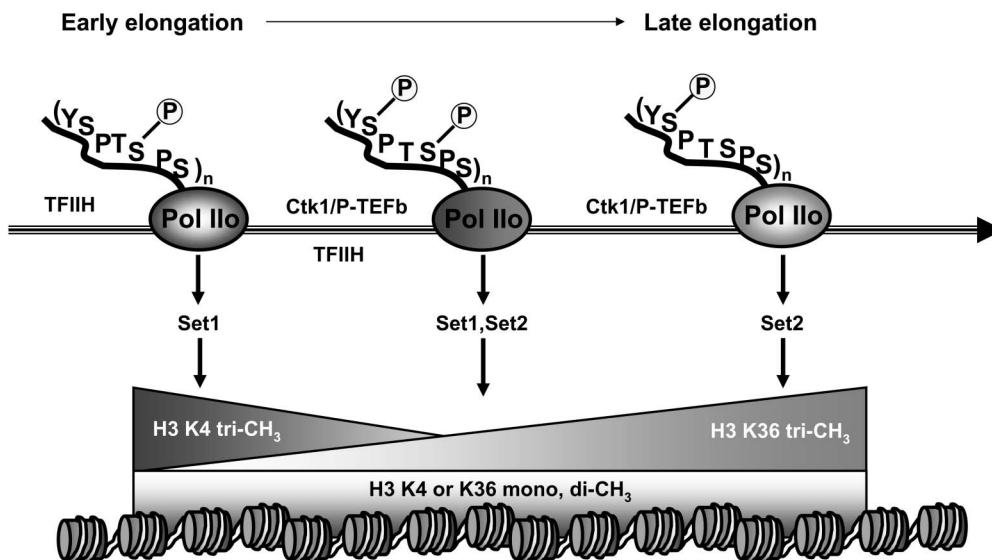


그림 2. 히스톤 코드에 반영된 CTD 코드. polymerase가 DNA를 전사하는 동안 각 단계별 전사 상태는 CTD 코드의 영향을 받아 히스톤 N-말단의 변화를 야기시켜 크로마틴에 그 표시를 남긴다. 활발하게 전사되는 유전자의 크로마틴을 보면 프로모터와 coding region 등 5' 주변에는 히스톤 H3 K4에 메틸화 (tri-CH3)가 증가하고 반면에 H3 K36의 메틸화 (tri-CH3)는 coding region의 3' 쪽으로 갈수록 증가하게 되어 H3 K4와는 정반대의 메틸화 패턴을 보인다. Mono- 또는 di-메틸화된 H3 K4 나 K36 메틸화 (mono-, di-CH3)는 tri-메틸화에 비해 유전자 전 지역에 고르게 분포되는 경향을 보인다. 인산화된 S5와 S2는 각각 Set1, Set2와 특이적으로 상호작용 함으로써 히스톤 메틸화의 coupling에 중요한 역할을 한다. CTD 인산화 상태는 인산화 효소와 탈인산화 효소간의 상대적인 활성에 의해 결정된다.

EMM Review

메틸화가 이루어 진다 (Gerber and Shilatifard, 2003). 그런데 H3 K4 tri-메틸화는 S5가 인산화된 pol II와 매우 유사한 분포를 보인다 (그림 2). 이러한 메틸화는 유전자의 프로모터와 5' 위치에서 가장 높아 전사 초기에서의 그 역할을 시사해준다 (Pokholok *et al.*, 2005; Millar and Grunstein, 2006). H3 K4 메틸화의 분포에서도 유추할 수 있듯이 Set1 복합체는 S5가 인산화된 pol II와 결합한다 (Ng *et al.*, 2003). H3 K4의 mono-, di-메틸화는 tri-메틸화에 비해 비교적 넓게 퍼진 분포를 보이는 경향이 있다. 한편, H3 K36 tri-메틸화는 coding 부위 전반에 걸쳐 관찰되며, 전사가 활발한 유전자의 3' 위치로 갈수록 증가하는 패턴을 보인다. Set1과는 달리 Set2는 S2의 인산화에 의존적으로 pol II와 결합한다 (Krogan *et al.*, 2003a; Xiao *et al.*, 2003). 따라서 TFIID와 Ctk1에 의해 서로 다른 위치에 인산화된 CTD가 각각 H3 K4와 K36 메틸화 분포에 영향을 주게 되는 것이다. 또한 Ctk1은 Set2를 직접적으로 결합시키게 할 뿐만 아니라 H3 K4 tri-메틸화가 유전자 coding부위에서 3' 쪽으로 퍼지는 것을 억제하기도 한다 (Xiao *et al.*, 2007). 각 잔기의 메틸화 정도는 전사 진행 복합체 (elongation complex)인 Paf1에 의해 더 조절될 수 있다 (Krogan *et al.*, 2003b). 이외에 Rad6/Bre1 복합체에 의한 히스톤 H2B의 K123 mono-유비퀴틴화나 BUR 인산화 복합체도 H3 K4 di-나 tri-메틸화에 중요한 영향을 미친다 (Shahbazian *et al.*, 2005; Laribee *et al.*, 2005; Wood *et al.*, 2005). 전반적으로 전사의 여러 과정을 진행하고 있는 RNA polymerase II 복합체는 전사 동안에 CTD 코드를 통하여 히스톤 코드를 조절하고 그럼으로써 전사 상태가 바로 크로마틴에 투영된다고 볼 수 있다. 비록 전사와 크로마틴 변형의 연관성이 무엇을 의미하는지에 관해 분자 수준에서의 이해가 아직 부족하기는 하지만 어쨌든 pol II CTD와 전사 인자는 위의 과정들을 연결시키는데 중요한 역할을 하고 있음을 알 수 있다.

