

식물의 감수분열에서 상동 재조합 효소 특이 기능의 연구현황 및 전망

정유진 · 남기홍 · 김태성 · 이인혜 · 조용구 · 강권규

Current status and prospects of the meiosis-specific function of recombinase in plants

Yu Jin Jung · Ki Hong Nam · Tae Sung Kim · In Hae Lee · Yong-Gu Cho · Kwon Kyoo Kang

Received: 26 March 2018 / Revised: 26 March 2018 / Accepted: 26 March 2018
© Korean Society for Plant Biotechnology

Abstract Meiosis is a specialized cell division, essential in most reproducing organisms to halve the number of chromosomes, thereby enabling the restoration of ploidy levels during fertilization. A key step in meiosis is homologous recombination, which promotes homologous pairing and generates crossovers (COs) to connect homologous chromosomes until their separation at anaphase I. These CO sites, seen cytologically as chiasmata, represent a reciprocal exchange of genetic information between two homologous non-sister chromatids. RAD51, the eukaryotic homolog of the bacterial RecA recombinase, plays a central role in homologous recombination (HR) in yeast and animals. Loss of RAD51

function causes lethality in the flowering plant, *Arabidopsis thaliana*, suggesting that RAD51 has a meiotic stage-specific function that is different from homologous pairing activity.

Keywords Meiosis, Recombinase, Crossover interference, RAD51

서 언

세포는 생물의 기본 단위이며, 그 유전 정보는 게놈 DNA에 기록되어 있다. 유성생식을 통해 세대진전을 하는 생물의 세포는 다음 세대에 유전 정보를 전달하는 역할을 하는 생식 세포와 체세포로 대별 된다. DNA의 유전 정보는 체세포 분열에 의해 부모 세포에서 딸세포에 계승되어, 생식세포를 통해 세대에서 세대로 전달된다. 많은 생물은 부친 유래와 모친 유래의 두 세트의 염색체를 갖는 이배체 세포이다. 한편, 생식세포에서 만들어지는 배우자(동물은 난자 및 정자)는 일배체 세포이다. 생물은 일배체의 배우자를 형성하기 위해 감수분열이라는 특별한 형태의 세포분열을 한다. 그리고 부친 유래와 모친 유래의 배우자가 융합하여 이배체의 접합자가 되어 서로의 유전 정보가 합쳐진 새로운 개체가 태어난다. 이와 같이, 생물은 유성생식에 의해 두 개체의 게놈 DNA를 섞어 그 다양성을 획득하고 있다. 일배체의 배우자를 형성하기 위해서는, 이배체 세포에서 일배체 세포를 만들어 내야한다. 따라서 생물은 감수분열에 의해 염색체 수를 반으로 줄임으로써 일배체의 배우자를 형성한다. 이배체 세포는 부친 유래와 모친 유래의 DNA 서열이 비슷한 염색체가 한 쌍씩 존재한다. 이 한 쌍의 염색체는 동일하지 않지만, 그 DNA 서열이 비슷하다고 해서 상동 염색체로 불린다. 또한 상동 염색체에서 각각 복제된 두 개의 염색체를 자매

Y. J. Jung · K. H. Nam · K. K. Kang (✉)
국립한경대학교 원예생명과학과
(Department of Horticultural Life Science, Hankyong National University, Anseong 17579, Korea)
e-mail: kykang@hknu.ac.kr

Y. J. Jung · K. K. Kang
국립한경대학교 유전공학연구소
(Institute of Genetic Engineering, Hankyong National University, Anseong 17579, Korea)
e-mail: kykang@hknu.ac.kr

T. S. Kim
한국방송통신대학교 농학과
(Department of Agricultural Sciences, Korea National Open University, Seoul 03087, Korea)

I. H. Lee
국립생물자원관 생물소재연구단 연구팀
(Biological Resources Division, National Institute of Biological Resources, 42, Hwangyeong-ro, Seo-gu, Incheon, 22689, Korea)

Y.-G. Cho
충북대학교 식물자원학과
(Department of Crop Science, Chungbuk National University, Cheongju 28644, Korea)

