

Transposable Element 삽입이 유전자 발현에 미치는 영향

김 화 영
(농촌진흥청 고령지시험장)

Effect of Transposable Element Insertion on Gene Expression

Kim, Hwa-Yeong
(Alpine Exper. Station, Pyeongchang-gun)

Abstract

Insertions of transposable elements in or near a structural gene give rise to null phenotypes, reduced levels of gene expression, or alteration on the tissue-specific pattern of gene expression. Null phenotypes often result from insertions in exons. Reduced levels of gene expression results from insertions in various regions such as promoter region, 5' non-translated region, exon and intron. The maize allele of Adh1-3F1124 is an example of alteration in the tissue-specific pattern of gene expression. Adh1-3F1124 contains a Mu element inserted 31 bp 5' to the transcriptional start site of the wild-type Adh1 activity in seeds and anaerobically-treated seedlings but normal levels in the pollen. Upon the insertion of a transposable element a certain number of host DNA sequences at the insertion site is duplicated. When transposable elements excise, all element sequences are deleted. However, the duplicated host sequences may be left intact or deleted to various extents. This results in null phenotypes, restoration of original levels of gene expression, or altered levels of gene expression. On the basis of effects of transposable-element insertions or excisions on gene expression, the usefulness of transposable elements for studies on gene expression is discussed.

서 론

Transposable element(TE)는 1940년대 후반에 Barbara McClintock에 의하여 옥수수에서 처음으로 발견되었으며, 그후 세균, 효모, 초파리, 콩, 금어초, 선충등 조사된 모든 생물에서 존재가 확인되었다. TE의 분자생물학적 분리는 세균, 초파리 등에서 먼저 이루어졌으며, 1983년에 옥수수 TE의 일종인 Activator(*Ac*)와 Dissociation(*Ds*)가 분리되었다. 한편 식물 형질전환 기술의 개발과 더불어 *Ac*가 담배, 당근, *Arabidopsis*등의 개체에 도입된 바 있다. TE는 염색체상의 일정한 자리를 차지하지 않으며 전이(transposition)가 가능하다. 전이가 가능하다는 것은 절제(excision) 및 삽입(insertion)이 가능함을 의미하는 것으로서 TE를 정의하는 중요한 특성이다.

옥수수의 TE는 자체전이가 가능한 element (autonomous element) 와 자체전이가 불가능한 element (nonautonomous element)로 구분할 수 있으며, 특정한 자체전이가 불가능 element는 특정한 자체전이가 가능 element가 존재할 때만이 전이가 가능하다. 이와 같은 유전적 상호작용에 의하여 옥수수의 TE는 family로 구분되며, *Ac-Ds*, *Spm-dSpm*, *Mu*, *Uq-ruq*, *Cy-rcy*등이 알려져 있다.

옥수수 TE의 구조는 전이에 필요한 효소를 생산하는 유전자를 지닌 부분과 그 양쪽에 위치한 terminal repetitive region (TRR)으로 구분할 수 있으며, TRR은 sub-terminal repetitive region (SRR)과 inverted terminal repeat (ITR)로 구분된다. TE의 양쪽 끝에 위치한 ITR은 family에 따라 고유한 염기서열을 가지고 있다. TRR의 구조가 변할 경우 TE의 전이 빈도가 떨어지는 점으로 보아 TRR은 TE의 전이에 있어 중요한 역할을 하고 있는 것으로 알려져 있다. 또 하나의 TE의 중요한 특성은 host DNA 삽입시 host DNA의 염기를 중복시키는 점이며, 중복되는 염기의

수는 family에 따라 다르다. TE의 삽입시 중복되는 염기는 TE 절제시 모두 남거나 일부 또는 전부가 제거된다.

옥수수 TE는 유전자에 삽입됨으로써 또는 절제시 염기서열을 변화시킴으로써 유전자 구조를 변하게 하며 결과적으로 유전자의 발현 양상을 변하게 한다. 이러한 유전자 변이는 체세포뿐만 아니라 생식세포에서도 발생한다. 본 총설에서는 TE의 삽입 및 절제가 옥수수 유전자 발현에 미치는 영향을 알아보려고 한다.

본 론

옥수수의 TE가 유전자 발현에 미치는 영향은 삽입의 경우와 절제의 경우로 구분할 수 있다.

1. 삽입의 경우

옥수수의 TE 삽입이 유전자 발현에 미치는 영향은 발현억제 (열성 표현형), 발현정도 변화, 발현조직부위 변경 등으로 구분할 수 있다.