결론

TFIID와 Ctk1에 의한 CTD S5와 S2의 인산화는 전사와 RNA processing이나 크로마틴의 기능을 연결시키는데 필수적이다. 여러 가지 조합이 가능한 각기 다른 위치의 CTD serine 인산화는 유전자 발현과 크로마틴 기능에 있어서 전사가 중심적 역할을 할 수 있도록 하는 연결고리인 것이다. CTD 코드를 인식하고 또 형성하는 단백질들에 대한 보다 많은 정보가 얻어진다면 그것과 연관된 핵 내 여러 대사 과정이나 이들의 연관성이 갖는 의미에 대해 보다 더 잘 이해할 수 있을 것이다.

References

1. Aguilera A. Cotranscriptional mRNA assembly: from the DNA to the nuclear pore. *Curr Opin Cell Biol* 2005;17:242-50
2. Ahn SH, Kim M, Buratowski S. Phosphorylation of serine 2 within the RNA polymerase II C-terminal domain couples transcription and 3' end processing. *Mol Cell* 2004;13:67-76
3. Barilla D, Lee BA, Proudfoot NJ. Cleavage/polyadenylation factor IA associates with the carboxyl-terminal domain of RNA polymerase II in *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc Natl Acad Sci* 2001;98:445-50
4. Bauren G, Belikov S, Wieslander L. Transcriptional termination in the Balbiani ring 1 gene is closely coupled to 3'-end formation and excision of the 3'-terminal intron. *Genes Dev* 1998;12:2759-69
5. Bentley DL. Rules of engagement: co-transcriptional recruitment of pre-mRNA processing factors. *Curr Opin Cell Biol* 2005;17:251-6
6. Bird G, Zorio DA, Bentley DL. RNA polymerase II carboxy-terminal domain phosphorylation is required for cotranscriptional pre-mRNA splicing and 3'-end formation. *Mol Cell Biol* 2004;24:8963-9
7. Birse CE, Minvielle-Sebastia L, Lee BA, Keller W, Proudfoot NJ. Coupling termination of transcription to messenger RNA maturation in yeast. *Science* 1998;280:298-301
8. Buratowski S. The CTD code. *Nat Struct Mol Biol* 2003;10:679-80
9. Buratowski S. Connections between mRNA 3' end processing

