

4장

본자 미생모하
인 인 인 인

4-1. 초 설

- ✓ 유전자(gene) : 하나의 단백질 또는 polypeptide를 구체적으로 어떻게 만들도록 하는가에 대한 정보를 담고 있는 거.
즉, 어떤 아미노산으로 배열되도록 하는지 결정하는 정보를 갖고 있는 거.
- ✓ 유전 현상은 DNA(deoxyribonucleic acid), RNA(ribonucleic acid), 단백질에 의해 나타남

그림 4-1 그리피스의 형질전환 실험. 참조

- ✓ DNA에 있는 정보는 전사(transcription)되어 DNA에 상보적인 염기서열을 RNA에 이전시키며, mRNA(전령 RNA, messenger RNA)는 단백질을 만드는 기관인 ribosome에서 유전정보가 번역(translation)되어 단백질이 만들어지도록 한다.

※ DNA → (복제) → DNA → (전사) → mRNA → (해독) → Protein ⇒ 형질의 발현

그림 4-2 DNA, RNA, 단백질의 관계. 참조

4-7. 미생물에서의 돌연변이

1. 분자수준에서의 돌연변이 형태

✓ 돌연변이체 (mutant) : 자손에 물려주게 되는 유전적 변화, 즉 DNA 염기

배열의 변화

✓ 진화현상 : 증식도중에 세포의 실수에 의하여 가끔씩 생성된 DNA의

화학적 변화로부터 유래된 것

* 자연적 돌연변이 (spontaneous mutation) : 자연적으로 일어나는 경우,

10^{-6} 정도의 확률

✓ 염기쌍치환

- Missense mutation : 하나의 아미노산 대신에 다른 아미노산이 들어가는 DNA의 변화

* 여러 개의 nucleotide 중에서 하나가 변하면 다른 아미노산이 polypeptide에 삽입되는 결과가 유발된다.

(GAA → GTA : leucine → histidine)

- Silent mutation : 하나의 nucleotide가 변해도 같은 아미노산을 지정하여 표현형에는

변화가 없는 경우. (GAA → GAT : leucine → leucine)

✓ **DNA염기의 삽입 또는 탈락**

: Frame shift mutation, 아미노산의 배열이 완전히 다른 polypeptide가 생성됨

✓ **Nonsense mutation**

: DNA염기배열이 변하면서 stop codon으로 변하여 만들어진 polypeptide가 더 이상 연장되지 않고 멈추게 되는 돌연변이

✓ **Conditional lethal mutation**

: 미생물의 생장이 허용되는 상황(permissive condition)에서는 정상적인 표현형을 나타내지만, 어떤 특수한 상황에서 치명적인 영향을 받아 치사됨

* temperature sensitive mutant (ts)

: 25°C에서는 정상적인 기능을 발휘하지만 37°C에서는 효소가 불활성화

✓ mutagen(돌연변이 원) : 돌연변이 일으키는 데 사용되는 것

* 자연적으로는 $10^{-6} \sim 10^{-8}$ 정도의 돌연변이가 나타남

✓ induced mutant : 돌연변이 원을 사용하여 나타낸 돌연변이체

✓ 돌연변이 원의 종류

- 핵산염기 유사체(base analog) : 5-bromouracil(아데닌 대신 구아닌과 짝을 이룸)
- DNA와 작용하는 화학물질 : nitrous acid, hydroxylamine
- Alkylating agent(탈리염기쌍이 구아닌과 반응) : nitrogen mustard, ethylene oxide
- Intercalating agent : ethidium bromide, acridine
- Radiation : UV(thymine 이량체 형성), ionizing radiation(X-ray)

3. 돌연변이체를 확인하는 방법

✓ Replica plating 복제 평판법

- auxotroph(영양요구균주) : 어떤 영양소를 꼭 필요로 하는 균주

prototroph(기본영양균주) : 영양물질을 자기 스스로 합성할 수 있는 균주

- Leucine auxotroph를 분리하려면 ?

- ① velvet으로 만든 replica plate를 leucine이 함유되어있는 배지(master plate)에서 자란 집락에 눌러서 velvet에 colony의 일부가 이전되도록 한다.
- ② leucine이 없는 배지 위에서 replica plate를 다시 한 번 눌러주고 배양했을 때 자라지 않는 것을 master plate에서 선별한다.

✓ Penicillin enrichment 방법

- Penicillin은 미생물의 세포벽 합성을 억제하지만, 정지상태에 있는 미생물에는 영향을 미치지 않는다. 저온 배양
- methionine을 필요로 하는 영양요구구조를 분리하려면?
 - ① methionine이 함유된 배지에서 배양한 후
 - ② methionine이 없는, penicillin을 넣은 배지에 옮겨 배양
prototroph는 모두 사멸되고 auxotroph는 살아남음

4-8. DNA Repair **수식**

✓ Photoreactive enzyme

: UV에 의해 thymine dimer가 형성되었을 때, 가시광선을 쬐이게 되면 thymine dimer를 잘라 없애고 손상된 DNA를 원상태로 복구하는 repair enzyme

✓ Excision-repair system

- ① Endonuclease : DNA에서 잘라낸 부분을 인식하여 잘라낸 부분 앞을 잘라낸다
- ② DNA polymerase : 잘라진 부분(nick)에 부착되어 손상을 입은 부분을 포함하는 50-100개 염기를 제거하면서 상보적 가닥의 DNA를 기질로 사용하여 새로운 DNA를 합성
- ③ DNA ligase가 DNA polymerase 이 멈춘 자리에 남겨진 nick을 다시 붙여준다

✓ 부정합수식 체계 mismatch repair system

DNA 중합효소가 복제 중 오류가 생길 때 부정합 수식 효소에 의하여 잘라낸 염기를 제거

4-9. 돌연변이와 발암원 시험법

✓ 암을 유발시키는 기전

- 어떤 발암원(carcinogen)에 의해 DNA가 손상을 받아 돌연변이를

일으켜서 결국 비정상적인 세포로 전환

* 발암원 : 암을 유발시키는 비도를 증가시킬 수 있는 화학물질, radiation

✓ Ames test : 단기간에 비유효하게 들어서 발암원을 쉽게 검출할 수 있는 방법

- 사용균주

① *Salmonella typhimurium* 균주종에서 DNA repair system에 결함

② DNA합성 때 잘못된 염기를 넣어주기 쉬운 성질을 가진 DNA

polymerase를 갖고

③ histidine을 자기 스스로 합성할 수 없는 돌연변이 균주, his⁻ auxotroph

도염변이와 발암인 테스트

- 보통 화학물질은 발암물질로 전환시킬 수 있는 조직, 즉 흰 쥐의 가슴으로 부터 분리한 추출물과 도염변이인으로 추출되는 화학물질을 근과 함께 배양한 후, histidine를 넣어주지 않은 하천배지 위에 plating하여 자랄 수 있는 집락이 얼마나 되는지를 측정