발현억제는 TE가 exon에 삽입된 경우에서 관찰되고 있다. 옥수수 *waxy* locus의 *wxB4* 대립인자는 13번째 exon에 자체전이가 불가능한 1.5-kb *Ds* element가 삽입되어 있으며 자체전이가 가능한 *Ac*가 없는 상태에서는 *Wx* 단백질을 생산하지 않는다. 그러나, *ac*가 없는 상태에서 생산되는 *wxB4* RNA를 분석한 결과에 의하면 *Ds*를 포함한 *waxy* 유전자 자체가 전사되며 ITR 부근의 *Ds* sequence 내에 있는 donor splice site와 *Ds* 삽입시 형성된 acceptor splice site를 이용하여 대부분의 *Ds* sequence가 pre-mRNA로부터 제거되는 것으로 나타났다. 이러한 pre-mRNA splicing에 의하여 형성된 *wxB4* mRNA는 정상 *Wx* mRNA와 크기가 유사하며 번역될

경우 정상 *Wx* polypeptide에 아미노산이 9개 추가된 polypeptide를 생산할 수 있는 것으로 추정 되었다. 이와 같은 사실은 *wxB4* 단백질이 매우 불안정하며 축적이 안됨을 시사하는 것으로 받아들여지고 있다. 옥수수 *Adhl* 유전자의 4번째 exon에 1.3-kb *Ds* element가 삽입되어 유기된 *Adhl-2F11*은 정상 *Adhl* mRNA 크기의 RNA가 형성되거나 표현형이 열성인 또 하나의 예이다.

발현 정도 변화는 TE가 promotor region, 5' nontranslated region, exon, intron 등에 삽입된 경우에서 나타나고 있다. 옥수수 *bronze-1* locus의 *Bz-wm* 인자는 전사 시작점 및 TATA box에서 5' 방향으로 63bp 및 30bp 떨어진 위치에 0.4kb *Ds* element를 지니고 있으며, *Ac*가 없는 상태에서 정상 *Bzl* mRNA 크기의 mRNA를 소량 생산한다. *Bz-wm*은 옥수수 낱알 발달 초기에는 정상 *Bzl* 인자와 유사한 수준의 효소 활성도를 보이나 성숙기에는 효소 활성이 거의 검출되지 않는다. *Adhl* locus의 *Adhl-Fm335* 인자는 5' nontranslated region에 *Ds* element가 삽입되어 있으며, *Ac*가 없을 경우 열에 대한 안정도가 저하된 매우 낮은 정도의 효소 활성을 보인다. *Ac*가 없는 상태에서 *Adhl-Fm335*는 정상 *Adhl* mRNA와 크기가 유사한 mRNA를 생산하나 그 양이 감소된 것으로 보고되고 있다. *bronze-1* locus의 *bz-m13CS9* 인자는 2번째 exon에 자체전이가 불가능한 0.9-kb *dSpm*(defective Suppressor-mutator)element를 지니고 있다. 자체전이가 가능한 *Spm* element가 없는 상태에서 *CS9*은 정상 *Bzl* 인자의 40-50%에 해당하는 효소 활성도를 보인다. *CS9*에 의하여 생산되는 mRNA는 정상 *Bzl* mRNA와 크기가 유사하며, 유일한 *Bzl* intron의 donor site와 *dSpm*의 13-bp ITR 부위에 위치한 acceptor site를 이용하는 pre-mRNA splicing에 의하여 형성된다. 정상 *Bzl* mRNA와 크기가 유사한 *CS9* mRNA는 정상 *Bzl* mRNA의 reading frame을 유지하고 있다. 따라서 *CS9*은 *dSpm*의 삽입에 의하여 새로운 intron이 형성될 수 있음을 시사하는 예로 사료되고 있다. *Adhl* 유전자의 첫번째 intron에 자체전이가 가능한 1.4-kb *Mu* element가 삽입되어 유기된 *Adhl-S3034* 인자는 정상

Adhl 인자의 40%에 해당하는 효소 활성을 보이며, mRNA의 량 또한 정상 *Adhl* 인자의 40% 수준인 것으로 보고되어 있다. Run-off transcription 연구 결과에 의하면 *Adhl-S3034*의 *Mu* 삽입은 전사에는 영향을 미치지나 전사체의 processing에는 영향을 미치지 않는다고 하였다.

