

Bacterial Transposition

정 재 훈

미 Indiana대학교

Deoxyribonucleic acid (DNA)는 유전물질로서의 양면성인 안정성 (static nature) 과 변화잠재력 (variable nature) 을 동시에 발휘할 수 있는 화학적 특성을 지니고 있다. DNA의 안정성이 種의 존속과 체세포 유지에 기여하고 있다면 변화잠재력은 種의 다양성과 발생중의 특이유전자 발현의 원동력이라 할 수 있다. 즉 두 가지 성질이 모두 생명체의 수직적 수평적 유전현상에 필수적인 요소이다.

유전 재조합이란 생식과정에 있어서, 또는 분화과정에 있어서 선택형질의 축적된 돌연변이를 포함하는 유전자의 거대한 모집단이 재 정리되는 방식이다. 이에 대한 mechanism 이 종래까지만 해도 相同재조합으로 국한되어 왔으나 1950년대 초 Barbara McClintock의 옥수수 transposable element의 발견으로 새로운 종류의 유전 재조합 mechanism이 발견되었다. 당시 발견은 많은 사람의 주목을 끌지 못했으나 약 20년 후인 1970년대에 분자생물학적인 연구가 시작되어 여러 생명체 내에 이러한 종류의 재조합 현상이 높은 빈도로 존재하고 있음이 알려져 있다. 그 결과 상동 재조합의 상반된 개념으로서의 비상동 재조합 또는 불합리 재조합 (illegitimate recombination) 이라는 새로운 용어를 탄생시켰으며 이는 일반적으로 "DNA 염기서열의 광범위한 상동성을 필요로 하지 않는 유전 재조합"으로 정의된다.

최근까지 후핵세포에 있어서 이러한 불합리 재조합의 예는 상당수가 알려져 있는데 세포분화 과정에 수반되는 체세포 재조합, 효모의 접합형 전환, retroviral DNA의 숙주 DNA로의 삽입, 그리고 여러가지 다양한 종류의 transposition 현상등이 그것이다. 그러나 비상동 재조합의 분자생물학적 연구는 주로 진핵세포를 대상으로 시작되었는데 그 소재는 주로 bacte-

riophage의 DNA, 단세포-다형질발현 (clonal polymorphism)에 간여하는 유전인자, 그리고 transposable element들이다. 특히 bacterial transposable element는 그 구조적 특성이 후핵세포의 그것과 상당히 유사하기 때문에 진화의 초기단계에 그 始原을 두고 있으리라 추측되며 넓은 분포, 임상적 중요성, 조작이 용이한 점등의 이유로 많은 연구가 진행되어 왔다.

*E. coli*의 galactose와 lactose operon에 있어서 새로운 형태의 극성 돌연변이를 물리적 방법 (CsCl 밀도구배 원심분리 및 전자 현미경 관찰에 의한 heteroduplex 분석법)으로 조사한 결과 약 800 또는 1400 base pair (bp)의 일정한 길이를 지닌 DNA부위가 숙주 DNA에 삽입되어 들어가 인근 유전자 발현에 영향을 미치고 있다는 사실이 밝혀졌는데 이들 삽입된 DNA부분을 Insertion Sequence (IS)라고 부르게된 것이 bacterial transposable element의 최초 발견이다 (1-3). 이와 거의 동시에 chloramphenicol에 대한 저항성 유전자를 갖고 있는 R-plasmid DNA의 특정한 일부가 *E. coli* DNA로 삽입되어 들어가는 빈도가 높다는 사실과 반복주기를 통하여 bacteriophage P1이나 다른 plasmid매체를 이용하여 이러한 저항성 유전자가 세포와 세포로 전파된다는 사실이 알려졌다 (4).

그 후 비슷한 방식으로 여러가지 다른 항생제에 대한 저항성 유전자들이 뛰어 다닌다는 사실이 확인되었고, 이들 뛰어 다닐수 있는 특정 DNA부분을 transposon (Tn)이라고 부르게 되었다. Transposon은 저항성 유전자와 같은 선택형 표지 유전자를 가지고 있다는 점에서 이러한 선택형 유전자가 없는 IS와 구별되지만 극성 돌연변이를 유발시키고 다양한 종류의 DNA재배열을 초래한다는 점에서 그 기능적

