

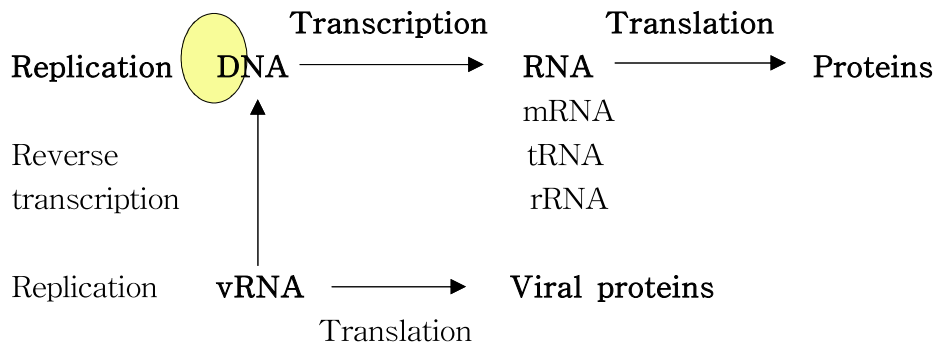
Chapter 14 유전정보 (Genetic Information)

- * DNA replication(복제), Transcription(전사), Translation(번역)
- * DNA repair(유전자 수선), DNA recombination(유전자 재조합)
- * Gene expression(유전자 발현), Metabolomics(대사공학)

◎ Genetic material history

- O. T. Avery & his colleagues (1944년) :
유전정보(genetic information)는 DNA에 포함 전달된다.
- E. Chargaff : DNA base molar equivalence 발견 (X-선 회절분석기)
 $A = T, G = C, A + G = C + T$ 일정 (사가프 룰)
DNA의 3차 구조를 밝히는 열쇠가 됨
- Watson & Crick(1953년) : double helix model of DNA(이중나선구조) 제시

1. 유전정보의 전달경로



1) Replication (복제) :

어버이 DNA의 dsDNA 사슬 각각에 상보적인 뉴클레오티드 (Complementary nucleotide)가 결합하여 어버이 DNA와 똑같은 새로운 2개의 daught DNA duplex 을 만드는 과정

2) Transcription (전사) :

DNA 상의 정보를 base pairing에 의하여 complementary nucleotide 염기서열을 갖는 RNA사슬을 합성하면서 DNA 상의 정보를 RNA로 옮겨주는 과정

3) Translation (번역) :

DNA에서 RNA(mRNA)에 전사된 정보에 따라 특이적인 아미노산을 연결하여 단백질을 합성하는 과정

4) Reverse transcription (역전사) : RNA → cDNA

Genetic information donor 로서 DNA 대신에 RNA를 사용한다.
이때 관여하는 효소가 “reverse transcriptase” (역전사효소)

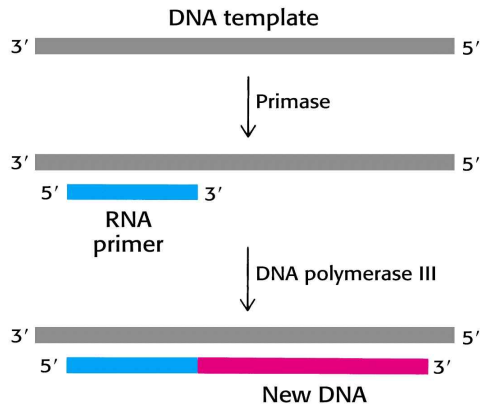
ex) retrovirus

5) Gene expression (유전자 발현) :

DNA 상에 Coding되어 있는 유전정보가 복제, 전사 및 번역과정을 거쳐 각 유전자 산물(gene product)인 단백질을 합성하는 과정

2. DNA Replication (유전자 복제)

- * Semiconservative replication (반보존적 복제)
- * Watson & Crick 제창, Messelson & Stahl 입증(¹⁵N 동위원소를 이용)
- * **Replication proceeds simultaneously in two opposite direction (5' → 3')**
- * DNA는 DNA polymerase에 의하여 합성된다(5' → 3').
- * **DNA replicase system = replisome : 대장균 복제에 필요한 단백질 및 효소 복합체**
- * Unidirectional replication, Bidirectional replication
- * **DNA is synthesized as fragment (Okazaki), which then become joined**



1) Process of Replication(복제과정)

- Start at unique site (*ori* site)
- Prokaryotes 복제개시점 : origin of replication (*ori*)
 - ***ori* 유전자 : 복제 개시를 조절(245bp)**
- Eukaryotes 복제개시점 : : 1개의 염색체 상에 여러 개의 복제 개시점이 존재

① 원핵세포의 복제 (Prokaryotic replication)

* Initiation (복제개시)

- *Ori* site에 **helicase가 작용**하여 DNA double helix가 풀리면서(DNA uncoiling) **replication fork (복제분기점)**을 형성함으로써 진행된다(1ATP/bp).
- 개시는 DNA복제 단계 중 유일하게 **조절이 가능한 단계**이다
- 복제 **개시의 시기는 DNA 메틸화와 세균 원형질막의 상호작용**에 의하여 영향을 받는다.
- 복제 직후 DNA는 반 메틸화(*OriC*의 **어버이가닥은 메틸화됨**)된다.

