

# 微生物의 遺傳學에의 應用

朴 根 植

오늘날 遺傳學이 人類生活에 學文的인 面이나 應用 面에 寄與한바는 크다고 할 것이다. 生物의 分類나 生理形態研究를 비롯하여 動植物의 育種에 이르기까지 뿐만 아니라 오늘에 이르러는 微生物學의 急激한 發展에 따라 抗生物質과 其他 生物學的인 製劑, 微生物의 工業生産面에까지 그의 應用的 面이 넓혀 微生物遺傳學 나아가서는 微生物의 育種學이 거의 體系化되어 가고 있다. 여기에 著者は 微生物의 遺傳學에의 應用이 되어가고 있는 面을 모아 微生物 分野研究에 從事하거나 獸醫學을 다루는 分들에게 조그만한 도움이 될까하고 엮어 보았다.

## 1. 細菌의 遺傳學的인 面에 있어서의 位置

(1) 細菌은 約  $1\mu$  前後의 單細胞로서 그의 構造나 生活樣式이 簡單하여 適當한 條件下에서 無性分裂에 依하여 急速하게 增殖한다. 그러므로 多數의 遺傳學的으로 均一한 個體를 많은 世代에 걸쳐서 取扱할 수 있다.

(2) 遺傳子를 갖는 細胞가 外界에 露出한 狀態下에서 環境의 影響을 받기 쉽기 때문에 細胞와 外界와의 相互關係를 調査하기 쉽다 適當하다.

(3) 以上の 여러가지 點으로서 實驗室內에서 突然變異體를 얻기 쉽다는 點 等이다.

## 2. 細菌遺傳學的의 發達概要

1940年은 境界로 해서 細菌의 遺傳學的 變換의 現象이 發見되어 遺傳學에 새로운 分野가 열렸다. 예를 들면 1946年 Tatum과 Lederberg가 視察한바 細菌이 接合하여 遺傳子를 交換하는 現象이 밝혀 細菌에 遺傳子 分野의 手段을 適用할 수 있었고 1956年 Cauailli에 依하여 細菌의 染色體地圖가 만들어져 그의 詳細한 遺傳構造가 밝혀질 수가 있었다.

其後 細菌으로부터 抽出된 DNA(核酸)으로서 細菌의 遺傳學的의 性質은 變換하고 現象이 發見되어 遺傳子가 細菌細胞안에 들어가서 細菌의 遺傳子와 Recombination을 行하는 것으로 生覺되어 遺傳子의 化學的 本質이나 作用을 解析하는 有力한 業績이 되었고

또 Bacteria-phage가 細菌의 遺傳子를 運搬하여 ph-

age 自身이 遺傳子로 보이는 것도 發見되어 遺傳子와 phage의 關係나 遺傳子의 微細構造를 밝힐 수 있게 되었다.

이들의 遺傳學的 變換現象은 細胞生理의 變換 例를 들면 새로운 型의 核酸이나 酵素의 形成이 따르기 때문에 最近 進歩되고 있는 細菌을 使用한 蛋白質 核酸의 生合成에 關한 研究와 密接한 關係를 갖고 있다. 遺傳子의 作用, 遺傳子의 增殖 遺傳子의 Recombination 等이 生化學的인 基礎위에서 統一的으로 理解된 때에 細菌의 遺傳的 研究는 遺傳子의 進歩 뿐만 아니라 應用 分野에까지 크게 貢獻될 수 있을 것이라고 展望 하고 있다.

## 3. 細菌遺傳學的의 應用

細菌은 醫學 藥學 農學等的 應用部門에 重要的 位置를 차지하고 있으므로 細菌遺傳學은 이들 分野의 重要的 問題에도 寄與하게 된다. 예를 들면 細菌의 藥劑에 對한 耐性的 問題 細菌의 變異와 流行病의 問題 免疫學과의 關聯 有用細菌의 育種 Bioassay에의 利用 代謝 經路의 檢討 등 廣汎한 應用分野에 關聯되고 있다.

이와 같이 細菌의 遺傳學은 現在 急速한 發展으로 發展하여 體系化되어가는 새로운 分野이다. 基礎研究로부터 應用面에 이르기까지 研究가 展開되고 있다.