동질성이 있다. 대부분의 transposon 들은 저항성 유전자를 사이에 끼는, 양쪽 끝에 긴 말단중복 DNA를 가지는데 이들은 대개 그 자체만으로도 transposition의 기능을 수행할 수 있는 IS인 경우가 많다. 예를들면 두개의 IS 1, IS 10, IS 50, IS 903이 각각 Tn9, Tn10, Tn5, Tn903의 말단에 중복되어 있다. 그리고 이들 IS들도 역시 짧으나마(8-30bp) 말단중복 DNA를 가지고 있다. 예외적인 경우로 TnA族이 있는데 이 族은 양쪽 끝에 IS를 가지지 않고 저항성 유전자와 transposition기능을 수행하는데 필요한 유전자를 끼고있는 짧은(약 30bp)중복 DNA를 가진다. 따라서 이 族에 속한 transposable element는 구조적인 관점에서 볼 때 일반적인 transposon보다 IS를 닮았다고 볼수 있다.

또 다른 종류의 bacterial transposable element로 溶原性 bacteriophage Mu 및 유사 phage를 들 수 있는데 이들 역시 말단중복은 아니지만 한쪽 끝과 다른쪽 끝에서 80 bp 떨어진 곳에 비 IS중복 DNA를 가지고 있다.

Transposition은 숙주의 정상적인 재조합 기능인 recA의 기능이 없어도 일어날 수 있는데 이는 Transposon 또는 Insertion Sequence 자체가 갖고 있는 효소적 기능 때문이다(5). Tn5와 Tn3의 경우 이 기능의 본체가 transposase라는 효소로 밝혀져 있고 Tn3와 Mu의 transposase는 분리 정제되어 그 생화학적 성질이 많이 알려져 있다(6, 7). 이 효소들은 transposable element가 삽입되는 과정을 촉매하며 다른 종류의 DNA 재배열현상, 즉 결손, 역위등과는 무관하다.

Transposable element가 흥미로운 점중의 하나는 이기적 DNA(Selfish DNA)의 관점에 부합하는 것이다. Transposition 자체가 숙주 DNA에 끼어 들어 감으로써 숙주의 유전적 총체를 망가뜨리고 transposition에 관련된 기타 DNA 재배열 현상을 유발시켜 결과적으로 숙주 DNA에 커다란 피해를 끼치게 된다. Transposable element는 DNA가 일종의 기생 형태로 자기의 DNA 염기서열을 자연계에서 늘려 나가고 있는데 숙주에 많은 피해를 끼쳐서 죽어버리게 되면 자신도 생존할 수 없기 때문에 tran-

sposition과정은 엄격하게 조절되어진다(8, 9). Tn3의 경우 cis로 작용하는 transposition면역기능(10)과 trans로 작용하는 전사억제기능(11)의 두가지 mechanism에 의해 transposition이 조절된다. 또 Tn10의 경우에는 Tn10 transposase message의 전사를 방해하는 antimeassage의 합성을 통하여 Tn10의 transposition을 조절한다(12). Tn5의 경우는 transposase가 transposition inhibitor보다 훨씬 적게 합성되는 기작과 미지의 제한요인에 의해 조절된다(13).

Transposable element가 삽입될 때 표적부위의 짧은(5 또는 9 bp) 염기서열이 복제되는데 매 삽입시 마다 특정 transposable element는 특정길이의 표적복제를 하게 된다. Transposition의 표적부위는 특정염기서열을 가져야 할 필요는 없으나 표적부위의 염기서열 분석결과에 의하면 transposable element의 양쪽 끝에 있는 DNA 염기서열과 유사한 부근이 비교적 자주 표적부위로 선정된다. 이러한 유사성은 아마 표적 DNA염기서열과 transposable element의 양쪽 끝의 염기서열간의 상호작용 또는 표적 DNA의 유사염기서열과 transposase간의 상호작용을 시사한다(14).

이상에서 살펴본 바와 같이 여러 종류의 transposable element들은 염기서열 및 조절기능따위가 상이하기로 하지만 그 구조적 일관성 및 표적복제와 같은 기능적 유사성을 가지기 때문에 transposition의 mechanism은 어느 한가지 통일된 방식일 것으로 추측되어 왔다. 초기에 제시된 transposition model들은 다양한 transposable element가 통일된 방식에 의해 삽입되어 들어간다고 설명했으나 이에 불일치하는 실험결과들로 인해서 TnA族과 비 TnA族이 서로 다른 mechanism에 의해 삽입된다는 이론으로 바뀌었다. 이러한 경향성은 transposase의 유사한 in vitro 생화학적 성질을 발견하게 됨으로써 다음에 논하고자 하는 상황중속적 이론으로 바뀌게 되었다. Transposition의 어떠한 model도 transposase의 두가지 기능을 전제로 하는데 그 하나는 transposable element의 말단염기서열을 인식하는 기능이고 다른 하나는 표적 DNA복제를 설명하기 위한

표적 DNA의 늘어진(Staggered) 두가닥 절단 기능이다.