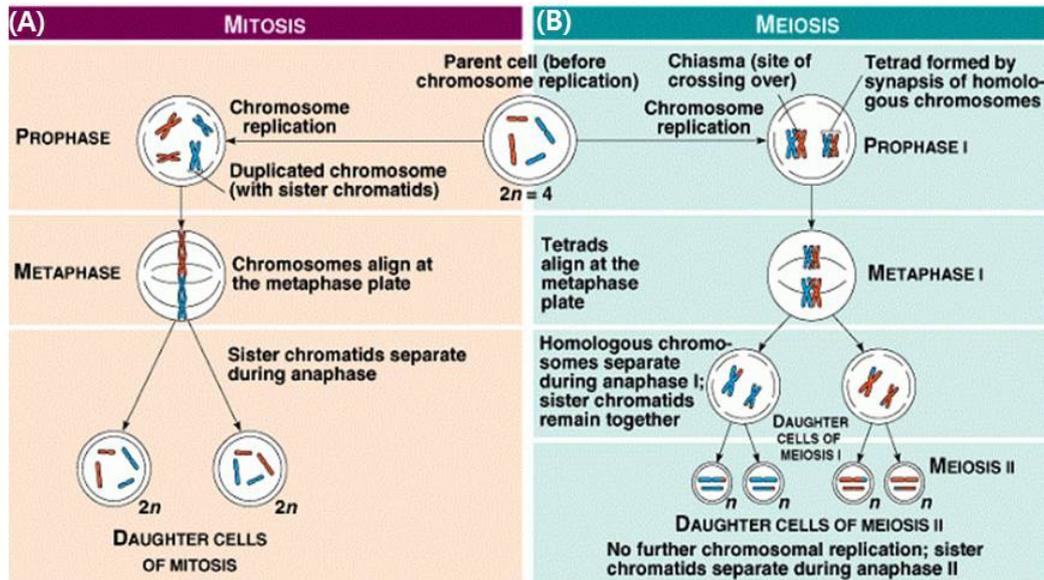


Fig. 1 Diagram of mitosis and meiosis (Molecular Biology of the Gene FIFTH EDITION-Quotation). (A) Following DNA replication in mitosis, each pair of paternal and maternal chromosomes is distributed equally to daughter cells. Therefore, two diploid daughter cells are generated each of which inherits the genetic information of the parent cell. (B) In meiosis, two consecutive cell divisions occur – the first and second meiotic divisions. Because of this, four haploid cells arise from one diploid cell in the first meiotic phase, with homologous chromosomes. After pairing, homologous recombination is performed. Chiasma formed by homologous recombination is a first reduction. It is essential for accurate chromosome partitioning in division. The synaptonema complex is a meiotic stage-specific chromosome structure and has the role of adhering between homologous chromosomes

염색분체라고 부른다. 체세포 분열에서 상동 염색체가 복제된 후, 자매 염색분체가 딸세포로 균등하게 분배되기 때문에 동일한 DNA 염기서열을 가지는 두 딸 세포가 생성된다 (Fig. 1 A). 한편, 감수분열은 DNA 복제 후, 두 번의 연속적인 세포분열이 이루어지는 것으로, 일배체의 배우자가 형성된다 (Fig. 1 B). 이 두 번의 연속적인 세포분열은 제 1 감수분열과 제 2 감수분열로 불린다. 제 1 감수분열기는 배화한 상동 염색체 사이에 상동 재조합에 의해 키아즈마가 형성된 후, 한 쌍의 상동 염색체가 딸세포에 개별적으로 분배된다. 이때 부계 유래와 모계 유래 상동 염색체가 딸세포 모두에 분배되는 과정은 무작위로 이루어지며, 원리적 조합은 2^n (n 은 염색체 수)가 된다. 그 후, 제 2 감수분열기에 자매 염색 분체가 균등하게 분배되어 1 배체의 배우자가 형성된다 (Fig. 1 B). 감수 제 1 분열기는 염색체의 구조 변화에 따라, Lepton stage, Zigoten stage, Pakité Stage, Diploten stage, Deakinesis stage 등 다섯 단계로 나눌 수 있다 (Fraune et al., 2012). Lepton stage에서는 염색체 응집 끈으로 묶은 구조가 관찰된다. Zigoten stage는 상동 염색체끼리 대합하고, Pakité Stage에 감수분열기 특이적인 염색체 구조인 Synaptonema 구조가 형성되고, 상동 염색체끼리 접촉한다. Diploten stage에는 상동 염색체간 교차하는 키아즈마가 관찰되며, Deakinesis stage에서 염색체가 적도면으로 이동한다. 제 2 감수분열기는 체세포 분열과 마찬가지로 몇 시간 이내에 진행하지만, 감수 제 1 분열기의 기간은 정모세포와 난 모세포에서 다른 것으로 알려져 있