EMM Review

- and transcription termination. *Curr Opin Cell Biol* 2005;17:257-61
10. Cheung WL, Briggs SD, Allis CD. Acetylation and chromosomal functions. *Curr Opin Cell Biol* 2000;12:326-33
 11. Cho EJ, Rodriguez CR, Takagi T, Buratowski S. Allosteric interactions between capping enzyme subunits and the RNA polymerase II carboxy-terminal domain. *Genes Dev* 1998;12:3482-7
 12. Cho EJ, Kobor MS, Kim M, Greenblatt J, Buratowski S. Opposing effects of Ctk1 kinase and Fcp1 phosphatase at Ser 2 of the RNA polymerase II C-terminal domain. *Genes Dev* 2001;15:3319-29
 13. Dahmus ME. Reversible phosphorylation of the C-terminal domain of RNA polymerase II. *J Biol Chem* 1996;270:19009-12
 14. de la Mata M, Kornblihtt AR. RNA polymerase II C-terminal domain mediates regulation of alternative splicing by SRp20. *Nat Struct Mol Biol* 2006;13:973-80
 15. Du L, Warren SL. A functional interaction between the carboxy-terminal domain of RNA polymerase II and pre-mRNA splicing. *J Cell Biol* 1997;136:5-18
 16. Fan HY, Merker RJ, Klein HL. High-copy-number expression of Sub2p, a member of the RNA helicase superfamily, suppresses hpr1-mediated genomic instability. *Mol Cell Biol* 2001;21:5459-70
 17. Fong N, Bentley D. Capping, splicing, and 3' processing are independently stimulated by RNA polymerase II: different functions for different segments of the CTD. *Genes Dev* 2001;15:1783-95
 18. Gerber M, Shilatifard A. Transcriptional elongation by RNA polymerase II and histone methylation. *J Biol Chem* 2003;278:26303-6
 19. Hampsey M, Reinberg D. Tails of intrigue: phosphorylation of RNA polymerase II mediates histone methylation. *Cell* 2003;113:429-32
 20. Hirose Y, Manley JL. RNA polymerase II is an essential mRNA polyadenylation factor. *Nature* 1998;395:93-6
 21. Hirose Y, Tacke R, Manley JL. Phosphorylated RNA polymerase II stimulates pre-mRNA splicing. *Genes Dev* 1999;13:1234-9
 22. Ho CK, Shuman S. Distinct roles of CTD Ser-2 and Ser-5 phosphorylation in the recruitment and allosteric activation of mammalian mRNA capping enzyme. *Mol Cell* 1999;3:405-11
 23. Jimeno S, Rondon AG, Luna R, Aguilera A. The yeast THO complex and mRNA export factors link RNA metabolism with transcription and genome instability. *EMBO J* 2002;21:3526-35
 24. Kim E, Du L, Bregman DB, Warren SL. Splicing factors associate with hyperphosphorylated RNA polymerase II in the absence of pre-mRNA. *J Cell Biol* 1997;136:19-28
 25. Kim H, Jeong SH, Heo JH, Jeong SJ, Kim ST, Youn HD, Han JW, Lee HW, Cho EJ. mRNA capping enzyme activity is coupled to an early transcription elongation. *Mol Cell Biol* 2004a;24:6184-93
 26. Kim M, Krogan NJ, Vasiljeva L, Rando OJ, Nedeá E, Greenblatt JF, Buratowski S. The yeast Rat1 exonuclease promotes transcription termination by RNA polymerase II. *Nature* 2004b;432:517-22
 27. Komarnitsky P, Cho EJ, Buratowski S. Different phosphorylated forms of RNA polymerase II and associated mRNA processing factors during transcription. *Genes Dev* 2000;14:2452-60
 28. Kops O, Zhou XZ, Lu KP. Pin1 modulates the dephosphorylation of the RNA polymerase II C-terminal domain by yeast Fcp1. *FEBS Lett* 2002;513:305-11
 29. Kornblihtt AR, de la Mata M, Fededa JP, Munoz MJ, Noques G. Multiple links between transcription and splicing. *RNA* 2004;10:1489-98
 30. Krogan NJ, Kim M, Tong A, Golshani A, Cagney G, Canadien V, Richards DP, Beattie BK, Emili A, Boone C, Shilatifard A, Buratowski S, Greenblatt J. Methylation of histone H3 by Set2 in *Saccharomyces cerevisiae* is linked to transcriptional elongation by RNA polymerase II. *Mol Cell Biol* 2003a;23:4207-18
 31. Krogan NJ, Dover J, Wood A, Schneider J, Heidt J, Boateng MA, Dean K, Ryan OW, Golshani A, Johnston M, Greenblatt JF, Shilatifard A. The Paf1 complex is required for histone H3 methylation by COMPASS and Dot1p: linking transcriptional elongation to histone methylation. *Mol Cell* 2003b;11:721-9
 32. Larabee RN, Krogan NJ, Xiao T, Shibata Y, Hughes TR, Greenblatt JF, Strahl BD. BUR kinase selectively regulates H3 K4 trimethylation and H2B ubiquitylation through recruitment of the PAF elongation complex. *Curr Biol* 2005;15:1487-93
 33. Licatalosi DD, Geiger G, Minet M, Schroeder S, Cilli K, McNeil JB, Bentley DL. Functional interaction of yeast pre-mRNA 3' end processing factors with RNA polymerase II. *Mol Cell* 2002;9:1101-11
 34. Listerman I, Sapra AK, Neugebauer KM. Cotranscriptional coupling of splicing factor recruitment and precursor messenger RNA splicing in mammalian cells. *Nat Struct Mol*

