

# DGIST 뇌과학과 분자세포 신경생물학 연구실

## 연구실 개요

본 연구실에서는 신경세포에 분포하는 이온채널의 조절 물질로서의 생체막(plasma membrane) 기능 연구를 수행함으로써 다양한 생명현상에 직간접적으로 관여하고 있는 생체막의 역할을 수용체 신호전달기전에서 규명하고자 한다. 대부분의 신경세포는 전기적 흥분성을 지니고 있는데, 이러한 세포의 성질은 그 세포막 또는 생체막에 존재하는 다양한 종류의 이온채널의 활성화에 의해 조절된다. 신경세포의 수상돌기(dendrite)로 전달된 전기적 신호는 세포의 체세포(soma)를 거쳐 축삭원추(axon hillock) 부위에서 통합되어 축삭돌기(axon)에서 전기적 신호발생 여부가 결정된다. 축삭돌기를 통해 신경말단부위로 전달된 전기적 신호는 신경전달물질의 분비를 유도하는데, 이때 세포막 전압에 의해 조절되는 전압의존성 이온채널(voltage-gated ion channels)의 활성화조절이 가장 중요한 역할을 한다. 하지만 이온채널의 활성화는 세포막 탈분극에 의한 전위차뿐만 아니라 세포막에 존재하는 신경전달물질이나 호르몬의 수용체들에 의해서도 동시에 조절된다. 따라서 여기서 우리는 수용체에 의한 이온채널의 활성화조절기전을 이해함으로써 신경세포에 작용하는 수용체 및 이온채널의 기능 및 역할을 밝히고자 한다. 특히 지질 이중층(lipid bilayer)으로 구성된 생체막이 채널활성에 중요하다는 점

이 최근 집중적으로 연구되고 있는데 지질을 총체적으로 분석하는 lipidomics 방법을 이용하여 신호전달기전에 있어서 인지질의 기능을 규명하고 각각의 지질과 채널간의 네트워크를 해석함으로써 입체적이고 역동적인 신호기구의 모델을 제시하고자 한다. 이러한 연구결과들은 신경세포의 활성화, 호르몬 분비, 학습, 기억, 세포성장 및 분화 등 생리학 및 병태생리학적 기전을 규명하는데 큰 도움이 될 것이다. 본 연구실은 대구경북과학기술원(DGIST) 뇌과학부(Brain Science)에 소속되어 있으며, 2011년 3월



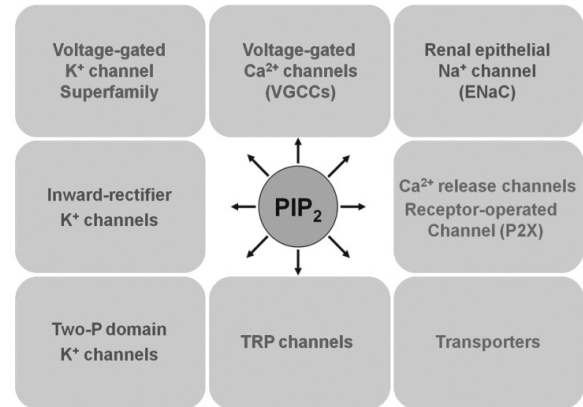
사진 1. 연구실 가족들  
(왼쪽부터 금동일, 서병창 교수, 권혜진, 김동일)

에 출발한 신생연구실로서, 현재 석사과정 2명과 박사과정 1명으로 구성되어있다 (사진 1).

## 연구배경 및 접근방법

신경세포에서 생체막에 존재하는 이온채널의 기능이 무엇이며 어떻게 조절되고 있는지에 관한 연구는 신경생물학이라는 학문이 태동한 이래로 집중적으로 연구가 진행되어 왔다. 이미 많은 종류의 이온채널들이 클로닝되었고, 생물리학적 활성기전에 대해 연구가 진행되어왔다. 특히 세포막의 수용체에 의한 채널의 조절기전에 대해서는 초기연구부터 많은 관심을 받았고 현재 많은 조절기전에 대해 알려져 있다. 최근의 연구결과 이러한 신경세포의 이온채널들은 그들이 존재하는 세포의 세포막 지질에 의해서도 강하게 조절 받고 있다는 사실이 알려지면서 그 조절기전과 생리학적 의미에 대해 현재 많은 연구들이 진행되고 있다. 본인의 연구에 의하면 여러 지질 물질들 중에서 특히 인지질의 일종인 PIP<sub>2</sub>가 채널 조절에 중요한 요소인 것으로 확인되었다 (Suh & Hille, 2005, 2008).