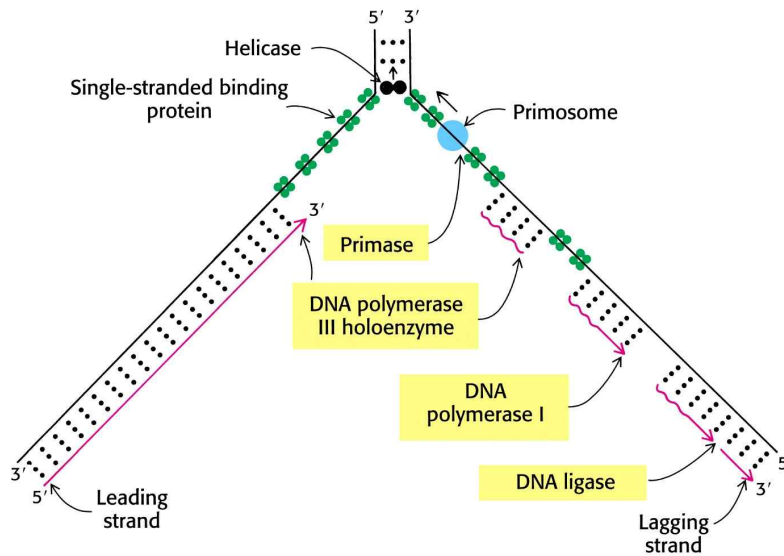
* Elongation (연장)

- 복제 기점에서 primase(DnaG 단백질)가 짧은(10~20 nucleotide)RNA 시발물질 (primer)를 합성하는 것으로부터 시작된다.
- Replication fork가 옮겨지면서 각 DNA strand에 상보적인 염기들이 흡착되어 서로 결합됨으로서 복제가 진행된다.
- **DNA polymerase III**의 작용으로 이 primer에 deoxyribonucleotide가 첨가된다.
- **리플리좀 (replisome)** : 복제기점에서 DNA 합성을 담당하는 전체복합체

* **Termination (종결)**

- 2개의 replication fork가 circular *E. coli* chromosome의 다른side에서 만날 때 종결
- **복제기점이 종결부위(terminus region, 20쌍의 염기)에서 만난다.**
- **Ter sequence** 는 Tus(terminus utilization substance) 라고 불리는 단백질의 결합자리로 작용한다.
- *Tus-Ter* 복합체는 오직 한 방향에서 오는 복제기점만을 정지 시킬 수 있다

2) Enzymes associated to DNA replication(유전자복제에 관련된 효소)



◎ **Replication fork(복제분기점)**

◎ **Primosome : DNA helicase (DnaB) 와 primase (DnaG)는 프라이모좀 복합체로 하나의 기능적인 단위를 구성**

① **DNA polymerase I (Kornberg enzyme, MW 103,000)**

- consist of two polypeptide chain (large and small fragment)
- $(DNA)_n + dNTP \longrightarrow (DNA)_{n+1} + PP_i$

dATP, dGTP, dCTP, dTTP
 primer, DNA template, Mg^{++} , free 3'-OH 가 필요

◎ **Large fragment = Klenow fragment**

- **DNA 합성기능[polymerase function(5'→3')]** : DNA복제시 5'→3' 방향으로 연장
- **Exonuclease function (3'→5') = DNA repair function, Proofreading(교정) or editing function**

· **DNA 복제시 오류를 극소화하기 위해 잘못 연결된 nucleotide를 잘라서 수선**

ex) *E. coli* (3.7×10^6 bp) : $10^9 \sim 10^{10}$ bp당 1개의 오류 발생
 1,000 or 10,000 replication당 1개 발생



Klenow fragment :

