

DNA 재조합 회복유전자의 특성

전남대학교 치과대학 약리학교실

김 경 근

DNA의 double-strand break (DSB)는 항암요법에 사용되는 전리방사선이나 radical과 같은 radiometric agents 등에 의해 유도된다. DSB는 세포의 죽음에 매우 중요한 역할을 한다는 것이 알려졌으며 이러한 손상은 DNA 재조합기전에 의해 회복된다. DSB의 정교한 회복은 염색체의 fragmentation, translocation, deletion 등의 예방에 필수적이거나 회복 과정이 잘못되면 원종양유전자의 활성화나 종양억제유전자의 불활성화 또는 이형접합성의 상실을 초래하여 암이 발생하게 될 수도 있다고 알려져 있다 (Game, 1993). RAD52 epistasis군 (*RAD50-RAD57*)에 속하는 DNA 재조합 회복유전자가 돌연변이된 효모는 동종성 재조합에 의한 DSB회복이 잘 일어나지 않으며 또 전리방사선 조사와 methylmethanesulfonate (MMS)와 같은 알킬화합물에 감수성이 증가함이 보고된 바 있다 (Game, 1993; Haber, 1995). 최근 효모의 DNA 재조합 회복 유전자의 생쥐 및 인간 homologue가 보고되면서 이들 유전자의 기능에 대해 많은 연구가 수행되어지고 있다 (Tsuzuki 등, 1996; Baumann 등, 1996; Scully 등, 1997; Bezzubova 등, 1997; Essers 등, 1997; Park, 1995; Shen 등, 1995; Dolganov 등, 1996; Kim 등, 1996). 또한 RAD52 epistasis군에 속하는 많은 유전자들의 일차적인 염기순서가 효모와 인간간에 잘 보존되어 있음이 밝혀졌다 (Petrini 등, 1997).

RAD52 유전자를 원숭이 세포에 과발현시키면 전리방사선에 대해 저항성을 가지며 *RAD52* 유전자에 의한 동종성 DNA 재조합이 포유류 세포 DNA의 DSB회복에 관여한다고 제안되었다 (Park, 1995). 또한 생쥐의 *RAD54* 유전자를 knock-out시키면 효모에서와 마찬가지로 전리 방사선, mitomycin C, MMS에 대한 저항성이 떨어지며 동종성 재조합 역시 감소함이 최근 보고되었다 (Bezzubova 등, 1997; Essers 등, 1997).

최근 Kim 등 (1996)은 SV40 large T antigen에 의한 생쥐의 변형 심장 세포에서 p53의 monoclonal antibody중 C-terminal에 epitope을 가지는 Mab 421 과만 immunoprecipitation을 하는 180 kd의 단백을 cloning하고 이것이 효모 *RAD50* 유전자의 생쥐 homologue임을 보고하였다. 또 방사선 조사에 예민한 rad50 돌연변이 효모에 생쥐 *RAD50* 유전자를 형질 전환시키면 방사선 조사에 대해 저항성을 가진다 (complementation). 또 NIH 3T3 세포에 자외선 조사나 알킬 화합물인 MMS를 처치시 *RAD50* transcript가 증가하였다. Dolganov 등 (1996)은 효모에서 Mre11과 *RAD50* 단백질이 서로 상호작용함에 착안하여 인간의 Mre11 단백을 probe로 하여 효모 two-hybrid system을 이용 인간의 *RAD50* 유전자를 cloning하여 보고하였다. 또 Kim 등 (1997)은 생쥐의 *RAD50* 유전자를 probe로 하여 인간의 *RAD50* 유전자를 cloning하였으며 rad50 돌연변이 효모에 인간의 *RAD50* 유전자를 형질전환시키면 complementation이 관찰됨을 보고하였다. 그러나 *RAD50* 유전자의 진핵세포에서의 기능에 대한 연구는 아직 보고된 바 없다. 이에 본 연구자는 *RAD50* 단백질의 발현이 감소된 세포주를 확립하고 이 세포에 대해 알킬화합물을 투여하거나 자외선 및 전리방사선 조사를 시행한 바 *RAD54* 유전자와 같이 전리방사선, mitomycin C, MMS에 대한 저항성이 떨어짐을 관찰하였다.

반면 *RAD51* 유전자의 경우 *RAD52*나 *RAD54* 유전자와는 다른 양상을 보인다. 효모 *RAD51* 유전자의 대장균 homologue는 Rec A 단백질로 양 유전자는 DNA의 DSB 회복이나 감수분열 및 유사분열의 재조합, strand 교환 반응에 관여한다 (Sung, 1994). 이 유전자의 생쥐 homologue의 아미노산은 효모와는 80%, 대장균 Rec A와는 50%의 homology를 보이며 MMS에 민감한 효모의 rad51 돌연변이종에서 complementation을 보인다 (Morita 등, 1996).