PIP<sub>2</sub>는 초기 effector 효소의 일종인 phospholipase C의 기질로서 diacylglycerol(DAG)과 IP<sub>3</sub>의 전구물질로 인식되어 왔으나 현재는 이온채널뿐만 아니라 신경전달물질의 분비, 세포내 cytoskeleton의 조절물질로서 많은 관심의 대상이 되고 있다. 즉, 수용체 의해 세포막의 PIP<sub>2</sub>가 다량 가수분해 되어져 나갈 때 동시에 PIP<sub>2</sub>에 의해 조절되는 단백질들의 활성도 변화하게 될 것이라는 가설을 바탕으로 진행된 연구는 현재 많은 종류의 세포 내 단백질뿐만 아니라 채널들도 실제로 그와 같은 조절을 받고 있음을 밝혔다(그림 1). 하지만 인지질에 의한 이온채널의 조절기전에 관해서는 아직 초기 연구단계로, 채널 종류에 따른 생체막 조절의 특이성은 어떻게 결정되는지, 수용체 활성화에 의한 채널조절기전에 실제로 인지질이 조절역할을 하고 있는지, 생체막 결합으로 야기된 이온채널성 신경질환(channelopathy)의 기전은 무엇이며 그것의 치료는 가능한지 등 수많은 질문이 남아 있다.



**그림 1.** 인지질의 일종인 PIP<sub>2</sub>에 의해 조절되는 채널들. 직접적인 complex형성에 의해 조절 받는 것으로 추정되고 있다.

이에 본 연구실은 크게 두 가지 접근 방법을 통해 생체막과 이온채널의 상호 작용기전에 대해 연구하고 있다. 첫째는 생체막에 의한 이온채널 조절의 분자적 기전에 대한 연구단계로, 인지질과 채널의 상호작용관계 및 생물리학적 의미를 파악하고 인지질의 생성과 분해에 따른 이온채널의 조절기전을 분자적 수준에서 밝히는 것이다. 둘째는 이온채널의 조절에 중요한 인지질을 lipidomics 차원에서 선별하여 개별 지질에 의한 채널활성을 분석함으로써 세포내에서의 기능을 밝히고 수용체 활성화의 신호전달기전에 있어서 그 생물학적 의의를 규명하는 연구이다.

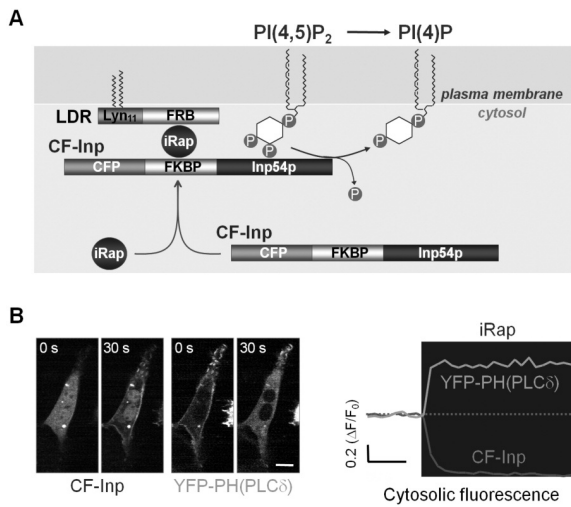
위의 연구배경을 바탕으로 전기생리학을 중심으로 현재 네 가지의 새로운 연구접근방법을 이용하여 이온채널 조절에서의 인지질 기능을 연구하고자 한다.