◎ **Small fragment :**

- (5'→3') Exonuclease function

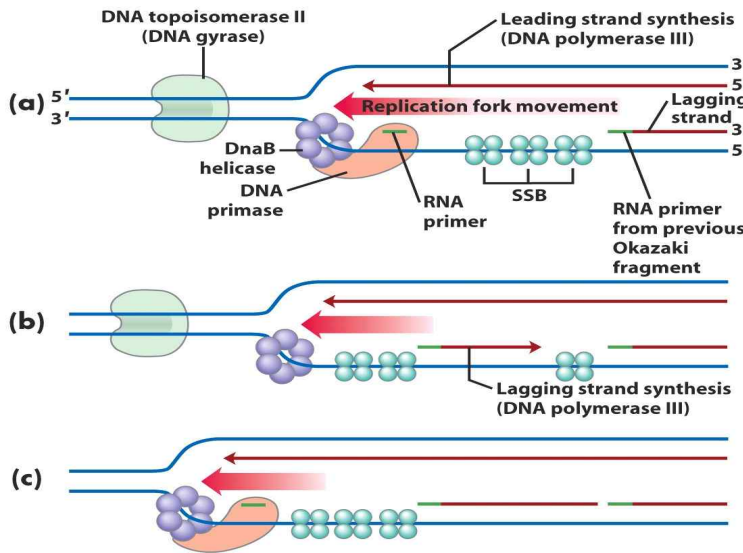
② DNA polymerase II and III (holoenzyme)

- * [DNA polymerase I 과 동일한 점]
 - (5'→3') polymerase, (3'→5') exonuclease activity (proof reading, 수선)
- * [DNA polymerase I 과 다른 점]
 - (5'→3') exonuclease function : No
- ☞ DNA polymerase II : structure (polB, dna A)
 - have a highly specialized DNA repair function
- ☞ DNA polymerase III : structure (polC, dna E)
 - is primary replication enzyme in E. coli

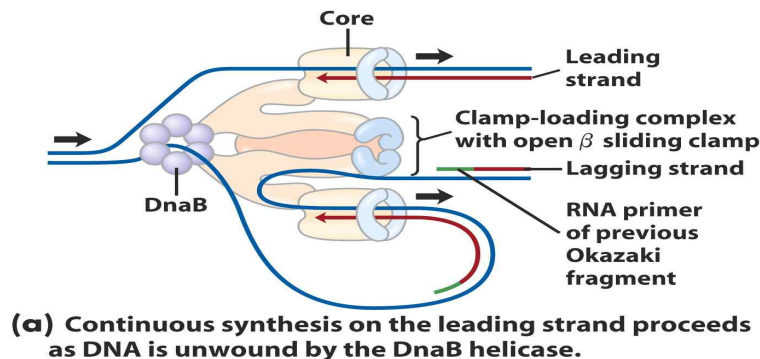
③ DNA ligase

- * DNA chain $\xrightarrow[\text{DNA ligase}]{\text{phosphodiester}}$ longer DNA chain
- * **3'-OH, 5'-P group이 필요하고 ATP와 DNA가 필요**
- * DNA polymerase I은 dNTP를 primer chain에 부가하는 것은 가능하나 2개의 short chain (Okazaki fragment)을 연결하지 못함

◎ Okazaki fragment의 합성



- 일정한 간격을 두고 primase는 새로운 오카자키 파편을 만들기 위하여 필요한 mRNA 시발물질을 만든다. 각각의 시발체는 DNA polymerase에 의하여 연장된다.
- DNA 합성은 이전에 만들어진 오카자키 조각의 시발물질 RNA와 만날 때까지 계속된다.



④ Topoisomerase (위상이성질화효소) : supercoiling control

- * 2종류의 효소가 조절작용에 관여하는데 하나는 초감도 감기를 이완시키고 다른 하나는 다시 감는다.
- * Linking No. (연접수)에 영향을 준다.
- Type I : 열역학적으로 우세한 반응으로 **초나선 DNA의 이완을 촉매**한다.
 - DNA double strand중 한쪽 strand를 일시적으로 절단 초감도 감기를 이완시키고 절단된 곳을 연결한다.
- **Type II (DNA gyrase) : ATP 요구**
 - DNA double strand를 동시에 절단하여 **negatively supercoiling (음성 초나선구조)**을 만든다.

