

## Mutagens에 의한 DNA Damage 및 Repair Mechanisms과 Monitoring Technology

구만복\* · 민지호

광주과학기술원 환경공학과 및 환경모니터링 신기술 센터

### 서론

현재까지 많은 종류의 환경유해물질이 알려져 있는데, 그 중 생체내의 유전자에 손상을 일으키는 ionizing radiation, ultraviolet light, 그리고 일련의 화학물질들을 mutagens으로 분류된다[1,2]. 이러한 mutagens은 한가닥의 유전자에 잘못된 염기의 연결로 발생하는 mismatches, cyclobutane pyrimidine dimers을 형성시키는 것과 같은 altered bases, single-strand breaks, double-strand breaks, 그리고 cross-links의 형태로 유전자에 손상을 입히게 되고, 결국에는 생체내에 암을 유발하는 carcinogens으로 분류되기도 한다[1,2]. 또한, 치명적인 질병을 유발하는 유전자를 변형시켜 질병을 치료하거나 방지하는 등 항생제 역할을 하는 mutagens의 종류도 상당수가 존재한다 [3,4]. 본 고에서는 다양한 mutagens의 종류와 이로 인해 발생하는 DNA damage 형태, 또한 DNA damage를 인식하고 손상부위를 repair 하는 mechanisms에 대해서 간략하게 언급하고자 한다. 뿐만 아니라 mutagens으로 인해 발생하는 유전자 손상을 분석하기 위해 prokaryotes와 eukaryotes를 이용하여 진행되고 있는 mutagenicity assay와 관련된 연구 현황을 요약하였다.

### 본론

#### 1. DNA damage 형태에 따른 mutagens의 분류

일반적으로 mutagens의 경우, 그들이 미치는 영향에 따라 다양한 종류로 분류될 수 있다. 특히, 대부분의 일반인들이 우려하는 암 유발 기능을 다수의 mutagens이 보유하고 있는데, 암 유발 잠재유전자인 proto-oncogene의 mutagenesis를 통해 oncogene으로 발달시켜 암을 유발하게 된다고 알려져 있다 [3,4]. 그와는 반대로, 일부 mutagen의 경우는 암을 발생시키는 signaling pathway의 cascade상에 위치하는 유전자의 mutagenesis를 통해 암을 저해시키는 antitumor agents로서의 기능을 하기도 한다[4]. 따라서 미국의 EPA(Environmental Protection Agency)와 NIH(National Institute of Health)에서는 매년 mutagens으로 추정되는 화학물질들에 대한 mutagenicity 여부를 확인하여 분류하고 있다. 아래 표 1은 1996년 EPA에서 규정한 mutagens중 몇가지만을 요약하여 정리한 것이다. 또한 화석 연료 고갈로 인한 대체 에너지원으로 가장 각광받고 있는 원자력은 무한한 양의 에너지를 생성시킬 수 있다는 장점을 지닌 반면에, 저선량 방사선의 누출만으로도 생물체에 치명적인 피해를 입힐 수 있다는 위험때문에 그 안정성 문제가 항상 제기되고 있는데, 방사선으로 인한 주요 유해성이

표 1. EPA에서 규정하고 있는 Mutagens의 종류와 특성에 따른 분류

Categories	Mutagen name
Carcinogen	Aflatoxin, Cisplatin, 1,3-Dichloropropene, Diethyl sulfate, Dimethyl sulfate, Epibromohydrin, Ethylenedibromide, Hydrazine, 2-nitrofluorene, Nitrogen mustard, 1-Nitropyrene, Propyleneimine, Syrene oxide
Antibiotics	Bleomycin, Ciprofloxacin, Enoxacin, Nifuroxazide, Ofloxacin, Mitomycin C
Antitumor agents	Daunomycin, 2,7-Dinitrofluorenone, N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine, Homobaldrinal
Pesticides	Acridine, Captafol, Dacarbazine, Dihydrovaltrate, Nitrofurantoin, Nitrofurazone, Phosmet, Quercetin, Reductone, Baldrinal, Paraquat, Methyl bromide
PAHs	Anthanthrene, Benz[a]anthracene, Benzo[a]pyrene, Dibenz[a,h]pyrene, Triphenylenem, Naphthlene
Radiation	Ultra Violet, x-ray, $\gamma$ -ray
etc.	Acetonitrile, Cumene hydroperoxide, metronidazole, Azaserine, Cadmiun chloride, 2-Ethylhexanol

바로 유전자 손상으로 확인되고 있기 때문에, 환경에서 발생하는 mutagens의 한종류로 분류되고 있다[4].

**1.1 DNA reactive chemicals**

Mutagens은 DNA template의 성질을 전환시키기 위해 DNA에 직접 영향을 주거나 잘못된 base를 삽입하여 replication에 혼란을 가하기도 한다[2,6]. 이중, 특히 DNA에 직접 영향을 주는 mutagens을 DNA reactive chemicals이라고 하고, chelating agents와 alkylating agents가 주를 이룬다. DNA reactive chemicals에 의해 bases의 화학 구조에 이상이 발생하게 되면 잘못된 base pairing이 유도되고, 결국 mutagen에 의해 genetic code의 변화가 일어나게 된다[1,2,6].