細菌의 集團 遺傳學에 對하여는 後述하기로 하고 先 細菌遺傳學的의 根幹을 이루고 있는 細菌에 있어서 遺傳形質의 變換에 따라 記述코자 한다. 最近의 研究에 依하면 細菌의 遺傳學的 變換은 突然變異 以外 적어도 다음 네가지의 現象이 있다고 한다.

- ① 接合 또는 組換 (Conjugation or Bacterial Recombination)
- ② 形質轉換(Transformation)
- ③ 形質導入(Tranaduction)
- ④ 溶原變換(Lysogenic Conversion)

## 4. 細菌의 突然變異

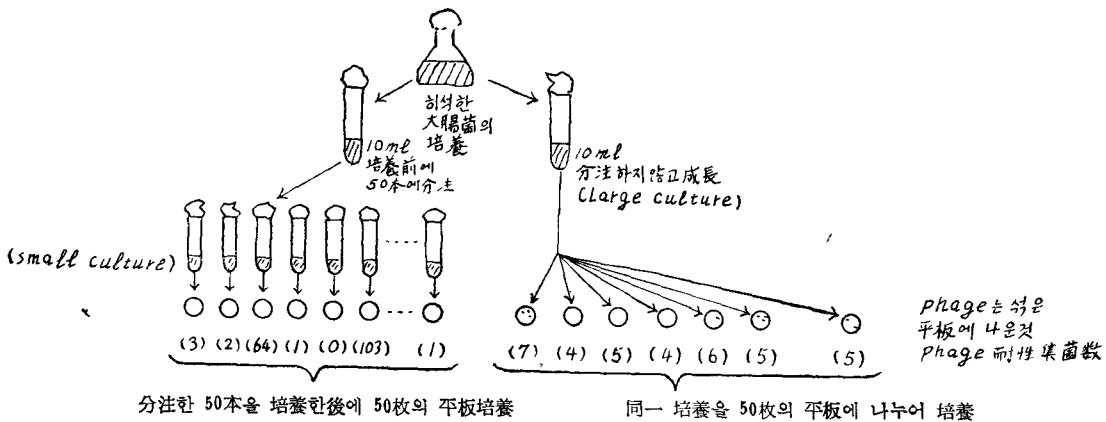
(1) 細菌의 變異에 關한 初期의 概念 純粹培養法의 發見以前에 細菌은 元來가 變型하는 것이라고 多形態論者들은 말하여 왔으나 Koch는 細菌을 純粹培養했

을 경우에는 各型의 細菌이 그의 型의 形質을 바로 받는다는 것을 提示하여 그 當時에 細菌은 單一形態이라는 生覺이 大勢를 占하고 있었다. 그러나 20世紀 初頭에 純粹培養을 했을 경우라도 細菌이 變化된다는 것을 再認識하게 되었으며 많은 細菌學者들은 이러한 變異의 Mechanism에 對하여 研究하여 왔었다.

그리고 現在에 이르러 解明의 對象으로 된 變異에는 그 種類가 있는데 그 하나는 藥劑에 對한 耐性菌의 生成이나 菌自體가 代謝하지 않는 物質을 代謝하는 등의 適應(Adaptation)과 그 다음은 어떤 型의 集落으로부터 전혀 새로운 型의 集落의 出現 即: S→R型으로 變型하는 것은 菌의 集團內에서 偶然히 發生하여 남은 突然變異菌이 뿔려 남은 結果라고 生覺하는 分離(Dissociation)의 두가지가 있다. 高等生物의 變異는 突然變異로부터 일어난다고 오래전부터 알려지고 있으나 細菌學者들에 있어서는 이 生覺이 正當한 것으로 생각하기에는 기나긴 歲月이 必要하였는가 하면 細菌은 核이 없고 高等動物이 갖는 遺傳機構가 없다고 믿었다는 點이다. 1942년에 Robinow가 菌體中에 核을 觀察하여 寫眞까지 찍었으나 一般의 認證이 잘되지 않았다. 그 다음은 突然變異菌 出現의 觀察이 不可能하였다는 것이다. 即 突然變異는 稀少하게 일어나고 菌體는 작을 뿐만 아니라 形이 簡單해서 顯微鏡으로 觀察이 不可能해서 突然變異가 集團의 大部分을 차지하므로 確證이 될 수 있으나 集團內에서의 變化가 너무나 速히 일어난다면 먼저 接種에 使用한 菌이 全部 環境에 適應했을 것이라고 細菌學者들은 生覺했었고 또 細菌의 變異는 自然發生하는 遺傳子突然變異를 그의 基盤으로 하는 것이 暗示되어 왔으나 1943年 까지는 이러한 說에 對한 決定的인 證明이 되어오지 않았다.