다. 감수분열기 상동 재조합(이후 감수분열기 재조합)은 Lepton stage부터 Pakité Stage에서 이루어지는 것으로 생각되고 있다. 감수분열기 재조합에 의해 형성된 키아즈마는 물리적으로 상동 염색체를 연결하고 정확한 염색체 분리에 중요한 역할을 담당한다 (Petronczki et al. 2003; Neale and Keeney 2006). 키아즈마의 형성되지 않는 것은 염색체의 분리가 되지 않아, 염색체 분배 이상에 인한 불임 및 다운 증후군의 원인이 된다 (Pittman et al. 1998). 또한 키아즈마 형성에 의한 상동 염색체와 환승하여 부계 유래와 모계 유래의 유전자 정보가 부분적으로 교체된다. 이와 같이 감수분열기 재조합은 게놈 DNA 서열의 변화를 초래하기 때문에 생물 다양성을 생기게 하는 주된 요인이라고 생각된다.

감수분열기 재조합

상동 재조합은 체세포와 감수분열기의 세포 모두에서 작동하며 생물에 필수적인 기구이다. 체세포의 상동 재조합은 이온화 방사선 및 DNA 복제시 오류 등에 의해 생긴 DNA 이중 가닥 절단 손상을 복구하는 경로로 작동된다 (Symington 2002; West 2003; Sung and Klein 2006). 한편, 감수분열기의 세포에서 상동 재조합은 상동 염색체 균등 분배와 게놈 DNA 서열의 변화에 중요한 역할을 담당한다 (Petronczki et al. 2003; Neale and Keeney 2006). 체세포의 상동 재조합 복구는 S기에서 복제된 자매 염색체를 이용하여 재조합한다. 따라서