**1.2 Base analogs**

Base analogs는 정상적인 bases와 구조가 유사하여 DNA replication 시에 DNA내로 삽입되게 되는데, 5-bromouracil의 경우는 thymine과 구조가 유사하여 base analogs로 인한 mutants를 유발하게 된다[5-7]. 5-bromouracil이 안정한 keto form일 경우에는 정상적으로 adenine과 base pairing을 이루지만, enol form으로 tautomeric shift가 일어날 경우 guanine과 짝을 이루게 되어 AT→GC transition이 발생한다[6,7].

**1.3 Mutagens causing frameshift**

하나 혹은 그 이상의 bases가 새로이 첨가시키거나 제거하는 mutagens으로 주로 DNA의 purine이나 pyrimidine에 결합하는 polycyclic rings으로 구성된다. 이런 경우에는 주로

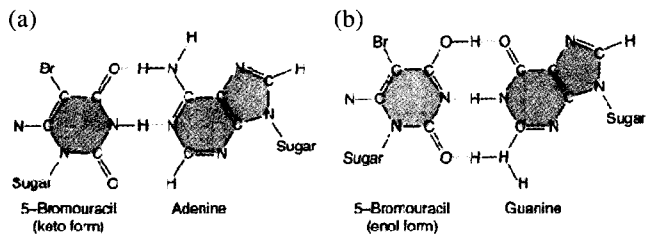


그림 1. 5-bromouracil과 (a) adenine, (b) guanine 사이의 base pairing.

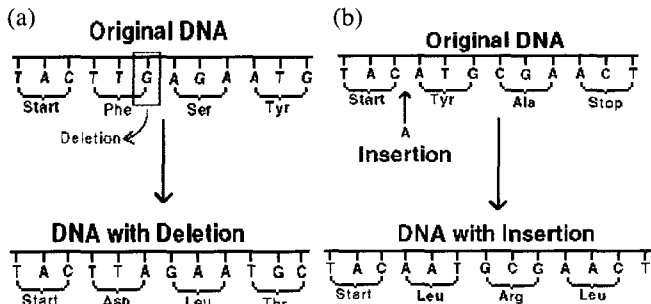


그림 2. 몇 bases의 첨가와 제거로 인해 발생하는 Frame shift mutation.

생물산업

reading frame의 변화를 초래하여 transcription과 translation의 방향에 영향을 주게 된다[6-9].

**2. Mutagens으로 인한 DNA damage**

**2.1 SOS response**

Mutagens은 앞서 언급한 바와 같이 다양한 형태로 유전자에 손상을 입히게 되지만, 생명체는 SOS response를 통해서 이러한 유전자 손상을 인식하고 손상부위를 치료하게 된다[5]. SOS response란 유전자 손상을 유발시키는 mutagens에 생명체가 노출되었을 때, 유전자 손상을 인식하는 반응과 20여가지의 SOS 유전자들이 발현되어 손상 부위를 치료하는 과정을 통틀어 의미한다[6-9] (그림 3). 유전자 손상부위 인식과 손상부위 치료를 포함하는 전체 SOS response에는 두가지 유전자가 중요한 역할을 담당하는데, *recA*와 *lexA*가 그것이다[5,10]. 먼저 *lexA*는 SOS response 관련 유전자의 발현을 저해하는 repressor로써 mutagens에 노출되지 않은 상황에서는 LexA protein이 20여가지의 SOS 관련 유전자의 promoter 부위에 결합되어 발현을 억제하게 된다. 그러나 유전자 손상이 발생하게 되면 *recA*라는 유전자의 발현이 시작되고, *recA*의 protease activity에 의해서 LexA protein이 분해되어 SOS 관련 유전자의 발현으로 더불어 유전자 손상 부위의 치료가 시작된다. 최종적으로 손상된 유전자 부위의 치료가 완료되면 다시 LexA protein의 합성으로 인해 모든 SOS 관련 유전자들의 발현이 저해되어 정상상태로 되돌아가게 된다[11-13]. 그림 3(a)에 나타난 여러 가지 유전자들이 SOS 관련 유전자들으로써 LexA protein의 분해로 인해 합성이 유도되며 유전자의 손상부위를 치료하는 중요한 역할을 담당하지만, *recA*와 *lexA* 유전자의 돌연변이가 나타나는 세포의 경우에는 SOS response에 이상이 발생하게 되어서 유전자 손상 부위의 인식이나 치료가 비정상적으로 일어나게 되므로, 기타 다른 유전자에 비하여 *recA*, *lexA* 유전자의 기여도가 크다고 할 수 있다[11-13].

**2.2 SOS boxes와 LexA repressor의 결합**

SOS regulatory network은 LexA의 결합으로 인해 조절이 일어나게 되는데, 이러한 현상은 분리된 LexA가 대부분의 SOS 관련 유전자의 operator 부위에 결합하는 것을 확인하기 위한 실험 후에 검증되었다[6,7]. LexA가 결합하는 부위는 TACTGTATATATACAGTA와 같은 일정한 유전자 서열을 포함하고 있으며, SOS Boxes라고 부른다[6,7,19]. 현재까지 알려진 모든 SOS 관련 유전자의 operator부위는 5'-CTGT를 포함하고 있으며, 특히 중앙의 T와 G는 LexA repressor와의 결합에 있어 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다[6]. 좌우 대칭인 SOS boxes는 LexA가 dimers의 형태로 SOS boxes에 결합한다는 것을 의미할 뿐만 아니라 dimerization을 위한 LexA의 능력이 *in vivo*에서 SOS 관련 유전자를