(1) 細菌突然變異의 識別

適應變異는 遺傳子突然變異에 對한 한갓 挑戰이라 하겠다. 高等生物에서의 突然變異는 전혀 偶發的이며 環境에 依하여 遺傳의 方向이 잡히지 않는다고 生覺된다. 突然變異를 誘發하는 有害한 藥劑로서도 突然變異를 일으키는 率이 遺傳子에 따라 거의 같은 程度로 높아지는 것으로 보아 適應變異種을 알아 내는데는 細菌의 集團全體를 有害한 藥劑 그 自體의 存在下에 培養하여서 變異種을 알아내기 爲한 淘汰를 行하게 하는 以外는 方法이 없다. 例를 들면 phage 感受性菌 100萬個中 1個의 phage 耐性菌이 있다고 하면 後者를 檢出하기 爲해서는 phage가 들어있는 平板培地에 最少限 100萬個의 菌을 接種한다. 그렇게 하므로서 前者는 死滅하고 後者만이 集落을 만든다. 만약 이러한 경우 phage 自身의 어떤 作用으로서 耐性이 獲得되었다고 전혀 생각되지 않겠는가? 이와같이 “方向을 따른 變異”가 或時 있다면 이것은 高等生物에서의 遺傳子突然變異와는 分明히 異質的인 것이다. 그래서 細菌의 突然變異가 環境의 支配를 받아 一定方向에의 遺傳하는 가를 實驗하기 爲해서 1943~1948年 사이에 Luria와 Delbrück가 搖動試驗(Fluctuation Test)을 實施하였다. 即 大腸菌을 새로운 培地에 옮겨 이것을 큰 試驗管 2個에 各各 10ml씩 分注하고 그중 하나는 그림 1과 같이 培養하기 前에 작은 50個의 試驗管에 各各 分注하여 培養한 후에 (small culture) phage가 含有한 平板培地에 移植하고 다른 큰 試驗管의 것은 바로 그대로 배양하여 (Large Culture) 直接 phage가 含有한 平板培地에 移植하여 phage 耐性의 集落數를 調査한 結果 그림 1과 같은 成績을 얻었다.



Fluctuation Test에 依한 細菌의 突然變異의 無方向性을 說明한 實驗

이 實驗의 結果는 Large culture 부터 만든 平板培地上的 Phage 耐性菌의 集落數는 一定하며 集落數의 搖動은 標本抽出誤差의 範圍內였으나 Small culture 부터 만든 平板培地上的 phage 耐性菌의 集落數는 一定하지 않을 뿐만 아니라 集落의 數가 前者에 比하여 數百倍나 되어 結局 細菌에 있어서 突然變異는 偶發的이며 環境의 支配를 받지 않는다고 하며 突然變異의 發生率은 高等生物의 突然變異와의 類似性은 發見되었다고 하며 統計分析에 依하여 發生率은 1世代當  $10^8$  個當 0.32個의 phage 耐性이 出現 그러므로  $3 \times 10^8$  個에 1個 出現하는 셈이 된다고 한다. 그리하여 Fluctuation Test로서 細菌의 適廣突然變異가 無方向的이며 偶發的인 것을 統計的方法에 依하여 間接的으로 證明되었다. 其後 1952 Lederberg 一派는 이러한 現象을 直接的으로 證明하는 簡單한 方法을 考案한바 平板反複法(Riplica method)이다. 이 實驗의 結果도 Fluctuation test와 同一한 成績을 얻었다하며 phage 耐性菌의 純系를 얻을 수 있었으며 phage와 接觸없이 耐性獲得이란 突然變異는 도래 要因의 存在에는 關係없이 發生하는 것을 觀察하였다 한다.

### 5. 細菌의 接合現象

2個의 다른 性을 가진 細菌이 接合하여 마치 高等動物과 같은 過程을 밟아 染色體 또는 遺傳子를 組換하는 現象을 말하며, 接合—染色體의 移動—Diploid의 形成—染色體의 乘換—分離等의 一連의 過程이 成立된다. 이러한 現象은 1946年 美國의 Tatum과 Lederberg (1946)이 大腸菌 K-12株로서 最初로 觀察하였다. 뿐만 아니라 種類의 細菌이 接合하여 遺傳子를 서로 바꾸는 現象은 1955年에 直接 電子顯微鏡으로 觀察되었다. 이러한 現象을 模形圖로 表示하면 그림 2와 같다.