3) Primer synthesis and hydrolysis (시발물질 합성과 가수분해)

: RNA polymerase는 DNA polymerase와 달리 primer없이 short chain RNA 합성

- ① **Primer : short chain RNA (10 - 60 nucleotides)**
- ② **합성효소 : primase (RNA polymerase)**
- ③ **Primer** (RNA chain) hydrolysis : DNA polymerase I
 - RNA primer는 DNA polymerase에 의해 분해, 새로이 합성된 DNA chain만 존재
- ④ **DNA polymerase III** : primer (RNA-3'-OH) 말단에 새로운 DNA 합성
DNA 크기 : ~ 1,000 nucleotide 합성
- ⑤ DNA ligase에 의하여 DNA chain(오카자키 조각)을 연결

4) Replication fork (복제분기점)

- 어버이 DNA의 이중나선 가닥이 풀어지고 두 DNA 가닥이 동시에 복제되는 지점
- helicase(나선포)가 작용하며 ATP가 필요
- 중요한 나선포는 *dnaB* 유전자 생성물인 DnaB 단백질이다

5) DNA modification

- DNA 복제 후에 methylase에 의하여 DNA를 methylation 시킨다.
- 제한효소에 의해 자신의 DNA가 분해되는 것을 방지하고 외부 DNA 분해

6) 진핵세포의 복제는 훨씬 복잡하다.

- 진핵세포의 DNA 분자는 복잡한 핵단백질(nucleoprotein) 구조로 조직화되어 있다
- Eukaryotes : **1개의 염색체 상에 여러 개의 복제 개시점이 존재**
- **복제 기점** : 자율복제서열(ARS) 또는 복제자(replicator)라고 불린다(효모)
- 기점인식복합체(origin recognition complex, ORC) = **다중 소단위 단백질**
 - : 복제개시를 위해서 필요하다.
- ORC는 진핵세포의 세포주기 조절에 관여하는 수많은 다른 단백질과 상호작용하며, 이들에 의하여 조절된다.
- **MCM 복합체 (미니염색체 유지 단백질)**
 - : 고리모양의 복제 helicase고 세균의 BnaB helicase와 유사하다.
- DNA polymerase α (전형적인 소단위로 구성) : primer 합성
- DNA polymerase δ (primer를 연장), DNA polymerase ϵ (primer 제거 기능)
- **Telomere (종말점)** : 진핵생물염색체의 말단에 있는 짧은 뉴클레오타이드 서열이 반복되는 구조

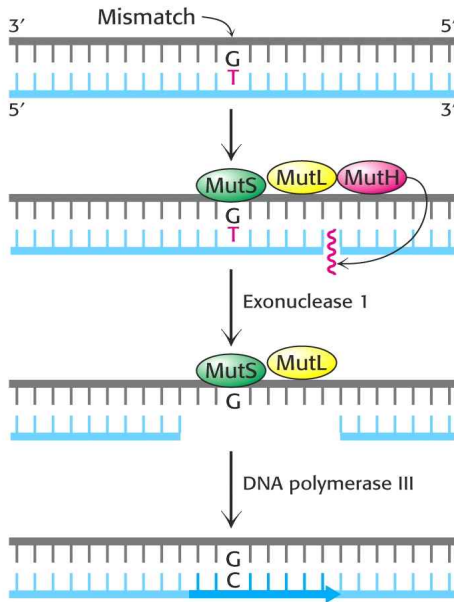
3. 유전자의 복구 (DNA Repair)

- * 변이(mutation) : DNA nucleotide 서열에 있어서 영구적인 변화
- * 세포는 DNA 손상시 복구를 위한 다양한 시스템을 갖고 있다

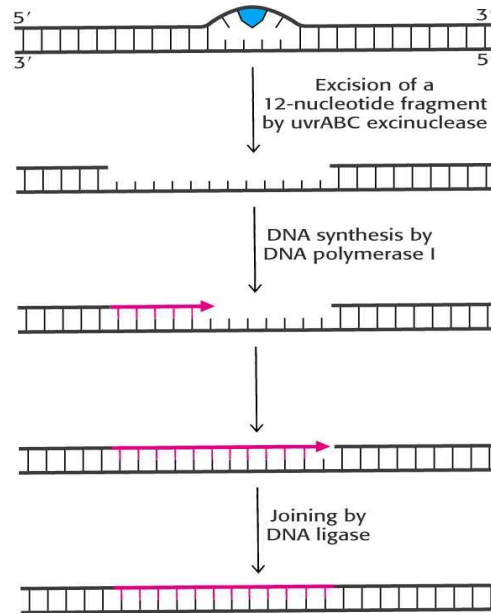
1) Mismatch repair (E. coli) : Dam methylase

2) Nucleotide excision repair : ABC excinuclease

◎ Mismatch repair



◎ Nucleotide Excision repair



3) Base excision repair (염기절제복구) :

- **DNA glycosylase** : DNA 손상부위를 인식하고 N-glycoside 결합을 끊어 손상된 염기를 제거하는 효소
- **염기부재자리(abasic site, AP site)** : DNA에 퓨린이나 피리미딘이 제거된 부위
- **AP endonuclease** : 남아있는 deoxyribose 5'-인산이 제거되고 새로운 nucleotide로 치환하는 효소

4) Direct repair (직접수선) : DNA photolyase

- 염기나 뉴클레오티드의 제거 없이 복구 된다.
- **pyrimidine dimer** : 자외선 유도 반응에 의하여 생성되며 **DNA photolyase**에 의하여 복구된다. .