TnA族, Tn5, Tn9, Tn10 그리고 phage Mu 등이 trasposition을 이해하기 위하여 가장 중점적으로 연구되어 온 system으로 소위 model system이다. 다음의 세가지 transposition model은 거의 대부분 이들 system으로 부터의 실험결과에 기초한 것이다.

- TnA; 필수적 융합 model -

Tn3 transposition의 유전학적 생화학적 연구결과에 따르면 Tn3는 두개의 과정을 거쳐 진행되며 각 과정은 Tn3가 가지는 두개의 서로 다른 특이 기능에 의해 이루어진다. 첫번째 단계는 복제단위체융합(replicon fusion)으로 tnpA 유전자에 의해 만들어진 transposase에 의해 촉매되어지고 두번째 단계는 분해(resolution) 과정으로 tnpR 유전자로부터 만들어진 분해효소(resolvase)에 의해 촉매된다. 이 model에 의하면 첫번째 단계에서 transposase가 element의 양쪽 끝 DNA 염기서열을 인식하고 서로 다른 DNA 가닥에 한가닥 절단(single strand nick)을 만들어 element의 양쪽 끝에 동일한 말단을 가지게 된다. 또한 표적 DNA의 선택된 부분에 늘어진 두가닥 절단(staggered double strand cut)을 형성하고 각각의 복제단위체에 노출된 5'과 3' 말단을 교환하여 이음(ligation)이 형성되면 element의 양쪽 끝에 DNA 복제 fork가 형성된다. 이러한 중간구조의 DNA 복제 fork에서 두방향 복제가 이루어지면 同向重複(Direct Repeats; DR's)에 의해 융합된 cointegrate라 불리는 구조가 형성되는데 새로 합성된 한개의 DR은 DNA 재조합이 일어날 수 있는 부위를 제공한다. 두번째 단계에서는 상동성이 있는 DR's 간에 상동재조합 또는 특정부위 재조합이 일어나 두개의 복제단위체로 분리된다. 이 때 원래의 transposable element를 가지고 있던 복제단위체는 원래의 구조를 가지게 되고 표적 DNA는 표적부위에 transposable element가 삽입된 구조를 가지게 된다(15). Tn3의 경우 이 과정은 Tn3 DNA의 특정부위(res 부위)에서 TnpR에 의한 두가닥 절단 및 교환에 의해 일어난다(16).

이 model은 Tn3의 tnp A, tnp R 돌연변이의

실험결과와 Tnp A와 Tnp R의 in vitro 활성의 실험결과가 뒷받침하고 있다. Tn3 tnpA 돌연변이는 recA 숙주에서 transconjugant를 전혀 형성하지 못하는 반면 Tn3 tnpR 돌연변이는 동일한 숙주에서 거의 대부분(94%)이 cointegrate인 transconjugant를 형성한다(17, 18). 또한 순수분리된 TnpR은 두개의 염기가 3' 말단으로 돌출한 두가닥 절단능력이 있으며(16), Tnp A는 Tn3의 말단부위에 특이성 결합을 한다(6).

여타의 transposable element에서는 아직 tnpR과 같은 돌연변이가 분리되지는 않았으나 IS1(Tn9)과 IS50에서는 element에 대하여 특이한 분해능력이 발견된 바 있다(19, 20). 특기할 만한 사실은 cointegrate가 transposition의 일반적인 산물임에도 불구하고 Tn10에 의해 형성된 cointegrate는 아직 보고된 바 없다. 만약 Tn10이 cointegrate를 만들 수 없다면 Tn10은 다른 mechanism을 채택하고 있다고 볼 수 있다. 다음 model은 아마 Tn10의 transposition을 설명할 수 있는 가장 좋은 model 일 것이다.