### 1) Rapamycin-induced translocation system

세포막 인지질을 직접적으로 변경할 수 있는 lipid kinase 또는 phosphatase를 원하는 시간에 세포막으로 이동시킴으로 우리가 원하는 특정 지질을 제거하거나 새롭게 더 생성시킬 수 있는 system이다. 이는 수용체 단계를 거치지 않고 직접적으로 빠른 시간 안에 변경시킴으로 채널연구에서 인지질의 기능을 밝히는데 주요한 도구로 이용될 수 있다 (그림 2). 특히 세포막 수용체 활성화 시 세포

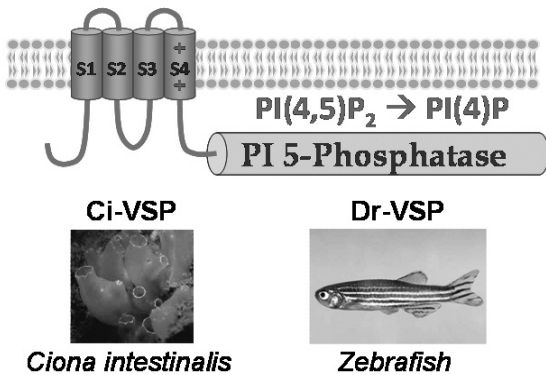
내에 생성될 수 있는 여러 가지 신호전달물질들을 배제할 수 있으므로 세포막 지질에 의한 이온채널의 조절기전을 연구하는데 있어 직접적인 조절자로서의 기능을 알아보는 데 꼭 필요하다. 또한 이 system은 여러 다른 종류의 채널에 적용될 수 있으므로 다양한 연구에 적용될 수 있다.

## 2) Voltage-Sensing Phosphatase (VSP)



**그림 2.** Rapamycin-induced translocation system의 모식도 (A). Rapamycin에 의한 INP54p 효소의 세포막 이동과 세포막에서 PIP<sub>2</sub>의 가분해가 거의 동시에 일어난다 (B).

## Voltage-Sensing Phosphatase (VSP)



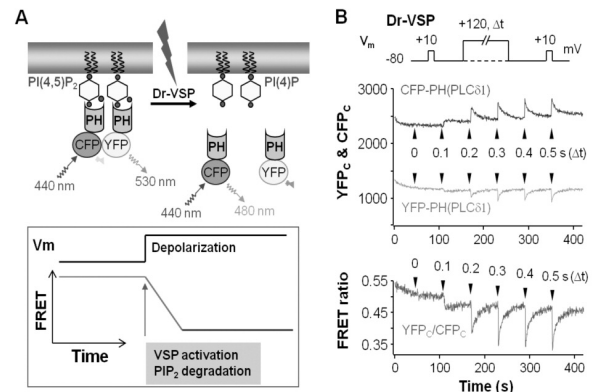
**그림 3.** 생체막에서의 VSP 단백질의 모식도. C-terminus에 poly 5-phosphatase가 결합되어 있으며 세포막의 탈분극 (depolarization)에 의해 활성화 된다. *Ciona intestinalis*에서 클로닝된 Ci-VSP와 *zebrafish*에서 클로닝된 Dr-VSP의 두 가지가 많이 이용된다.

## system

VSP는 생체막에 위치하는 단백질로 N-terminus에 전압을 인지하는 도메인(voltage-sensing domain)이 있으며 C-terminus에는 인지질 5-phosphatase가 존재하는 단백질이다 (그림 3). 세포막의 전위차가 변할 때 voltage-sensing domain이 그 차이를 인지해서 phosphatase를 활성화 시키고 그 결과 5-phosphatase는 세포막의 PIP<sub>2</sub>를 0.5초 안에 완전히 제거한다. 인지질 중에서도 특히 PIP<sub>2</sub>의 기능을 밝힐 때 사용할 수 있는 접근방법으로 현재 Ci-VSP와 Dr-VSP 두 가지의 VSP system이 존재하는데, 이는 활성화되는 전압의 차이로 목적에 따라 다른 VSP를 이용할 수 있다. 빠른 시간 안에 PIP<sub>2</sub>를 PIP로 변화시킴으로 세포막의 인지질 기능을 연구하는데 아주 중요한 도구로 이용될 수 있다.