4. DNA recombination (유전자 재조합)

- * DNA 분자내의 또는 분자간의 유전정보의 재배열을 말한다.

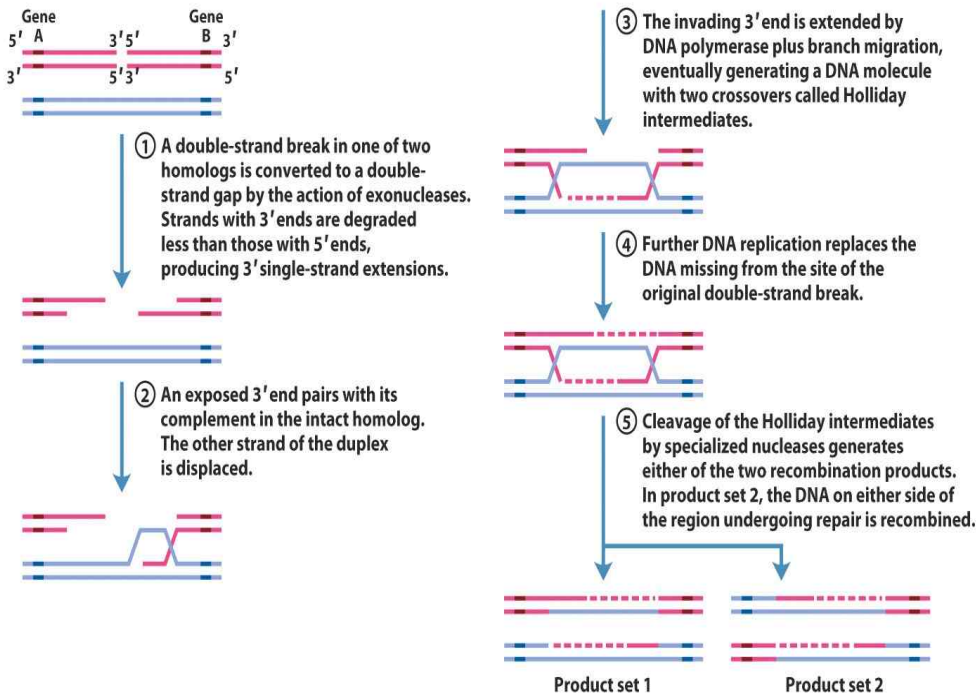
◎ 유전자 재조합현상은 3가지로 분류

- **Homologous genetic recombination (일반적인 재조합)**
: 유사한 DNA sequence를 가진 부분에서 두 DNA 간에 일어나는 유전적 교환
- **Site specific recombination(자리 특이 재조합)** : 어떤 특정 염기서열에서만 발생
- **DNA transposition (유전자 전위)**
: 염색체의 한 위치로부터 다른 위치로 이동하는 능력을 지닌 DNA 단편이 관여

1) Homologous genetic recombination (일반적인 재조합)

- * 상동 유전자 재조합은 여러 가지 기능을 한다
- * 세균의 상동 유전자 재조합 = 재조합 DNA 복구
 - DNA 손상 부위에서 멈춰 있는 복제 기점의 재구성을 위하여 작동한다.
- * 진핵세포 :
 - 멈춰 있는 복제 기점의 복구를 포함하여 세포분열 및 복제시 다양한 역할들을 수행
 - 재조합은 감수분열(meiosis) 동안 가장 높은 빈도로 일어난다.

[감수분열동안의 재조합]



◎ **감수분열(meiosis)** : 두 종의 염색체를 갖는 이배체(diploid)생식세포가 분열하여 일배체의 생식세포(gamete)를 생성하는 과정이다

◎ Holliday intermediates (홀리데이 중간체)

- 모든 생명체의 상동 유전자 재조합경로의 특징이다

2) Site specific recombination (자리 특이 재조합)

- 유전적인 교환이 일정한 DNA sequence에서 일어난다.
- recombinase는 특정 지점에서 DNA를 절단하고 새로운 짝과 결합시킨다.
- DNA 삽입과 유전자 발현조절 등의 기능을 한다.

3) DNA transposition (유전자 전위)

- 염색체상의 DNA의 짧은 단편(Hopping genes)이 다른 염색체로 이동하는 현상

◎ Transposable element (transposon) : 전위가능 요소

- 이동할 수 있는 DNA 단편
- 시작과 끝에 역반복 염기서열(inverted repeat)을 갖는다.