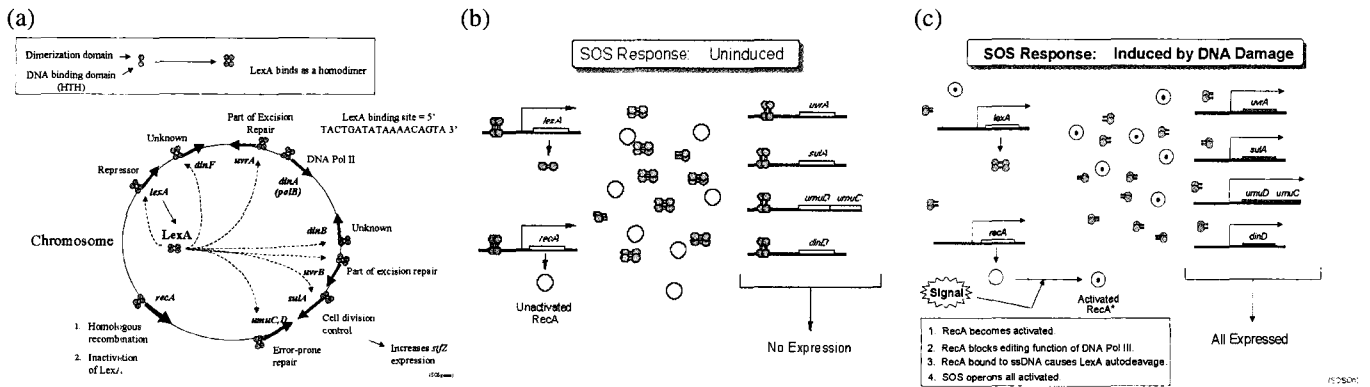


그림 3. Mutagens으로 인한 유전자 손상시, 손상부위의 인식과 치료를 위한 SOS response. (a) SOS response과 관련된 유전자, (b) 유전자 손상 발생전, SOS regulon의 상태, (c) 유전자 손상 발생후의 SOS response.

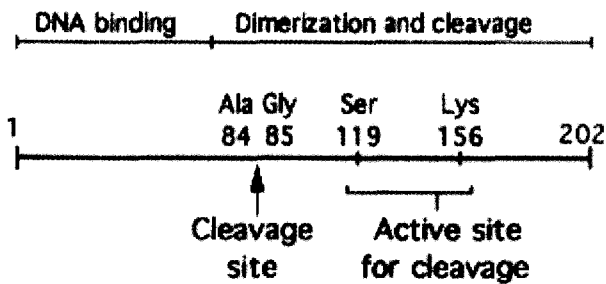


그림 4. LexA repressor의 구성.

repression시키는 능력과 동일하다[6,13]. N-terminal domain은 SOS boxes을 인식하고 C-terminal domain은 dimerization에 직접적인 역할을 한다. LexA는 dimers로 형성된 이후에 비로소 SOS boxes에 효과적으로 결합될 수 있다고 알려져 있다[6,10,16].

SOS 관련 유전자들은 DNA damage 발생시에 transcription 정도에 서로간에 차이를 나타내게 되는데, 예를 들어 *umcA*는 SOS response 전에 비해 transcription 정도가 100배 정도 증가하는데 반해, *uvrA*, *uvrB*, *uvrD*, *ruvAB*는 4배 정도가 증가한다[12]. 이러한 차이는 operator strength, promoter에 비교된 operator의 위치, promoter strength등의 요인에 의해서 발생한다[6,12]. 따라서 LexA와 SOS관련 유전자의 operator 즉 SOS boxes의 결합은 유전자 손상의 인식후, SOS 관련 유전자의 발현과 손상부위의 repair에 밀접한 관계가 있다.

### 2.3 RecA의 LexA cleavage

RecA 단백질은 DNA damage 인식뿐만 아니라, DNA repair에도 관여하는 multifunctional enzyme으로 정상적인 상황에서도 하나의 세포내에 약 800-1,000개 정도가 존재하고 있다[6,7]. RecA는 double strand DNA를 형성하기 위해 주로 DNA replication 중에 발생하는 single-stranded DNA 주변에 helical filament를 형성하면서 결합되어 있는데, 이 결합으로 single-stranded DNA의 손상을 인식할 수 있으며, 또한 후에

언급하게 될 DNA repair에도 관계하게 된다. 이중 DNA damage를 인식하는 SOS response중에 발현이 유도되는 RecA의 활성화는 LexA repressor를 절단할 수 있는 co-protease로써, LexA repressor에 의한 SOS 관련 유전자의 발현 억제를 회복시키는 역할을 한다[6-8]. RecA는 LexA의 Ala-Gly bond를 절단하게 되고, 이로 인해 LexA autodigestion을 자극하게 된다[6]. 따라서 SOS 관련 유전자의 발현을 증가시키기 위한 LexA inactivation을 위해 RecA는 반드시 active state여야 한다. LexA cleavage 이외에도 미생물내 chromosome의 UV mutagenesis induction에 관계하는 UmuCD protein의 절단을 통해 이를 활성화하기도 한다[7,12].