## 3) Lipid indicator-based FRET system

세포내 phospholipid의 변화를 살아있는 세포에서 살펴볼 수 있는 방법으로 인지질에 결합하는 PH domain에 CFP와 YFP를 결합시켜 발현시킴으로 살아있는 세포에서



**그림 4.** FRET 방법을 이용하여 Dr-VSP에 의한 세포막의 PIP<sub>2</sub>의 분해 및 생성을 측정할 수 있다. (A) VSP의 활성화에 의해 PIP<sub>2</sub>의 dephosphorylation이 나타나고 결과적으로 FRET 신호의 감소로 나타나는 것을 보여주는 모식도. (B) FRET photometry 방법으로 하나의 세포에서 PIP<sub>2</sub> binding probe의 신호를 개별적으로 측정함으로써 FRET을 측정할 실험 결과. FRET ratio = YFP<sub>c</sub>/CFP<sub>c</sub>.

FRET의 변화를 살펴볼 수 있다 (그림 4). 이 방법을 이용하면 수용체에 의해 세포막의  $PIP_2$ 가 잘려졌는지 또는 DAG나  $IP_3$ 가 생성되었는지를 쉽게 파악할 수 있다. 이러한 방법들은 기존에 사용되던 생화학적 방법보다 빠르고 살아있는 세포에서 적용할 수 있다는 점에서 큰 장점이라 할 수 있다. 이 방법을 통하여 세포막에서의  $PIP_2$  가수분해 또는 합성의 대사과정을 실시간으로 측정할 수 있다.

#### 4) 하나의 세포에서 $PIP_2$ 의 분해와 채널 활성의 동시 측정

하나의 세포에서  $PIP_2$ 의 분해와 이온 채널의 활성을 동시에 측정하는 방법이다. 살아있는 세포에서 전기생리학적 기법으로 채널의 활성을 측정하면서 동시에 인지질의 분해 및 합성을 FRET photometry로 실시간 측정하는 방법이다. 이 두 가지 방법을 결합함으로써 인지질의 대사와 채널의 활성이 직접적인 연관성이 있는지를 심층적으로 밝힐 수 있고, 특별히 상호간에 이루어지는 조절 속도를 생물학적으로 분석할 수 있다.

#### 연구방향

본 연구실은 뇌신경 세포의 활성 조절에 가장 중요한 역할을 하는 전압의존성 이온채널의 조절기전을 이해함으로써 채널의 비정상적인 활성화에 의해 발생하는 간질, 통증 등 뇌병리현상의 발생기전을 규명하고 그것의 치료물질을 찾아나가는 것을 목표로 위에서 설명된 접근방법을 활용하여 다양한 연구를 진행하고 있다.

#### 1) KCNQ $K^+$ channel regulation

뇌신경세포에서의 KCNQ  $K^+$  채널의 분포 및 조절기전을 연구하고 수용체에 의한 KCNQ  $K^+$  채널의 조절 메커니즘을 밝힘으로써 신경세포의 흥분성 조절 및 간질 발생의 원리를 규명하고자 한다. 세포막에 존재하는 KCNQ  $K^+$  channel은 1980년 처음으로 발견되었고 이는 세포의 활

성에 매우 중요한 역할을 한다. 동물실험의 경우 이 채널의 활성이 20% 정도 감소한 돌연변이 개체에서 신경세포의 활성이 증가되었고 그 결과 간질발작 현상이 나타나는 것으로 알려져 있다. 이 채널은 정상적인 신경세포에서 여러 가지 수용체에 의해 다양하게 조절 받고 있는데, 이러한 조절기전이 정상적으로 나타나지 않을 경우 신경의 활성에 문제가 발생된다. 1988년에 이 채널을 담당하고 있는 유전자들이 클로닝 되었고 그 후 2002년에 이 채널의 활성에 있어 가장 중요한 세포물질이 세포막 인지질 중에서  $PIP_2$ 임을 확인하고  $PIP_2$ 가 생성되지 않는 세포에서는 채널의 활성이 회복되지 않는다는 것을 발견했다 (Suh & Hille, 2002). 그 후 2006년에  $PIP_2$ 가 이 채널의 정상적인 활성에 꼭 필요하다는 것을 rapamycin-induced translocation system을 개발함으로써 확인했다 (Suh et al., 2006). 현재 이 채널은 뇌신경의 다양한 부위에 발견되는 것으로 밝혀져 있다. 특히 hippocampus에 다량 발현되는데, 그 부위에서 신경신호의 전달에 중요한 역할을 할 것으로 예상된다. 하지만 아직 중추신경계의 뇌세포에서의 KCNQ  $K^+$  채널의 기능연구는 아직 많이 이루어지고 있지 않다. 본 연구실에서는 신경세포의 hippocampal neuron에서의 채널 조절기전을 연구함으로써 이 채널의 조절기전 및 뇌신호전달에서의 기능을 규명하고 인지질에 의한 KCNQ  $K^+$  채널의 조절기전의 세포특이성에 대해서 밝혀나갈 것이다.