4) 번역글로블린 유전자는 재조합에 의해서 조절된다.

- 재조합은 생물로 하여금 제한된 DNA 암호와 용량(DNA-coding capacity)으로부터 엄청나게 다양한 항체를 만들 수 있도록 해준다.

5. RNA biosynthesis (전사, Transcription)

1) Structure : DNA와 RNA의 차이점

- * Single stranded molecule with hairpin loops
- * T → U (thymine → uracil)
- * Deoxyribose → ribose
- * Need not have complementary base ratio
- * 분자의 크기는 DNA에 비하여 적다.
- * Prokaryote ribosome size : 70S = 50S + 30S
 - 50S subunit : 23S, 5S rRNA
 - 30S subunit : 16S rRNA

Table E. coli RNA 분자들의 성질			
종 류	기 능	종 류	RNA에 대한 비율
mRNA	단백질합성의 주형	수천종	3%
tRNA	amino acid adaptor	50-60	7%
rRNA	ribosome의 구성요소	23, 16, 5S	90%

2) RNA synthesis

Eukaryote RNA 합성 : nucleus

Prokaryote RNA 합성 : cytoplasm

- ① DNA template : ds DNA or ssDNA
- ② Activated precursors : NTP (ATP, GTP, UTP, CTP)
- ③ RNA polymerase : DNA-directed RNA polymerase (Mg⁺⁺)
 - (RNA)_n + NTP → (RNA)_{n+1} + PPi

- **Direct of synthesis 5' → 3' direct**

◎ RNA polymerase (holoenzyme, 완전효소)

- $\alpha_2\beta\beta'$: **core polymerase** (β : DNA binding, β' : active site
+ α : enhancer site binding)

σ subunit (initiation factor) : promoter recognition

- RNA polymerase **does not require a primer** to initiate synthesis.

- **Template strand (minus strand) : antisense strand**

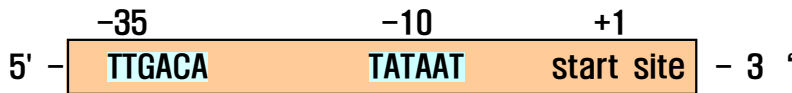
: serve as template for RNA synthesis

- **Nontemplate strand (plus strand) : coding strand, sense strand**

TABLE 28.1 Subunits of RNA polymerase from *E. coli*

Subunit	Gene	Number	Mass (kd)
α	<i>rpoA</i>	2	37
β	<i>rpoB</i>	1	151
β'	<i>rpoC</i>	1	155
σ^{70}	<i>rpoD</i>	1	70

3) RNA synthesis is initiated at promoter



- ◎ -10 region and -35 region : conserved sequence
- ◎ CRP (cAMP 수용체 단백질) : 대장균에서 전사활성화 단백질
 - 세포배양 시 포도당이 없을 때 포도당 외의 다른 당을 대사하는 효소를 암호화하는 유전자의 전사를 증가시킨다.

4) Mechanism of RNA biosynthesis

- ① RNA polymerase and DNA binding (promoter site)

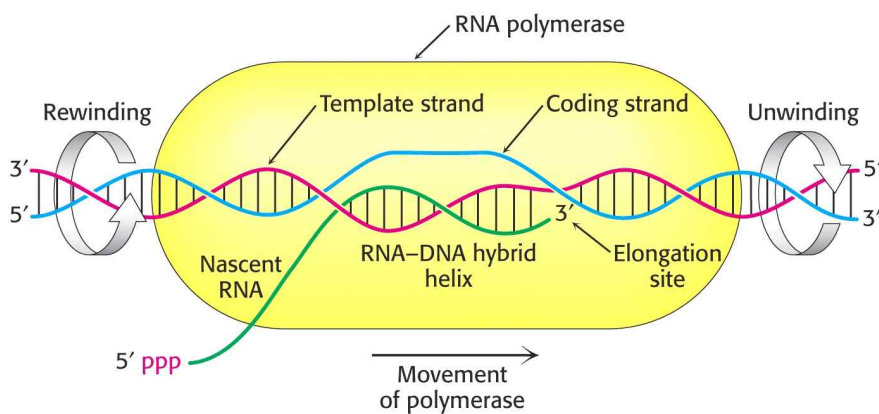


Fig. Transcription bubble

👉 Operon (transcription unit) : promoter 부위에서 전사가 종결되는 termination까지

👉 RNA chain start with pppG or pppA

- ② RNA chain initiation :
 - DNA의 1st 전사 base → thymine
 - * **Rifampicin** : RNA synthesis inhibitor, RNA polymerase의 β -subunit 에 결합 전사의initiation을 저해
- ③ Elongation :
 - 약 8개의 nucleotide가 연결되면 RNA polymerase는 σ subunit를 release되고 core enzyme만으로 상보적인 염기를 연결
 - * **Actinomycin D** : RNA elongation을 저해
- ④ Termination (in E. coli) : 신호
 - * ρ (rho) protein : termination factor
 - * RNA 전사물의 hairpin 구조형성