발현 조직 부위 변경의 예로는 *Adhl-3F1124*와 *bz-m4*를 들 수 있다. *Adhl-3F1124*는 정상 *Adhl* 유전자의 전사 시발점에서 5' 방향으로 31bp 떨어진 곳에 일종의 *Mu* element를 지니고 있다. 이 인자는 종자와 혐기 처리된 묘에서의 6%의 *Adhl* 효소 활성도를 보이나 화분에서는 정상 수준의 효소 활성도를 조절한다. 혐기 처리된 묘의 RNA 분석에 의하면 정상 *Adhl* mRNA와 크기가 유사한 mRNA가 소량 생산되고 있다. 이러한 연구 결과는 *Mu* 삽입이 특정 조직에서만 유전자 발현에 영향을 미침을 시사한다고 하겠다. *bronze-1* 유전자의 *bz-m4* 인자는 전사 단위(transcription unit)의 5' nontranslated region에 *Ds* element를 지니고 있다. 정상 *Bzl* 인자는 낱알의 aleurone layer 에서 발현되는 *bz-m4*의 경우 subaleurone endosperm에서 대부분의 효소 활성이 검출되고 있다. 따라서 이 경우는 aleurone 특이적인 *Bzl* 유전자의 발현을 *Ds*가 관련하여 변경시킨 예로 볼 수 있다.

2. 절제의 경우

서론에서 언급한 바와 같이 옥수수의 TE가 유전자에 삽입될 경우 일정한 수의 유전자 염기가 중복되며, 중복된 염기는 TE 절제시 모두 남거나 일부 또는 전부가 제거된다. 이러한 유전자 염기의 변화는 대부분의 경우 유전자 발현을 억제하는 결과(열성 표현형)을 초래하나, 중복된 염기가 모두 제거되어 유전자 발현이 정상으로 복귀할 경우도 있으며, 일부 염기의 제거후 잔여 염기 수가 3배수가 되어 유전자의 발현 정도가 변하는 경우도 있다. 예로서 *bzl-m2*의 정상 표현형 복귀인자들의 발현을

보면 정상 *Bz1* 인자의 2%, 21%, 106%에 해당하는 효소 활성도를 보이고 있다. 그리고 *wx-m1* 복귀인자들의 경우 정상 *Wx* 인자의 32% 및 53%에 해당하는 효소 활성을 조절하는 것으로 보고된 바 있다.

결 론

유전자 발현 연구를 위한 TE 이용의 의의는 다음과 같다. 첫째, TE는 유전이 가능한 돌연변이 유기원으로서 간단한 조작인 교배에 의하여 변이체를 획득할 수 있다. 둘째, TE 작용에 의하여 유기된 변이는 대부분이 유전자 수준으로서 유전자 자체의 구조 변화에 따른 발현 변화를 연구하기 위한 좋은 재료를 제공한다. 셋째, TE 삽입에 의한 유전자 변이의 경우 이미 분리되어 있는 TE를 이용하여 유전자 분리가 가능하다. 넷째, TE 삽입에 의한 유전자 발현 변화는 발현 억제 뿐만 아니라 발현 정도 변화의 경우도 있으므로 식물의 생육에 필수적인 유전자의 분리 및 발현 연구에도 이용할 수 있는 것이다. 더우기 담배, 당근, *Arabidopsis* 등의 계놈에 도입된 옥수수 *Ac under*가 TE의 특성을 유지하는 점으로 보아 이미 분리되어 있는 TE를 활용할 경우 기타 식물의 유전자 발현 연구에도 기여할 것으로 기대된다. 특히 *Adh1-3F1124* 및 *bz-m4*와 같이 TE 삽입에 의하여 발현 조직 부위가 변경된 예는 유전자 발현의 조직 특이성 연구를 위한 TE의 이용 가능성을 보여주고 있다. 그러나 유전자 발현의 조직 특이성 연구를 위한 TE의 이용은 조직 특이적 발현에 필요한 promoter sequence 또는 구조의 구멍에 국한될 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Baker, B., G. Coupland, N. Fedoroff, P. Starlinger and J. Schell. 1987. Phenotypic assay for excision of the maize controlling element *Ac* in tobacco. *EMBO J.* 6:1547-1554.
2. Bennetzen, J. L., J. Swanson, W. C. Taylor and M. Freeling. 1984. DNA insertion in the first intron of maize *Adhl* affects message levels : Cloning of progenitor and mutant *Adhl* alleles. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:4125-4128.
3. Chen, C. -H., K. K. Oishi, B. Kloeckener-Gruissem and M. Freeling 1987. Organ-specific expression of maize *Adhl* is altered after a Mu transposon insertion. *Genetics* 116:469-477.
4. Dooner, H. K. 1981. Regulation of the enzyme UFGT by the controlling element *UDs u* in *bz-m4*, an unstable mutant in maize. *Cold spring Harbor Symp. Quant. Biol.* XLV:457-462.
5. Dooner, H. K. and O. E. Nelson, Jr. 1977. Controlling element-induced alterations in UDP glucose:flavonoid glucosyltransferase, the enzyme specified by the *bronze* locus in maize. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 74:5623-5627.
6. Dooner, H. K. and O. E. Nelson. 1979. Heterogenous flavonoid glucosyltransferases in purple derivatives from a controlling element- suppressed *bronze* mutant in maize. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76:2369-2371.
7. Doring, H. P., M. Freeling, S. Hake, M. A. Johns, R. Kunze, A. Merckelbach, F. Salamini and P. Starlinger. 1984. A *Ds*-mutation of the *Adhl* gene in *Zea mays* L. *Mol. Gen. Genet.* 193:199-204.
8. Doring, H. P. and P. Starlinger. 1984. Barbara McClintock's controlling elements : now at the DNA level. *Cell* 39:253-260.
9. Echt, C. S. and D. Schwartz. 1981. Evidence for the inclusion of controlling elements within the structural gene at the *waxy* locus in maize. *Genetics.* 99:275-284.
10. Fedoroff, N., S. Wessler and M. Shure. 1983. Isolation of the transposable maize controlling elements *Ac* and *Ds*. *Cell.* 35:235-242.
11. Kim, H. -Y., J. W. Schiefelbein, V. Raboy, D. B. Furtek and O. E. Nelson, Jr. 1987. RNA splicing permits expression of a maize gene with a defective Suppressor-mutator transposable element insertion in an exon. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84:5863-5867.
12. McClintock, B. 1949. Mutable loci in maize. *Carnegie Inst. Wash. Year Book* 48:142-154.