#### 2) Voltage-gated $Ca^{2+}$ ( $Ca_v$ ) channel regulation

칼슘 채널의 활성조절은 신경전달물질의 분비 및 시냅스에서의 신호전달, 근육의 조절기능 등 다른 어떤 채널보다도 중요한 역할을 감당하고 있다. 그동안 이러한 칼슘채널의 조절기전에 관한 많은 연구가 진행되어 왔지만 아직 세포막의 지질에 의한 조절기전에 대한 연구는 많이 진행되지 못한 상황이었다. 최근 몇몇 그룹들이 세포막의 지질이 칼슘채널의 조절에 중요한 역할을 한다는 사실을 발표



했지만 접근방법의 한계로 인해 많은 어려움이 있었다. 하지만 본인은 최근 직접적인 인지질 조절 system인 rapamycin-induced translocation system과 VSP systems을 이용함으로써 보다 직접적인 방법으로 칼슘채널 조절에 있어서의 PIP<sub>2</sub>의 기능을 밝혔다 (Suh et al., 2010). 연구 결과 Ca<sub>v</sub>1.2, Ca<sub>v</sub>1.3 Ca<sub>v</sub>2.1 Ca<sub>v</sub>2.2 채널이 PIP<sub>2</sub>에 의해 직접적으로 활성화된다는 사실을 확인했다 (Table 1). 이러한 결과는 수용체 활성화에 의한 칼슘채널의 활성조절과 일치하는 것으로 아마도 세포에서 수용체에 의한 칼슘채널의 활성 조절에 PIP<sub>2</sub>의 가수분해가 일부분 담당하고 있다는 사실을 나타내는 것이다. 하지만 이러한 인지질 조절기전이 칼슘채널의 종류에 따라 다르게 나타나는 이유는 아직 확인되지 않았다. 또한 이러한 인지질 조절현상을 신경세포에서 확인해본 결과 PIP<sub>2</sub>의 조절이 상대적으로 약하게 나타나는 것으로 확인했는데, 아마도 PIP<sub>2</sub> 조절에 있어서 칼슘채널의 subunit 구성이 중요한 것으로 예상된다. 확인 결과 칼슘채널의 β-subunit 또한 PIP<sub>2</sub>의 조절에 매우 중요한 기능을 담당하고 있으며, 특히 β-subunit의 세포내 location이 PIP<sub>2</sub> 조절에 중요하고 이러한 location에 palmitoylation이 담당하고 있음을 확인하고 계속 연구를 진행 중에 있다.

표 1. Effects of PIP<sub>2</sub> depletion on inhibition of Ca<sub>v</sub> channel family

Channels (α1)	Main location	VSP inhibition
L- Ca <sub>v</sub> 1.1 (α1S)	Skeletal muscle	-
L- Ca <sub>v</sub> 1.2 (α1C)	Smooth muscle	33-36%
L- Ca <sub>v</sub> 1.3 (α1D)	Neuroendocrine	34-38%
L- Ca <sub>v</sub> 1.4 (α1F)	Retinal/bipolar	-
P/Q- Ca <sub>v</sub> 2.1 (α1A)	Neurons	25-30%
N- Ca <sub>v</sub> 2.2 (α1B)	Neurons	55-60%
R- Ca <sub>v</sub> 2.3 (α1E)	Neurons	-
T- Ca <sub>v</sub> 3.1 (α1G)	Broad	< 3%
T- Ca <sub>v</sub> 3.2 (α1H)	Broad	-
T- Ca <sub>v</sub> 3.3 (α1I)	Broad	-

