

# Chapter 8. 미생물 유전학

유전학 연구발전에 있어 미생물은 매우 유용하고 중요한 도구이다

<p>강의 요점</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 미생물의 핵산구조, 복제, 전사, 및 단백질합성과정을 이해</li> <li>○ 미생물의 돌연변이원, 변이 종류 및 변이 test 방법을 이해</li> <li>○ 미생물의 유전적 재조합과정(접합, 형질전환, 형질도입) 이해</li> <li>○ 유전자 cloning과 유전자 조작과 발현에 대한 이해</li> </ul>
<p>강의 주요내용</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 핵산의 구조 : DNA, RNA</li> <li>2. DNA 복제 : 복제 분지점, origin, 복제기구 및 과정</li> <li>3. 유전암호 : sense codon, initiation codon, nonsense codon</li> <li>4. 전사(transcription)과정 : RNA polymerase</li> <li>5. RNA processing : 5' CAP, 3' poly A tailing, splicing</li> <li>6. 단백질 합성 : tRNA 구조, 합성과정</li> <li>7. 돌연변이 : 자연적 돌연변이와 인공적 돌연변이             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 변이 원 : 염기유사체, 아질산, 알킬화제, 자외선, prophage, DNA intercalating agent,</li> <li>- 변이종류 : 염기치환, nonsense, frameshift 돌연변이, 점 돌연변이</li> <li>- 돌연변이 test : Ames test</li> </ul> </li> <li>8. DNA 수선 : 절제수선, 광회복, 재조합수선</li> <li>9. 세균에서의 유전적 재조합 : 접합, 형질전환, 형질도입</li> <li>10. gene cloning(유전자 크로닝 과정)</li> </ol> <p>* 용어설명 : transposable element, plasmid, cDNA, gene library intron, exon, promoter, Replication fork</p>

◎ DNA의 유전물질 규명실험 (p201 참조)

- F. Griffith(1928년) : *Streptococcus pneumoniae*의 형질전환실험
- T. Avery(1944년) : 폐렴균의 R → S형으로의 전환 실험  
DNA의 전달에 의해서만 가능
- Hershey & Chase(1952년) : T2 phage 이용 → 유전자 전달물질이 DNA임을 증명

- **Watson & Crick(1953년): DNA의 2차 구조(이중나선구조, double helix) 제시**
- **Meselson & Stahl(1958년) : DNA 2차 구조 증명 → DNA의 반보존적 복제를 증명**

## 1. 핵산의 화학조성 및 구조 (p202 참조)

DNA : **인산 + 당(deoxyribose) + 염기(adenine, guanine, cytosine, thymine)**

RNA : **인산 + 당(ribose) + 염기(adenine, guanine, cytosine, uracil)**

### ① DNA 구조 :

- **이중나선구조(double helix structure), 오른쪽 감김 구조, 역 평행구조**

- DNA의 화학조성과 이중나선구조는 진핵세포와 원핵세포에서 동일

- 세포내에 존재하는 **DNA 형태 및 복제양식**은 다르다

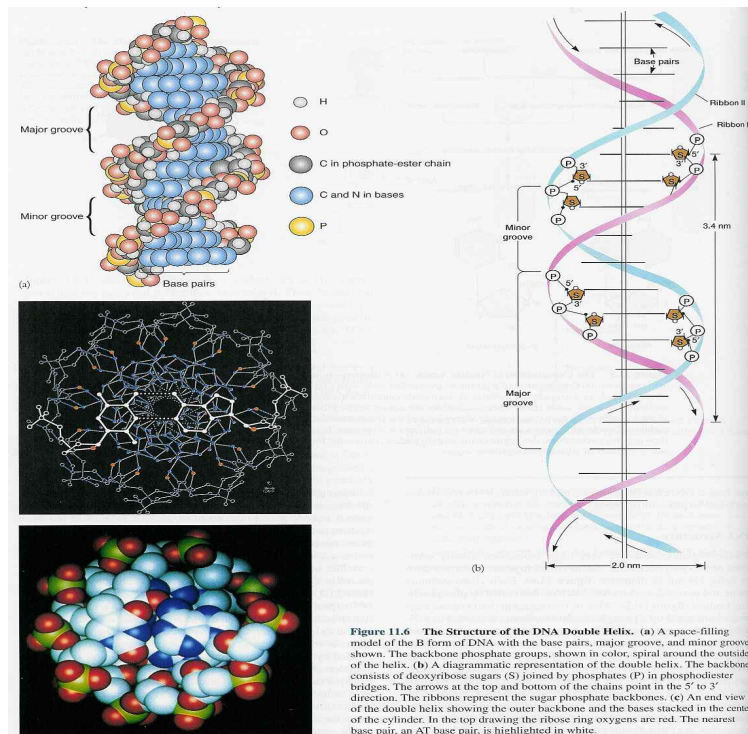
ex) 원핵세포 - closed circle DNA, supercoiled DNA