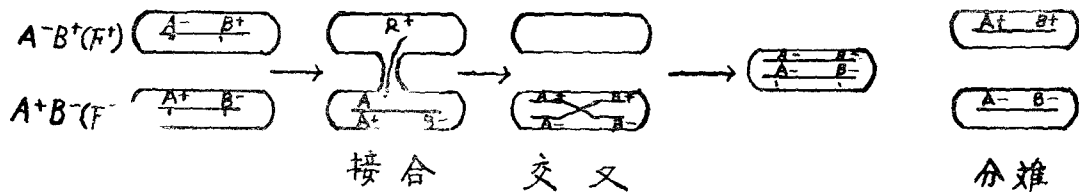


그림 2 接合에 의한 細菌의 遺傳子 組換의 模形圖

大腸菌으로서 여러가지 實驗한 結果 大腸菌에 있어서도 染色體가 있어 細菌의 遺傳子가 一定한 順序로 그 위에 자리잡고 있음을 알았고 나아가서는 Lederberg (1951), Cavalli(1956), Hayes(1953) 등이 大腸菌의 여러가지 性質을 遺傳的으로 分析하여 하나의 긴 染色體地圖를 만들었다. 그후 Jacob, Wollman(1956)은 或時 細菌이 接合하여 染色體의 移動이 일어난다면 다른

性의 細菌을 混合하여 mixer로서 섞으면 接合한 細菌이 당기어 染色體의 移動이 阻害되거나 中斷될 것이라고 生覺한 나머지 實際로 實驗한 結果 이러한 假證을 立證했을 뿐만 아니라 이 現象을 利用하여 遺傳子의 移動速度나 移動順序를 決定하였으며 이順序는 Cavalli等이 만든 染色體地圖와 一致되었다.

그리고 細菌이 接合하여 接合體를 만들면 Diploid가 되며 이렇게 되면 바로 떨어져 Raploid로 되며 接合한 細胞의 性質이 빼앗기지 않는다. 1949年에 Diploid의 期間이 긴 突然變異體 Het를 얻어 優性劣性의 程度나 細菌의 組換機構를 다시 상세하게 離證할 수 있었다. 다음은 Hetero 接合體부터 組換을 行한 細胞가 어떻게 分離되는가는 Miorsmainipulater를 使用하여 Hetero接合體부터 한 個씩의 細菌을 分離하여 細胞의 性質을 조사하여 어디서 Haploid의 分離가 일어났는가를 알 수 있게 되었다.

染色體의 組換이 끝나고 새로운 遺傳子의 組合을 가진 細胞가 分離되면 새로운 形質을 나타내나 그의 形質이 發現하는데 必要한 時間은 各各 그의 形質에 따라 다르다.

### 6. 細菌의 形質轉換(Transformation)

이 現象은 다른 細菌의 抽出物을 加함으로서 細菌의 遺傳形質의 變化가 있는 現象을 말하며 그의 抽出派의 有效成分은 DNA(核酸)이다. 이러한 形質轉換을 이끄는 因子를 形質轉換因子(transforming factor or transforming principle)라 한다.

이 現象은 最初肺炎雙球菌(diplococcus pneumoniae)로서 發見되어 그後에 인후렌자菌(Homophilus nft uenzae)으로서도 證明이 되었다. 肺炎雙球菌에는

菌의 外膜이 色糖類의 莢膜(capsule)로 싸여있는 S型과 莢膜이 없는 R型이 있다. R는 S의 突然變異에 依하여 된것으로서 R를 위에 注射하여도 肺炎이 일어나지 않으나 S는 肺炎을 일으키는 病原性을 갖고 있다.