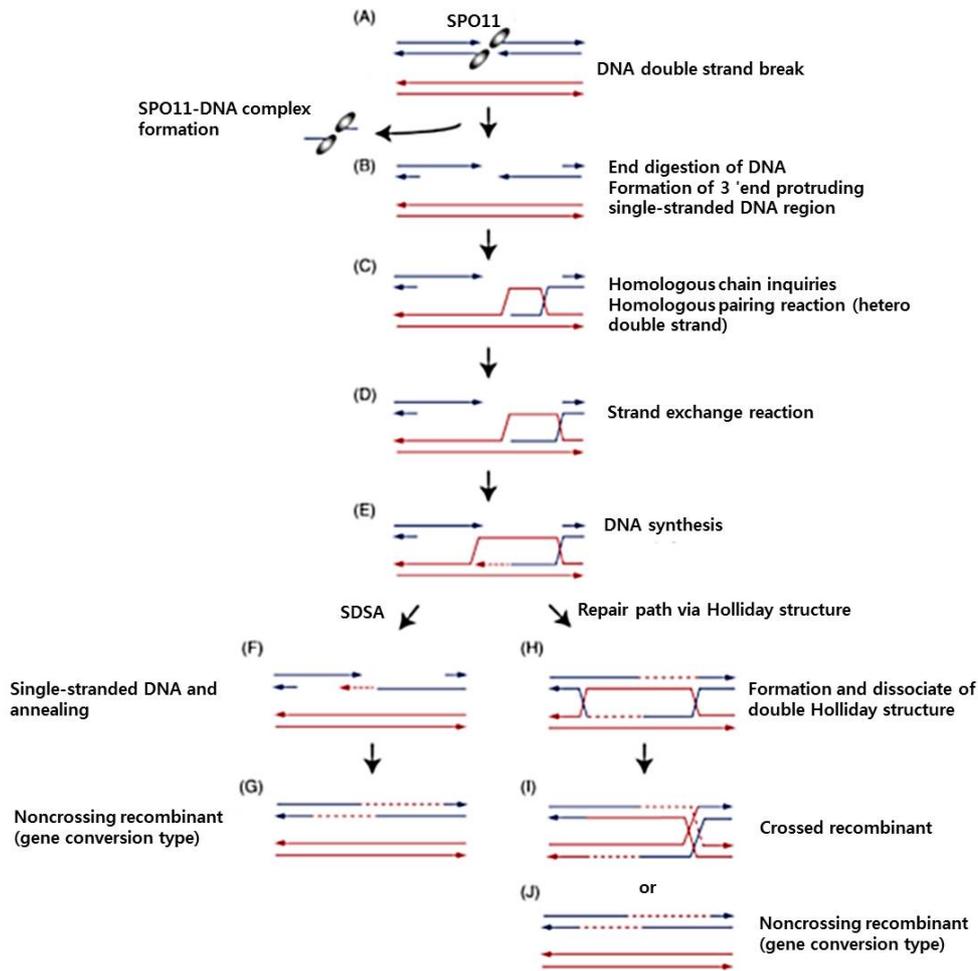


Fig. 2 Model of meiotic recombination (Neale and Keeney, 2006; Krejci et al., 2012). Meiotic recombination is initiated by introduction of DNA double strand break by SPO11. At the DNA double strand break after digestion, a DNA end is digested by exonuclease, so that a 3' end protruding single-stranded DNA region is formed. Thereafter, a region homologous to the formed single-stranded DNA region was searched from the intact double-stranded DNA and heteroduplex DNA is formed. Furthermore, a single-stranded DNA polymerase invading double-stranded DNA by restructuring the lost genetic information by DNA synthesis using the 3' end of DNA as a primer. In the SDSA pathway, newly synthesized single-stranded DNA is dissociated by a helicase and annealed to make it such that non-crossover recombination occurs. In the repair path via the Holliday structure, after the Double Holliday structure is formed, non-crossing recombinants or cross-recombinants are generated depending on the manner of dissociation

상동 재조합 복구는 세포주기에 따라 주로 S 기에서 G2 기에 걸쳐 행해진다(Branzei and Foiani 2008). 한편, 감수분열기 재조합은 자매염색체끼리보다 우선적으로 상동 염색체끼리 재조합이 이루어진다고 알려져 있다(Roeder 1997; Schwacha and Kleckner 1997). 감수분열기 재조합 반응기구는 다음과 같다(Fig. 2). 감수분열기 재조합은 SPO11에 의해 DNA 이중 가닥 절단이 도입되는 것으로 시작된다(Fig. 2 A). SPO11은 고세균 Topoisomerase VI의 상동체이며, 활성 중심 부위인 tyrosine 잔기 ester 전이 반응에 의해 DNA 가닥을 절단한다(Keeney et al. 1997; Keeney 2008). 또한 SPO11은 DNA 절단 후 DNA와 공유 결합된 상태로 남아있다(Keeney et al. 1997; Keeney, 2008). 다음으로, 엑소 뉴클레아제에 의해 DNA의 5' 끝이 분해되고, 3' 끝 돌출형 한 가닥 DNA 영역이 수kb 걸쳐 형성 된다(Mimitou and Symington 2008; Zhou et al. 2014; Fig.

2B). 그 때 DNA에 공유 결합되어있는 SPO11는 DNA와 함께 이중 가닥 절단 부위에서 유리 한다(Keeney et al. 1997; Keeney 2008). 그 후, 형성된 한 가닥 DNA 영역과 서로 같은 염기서열을 갖는 온전한 이중 가닥 DNA가 검색되어, 그 상동 영역 간에 있어 한 가닥 DNA와 이중 가닥 DNA가 합쳐져서 헤테로 이중 가닥 DNA가 형성된다. 일련의 이런 과정을 상동적 대합반응이라고 불린다(Fig. 2 C). 상동적 대합 반응 후, 형성된 헤테로 이중 가닥 DNA 영역은 DNA 가닥 교환 반응에 의해 확대된다(Symington 2002; West 2003; San Filippo et al. 2008; Renkawitz et al. 2014) (Fig. 2 D). 다음으로, DNA 중합효소가 헤테로 이중 가닥 DNA를 형성한 한가닥 DNA의 3' 끝을 기점으로 DNA 합성을 수행하여 손상된 DNA 영역이 복원된다(Fig. 2 E). DNA 합성 후, 합성된 DNA 말단이 절단된 다른 말단이 결합하여 Holliday 구조가 형성된다(Fig. 2 H). 상동 재조