EMM Review

- Biol 2006;13:815-22
35. Luger K. Structure and dynamic behavior of nucleosomes. *Curr Opin Genet Dev* 2003;13:127-35
 36. Martin C, Zhang Y. The diverse functions of histone lysine methylation. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005;6:838-49
 37. Masuda S, Das R, Cheng H, Hurt E, Dorman N, Reed R. Recruitment of the human TREX complex to mRNA during splicing. *Genes Dev* 2005;19:1512-17
 38. McCracken S, Fong N, Yankulov K, Ballantyne S, Pan G, Greenblatt J, Patterson SD, Wickens M, Bentley DL. The C-terminal domain of RNA polymerase II couples mRNA processing to transcription. *Nature* 1997;385:357-61
 39. Meinhart A, Cramer P. Recognition of RNA polymerase II carboxy-terminal domain by 3'-RNA-processing factors. *Nature* 2004;430:223-6
 40. Meinhart A, Kamenski T, Hoepfner S, Baumli S, Cramer P. A structural perspective of CTD function. *Genes Dev* 2005;19:1401-15
 41. Millar CB, Grunstein M. Genome-wide patterns of histone modifications in yeast. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2006;7:657-65
 42. Millhouse S, Manley JL. The C-terminal domain of RNA polymerase II functions as a phosphorylation-dependent splicing activator in a heterologous protein. *Mol Cell Biol* 2005;25:533-44
 43. Misteli T, Spector DL. RNA polymerase II targets pre-mRNA splicing factors to transcription sites *in vivo*. *Mol Cell* 1999;3:697-705
 44. Moore MJ, Schwartzfarb EM, Silver PA, Yu MC. Differential recruitment of the splicing machinery during transcription predicts genome-wide patterns of mRNA splicing. *Mol Cell* 2006;24:903-15
 45. Morris DP, Phatnani HP, Greenleaf AL. Phospho-carboxyl-terminal domain binding and role of a prolyl isomerase in pre-mRNA 3'-end formation. *J Biol Chem* 1999;274:31583-7
 46. Morris DP, Greenleaf AL. The splicing factor, Prp40, binds the phosphorylated carboxyl-terminal domain of RNA polymerase II. *J Biol Chem* 2000;275:39935-43
 47. Mortillaro MJ, Blencowe BJ, Wei X, Nakaysu H, Du L, Warren SL, Sharp PA, Berezney R. A hyperphosphorylated form of the large subunit of RNA polymerase II is associated with splicing complexes and the nuclear matrix. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93:8253-7
 48. Nathan D, Sterner DE, Berger SL. Histone modifications: Now summoning sumoylation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:13118-20
 49. Ng HH, Robert F, Young RA, Struhl K. Targeted recruitment of Set1 histone methylase by elongating Pol II provides a localized mark and memory of recent transcriptional activity. *Mol Cell* 2003;11:709-19
 50. Phatnani HP, Greenleaf AL. Phosphorylation and functions of the RNA polymerase II CTD. *Genes Dev* 2006;20:2922-36
 51. Pokholok DK, Harbison CT, Levine S, Cole M, Hannett NM, Lee TI, Bell GW, Walker K, Rolfe PA, Herbolsheimer E, Zeitlinger J, Lewitter F, Gifford DK, Young RA. Genome-wide map of nucleosome acetylation and methylation in yeast. *Cell* 2005;122:517-27
 52. Price DH. P-TEFb, a cyclin-dependent kinase controlling elongation by RNA polymerase II. *Mol Cell Biol* 2000;20:2629-34
 53. Proudfoot NJ, Furger A, Dye MJ. Integrating mRNA processing with transcription. *Cell* 2002;108:501-12
 54. Rodriguez CR, Cho EJ, Keogh MC, Moore CL, Greenleaf AL, Buratowski S. Kin28, the TFIIF associated carboxy-terminal domain kinase, facilitates the recruitment of mRNA processing machinery to RNA polymerase II. *Mol Cell Biol* 2000;20:104-12
 55. Saunders A, Core LJ, Lis JT. Breaking barriers to transcription elongation. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2006;7:557-67
 56. Schiene C, Fischer G. Enzymes that catalyse the restructuring of proteins. *Curr Opin Struct Biol* 2000;10:40-5
 57. Schroeder SC, Schwer B, Shuman S, Bentley D. Dynamic association of capping enzymes with transcribing RNA polymerase II. *Genes Dev* 2000;14:2435-40
 58. Schroeder SC, Zorio DA, Schwer B, Shuman S, Bentley D. A function of yeast mRNA cap methyltransferase, Abd1, in transcription by RNA polymerase II. *Mol Cell* 2004;13:377-87
 59. Shahbazian MD, Zhang K, Grunstein M. Histone H2B ubiquitylation controls processive methylation but not monomethylation by Dot1 and Set1. *Mol Cell* 2005;19:271-7
 60. Skaar DA, Greenleaf AL. The RNA polymerase II CTD kinase CTDK-I affects pre-mRNA 3' cleavage/polyadenylation through the processing component Pti1p. *Mol Cell* 2002;10:1429-39
 61. Strasser K, Masuda S, Mason P, Pfannstiel J, Oppizzi M, Rodriguez-Navarro S, Rondon AG, Aguilera A, Struhl K, Reed R, Hurt E. TREX is a conserved complex coupling transcription with messenger RNA export. *Nature*