이러한 肺炎雙球菌 R型의 살아있는 菌의 菌을 위에 注射하여도 肺炎이 일어나지 않는데 反하여 熱로서 죽인 大量의 S型 死菌과 共同주사함으로써 肺炎이 일어

나는 것을 볼 수 있었고 여기에서 S型的 살아있는 菌을 分離하였다. 그래서 S型的 死菌이 R型菌에 作用하여 R을 S로 變하게 하였다고는 생각하지 않았다. 其後 Dawson이나 Alloway 등은 R를 抗R血清과 S死菌의 抽出物을 含有하는 培地中에 增殖시킴으로서 形質轉換이 일어나는 것을 알았다. 그리하여 抽出物의 有効成分을 化學적으로 追求한바 이 方面에서 가장 有名한 Avery 등은 이 活性物質은 純粹한 脫 옥시리보 核酸(DNA)이며 蛋白質, 脂質, 多糖類는 何런 作用하고 아무런 關係가 없다는 事實을 알았다. 그이후 오늘에 이르기까지 形質轉換物質의 化學的性質을 多方으로 追求하여 왔었다.

形質轉換은 어떠한 細菌에 반드시 일어나는 것이 아니고 細菌의 生理的 遺傳的狀態에 依하여 현저하게 다르다.

그리고 細菌의 組換現象과 形質轉換과는 얼핏보기에는 크게 다른것 같으나 現象의 本質이 밝혀짐에 따라 兩者가 서로 비슷한 機構에 依하여 遺傳的轉換을 行하는 것을 알게 되었으며 이러한 現象은 다음의 形質導入, 溶原變換과도 깊은 關係가 있다 이 現象의 共通機體 例를들면 DNA의 細胞內에의 移行과 組合機構나 遺傳子의 性質과 化學的 構造와의 關係 등이 밝혀진다는 것은 크게 重要的 의미를 지니고 있다.

### 7. 形質導入(Transduction)

細菌의 形質轉換에 있어서 遺傳的인 變換에 關與하고 있는것은 DNA이다. 그래서 酵素 脫 옥시리보뉴크리 아제로서 處理하면 細菌을 變換시키는 能力이 소혀 없어진다. 한便 接合現象에서는 細胞와 細胞와의 接觸하고 條件이 없이는 組換을 일으킨細胞(recombinant)가 되지 않는다. 그러나 形質導入에 있어서는 Bacterial phage가 細菌의 細胞內에서 增殖할때는 細菌의 染色體

의 一部를 phage가 갖고 溶出하여 이것을 다른 細胞로 운반하여 새로운 宿主가된 細菌의 性質을 운반하여 온 性質과 遺傳적으로 變化시킨다. 이러한 phage의 仲介에 依한 遺傳的變換-形質導入의 現象을 發見한 사람은 Zinder이다.

이는 1952年에 Salmonella typhimurium의 代謝突然變異의 二系統을 갖고 實驗하였으나 接合現象과 비슷한 結果를 얻어 大腸菌 K-12의 接合現象과 같이 U字管의 中央에 細菌을 流通하지 못할 Filter를 부친 兩側에 서로 性質이 다른 菌을 넣어 壓力을 加하여 培地만이 서로 Filter를 通하여 交流하게끔 培養하였던바 性質의 變化되는 것을 觀察하였다. 이는 接合에 있어서는 2種의 細胞 接觸이 必須의 條件이나 Bacteria Filter를 通過하는 것에 依하여 變化가 일어나고 現象은 분명히 接合하고 다르다는 것을 立證한 것이다. 그래서 脫 옥시리보뉴크리아제에 依하여 活性을 잃고 遺心沈殿이나 다른 方法으로 活性部分은 分割하면 溶原 phage의 分割과 平行하여 變換의 活性이 나타나게 되어 形質導入이란 遺傳的 現象을 알게된 것이다. 形質導入에 對해서는 다음 機會에 詳述코져 한다.

### 8. 溶原變換(Lysegenie conversion)

phage에 依하여 宿主의 因子가 운반되어 다른 細菌의 性質을 變하게 하는 可能性이 알게되자 이에 利敵되어 次次 이와 類似한 現象이 나타나기 始作하였다. 例를 들면 毒性을 갖지 않은 디프테리아菌이 特殊한 phage에 依하여 毒性이 變化하고 現象은 形質導入과 比較하여 詳細하게 調査한바 (Groman) 形質導入과는 약간 다른 變化를 낚는 것을 알아 이것은 形質導入과 區分하여 溶原變換이라 한다.

<筆者 = 農村振興廳試驗局>

發 (祝) 展

三 廣 家 畜 病 院

京 畿 道 利 川 郡 公 獸 醫 師

院 長 李 弼 洙

京 畿 道 利 川 郡 暮 加 面 陳 加 里