-, not determined; %, maximum inhibition by PIP<sub>2</sub> depletion

### 3) Pain transmission regulation

대표적인 통증 감각채널인 TRPV1 및 ASICs 채널의 조절 기전을 이해함으로써 통증의 발생 및 뇌(brain)로의 전달 기전을 규명하고 그 조절방법을 탐구하고자 한다. 두 채널 모두 세포외부의 pH 변화, 특히 acidic 조건에 의해 활성화 되는데, 본 연구실에서는 이러한 채널의 활성화에 미치는 세포막 인지질의 기능을 연구함으로써 세포내에서 수용체에 의해 조절되는 다양한 기전에 대해 연구할 계획이다. 동시에 세포막 인지질 조절단백질을 개발함으로써, 직접적인 인지질 변화에 의한 세포 현상을 관찰하고 세포막의 신경세포 활성, 분화, 및 신호전달기전의 조절기전을 규명하고자 한다.

#### 기대효과 및 전망

본 연구를 통하여 신경세포의 활성 및 시냅스 후세포에서의 활성전위의 발생, 그리고 수용체 신호전달에 있어서의 인지질 기능을 연구함으로써 신경계 활성조절에 미치는 수용체 역할에 대한 이해를 높일리라 예상된다. 또한 이를 바탕으로 뇌인지 기능의 상실이나 뇌질환 상태에서의 수용체 신호전달 기전을 더욱 정확히 이해해 나갈 수 있을 것이며, 뇌질환 치료제 개발 및 그것에 필요한 원천지식을 확보해 나갈 수 있으리라 예상된다.

#### 【대표논문】

1. Suh BC and Hille B (2002) Recovery from muscarinic modulation of M-current channels requires phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate synthesis. *Neuron* 35, 507-520.
2. Suh BC, Horowitz LF, Hirdes W, Mackie K, and Hille B (2004) Regulation of KCNQ2/KCNQ3 current by G protein cycling: the kinetics of receptor-mediated signaling by Gq. *J. Gen. Physiol.* 123, 663-683.
3. Suh BC and Hille B (2005) Regulation of ion channels by phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate.

*Curr. Opin. Neurobiol.* 15, 370–378.

4. Suh BC\*, Inoue T\*, Meyer T, and Hille B (2006) Rapid chemically-induced changes of PtdIns(4,5)P<sub>2</sub> gate KCNQ ion channels. *Science* 314, 1454–1457. \* Contributed equally.
5. Suh BC and Hille B (2007) Electrostatic interaction of internal Mg<sup>2+</sup> with membrane PIP<sub>2</sub> seen with KCNQ K<sup>+</sup> channels. *J. Gen. Physiol.* 130, 241–256. ^ Cover picture in *J. Gen. Physiol.* (2007) Sep 130(3) PMC2151647
6. Suh BC and Hille B (2008) PIP<sub>2</sub> is a necessary cofactor for ion channel function: How and why? *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 37, 175–195.
7. Suh BC\*, Leal K, and Hille B (2010) Modulation of high-voltage activated Ca<sup>2+</sup> channels by membrane phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate. *Neuron* 67, 224–238. \* corresponding author.



저 | 자 | 약 | 력

서병창 연구책임자

1987–1991	서울대학교 농생물학과, 학사
1992–1994	포항공과대학교 생명과학과, 석사
1994–1997	포항공과대학교 생명과학과, 박사
1997–2001	기초과학연구소, 박사후 연구원
2001–2004	University of Washington, Seattle, Senior Fellow
2004–2011	University of Washington, Seattle, Research Assistant Professor
2011–현재	대구경북과학기술원 (DGIST), 대구, 조교수

연 | 구 | 진 | 구 | 성

교 수: 서병창  
 박사과정학생: 김동일  
 석사과정학생: 금동일, 권혜진