

옥수수 *MuDR/Mu Mutator* transposon 시스템을 활용한 식물 유전자의 탐구와 기능유전체적인 유전자 기능 분석 연구기법의 동향

● 김수환(연세대학교 생명과학과)

지난 20년간의 식물 발생과 생리 연구 분야는 유전학과 생물정보학적인 연구방법의 도입을 통하여 비약적으로 발전하였다. 특히나 *Ac/Ds*, *MuDR/Mu* 등의 transposon과 T-DNA 등을 이용한 insertional mutagenesis/gene tagging 방법은 saturation level에 근접한 돌연변이체의 대량생산을 가능케 하였다. 그리고 또한 이들의 표현형 분석, 그러한 돌연변이를 일으키는 유전자의 동정과 그러한 정보와 함께 유전자 발현분석을 바탕으로 하는 데이터베이스의 구축은 생물 시스템의 특정 기능적 관점에서 시작하여 기능의 원인이 되는 구성요소들을 탐색하는 환원주의적 기능체 유전학에 커다란 기여를 하였다. 본 기고에서는 *MuDR/Mu* system을 이용한 생물 정보 데이터 획득과 데이터베이스 구축에 대해 최근 동향을 소개 하고자 한다.

MuDR/Mu transposon family는 *MuDR* 유전자가 지시하는 MURA transposase 활동에 의해 *MuDR* 또는 *Mu element*가 기존의 염색체 지역에서 나와 (excision) 염색체의 다른 지역으로 삽입되게 (insertion) 하는 jumping gene의 한 그룹이다. 이러한 *MuDR/Mu*의 transposition의 결과로 동 유전자가 삽입된 지역 인근의 유전자의 활성이 변하게 되는데 *MuDR/Mu* transposon은 *Ac/Ds*를 포함한 지금까지 알려진 여러 가지 옥수수 transposon 중에서도 전위에 의한 유전자 돌연변이율이 가장 높은 것으로 알려져 있다 (자연적 돌연변이율에 비해 50-100정도가 높음). 최근에는 이

러한 *MuDR/Mu* tagging system의 장점을 이용한 옥수수 유전자 탐사 프로젝트가 미국 NSF의 대규모의 지원 하에 활발히 수행되었다. 이와 같은 노력의 결과로 수만 종의 옥수수 돌연변이체 종자 라이브러리가 확보되고 100,000개 이상의 GSS (genome survey sequence), 5000개 이상의 유전자에 대한 genomic DNA 서열/돌연변이체 표현형, 그리고 200,000 개 이상의 EST 서열과 옥수수의 Unigene이 심어진 gene array가 확보되는 등 유전자의 서열과 기능을 밝혀내고 연결하려는 기능유전체학적 측면에서의 큰 성과가 있었다. (Maize Gene Discovery Project, 1998-2003). 이러한 결과에 대한 linked database/analysis tool은 종자/microarray/DNA 재료와 함께 옥수수 유전체 web portal site인 ZmDB (Zea mays DataBase; Dong *et al.*, 2003; <http://www.maizegdb.org/documentation/>)에 제공되어져 있다.

반복된 서열이 많고 비용적인 측면에서 전체 유전체의 서열 결정이 비경제적이라 생각된 옥수수 유전체의 서열 결정은 기술적인 측면에서 *MuDR/Mu* jumping system을 변형하여 항생제 저항성 유전자를 첨가해준 *RescueMu* system을 도입함으로써 해결하였다. 우선 jumping 능력이 검증된 *RescueMu*를 옥수수에 도입하고, 유전체 내 새로운 좌위에 transposition에 의해 삽입된 *RescueMu*는 항생제 저항성이 있는 genomic DNA 조각을 세균에 클로닝하는 방법으로 회수 하였다. 이로서 *RescueMu*와 함께 수거된



flanking GSS를 확보하게 되었다 <그림 1>. 확보된 GSS는 <그림 2>에서 보는 방법으로 수집된 종자와 함께 다음세대 옥수수들의 표현형을 분석하고 다른 정보와 통합함으로써 돌연변이체표현형-유전자-주석(annotation)-참고문헌을 one-stop으로 병렬 연결하는 통합형 옥수수 유전체 정보를 구축할 수 있었다. 이

외에도 *MuDR/Mu* system 을 이용한 많은 유전자 돌연변이/돌연변이체 library와 포탈 웹서버가 작성되었는데 <그림 3>은 *mtmDB* (maize-targeted mutagenesis)의 웹 구성을 보여주고 있다 (Martienssen *et al.*, 2003; Curtis *et al.*, 2005).