EMM Review

- 2002;417:304-8
62. Sudol M, Hunter T. New wrinkles for an old domain. *Cell* 2000;103:1001-4
63. Tardiff DF, Lacadie SA, Rosbash M. A genome-wide analysis indicates that yeast pre-mRNA splicing is predominantly posttranscriptional. *Mol Cell* 2006;24:917-29
64. Verdecia MA, Bowman ME, Lu KP, Hunter T, Noel JP. Structural basis for phosphoserine-proline recognition by group IV WW domains. *Nat Struct Mol Biol* 2000;7:639-43
65. West S, Gromak N, Proudfoot NJ. Human 5' →3' exonuclease Xrn2 promotes transcription termination at co-transcriptional cleavage sites. *Nature* 2004;432:522-5
66. Wilcox CB, Rossetini A, Hanes SD. Genetic interactions with C-terminal domain (CTD) kinases and the CTD of RNA Pol II suggest a role for ESS1 in transcription initiation and elongation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics* 2004;167:93-105
67. Wood A, Schneider J, Dover J, Johnston M, Shilatifard A. The Bur1/Bur2 complex is required for histone H2B monoubiquitination by Rad6/Bre1 and histone methylation by COMPASS. *Mol Cell* 2005;20:589-99
68. Wu X, Wilcox CB, Devasahayam G, Hackett RL, Arevalo-Rodriguez M, Cardenas ME, Heitman J, Hanes SD. The Ess1 prolyl isomerase is linked to chromatin remodeling complexes and the general transcription machinery. *EMBO J* 2000;19:3727-38
69. Xiao T, Hall H, Kizer KO, Shibata Y, Hall MC, Borchers CH, Strahl BD. Phosphorylation of RNA polymerase II CTD regulates H3 methylation in yeast. *Genes Dev* 2003;17:654-63
70. Xiao T, Shibata Y, Hall MC, Rao B, Larabee RN, O'Rourke R, Buck MJ, Greenblatt JF, Krogan NJ, Lieb JD, Strahl BD. The RNA polymerase II kinase Ctk1 regulates positioning of a 5' histone methylation boundary along genes. *Mol Cell Biol* 2007;27:721-31
71. Yoh SM, Cho H, Pickle L, Evans RM, Jones KA. The Spt6 SH2 domain binds ser2-P RNAPII to direct Iws1-dependent mRNA splicing and export. *Genes Dev* 2007;21:160-74
72. Zenklusen D, Vinciguerra P, Wyss JC, Stutz F. Stable mRNP formation and export require cotranscriptional recruitment of the mRNA export factors Yra1p and Sub2p by Hpr1p. *Mol Cell Biol* 2002;22:8241-53
73. Zhou M, Halanski MA, Radonovich MF, Kashanchi F, Peng J, Price DH, Brady JN. Tat modifies the activity of CDK9 to phosphorylate serine 5 of the RNA polymerase II carboxyl-terminal domain during human immunodeficiency virus type I transcription. *Mol Cell Biol* 2000;20:5077-86