### 2.4 SOS-inducing signal

앞서 언급한 바와 같이 RecA protein은 LexA cleavage를 조절하는 역할을 하지만, RecA의 overproduction이 SOS responses을 유도하는 중요한 요소는 될 수 없다. 뿐만 아니라 mutagens에 의해서 DNA damage가 발생하고 이로 인해 SOS responses가 유도되지만, mutagens에 의한 유전자 손상 역시 SOS responses에 필수적인 요소는 아니다. Mutagens에 의해 발생한 DNA damage는 replication arrest, nucleoid 구조의 변화 및 superhelicity의 변화등의 부가적인 결과를 야기하고, 이 중에서 replication 저해나, 비정상적인 replication fork의 발생은 single-stranded DNA를 생성시킨다[6]. 이렇게 생성된 single-stranded DNA가 바로 SOS induction을 위한 최종적인 signal로써 작용하게 된다. 이러한 이론은 *in vitro* 실험결과 RecA protein, ATP 그리고 single-stranded DNA가 SOS induction을 위해 요구되는 것을 확인한 실험으로 증명되었으며, *in vivo*에서 역시 single-stranded DNA의 발생이 SOS-inducing signal이라는 것이 증명되었다[6,12]. 직접 single-stranded DNA damage를 일으키는 mutagens은 극히 소수이지만, 대부분 mutagens으로 인해 발생하는 DNA damage는 손상된 DNA를 replication 하려는 과정에서 생성되는 single-

stranded DNA가 RecA protein에 의해 결합되게 되고 결국에는 SOS response가 유도되게 된다[12].

**3. DNA repair mechanisms**

DNA damage로 인해 발생하게 되는 유전적 변화가 유해하지 않은 경우에 mutants는 유용하게 사용되어질 수 있지만, 일반적으로 mutagens으로 인한 유전적 변화는 natural mutagenic process로 인한 것이 아니므로 세포가 견디지 못하고 손상부위를 치료하고자 한다[14]. 따라서 다음에서는 세포가 지니고 있는 대표적인 3가지 repair mechanisms에 대하여 요약하였다.

**3.1 Direct reversal of damage**

Direct reversal의 경우는 DNA 구조의 변화 없이 손상부위를 치료하는 경우로, 두가지 protein reaction이 존재하는데 alkylating agents에 의해 발생하는 O<sup>6</sup>-methylguanine(O<sup>6</sup>-MeG)에서 methyl group을 제거하는 methyltransferase와 cyclobutane pyrimidine dimers를 두 개의 pyrimidine으로 전환하는 photolyase가 대표적으로 이에 속한다[14, 15].

UV irradiated DNA의 경우 cyclobutane pyrimidine dimers가 형성되게 되는데 이것은 photolyase의 substrate로써 작용하게 된다. Photolyase는 빛이 없는 조건에서 DNA substrate에 접촉하고, 적당한 세기의 빛에 노출되었을 때 photolyase의 두 개의 cofactor 중 하나인 methylene-tetrahydrofolate가 빛을 흡수하여 에너지를 또다른 cofactor인 reduced flavin adenine dinucleotide에 전달하게 된다. 이때 발생하는 전자 전달로 pyrimidine dimers가 각각의 pyrimidine으로 분리되게 된다. 아래 그림 5에 thymine dimer 형성과정과 photolyase으로 인한 DNA repair과정을 나타내고 있다[14-16].

Direct DNA repair의 두 번째 형태는 alkylation된 DNA에서 methyl이나 ethyl groups을 제거하는 것을 통해 일어나게 되는데, 이 과정에서 중요한 역할을 하는 효소가 바로 O<sup>6</sup>-

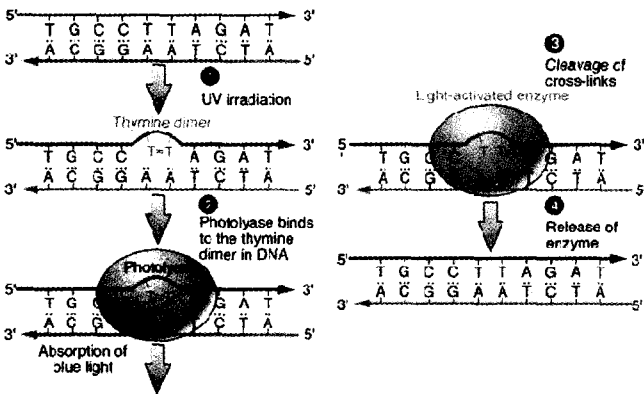


그림 5. UV irradiation에 의한 thymine dimer형성으로 발생한 유전자 손상 부위가 photolyase에 의한 thymine dimer의 절단으로 repair.

생물산업

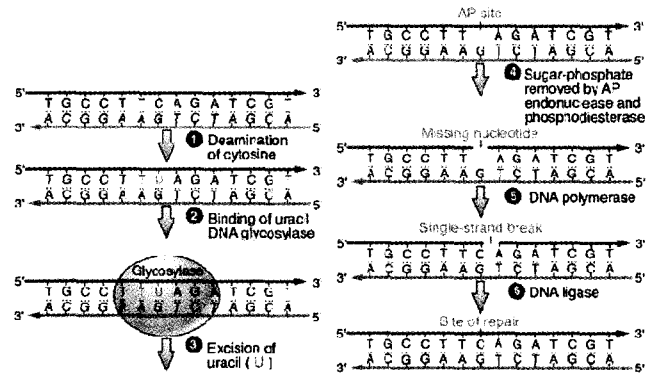


그림 6. Base excision repair mechanism.

methyl-guanine methyltransferase으로, DNA에서 O<sup>6</sup>-methylguanine을 인식한 후 methyl group을 DNA에서 제거하여 enzyme으로 전달하게 된다[14,17]. 이 효소는 adaptive response에 관여하는데, 세포의 성장 초기에 낮은 농도의 alkylating agents를 첨가하여 성장토록 하면 methyltransferase의 생성으로 인해 높은 농도의 alkylating agents 첨가시에도 성장에 지장받지 않는 adaptive response가 나타나게 된다.