또 성숙조직의 흉선과 고환에서만 높게 발현된다. 그러나 효모나 대장균의 경우 RAD51 유전자의 결손이나 돌연변이는 각각의 생존에 영향을 주지 않으나 RAD51 유전자가 결손된 생쥐에서는 태생기의 발생초기에서 결합을 초래하여 사망한다(Tsuzuki 등, 1996). 또 인간 고환에서 추출된 hRAD51 단백질은 DNA에 결합하고 ATP 의존성 동종 strand 교환 반응 및 pairing을 촉진시키나 광범위한 heteroduplex 형성은 효모나 대장균과는 달리 다른 단백질의 기능을 필요로 함이 제시되었다(Baumann 등, 1996). 이는 단일세포인 효모나 대장균에서와는 달리 생쥐에서는 RAD51 단백질이 성장이나 DNA 회복에서 더 중요한 기능을 가짐을 시사한다. 즉 포유동물 세포의 재생에 RAD51 단백질이 관여하는 재조합과정이 필수적일 가능성을 제시하고 있다(Edelmann과 Kucherlapati, 1996).

참 고 문 헌

- 1) Baumann P, Benson FE, West SC: *Human Rad51 protein promotes ATP-dependent homologous pairing and strand transfer reactions in vitro.* Cell 1996;87:757-766
- 2) Bezzubova L, Sibergleit A, Yamaguchi-Iwai Y, Takeda S, Buerstedde J-M: *Reduced X-ray resistance and homologous recombination frequencies in a RAD54 mutant of the chicken DT40 cell line.* Cell 1997;89:185-193
- 3) Dolganov GM, Maser RS, Novikov A, Tosto L, Chong S, Bressan DA, Petrini JHJ: *Human Rad50 is physically associated with human Mre11: Identification of a conserved multiprotein complex implicated in recombinational DNA repair.* Mol Cell Biol 1996;16:4832-4841
- 4) Edelmann W, Kucherlapati R: *Role of recombination enzymes in mammalian cell survival.* Proc Natl Acad Sci USA 1996;93:6225-6227
- 5) Essers J, Hendriks RW, Swagemakers SMA, Troelstra C, De Wit J, Bootsma D, Hoeijmakers JHJ, Kanaar R: *Disruption of mouse RAD54 reduces ionizing radiation resistance and homologous recombination.* Cell 1997;89:195-204
- 6) Game JC: *DNA double-strand breaks and the RAD50-RAD57 genes in Saccharomyces.* Semin. Cancer Biol 1993;4:73-83
- 7) Haber JE: *In vivo biochemistry: physical monitoring of recombination induced by site-specific endonucleases.* Bioessays 1995;17:609-620
- 8) Kim KK, Daud AI, Wong SC, Pajak L, Tsai, S-C, Wang H, Henzel WJ, Field LJ: *Mouse RAD50 has limited homology to p53 and is expressed in the adult myocardium.* J Biol Chem 1996;271:29255-29264
- 9) Morita T, Yoshimura Y, Yamamoto A, Murata K, Mori M, Yamamoto H, Matsushiro A: *A mouse homolog of the Escherichia coli rec A and saccharomyces cerevisiae RAD51 genes.* Proc Natl Acad Sci USA 1996;90:6577-6580
- 10) Park MS: *Expression of human RAD52 confers resistance to ionizing radiation in mammalian cells.* J Biol Chem 1995;270:15467-15470
- 11) Scully R, Chen J, Plug A, Xiao Y, Weaver D, Feunteun J, Ashley T, Livingston DM: *Association of BRCA1 with Rad51 in mitotic and meiotic cells.* Cell 1997;88:265-275.
- 12) Shen Z, Denison K, Lobb R, Gatewood JM, Chen DJ: *The human and mouse homologs of the yeast RAD52 gene: cDNA cloning, sequence analysis, assignment to human chromosome 12p12.2-p13, and mRNA expression in mouse tissues.* Genomics 1995;25:199-206
- 13) Sung P: *Catalysis of ATP-dependent homologous DNA pairing and strand exchange by yeast RAD51 protein.* Science 1994;265:1241-1243
- 14) Tsuzuki T, Fujii Y, Sakumi K, Tomimaga Y, Nakao K, Sekiguchi M, Matsushiro A, Yoshimura Y, Morita T: *Targeted disruption of the RAD51 gene leads to lethality in embryonic mice.* 1996;93:6236-6240