진핵세포 - DNA + histone(H2A, H2B, H3, H4)

### ② RNA 구조 :

- 한 가닥 사슬로 존재, 내부에 상보적인 염기쌍이 존재

- 자체적으로 **나선구조 또는 머리핀 모양 형성(hairpin loop shape)**



## 2. DNA 복제(DNA replication)

### 반보존적 복제 (semiconservative replication)

#### 1) 원핵세포 복제

- \* Replication fork (복제분기점)은 하나이다.

- \* Bidirectional replication (**양방향 복제**) : 복제기점(origin)에서 복제가 시작

- \* Rolling-circle mechanism (**회전환 복제**) : 접합중인대장균이나 일부 virus 복제

## 2) 진핵세포복제

- DNA가 선형구조, 여러 개의 복제기점이 존재
  - 진핵세포 DNA는 10 ~ 100 $\mu$ m 간격으로 하나의 복제기점이 존재
  - 복제속도 : 50 -100 bp/second, 대장균의 약 1/10 정도
- ex) 대장균 복제속도 : 750 - 1000 bp/second, 4.5 kb/min

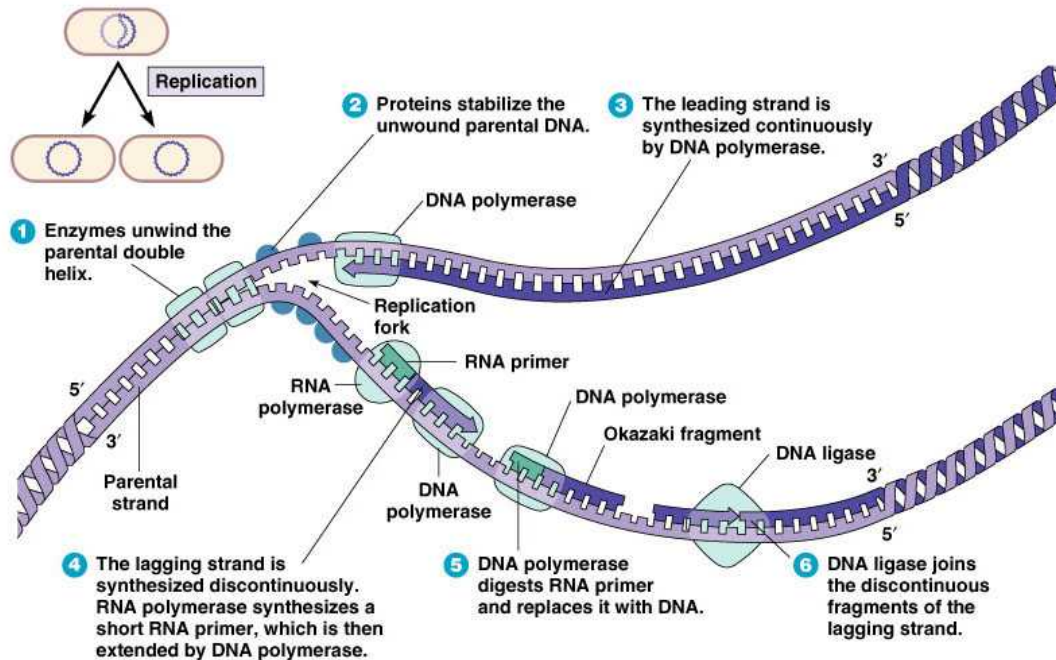


Fig. A summary of events at the DNA replication fork.(p 208 참조)

## 3. 복제 기구

- 1) DNA polymerase I, II, III : DNA 중합효소(polymererase)
  - 복제방향 : 5 ' → 3' , Polymerase III : DNA 복제에 중요
- 2) 주형 DNA(template DNA)
- 3) dNTP (dATP, dGTP, dCTP, dTTP)
- 4) Helicase : 이중나선구조를 푸는 작용(75 ~ 100 회전/초)
- 5) DNA topoisomerase : type I, type II
  - 나선구조가 풀리면서 뒤틀리는 힘을 받게 되는데 이를 해소시키는 효소
- 6) ssb(single strand DNA binding protein)
  - 단일가닥 DNA를 안정화시키는 역할