5) 진핵세포 RNA polymerase

- * RNA polymerase I : 핵내에서 rRNA유전자를 전사 : 18S, 5.8S, 26S, 28S RNA
- * RNA polymerase II : hn RNA전사 → mRNA
- * RNA polymerase III : tRNA 및 5S rRNA 유전자를 전사

TABLE 28.2 Eukaryotic RNA polymerases

Type	Location	Cellular transcripts	Effects of α -amanitin
I	Nucleolus	18S, 5.8S, and 28S rRNA	Insensitive
II	Nucleoplasm	mRNA precursors and snRNA	Strongly inhibited
III	Nucleoplasm	tRNA and 5S rRNA	Inhibited by high concentrations

6) RNA processing(진핵세포)

* mRNA 의 5 '-CAP, 3 '-poly(A) tailing, splicing (잘라 잇기)

- ① **5 '-CAP** : 5'-end에 7-methylguanosine이 연결되어 있다.
 - 기능 : 단백질에 결합하여 translate를 시작하기 위해서 ribosome에 mRNA의 결합에 관여한다.
- ② **Poly(A) tail** : 전사가 완료된 후 첨가 (- 200bp)
 - 기능 : 효소에 의한 mRNA의 분해를 막아준다.

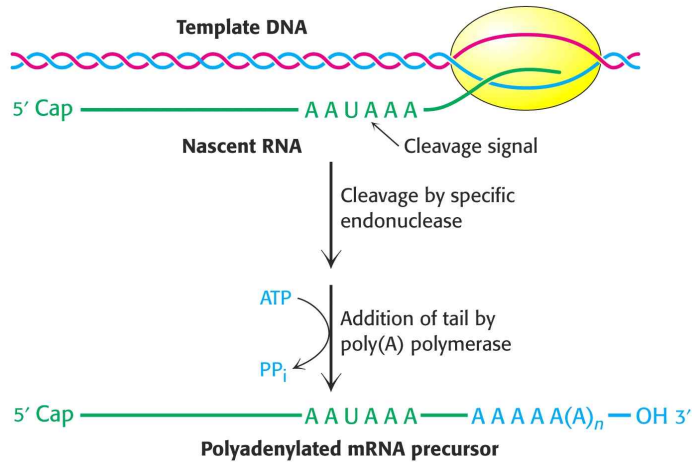


Fig. Polyadenylation of a primary transcript

③ RNA splicing

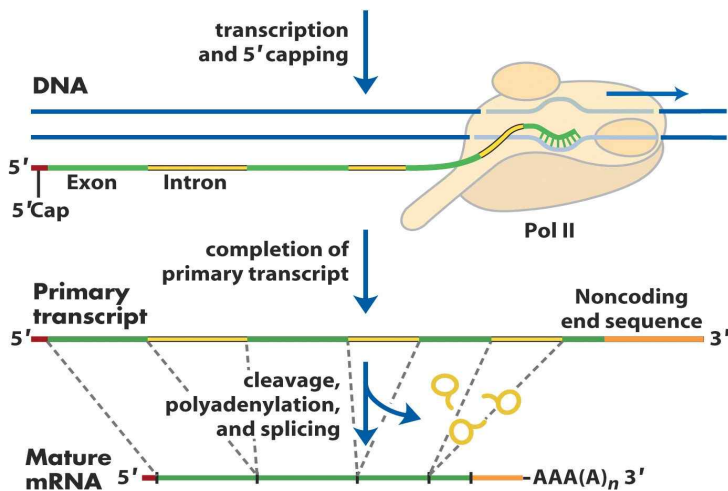


Fig. Formation of the primary transcript and its processing during maturation of mRNA in a eukaryotic cell

◎ [Splicing mechanism]

- 진핵세포 mRNA들은 5' 말단에 모자(5'cap)가 씌어진다.
- 인트론과 엑손은 모두 DNA에서 RNA로 전사된다.
- RNA가 인트론의 잘라 잇기에 촉매작용을 한다.
: 인트론은 단백질효소가 전혀 관여하지 않은 self-splicing을 한다.