**3.2 Base excision repair**

Base excision repair는 손상된 bases를 N-glycosylase의 작용으로 제거시키는 과정으로 N-glycosylase는 DNA sugar-phosphate backbone과 연결된 base를 잘라내게 된다. 특히, Uracil DNA glycosylase는 cytosine의 natural instability로 인해 발생하는 cytosine의 amination으로 생성되는 uracil부분을 제거하면서 repair하게 된다[14,15].

DNA glycosylase의 작용으로 uracil 부위가 제거되면서 생성되는 hole을 AP site(Apurinic 또는 Apyrimidinic)라고 하는데, 이 부위는 AP endonuclease에 의해 인식되어 polypeptide chain 부위가 절단된다[14]. 이 과정에서 single-strand break가 생성되고 DNA ligase에 의해서 손상 부위의 repair가 완료된다.

**3.3 Nucleotide excision repair**

UvrABC nuclease에 의해 시작되는 nucleotide excision repair는 다양한 DNA 손상부위에서 작용하는데, 특히 손상부위가 클 경우에 일어난다[18]. 또한 UvrABC nuclease는 여러 가지 형태의 damage 부위를 제거 할 수 있어 repair system에 많은 이점을 제공한다. UvrABC complex는 손상부위를 중심으로 DNA strand 상에 3' side에 3-4 nucleotides와 5' side에 7 nucleotides를 절단해 낸다[20-23]. 전체 반응에서는 ATP 소모가 요구되지만, 각 단계별의 반응 형태에 대해서는 자세히 알려지지 않았다.

**4. Mutagenicity assay**

표 2. Microorganisms을 이용한 Mutagenicity assay

Test	Strain	Genotype	Detection Method	Additional substrates
Ames test(1975) [26]	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>his-</i>	Colony count	-
Rec-lac test(1991) [28]	<i>Escherichia coli</i>	<i>recA::lacZ</i>	Colorimetric assay	X-gal
Umu test(1992) [27]	<i>S. typhimurium</i>	<i>umuC::lacZ</i>	Colorimetric assay	X-gal
SOS chromotest(1993) [27]	<i>E. coli</i>	<i>sulA::lacZ</i>	Colorimetric assay	X-gal
Mutatox test(1993) [29]	<i>Vibrio fischeri</i>	<i>lux-</i>	Bioluminescence	-
Luciferase-bearing prophage assay(1996) [30]	<i>E. coli</i>	<i>pUTmini-Tn5luxAB</i>	Bioluminescence	5% Aldehyde
VITOTOX test(1997) [31]	<i>S. typhimurium</i>	<i>recN::luxCDABE</i>	Bioluminescence	-
SOS-lux assay(1997) [32]	<i>E. coli</i>	<i>SOS::luxCDABE</i>	Bioluminescence	-
<i>recA::lux</i> (1997) [33]	<i>E. coli</i>	<i>recA::luxCDABE</i>	Bioluminescence	-

Mutagens을 identification하고 생명체에의 노출을 방지하는 것은 다음의 이유에서 중요하다. Mutagen으로 인해 발생하는 무작위적인 유전적 변화는 이롭기 보다는 해로운 작용이 우선이며, 이러한 현상이 자손대로 유전되는 것이 큰 문제이다. 비단 germ cells이 아닌 somatic cells에서의 mutation 역시 심각한 문제를 야기하는데 바로 uncontrolled cell growth로 인해 발생하는 cancer의 원인이기 때문이다[24]. 따라서 mutagens으로 인해 발생하는 mutagenicity 뿐만 아니라, carcinogenicity를 분석하고자 하는 노력이 수년간 지속되어 왔다.

#### 4.1 Microorganisms을 이용한 mutagenicity assay

최초로 mutagenicity를 분석하기 위한 연구는 1975년 Bruce Ames에 의해 개발된 Ames test로 back mutation의 원리를 이용하여 mutagenicity 여부를 확인하고자 하였다[26]. 이 방법은 histidine이 결핍된 배지에서는 성장할 수 없는 *Salmonella typhimurium*(*his-*)을 이용하여, mutagens으로 인한 back mutation 발생시 histidine 결핍 배지에서의 균주의 성장물을 비교하는 것으로 mutagenicity를 확인하게 된다. 또한 Ames test는 미생물에서의 mutagenicity 확인여부를 포유류나 인간에서의 carcinogenicity 가능성으로 연결될 수 있는데, 그것이 바로 미생물내에는 부족한 P450 system을 포함하고 있는 mammalian liver homogenate를 사용하여 mutagens이 미생물내에서 포유류에서와 같은 활성을 갖도록 한 것이다. 이러한 Ames test는 분석 시간이 짧고, 간단한 방법이라는 장점 때문에 다년간 mutagenicity test를 대표해 왔다. 뿐만 아니라 recombinant DNA technology의 발달로 mutagenicity 발생시 발현되는 SOS 관련 유전자들과 효과적인 reporter gene의 결합을 통하여 보다 효율적인 방법이 개발되게 되었다. 표 2에 최근까지 연구된 mutagenicity assay의 종류 및 특징을 요약하였다.