합은 Holliday 구조를 통하지 않고 SDSA (Synthesis-dependent strand annealing) 경로 또는 Holliday 구조를 통한 복구 경로에 의해 복구가 완료될 것으로 생각되고 있다. SDSA 경로는 한 가닥 DNA 유래의 3'끝을 기점으로 새롭게 합성된 DNA 가닥이 DNA helicase에 의해 분리되어, 절단된 다른 보완적인 한 가닥 DNA와 annealing하고, DNA 합성이 이루어지는 것으로 복구가 완료된다(Fig. 2 F). 따라서 SDSA 경로에서는 비교차형 재조합체(유전자 변환형) 만이 생기게 된다(Nassif et al. 1994; Allers et al. 2001) (Fig. 2 G). 한편, Holliday 구조를 통한 복구 경로는 절단된 다른 단일 가닥 DNA가 헤테로 이중 사슬 형성에 의해 치환되었던 DNA 루프(Displacement loop; D-loop) 영역과 어닐링하여 연결하는 것으로 Double Holliday 구조가 형성된다(Szostak et al. 1983) (Fig. 2 H). 그 후, Double Holliday 구조는 Holliday 구조 특이적으로 수행하는 뉴클레아제에 의해 분해되어 염색체가 교차하는 교차형 재조합체 또는 비교차형 재조합체가 발생한다(Fig. 2 I, J). 교차 재조합체는 제 1 감수분열기에 키아즈마로 관찰된다. 흥미롭게도 감수분열기 재조합은 상동 염색체 사이의 교차 부위가 적어도 하나는 발생기구(Crossover assurance)와 복수의 교차 부위의 근접을 막는기구(Crossover interference)가 담당하는 것으로 알고 있다(Bishop and Zickler 2004; Shinohara et al. 2008). 또한 상동 염색체의 교차 부위의 수는 DNA 이중 가닥 절단 수에 의존하지 않고 일정한 수를 유지하는 것도 보고되었다(Crossover homeostasis) (Cole et al. 2012). 이처럼 감수분열기 재조합에 있어 교차 재조합체의 형성은 엄격하게 통제되고 있다. 그러나 그 자세한 메커니즘은 아직 알려지지 않았다. 상동 재조합의 핵심을 담당하는 상동적대합 반응은 박테리아에서 RecA 의해 촉매된다. RAD51 및 DMC1은 박테리아 RecA 기능적으로 같은 것으로 동정되어, 진핵생물에 있어서 상동 재조합의 핵심 효소이다(Aboussekhra et al. 1992; Basile et al. 1992; Bishop et al. 1992; Shinohara et al. 1992, 1993; Habu et al. 1996). RAD51은 체세포 및 감수분열기 세포에서 발현되는 반면 DMC1은 감수분열기 만에서 발현하고 기능한다(Shinohara et al. 1992, 1993; Bishop et al. 1992; Habu et al. 1996).

상동 재조합효소 RAD51

RAD51 유전자는 체세포의 상동 재조합 복구 기능을 하는 핵심 효소이며, 효모에서 식물, 포유류에 이르기까지 광범위하게 진화적으로 보존되어 있다(Aboussekhra et al. 1992; Basile et al. 1992; Shinohara et al. 1992, 1993). 마우스에서 RAD51 유전자를 결손시키면 태생 치사가 일어난다고 알려져 있다(Lim and Hastly 1996; Tsuzuki et al. 1996). 또한 닭 유래 DT40 세포에서 RAD51 유전자를 결손시키면 DNA 손상이 축적되고 세포사가 발생하는 것으로 보고되고 있다(Sonoda et al. 1998). 이러한 점에서 RAD51은 생물의 생존에 필수적