13. McClintock, B. 1951. Chromosome organization and genic expression. Cold spring Harbor Symp. Quant. Biol. 16:13-47.
14. Merckelbach, A., H. P. Doring and P. Starlinger. 1986. The aberrant *Ds* element in the *Adhl-2F11::Ds* allele. *Maydica* 31:109-122.
15. Osterman, J. C. and D. Schwartz. 1981. Analysis of a controlling- element mutation at the *Adh* locus of maize. *Genetics* 99:267-273.
16. Rowland, L. J. and J. N. Strommer. 1985. Insertion of an unstable element in an intervening sequence of maize *Adhl* affects trans- cription but not processing. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82: 2875-2879.
17. Sachs, M. M., W. J. Peacock, E. S. Dennis and W. L. Gerlach. 1983. Maize *Ac/Ds* controlling elements - A molecular viewpoint. *Maydica* 28:289-303.
18. Shapiro, J. A. 1983 ed. *Mobile Genetic Elements*, Academic Press, New York.
19. Van Sluys, M. A., J. Tempe and N. Fedoroff. 1987. Studies on the introduction and mobility of the maize Activator element in *Arabidopsis thaliana* and *Daucus carota*. *EMBO J.* 6:3881-3889.
20. Strommer, J. N., S. Hake, J. Bennetzen, W. C. Taylor and M. Freeling. 1982. Regulatory mutants of the maize *Adhl* gene caused by DNA insertions. *Nature* 300:542-544.
21. Sutton, W. D., W. L. Gerlach, d. Schwartz and W. J. Peacock. 1984. Molecular analysis of *Ds* controlling element mutations at the *Adhl* locus of maize. *Science* 223:1265-1268.
22. Wessler, S. R., G. Baran and M. Varagona. 1987. The maize transpo- sable element *Ds* is spliced from RNA. *Science* 237-916-918.
23. Wessler, S. R., G. Baran, M. Varagoaha and S. L. Dellaporta. 1986. Excision of *Ds* produces *waxy* proteins with a range of enzymatic activities. *EMBO J.* 5:2427-2432.

저 자 약 력

김 화 영 (金 和 泳) 박사

1952. 6. 29. 생
 1976. 2 서울대학교 원예학과 (농학사)
 1982. 8. 서울대학교 대학원 원예학과 (농학석사)
 1987. 12. 미국 Wisconsin대학교 대학원 식물육종유전학전공 (Ph.D.)
 1978. 12. - 88.3. 농촌진흥청 원예시험장 농업연구사
 1988. 4. - 현재 농촌진흥청 교령지시험장 농업연구관