*lacZ* reporter gene을 이용한 방법의 경우에는 X-gal이라는

추가적인 기질이 공급되어야 하고 이로 인해 변화하는 색깔의 정도으로써 mutagenicity 정도를 분석하게 된다. 그러나 이 추가적인 기질 공급의 필요가 간편한 분석방법을 원하는 사람들에게 의해 단점으로 지적되어 새로운 reporter gene인 *lux* 유전자의 발현으로 발생하는 bioluminescence(생물학적 빛)를 이용하여 유전자의 반응 여부를 확인했는데, bioluminescence는 추가적인 기질의 공급이 요구되지 않고 측정방법이 간편하여 현재 많이 연구되어지고 있다[29,34].

#### 4.2 Yeast를 이용한 mutagenicity assay

미생물을 이용한 mutagenicity assay는 단세포인 미생물을 이용한 방법이기 때문에 Ames test처럼 mammalian liver homogenate를 사용하여 mutagenic activity를 지니게 하더라도 서로 다른 cell type에서 발생하는 mutagenicity, 즉 carcinogenicity를 분석하는데는 제한이 있다[35]. 따라서 유전적인 구조와 세포 형태가 고등 생명체에 가까운 yeast를 이용한 mutagenicity assay 연구가 최근 진행되고 있다. Yeast에서 *E. coli*의 *recA* 유전자와 동일한 기능을 하는 유전자는 *rad54*로써 mutagens으로 인한 유전자 손상 발생시 이를 인식하고 repair하는 기능을 하는데, 특히 UV light이나 ionizing radiation에 대해서 민감하게 반응하는 특징이 있다[35,36]. 또한 yeast와 같은 eukaryotic cells의 경우에는 firefly luciferase와 green fluorescent protein을 reporter gene으로 이용하게 되고, mutagens으로 인한 유전자 손상을 *rad54* promoter가 인식하고 이 인식의 여부를 발현되는 빛의 양으로써 분석할 수 있다[35,36].

#### 4.3 DNA-damage monitoring의 응용과 시스템 개발

앞서 언급한 여러 가지 mutagenicity assay 방법은 여러 가지 다양한 형태로 응용되어 질 수 있다. 특히 *recA* promoter를 이용한 assay 방법의 경우는 SOS signal에 대한 인식속도와

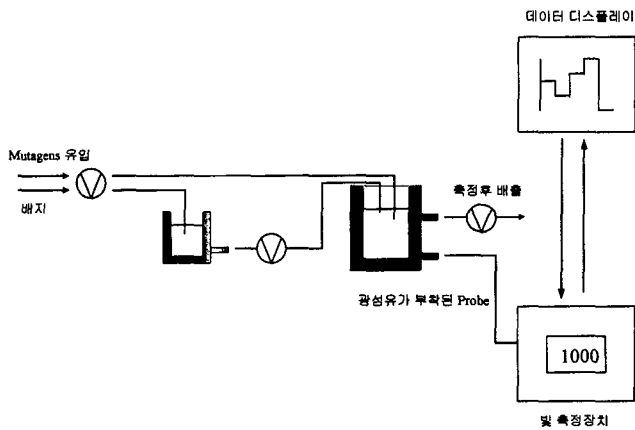


그림 7. 수질내에 mutagens을 포함하는 유해물질이 함유되어 있을 때 mutagenicity 및 독성을 측정할 수 있는 모니터링 시스템[40,41].

발현 정도가 다른 SOS 관련 유전자에 비해 뛰어나기 때문에 효과적인 mutagenicity assay 방법으로서의 개발 가능성이 이미 확인되었고[37,38], 유전자 손상을 야기하는 mechanisms의 차이에 따라서 다른 형태의 반응성을 나타내기 때문에 mutagens의 종류를 손상 형태별로 분류할 수 있다[34]. Mutagenicity assay의 응용 분야는 화학물질뿐만 아니라, ionizing radiation과 같은 유해 방사선을 분석하는데도 응용 될 수 있으며[39], 일반적인 실험실 뿐만 아니라, 병원, 의약품 생성 업체 등 널리 응용 될 수 있다. 일부 mutagens들이 소유하고 있는 carcino-genecity는 일반인들이 mutagens의 유해성을 두려워하는 가장 중요한 이유인데, 이들의 environmental source는 수질, 대기, 토양 등 매우 다양하다. 따라서 이들 mutagens의 존재 여부 및 mutagenicity 뿐만 아니라 carcino-genecity를 지속적으로 관찰하기 위해서는 연속적인 monitoring system의 개발이 요구된다. 현재까지 수질내에 존재하는 mutagens을 분석하기 위해 연속 모니터링 시스템[40,41]과 가스상태의 mutagens 분석을 위한 시스템이 개발되어[42] 환경내 mutagens의 지속적인 관찰을 위한 일련의 연구가 매우 체계적으로 진행되고 있다.