최근에는 이러한 *Rescuemu* 시스템을 기본으로 하

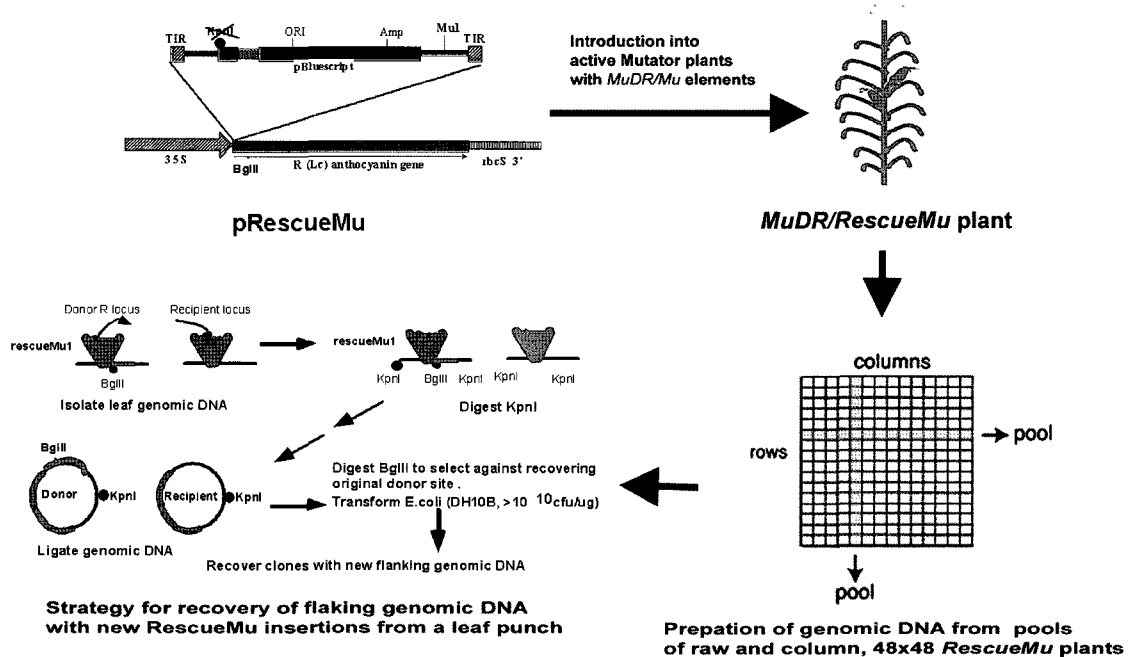


그림 1. Rescuemu 돌연변이체 작성과 flanking genomic DNA의 획득 전략

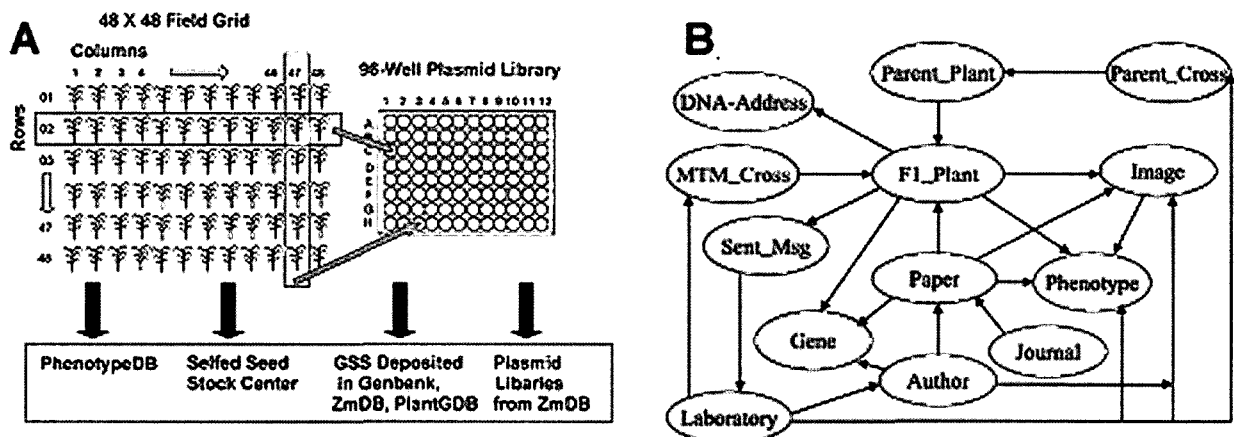


그림 2. (A) Row and column pooling strategies for high-throughput transposon insertion site screening and recovery of GSS libraries. (B) Schema of the *mtmDB*.