인 단백질이다. 생화학적 분석에서 RAD51은 한 가닥 DNA 및 이중 가닥 DNA와 결합 활성을 가지며, DNA 의존적인 ATP 가수 분해 활성을 나타내는 것을 알 수 있다(Ogawa et al. 1993; Sung 1994; Benson et al. 1994). 또한 RAD51은 ATP 의존적으로 상동적 대합반응 및 상동체 교환반응을 촉매하는 것으로 밝혀지고 있다(Sung 1994; Baumann et al. 1996; Maeshima et al. 1996; Gupta et al. 1997). 또한, 전자 현미경 및 X선 결정구조분석에서 RAD51 바로 감기(우 감기)의 필라멘트 구조를 형성하는 것으로 보고되고 있다(Ogawa et al. 1993; Benson et al. 1994; Conway et al. 2004; Chen et al. 2010). 흥미롭게도, RAD51 필라멘트의 나선 피치는 ATP의 유무로 변화하고 ATP 존재하에서는 ATP 부재에 비해 피치가 긴 것을 알 수 있다. 또한 ATP 존재는 RAD51의 필라멘트 구조에 결합된 DNA는 B형 DNA와 비교하여 약 1.5 배에 뻗어있는 것을 알 수 있다(Ogawa et al. 1993). 이 때문에 DNA가 뻗게 되는 것은 상동적 대합반응에서 중요한 역할을 담당한다고 생각하지만 그 상세한 분자 메커니즘은 아직 불분명하다. 상동적대합 반응 과정의 모델을 Fig. 3에 나타내었다. RecA, RAD51 및 DMC1을 포함한 상동 재조합 단백질은 ATP 존재하에서 단일 가닥 DNA에 결합(Primary DNA binding)하고 바로 감기 필라멘트 구조를 형성한다(Fig. 3 B). 그 후, 상동 재조합 단백질-단일 가닥 DNA 복합체는 이중 가닥 DNA에 결합(Secondary DNA binding)하여 상동 재조합 단백질-단일가닥 DNA-이중가닥 DNA의 삼자 복합체를 형성한다(Fig. 3 C). 이때 이중

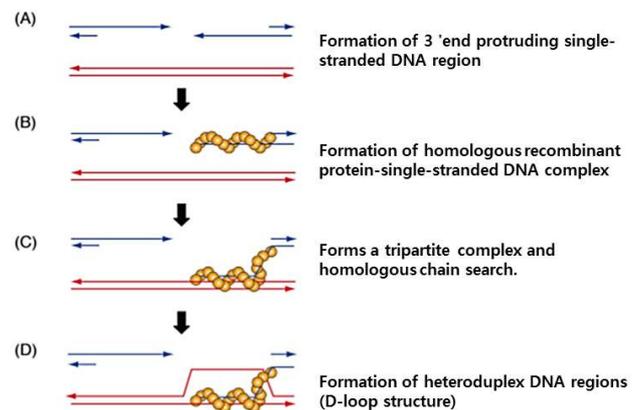


Fig. 3 Model of homologous pairing reaction process (Kagawa et al. 2010). (A) A 3' end protruding single-stranded DNA region is formed by exonuclease. (B) Formation of homologous recombinant protein-single-stranded DNA complex. Homologous recombination proteins including RecA, Rad 51, and DMC 1 form a right-handed filament structure in the presence of ATP and becomes the active form. (C) Homologous recombinant protein-single-stranded DNA complex binds to the double stranded DNA of the template and forms a tripartite complex. The tripartite complex finds a DNA sequence homologous to single-stranded DNA from the template strand, an intermediate for homologous chain search. (D) Homologous regions are found, heteroduplex DNA regions are formed. At this time, the DNA strand is also separated. This is called the D-loop structure