## 결론

정상적으로 DNA replication이 진행되어야만 생명체는 생존할 수 있다. 따라서 생명체는 genetic code에 손상을 입힐 수 있는 화학적, 물리적 손상으로부터 생명체 자신을 보호할 수 있는 mechanisms이 요구된다. 본 고에서는 주로 미생물 내에서의 유전자 손상 인식을 위한 SOS-inducing signals과 유전자 손상의 분류 및 손상 부위 repair 방법의 종류를 정리하였으며, 마지막에는 mutagenicity assay를 위해 최근까지 진행된 연구 현황에 대하여 정리하였다. 산업발달로 최근 생산이 증가되고 있는 다량의 mutagenic action을 지니는 화학물질에 생물산업

대한 대해 보다 체계적으로 대처하기 위해서 세포내에서 유전자 손상을 인식하고, 손상부위를 치료하는 mechanisms에 대한 완벽한 이해가 필요하며, 무엇보다도 mutagens으로 인한 피해가 나타나기전에 이들로 인한 피해를 방지하기 위한 mutagenicity assay 방법의 개발이 요구된다.

## 참고문헌

1. Frederick, C., et al. 1996. The SOS Response of *Escherichia coli*. In the *Escherichia coli* and *Salmonella*. 2nd ed., American Society for Microbiology Press, Washington, DC. 1, pp.1400-1416.
2. Sassanfar, M. and Roberts, J.W. 1990. Nature of the SOS-inducing Signal in *Escherichia coli* : The Involvement of DNA Replication. *J. Mol. Biol.* **212**, pp.79-96.
3. Michael, D.W., Frank S.H., and Marcus A.J. 1999. Genetic toxicology data in the evaluation of potential human environmental carcinogens. *Mutation Research.* **437**, pp.21-49.
4. Nagalakshmi K., and Tong-man O. 1999. Occupational exposure to genotoxic agents. *Mutation Research.* **437**, pp.175-194.
5. Farahnaz Movhedzad, M., Colston, J. and Davis, E.O. 1997. Determination of DNA sequences Required for Regulated *Mycobacterium tuberculosis* RecA Expression in Response to DNA-Damaging Agents Suggests that Two Modes of Regulation Exist. *J. Bacteriol.* **179**, 11, pp.3509-3518.
6. Graham, C.W. 1984. Mutagenesis and Inducible Responses to Deoxyribonucleic Acid Damage in *Escherichia coli*. *Microbiological Review.* **48**, pp.60-93.
7. Friedberg, E.C., Walker, G.C., Siede, W. 1995. SOS Responses and DNA Damage Tolerance in Prokaryotes. In *DNA Repair and Mutagenesis*. American Society for Microbiology Press, Washington, DC. pp.407-464.
8. Watson, J.D., Hopkins, N.H., Roberts, J.W. Steritz, J.A. and Weiner A.M. 1987. The Mutability and Repair of DNA. In *Molecular Biology of The Gene*. 4th ed., The Benjamin/Cummings publishing Company, Inc. pp.339-357
9. Topal, M.D., and Fresco, J.R. 1976. Complementary Base Pairing and the Origin of Substitution Mutations. *Nature.* **263**, pp.285-293
10. Singer, B., and Kusmirek, J.T. 1982. Chemical Mutagenesis. *Ann. Rev. Biochem.* **52**, 655-693.
11. Cox, E.C. 1976. Bacterial Mutator Genes and the Control of Spontaneous Mutation. *Ann. Rev. Genetics.* **10**, pp.135-156.
12. Bridges, B.A., and Brown, G.M. 1992. Mutagenic DNA repair in *Escherichia coli*. XXI. A stable SOS-inducing