는 구조에 유전자 과발현과 gene trapping 기능이 첨가된 새로운 activation tagging, promoter trapping, enhancer trapping construct 개발이 본 기고자가 일했던 실험실에서 시도되고 있다. 또 하나의 practical *MuDR/Mu* 기능유전체 분야의 화두는 이러한 시스템을 경제성 있는 이중 작물에 도입하는 문제이다. *MuDR/Mu* family에 속하는 transposon은 옥수수뿐만 아니라 박테리아, 애기장대, 초분류, 벼, 그리고 많은 속씨식물 등 수많은 식물 종과 이스트, 곰팡이 등에서 발견이 되는데 이를 총체적으로 *Mutator-like elements (MULEs)*라고 칭하며 이들 대부분은 전위를 하는 활동성 transposon임이 밝혀졌다 (Yu *et al.*, 2000; Lisch *et al.*, 2001; Asakura *et al.*, 2002; Cowan *et al.*, 2005; Neueglise *et al.*, 2005; Chalvet *et al.*, 2003).

기능체 유전학적인 접근방법에서 성공을 좌우하는 가장 중요한 요소는 손쉽고 효과적인 돌연변이체 라이브러리의 획득과 거의 모든 식물 유전자에 대한 돌연변이를 일으킬 수 있는 유전자 지역 편향성 tagging system의 개발이다. 한편 기능유전체 접근 방법에서 보는 환원주의적 입장의 개개 유전자의 동정과 기능 분석은 생물의 활동을 분자들 간의 네트워크로 보는 통합적 접근방법에 의해 보강되어야 하는 바, 위에서 얻어진 대량의 데이터를 처리하고, 그리고 구성 요소들로부터 체계적인 행동을 계산하기 위한 기술을 필요로 하는 정보학과의 연계는 필수적이라 하겠다. 이러한 관점에서 모델식물인 애기장대를 중심으로 구축되어 지는 유전체-유전자-돌연변이체-표현형-발현조절-단백질 구조분석-분자간 메타볼리즘의 네트워크-참고자료 간의 연계 데이터베이스 구축은 (www.arabidopsis.org) 작물시스템을 포함한 식물 연구자에게는 중요한 참고가 되리라 생각한다.

참고문헌

Asakura, N., Nakamura, C., Ishii, T., Kasai, Y., and Yoshida, S. (2002). A transcriptionally active maize

MuDR-like transposable element in rice and its relatives. *Mol. Genet. Genomics* 268: 321-330.

Chalvet, F., Grimaldi, C., Kaper, F., Langin, T., and Daboussi, M. -J. (2003). Hop, an active *Mutator-like* element in the genome of the fungus *Fusarium oxysporum*. *Mol. Biol. Evo.* 20: 1362-1375.

Cowan, R. K., Hoen, D. R., Scheon, D. J., and Bureau, T. E. (2005). *MUSTANG* is a novel family of domesticated transosase genes found in diverse angiosperms. *Mol. Biol. Evo.* 22: 2084-2089.

Dong, Q., Roy, L., Freeling, M., Walbot, V., and Brendel, V. (2003) ZmDB, an integrated database for maize genome research. *Nucl. Acids Res.* 31: 244-247.

Lisch, D. R., Freeling, M., Langham, R. J., and Choy, M. Y. (2001). *Mutator* transposase is widespread in the grasses. *Plant Physiol.* 125: 1293-1303.

May, B. P., Liu, H., Vollbrecht, E., Senior, L., Rabinowicz, P. D., Roh, D., Pan, X., Stein, L., Freeling, M., Alexander, D., and Martienssen, R. (2003) Maize-targeted mutagenesis: A knockout resource for maize. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 30: 11541-11546.

McCarty, D. R., Settles, A. M., Suzuki, M., Tan, B. C., Latshaw, S., Porch, T., Robin, K., Baier, J., Avigne, W., Lai, J., Messing, J., Koch, K. E., and Hannah, L. C. (2005) Steady-state transposon mutagenesis in inbred maize. *Plant J.* 44: 52-61.

Neueglise, C., Chalvet, F., Wincker, P., Gaillardin, C., and Casaregola, S. (2005). *Mutator-like* element in the yeast *Yarrowia lipolytica* displays multiple alternative splicings. *Eukaryotic Cell* 4: 615-624.

Yu, Z., Wright, S. I., and Bureau, T. E. (2000). *Mutator-like* elements in *Arabidopsis thaliana*: structure, diversity and evolution. *Genetics* 156: 2019-2031.