### 7) Primer (시발물질)

- Primase에 의해 주형 DNA 상에 만들어진다(1 - 10bp)
- 8) DNA ligase : DNA 가닥을 연결하는 효소
    - \* Leading strand(선도가닥), lagging strand(지연가닥)

#### 4. 유전자 발현( gene expression) p 209 참조

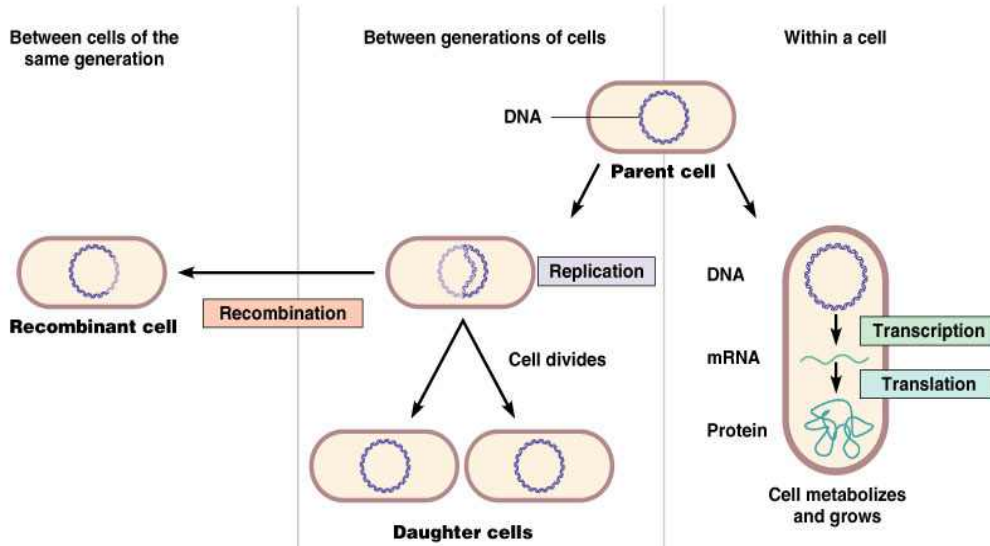


Fig. Overview of the flow of genetic information(유전정보흐름의 개략)

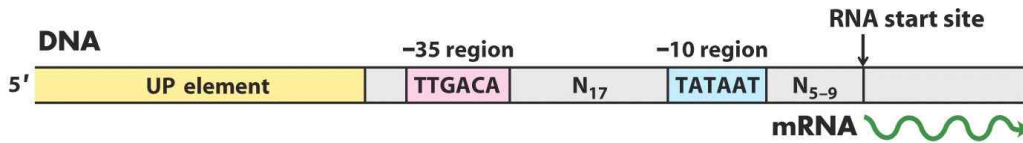
##### 1) 유전자

- DNA의 염기서열은 단백질의 아미노산 배열을 결정
  - 단백질을 구성하고 있는 아미노산은 20개의 아미노산이다
  - Codon(유전암호) : mRNA 상의 3개의 염기배열,  $4^3 = 64$ 
    - Sense codon : 61
    - Nonsense codon : 3 (UGA, UAG, UAA) - 단백질 합성이 중지
  - Code degeneracy(유전암호퇴화)
    - 아미노산 한 종류당 1 ~ 6개의 codon을 갖는 것
  - Wobble 가설 (세번째 염기의 가변성)
    - tRNA 합성을 감소, DNA 돌연변이 감소
  - Intron (인트론) : 아미노산을 암호화하지 않는 영역  
 Exon(엑손) : 아미노산을 암호화하는 유전자 영역
- ※ 1유전자 1효소설 (수정) → 1 유전자 1 폴리펩타이드를 합성

##### 2) 전사(transcription)

- RNA polymerase 가 DNA의 promoter sequence에 결합되면 전사가 시작된다
  - 합성방향 : 5 ' → 3' 으로 전사가 된다
  - 전사되는 DNA 가닥(strand) : sense strand (3' → 5')
- ① 원핵세포의 전사
- \* Promoter : RNA polymerase 가 결합하는 부위
  - \* -35 region : RNA polymerase를 인식하는 부위
  - \* -10 region (Pribnow box) : RNA polymerase 가 결합하는 부위  
 DNA가 풀리는 부위

- \* **선도서열**(leader sequence) : 전사가 시작 부위부터 단백질번역이 시작 전 영역
- \* **Consensus sequence of many *E. coli* promoters**



## ② 진핵세포의 전사

- \* RNA polymerase I - 18S, 5.8S, 28S rRNA를 전사
- \* **RNA polymerase II - mRNA를 전사 (p 214 참조)**
- \* RNA polymerase III - tRNA 및 5S RNA 전사
- \* **hn RNA(heterogenous nuclear RNA)** : DNA로부터 전사한 초기의 mRNA
- ◎ **5'-cap (7-methylguanosine)이 부가**
  - 단백질 번역시 ribosome이 개시신호로 인식하는 중요한 구조
- ◎ **3' poly(A) tail** : RNA processing과 성숙된 RNA의 이동에 도움을 준다.
  - \* 5'의 cap과 3'의 poly A의 부가는 RNA polymerase의 전사 산물에서만 발견.