- signal persisting alter excision repair of ultraviolet damage. *Mutation Research*. **270**, 135-144.
13. Gardner, E.J., Snustad, P., and Simmons, M.J. 1989. Mutation. In Principles of Genetics. 8th ed., John Wiley & Sons, Inc. Canada. pp.299-319.
  14. Frederick, C., et al. 1996. DNA Repair mechanisms. In the *Escherichia coli* and *Salmonella*. 2nd ed., American Society for Microbiology Press, Washington, DC. 1, pp.2277-2291.
  15. Howard-Flanders, P. 1981. Inducible Repair of DNA. *Sci. Amer.* **245**, pp.72-103.
  16. Kim, B., and Little, J.W. 1992. Dimerization of a specific DNA-binding protein on the DNA. *Science*. **255**, pp.203-206.
  17. Teo, I., Sedgwick, B., Demple, B., and Lindahl, T. 1984. Induction of Resistance to Alkylating Agents in *E. coli*: The *ada* Gene Product Serves Both as a Regulatory Protein and As an Enzyme for Repair of Mutagenic Damage. *EMBO J.* **3**, pp.2151-2157.
  18. Sancar, G.B., and Rupp, W.D. 1983. A novel Repair Enzyme: UVRABC Excision Nuclease of *Escherichia coli* Cuts a DNA strand on Both sides of the Damaged Region. *Cell*. **33**, 249-260.
  19. Brent, R. 1982. Regulation and autoregulation by LexA protein. *Biochimie*. **64**, pp.565-569.
  20. Auffray, Y., and Boutibonnes, P. 1987. Presence of inducible DNA repair in *Bacillus thuringiensis*. *Mutation Research*. **183**, pp.225-229.
  21. Bernstein, H., Byerly, H.C., Michod, R.E. 1985. Genetic damage, mutation and the evolution of sex. *Science*. **229**, pp.1277-1281.
  22. Casaregola, S., and Huisman, O. 1982. Quantitative evaluation of *recA* gene expression in *Escherichia coli*. *Mol. Gen. Genet.* **185**, pp.430-439.
  23. D'Ar, R., and Huisman, O. 1982. DNA replication and indirect induction of the SOS response in *Escherichia coli*. *Biochimie*. **64**, pp.623-627.
  24. Gudas, L., J., and Pardee, A.B. 1975. Model for regulation of *Escherichia coli* DNA repair function. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **72**, pp.2330-2334.
  25. Little J. 1991. Mechanisms of specific LexA cleavage: autodigestion and the role of RecA coprotease. *Biochimie*. **73**, pp.411-422.
  26. Ames, B.N. 1979. Identifying environmental chemicals causing mutations and cancer. *Science*. **204**, pp.587-593.
  27. Quillardet, P. and Hofnung, M. 1993. The SOS chromotest: a review. *Mutation Research*. **297**, pp.235-279.
  28. Nunoshiba, T. and Nishioka, H. 1991. 'Rec-lac test' for detecting SOS-inducing activity of environmental genotoxic substances. *Mutation Res.* **254**, pp.71-77.
  29. Thomas, S.C., and Henry M.S. 1993. Evaluation and Application of a Bioluminescent Bacterial Genotoxicity Test. *Suns & Stahr : Journal of AOAC International*. **76**, pp.893-898.
  30. Karine, J., Maili, A., Michael, J., and Willson, R.C. 1996. Rapid Detection of Mutagens by Induction of Luciferase-Bearing Prophage in *Escherichia coli*. *Environ. Sci. Technol.* **30**, pp.2478-2483.
  31. Lelie, D., Regniers, L., Borremans, B., Provoost, A. and Verschaeve, L. 1997. The VITOTOX test, an SOS bioluminescence *Salmonella typhimurium* test to measure genotoxicity kinetics. *Mutation Res.* **389**, pp.279-290.
  32. Ptitskn, L.R., Horneck, G., Komova, O., Kozubek, S., Krasavin, E.A. Bonev, M. and Rettberg, P.A. 1997. Biosensor for Environmental Genotoxin Screening Based on an SOS *lux* Assay in Recombinant *Escherichia coli* Cells. *Appl. Env. Microbiol.* **63**, 11, pp.4377-4384.
  33. Vollmer, A. C., Belkin, S., Smulski, D. R., Van Dyk, T. K. and LaRossa, R. A. 1997. Detection of DNA damage by use of *Escherichia coli* Carrying *recA*::*lux*, *uvr*::*lux*, or *alkA*::*lux* Reporter Plasmids. *Appl. Env. Microbiol.* **63**, 7, pp.2566-2571.
  34. Min, J., Kim, E.J., LaRossa, R.A., Gu, M.B. 1999. Distinct responses of a *recA*::*luxCDABE* *Escherichia coli* Strain to direct and indirect DNA damaging agents. *Mutation Research*. **442**, pp.61-68.
  35. Afanassiev, V., Sefton, M., Anantachaiyong, T., Barker, G., Walmsley, R., and Wolf, S. 2000. Application of yeast cells transformed with GFP expression constructs containing the RAD54 or RNR2 promoter as a test for the genotoxic potential of chemical substances. *Mutation Research*. **2**, pp.297-308.
  36. Knight, A.W., Goddard, N.J., Fielden, P.R., Gregson, A.L., Billinton, N., Barker, M.G., and Walmsley, R.M. 2000. The application of fluorescence polarisation for the enhanced detection of green fluorescent protein(GFP) in the presence of cellular auto-fluorescence and other green fluorescent compounds. *Analyst*. **125**, pp.499-506.
  37. Man Bock Gu, Jiho Min, and Robert A. LaRossa. 2000. Kinetics of Bacterial Bioluminescence Emission from Recombinant *Escherichia coli* harboring a *recA*::*luxCDABE* fusion. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*. *In Press*
  38. Sue Hyung Choi, and Man Bock Gu. 2000. Monitoring and Classification of Toxicity using Recombinant Bioluminescent Bacteria. *Water Science & Technology*. *In Press*
  39. Jiho Min, Changwoo Lee, Robert A. LaRossa, and Man Bock Gu. 2000. Detection of Ionizing radiation Toxicity using Recombinant Bioluminescent *Escherichia coli* Cells. *Radiation and Environmental Biophysics*. **39**, pp.41-45.
  40. Man Bock Gu, Geun Cheul Gil, and Joong Hyun Kim. 1999. A two-stage minibioreactor system for continuous

- toxicity monitoring. *Biosensors & Bioelectronics*. **14**, pp.355-361.
41. Man Bock Gu, Robert Mitchell, and Joong Hyun Kim. 2000. Continuous Monitoring of Protein Damaging Toxicity Using a Recombinant Bioluminescent *Escherichia coli*. *ACS Symposium Series Vol.720* : Recent Advances in Chemical sensors and Biosensors for Environmental monitoring. *In Press*.
42. Geun Cheul Gil, Robert A. Mitchell, Suk Tae Chang, and Man Bock Gu. 2000. A Biosensor for the Detection of Gas Toxicity Using a Recombinant Bioluminescent Bacteria. *Biosensors & Bioelectronics*. **15**, pp.23-30.