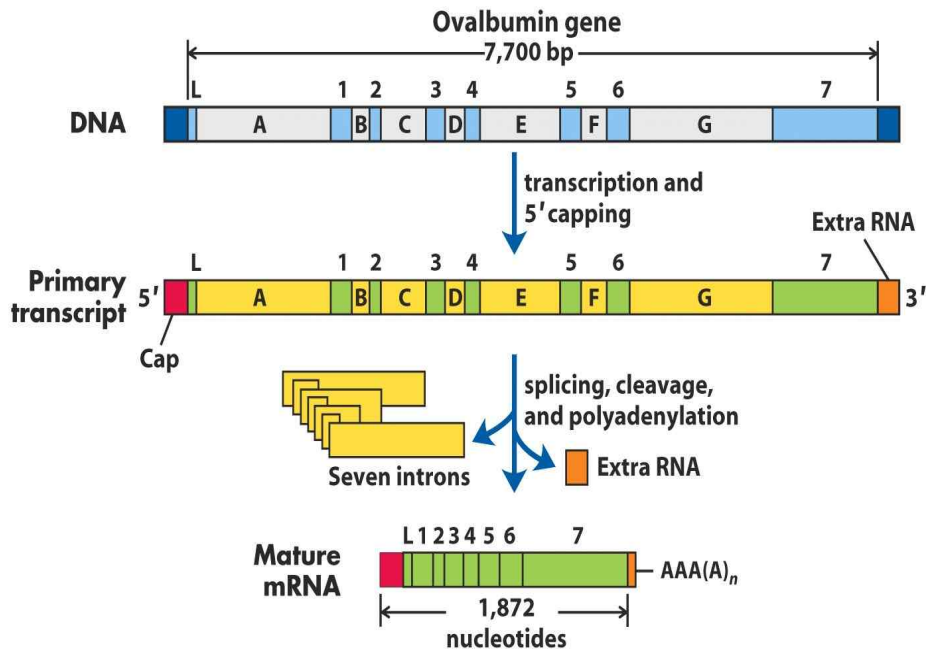


Fig. Overview of the processing of a eukaryotic mRNA

◎ Alternative processing

- A gene can give rise to multiple products by **differential RNA processing** (다양한 RNA의 가공에 의해 한 유전자로부터 많은 산물이 생성된다)
- Ribosomal RNAs and tRNAs also undergo processing (라이보솜 RNA와 tRNA도 역시 가공된다)

ex) 면역그로불린 heavy chain에서 가변영역의 다양성을 가능하게 한다

◎ RNA 효소는 RNA 대사 중 일부과정의 촉매제이다

- * RNA 새로운 역할 : 효소로서 작용하는 RNA
- * 리보자임 (ribozyme) : 효소로 작용하는 RNA 분자다.
- * 조절기능을 하는 RNA분자는 전사수준 혹은 번역수준에서 유전자 발현을 조절

ex) ribonuclease p (리보핵산분해효소 P)

- 이 효소는 RNA와 단백질 성분을 함유, 단백질은 tRNA가 결합하는 것을 돕는다.

ex) 스스로 스플라이싱 하는 인트론은 촉매작용을 하는 또 하나의 예

- 단백질 효소와 달리 리보자임은 자신을 한번만 가공 함

◎ 세포내 mRNA는 서로 다른 속도로 분해된다.

- 유전자발현 조절 : 세포내 mRNA 농도에 의존

9) RNA와 DNA의 RNA 의존 합성

- * Reverse transcriptase 는 바이러스 **RNA로부터 DNA 합성하는 효소**
- * 이 효소는 mRNA 본틀에 상보적인 DNA 합성하며, **이러한 방법으로 합성된 DNA를 cDNA**라고 부르며, **세포내 유전자 클로닝에 사용**
- * 이러한 바이러스를 Retrovirus라고 한다.
- * 일부 레트로바이러스는 암과 에이즈를 일으킨다.

◎ Telomerase는 특별한 reverse transcriptase이다

- 선형의 염색체 말단은 세포내 DNA polymerase에 의하여 쉽게 복제되지 않는다. 결과적으로 염색체는 세포가 세대를 거듭할수록 조금씩 짧아진다.
- **Telomerase**라는 효소가 염색체의 끝에 종말점을 첨가 시켜주어 이러한 문제를 해결하며, **telomerase는 RNA성분과 단백질 성분**을 모두 가지고 있다

◎ 일부바이러스 RNA는 RNA의존 RNA polymerase에 의하여 복제된다.

◎ RNA 합성은 생화학적 진화에 대한 중요한 단서를 제공한다.

[Transcription and Translation of prokaryote and eukaryote]