## ◎ RNA splicing :

- mRNA는 전사 직후 **intron**이라는 아미노산을 code하지 않은 부위가 제거 되는 과정
- 이 과정은 snRNP(small nuclear ribonucleoprotein particles) 라고 하는 작은 RNA를 포함하는 단백질에 의해 일어난다.

## 3) 단백질 합성

### ① 단백질 합성과정

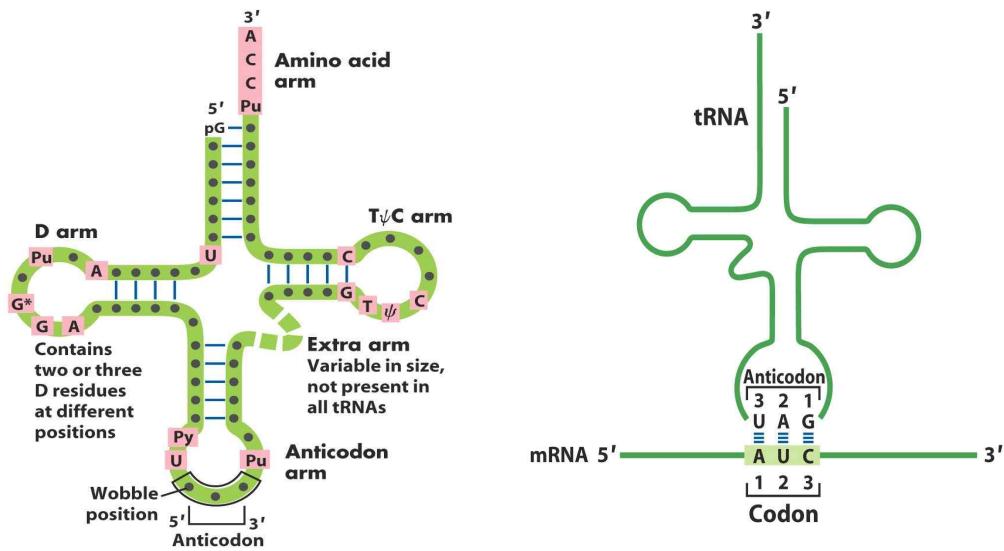
- 전사된 mRNA는 **단백질 합성을 위한 DNA 사본으로 사용**된다.
- 단백질 합성속도(amino acid 수/min) : 대장균(900), 진핵세포(100)
- 단백질 합성을 위해서 **아미노산의 활성화**가 요구된다.

### ② tRNA 구조 :

- 3' end 염기순서 : -CCA
- Anticodon 부위 : mRNA의 codon부위와 염기쌍을 형성

### ③ 단백질합성과정

- 합성개시(initiation), 사슬신장(chain elongation), 합성종결(termination)
- 원핵세포 처음 오는 아미노산 : N-formylmethionyl-tRNA
- 진핵세포, 고세균 처음 오는 아미노산 : methionyl-tRNA
- **Aminoacyl-tRNA 합성효소** : 아미노산과 tRNA를 결합하는 효소
- **Ribosome** : 50S + 30S(원핵세포), 60S + 40S(진핵세포)
- P site : N-formyl-methionyl-tRNA과 peptidyl-tRNA가 위치
- A site : 새로이 부가되는 아미노아실-tRNA가 부가



④ 단백질합성 후 변형(folding)

- 단백질 합성 후 적절한 구조형성을 도와주는 샤프론 단백질의 도움으로 폴리펩타이드는 고유기능을 갖는 접힘 구조를 형성한다.

◎ 샤프론 단백질의 기능

- 새로이 합성되는 단백질의 부정확한 folding 방지
- 잘못 접힌 단백질의 교정
- 스트레스에 의한 단백질 구조변화에 의한 기능손실 방지

ex) heat shock protein

◎ 단백질의 splicing

- 단백질 접힘이 끝나기 전에 폴리펩타이드 일부가 제거되는 것
- 이러한 단백질은 인테인(intein)과 엑스테인(extein)으로 구성
- 인테인이 자가 촉매작용으로 제거되고 엑스테인들 사이에 새로운 결합형성