- Tn10; 비복제 model -

이 model 역시 표적 DNA에 늘어진 두가닥 절단으로 시작되지만 융합 model과는 달리 인식된 transposable element 말단에서 두가닥 무단절단(double strand blunt cut)으로 element를 복제단위체로 부터 완전히 분리시킨다. 분리된 element는 늘어진 두가닥 절단부위의 돌출된 가닥으로 연결되고 이어서 한가닥 DNA 부위에 보수 DNA복제로 transposition이 완료된다. 원래 transposable element를 가졌던 복제단위체는 노출된 말단부위의 세포내 exonuclease에 대한 취약성으로 인하여 분해되어 버린다(21). 이 model은 다음 두가지 설명을 더 필요로 한다. 즉, 원래 element를 가졌던 복제단위체가 일반적인 transposition의 산물로서 남는 것을 설명해야 하고 cointegrate의 형성 mechanism을 설명해야 하는 것이다. 전자에 대한 설명은 복제단위체의 다수적 성질, 즉 plasmid나 염색체를 포함하는 어떠한 복제단위체도 복제과정에서 두개 이상의 복제부위를 가질 수 있는 성질로 대답할 수 있고(22), 후자에 대한 설명은 두개의 똑같은 복제단위체의 재조합에 의한

dimer 형성과 그 dimer에 존재하는 두개의 element 말단중 가장 멀리 떨어진 말단을 transposition에 사용한다는 dimer model로 대답할 수 있다(23).

Tn10의 경우 Tn10 transposition 기능이 증폭되었을 때 Tn10의 말단염기서열에 의해 끼워진 DNA가 환상 DNA분자를 형성하고 원래 Tn10을 가지고 있던 복제 단위체는 부분적으로 분해된다(24). 여기서 형성된 환상 DNA 분자는 transposition의 이후 과정에 이상이 있는 일종의 중간구조로 추정되며 이러한 구조가 끊어진 복제단위체의 exonuclease에 대한 안전성과 어떠한 관련이 있는지는 밝혀지지 않았다. 또한 *E. coli*에 감염하는 단계에서의 Mu DNA를 유전자표지, 또는 hemimethylation에 의한 표시로 구별하여 분석한 결과 비복제 mechanism으로 숙주 DNA에 삽입되어 들어간다는 실험결과도 이 model을 지지한다(25). 그러나 Mu가 일단 복제생활환(reproductive cycle)에 들어가면 DNA복제를 수반하며 화연한 분해기능을 갖지 않는다. 순수분리된 Mu의 transposition enzyme을 사용하여 Mu DNA의 새로 복제된 부위를 추적해 본 결과 Mu에 의해 만들어진 cointegrate는 표적 DNA의 3' 말단으로 부터 priming을 받아 비보존적으로 복제한다는 사실과 새로 합성된 DNA는 전체 DNA가 합성되었을 경우의 1/3밖에 되지 않는 사실(26)은 단순 transposition이 cointegration과정의 불완전 산물일 수도 있다는 추측을 가능하게 하였다. 여기서 어떤 transposable element가 진술한 두가지 경로를 다 거칠수 있다는 model이 나오게 되었다.

- Mu; 流産 Model -

前述한 두개의 model을 합성하여 여러가지 transposable element에 맞도록 진화학적 설명이 가능한 model이다. 첫번째 단계는 융합 model에 있어서의 cointegration 중간구조를 형성하는데서 시작한다. 이 때 두개의 복제 fork에서 DNA 합성이 지속적으로 일어나면 융합 model과 일치하지만 복제 fork의 특이한 구조나 숙주의 특정 생리상태하에서 DNA 합성이 지연될 경우 DNA template의 노출된 한가닥 DNA가 세포내 핵산분해 효소에 의해 절단되어

더 이상의 DNA합성이 중단되고 단지 보수DNA 합성에 의해서 비복제 model에서와 같이 단순 transposition이 일어나게 된다(27). 여기서 어느 경로를 택하느냐는 개개 transposable element의 말단부위에서 한가닥DNA가 transposase와 얼마나 공고하게 보호적 결합을 하느냐 또는 복제 fork의 구조가 얼마나 안정되어 있느냐에 달려있다.

Tn10이 cointegrate를 전혀 생성하지 못하는 이유는 바로 이 복제 fork가 안정하지 않으므로써 설명된다(또 다른 해석으로 Tn10의 분해능력이 transposase의 능력보다 월등히 우수하다고 볼 수도 있다). 즉 복제 fork의 안정성이 어느 transposable element가 어떤 mechanism을 채택하여 진화할 수 있도록 결정하는 要体인 것이다.

융합 model에서 살펴본 Tn3 tnpR 돌연변이의 transconjugant 중 4%가 단순 transposition 산물이라는 사실도 이 model에 의해 쉽게 설명되어진다. Tn3는 96%의 cointegrate를 형성할 수 있는 효과적인 복제 fork를 가짐으로써 숙주의 기능에 의지하지 않는 자체의 분해기능을 진화의 과정에서 견진 것으로 볼 수 있다.

Tn10과 Tn3는 복제 fork의 안정성에 대하여 극단적인 예가 된다고 볼 수 있다. 반면 Tn5나 Tn9과 같은 경우의 복제 fork의 안정성은 이들의 중간정도라고 볼 수 있는데 그 이유는 *recA* 숙주에서 Tn9 또는 Tn5에 의해 비교적 안정된 cointegrate 구조가 형성되어지기 때문이다. Tn9의 경우는 *recA*의 약 50%, Tn5의 경우는 2% 정도인 것으로 부터 transposable element의 복제 fork의 안정성은 Tn3 > Tn9 > Tn5 > Tn10의 순서로 배열할 수 있겠으나 진화의 방향성을 정할 근거는 아무것도 없다.

이들 중간에 위치하는 element들, 즉 Tn9과 Tn5가 분해능력을 갖느냐 안갖느냐 하는 것은 이들의 transposition 경로를 결정짓는 요소가 된다. 최근의 실험결과에 의하면 Tn9과 Tn5가 한정된 조건하에서 분해능력을 갖는 것이 확인되었다(19, 20). Tn9과 Tn5의 말단중복을 구성하는 IS1과 IS50가 同向重複 되어있는 plasmid에서 하나의 IS가 전사될 경우 매우 효과적으로 복제단위체의 분해가 일어나며 이 기

능은 각 기능을 돌연변이시킴으로써 없어지는 것으로 보아 element가 특정짓는 효과라 볼 수 있다. 두 경우 모두 분해재조합이 일어난 부위가 IS의 어느 곳에서도 일어날 수 있다는 사실로 보아 Tn3의 res에서 일어나는 특정부위 재조합이라기보다는 오히려 상동 재조합의 성격을 띠고 있다. 상동부위의 전사필요성은 recA에 의한 한가닥 DNA 침입(single strand invasion)과 비슷한 구조적 요구성에 기인한다고 볼 수 있으며 이들 인위적으로 만들어진 동향중복의 IS를 가진 plasmid가 실제 세포 안에서 co-integrate 구조가 분해되어질 수 있는 특정상황하의 분해중간 구조와 유사하기 때문에 높은 빈도로 분해되는 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Malamy (1966) Cold Spring Harbor Symp Quant Biol **31**, 189
2. Saedler and Starlinger (1967) Mol. Gen. Gent. **100**, 178
3. Adhya and Shapiro (1969) Genetics **62**, 231
4. Iyobe et al (1969) Jap. J. Microbiol **13**, 255
5. Jaskunas et al. (1975) Nature **257**, 458
6. Wishart et al (1985) Nature **314**, 556
7. Mizuuchi (1984) Cell **39**, 395
8. Doolittle and Sapienza (1980) Nature **284**, 601
9. Orgle and Crick (1980) Nature **284**, 604
10. Wallace et al (1981) Cold Spring Harbor Symp Quant Biol. **45**, 183
11. Heffron et al (1979) Cell **18**, 1153
12. Kleckaer (1983) In Mobile Genetic Elements (J.A. Shapiro ed) 261-298
13. Johnson and Reznikoff (1984) J. Mol. Biol. **177**, 645
14. Lupski et al (1984) Gene **30**, 99
15. Shapiro (1979) Proc. Natl. Acad. Sci. USA. **76**, 193
16. Reed (1981) Cell **25**, 713
17. Gill et al (1979) Nature **282**, 797
18. Heffron et al (1979) Cell **18**, 1153
19. Braedt (1985) J. Bacteriol. **162**, 529
20. Zupancic et al (1983) Cell **33**, 629
21. Berg (1977) In DNA insertion elements, plasmids and episomes (J.A. Shapiro and S.L. Adhya eds.) 205-212
22. Berg (1983) Proc. Natl. Acad. Sci. USA **80**, 792
23. Muster and Shapiro (1980) Cold Spring Harbor Symp Quant Biol. **45**, 239
24. Morisato and Kleckner (1984) Cell **39**, 181
25. Harshey (1984) Cold Spring Harbor Symp Quant Biol. **49**, 267
26. Cragiè et al (1984) Cell **39**, 387
27. Mizuuchi (1983) Cell **35**, 785