가닥 DNA가 결합 부위는 단일 가닥 DNA가 결합된 부위와 다르다고 생각되고 있다(Kurumizaka et al. 1996, 1999; Renkawitz et al. 2014). 이 삼자 복합체에서 상동체인 검색이 이루어져 상동적인 영역이 발견되면 상동적 대합 반응에 의해 헤테로 이중 사슬이 형성되고, 치환된 한가닥 DNA가 분리된다(Fig. 3 D). RecA-DNA 복합체의 X선 결정구조 해석에서 RecA는 L1 루프 및 L2 루프라고 불리는 2 개의 루프를 통해 DNA와 결합하는 것이 밝혀졌다(Chen et al. 2008). 이 DNA 결합 루프는 RAD51에서도 보존되어 있다(Matsuo et al., 2006; Reymer et al. 2009). 상동적 대합반응은 단일 가닥 DNA와 이중 가닥 DNA가 모두 DNA 결합 루프 결합하여 촉매된다고 생각되고 있다. 그 때문에 상동 재조합 단백질 - 단일 가닥 DNA 복합체에 결합된 이중 가닥 DNA는 필라멘트 내측에 인도 될 필요가 있다. 상동 재조합 단백질 - 단일 가닥 DNA 복합체에 이중 가닥 DNA가 결합하는 부위(이후 secondary DNA binding site이라 함)는 RecA에서 동정되고 C 말단 도메인이 이중 가닥 DNA과의 결합에 중요하다는 것을 보여 주었다(Kurumizaka et al. 1996, 1999). 이 C 말단 도메인은 필라멘트의 외측에 결합한 DNA를 내측의 DNA 결합 루프로 이끄는 게이트웨이로 간주되고 있다(Kurumizaka et al. 1996, 1999). 한편 RAD51는 N 말단 도메인이 RecA의 C 말단 도메인과 유사한 기능을 가지는 것일 수 있다(Aihara et al. 1999; Yu et al. 2001; Galkin et al. 2006). 최근 출아 효모 Rad51 (출아 효모 유래는 Rad51로 표기)의 돌연변이 분석에서 188 번째 아르기닌 잔기, 361 번째의 리신 잔기 371 번째 리신 잔기가 Rad51의 secondary DNA binding에 중요한 아미노산 잔기로 특정되었다(Cloud et al. 2012). 실제로 이러한 3 개의 염기성 아미노산 잔기를 알라닌으로 치환한 Rad51 변이체(이하, Rad51-II3A 돌연변이로 표기)는 단일 가닥 DNA에 결합 필라멘트 구조를 형성하지만 삼자복합체 형성능 및 상동적대합 활성은 결핍된 것이 밝혀졌다(Cloud et al. 2012). 이와 같이, RAD51가 상동적대합반응을 촉매하는 데는 중요한 DNA 결합 부위 등이 밝혀지고 있지만, 상동적대합반응의 상세한 분자 메커니즘 여전히 막연하다.

감수분열기 특이적 상동재조합 효소 DMC1

DMC1는 RAD51 마찬가지로 박테리아 RecA의 상동체로 확인되었지만, RAD51 체세포 및 감수분열기의 세포 모두에서 발현되는 반면 DMC1은 감수분열기 특이적으로 발현하고 기능하는 것을 알 수 있다(Bishop et al. 1992; Habu et al. 1996). DMC1 유전자를 결손시킨 마우스는 RAD51 유전자 결손과 같은 태생 치사는 되지 않지만 감수분열기 재조합 결손을 나타내고, 배우자형성 부전을 일으켜 불임이 되는 것이 밝혀지고 있다(Pittman et al. 1998; Yoshida et al. 1998). 또한 dmc1를 결손시킨 출아 효모에서는 DNA 이중 가닥 절단이 축적되어 Synaptonema 복합체의 형성 부전이 발생한다(Bishop et al.

1992). 또한 인간의 불임 환자에서 상동 재조합 활성이 저하된 DMC1의 단일 염기 다형성이 발견되고 있어 DMC1 유전자 다형성과 불임의 관련성이 지적되고 있다(Mandon-Pépin et al. 2002; Mandon-Pépin et al. 2008; Hikiba et al. 2008). DMC1는 RAD51과 약 50%의 아미노산 서열의 상동성을 가지고 있으며, RecA 또는 RAD51와 함께, DNA 결합 활성을 가지며, DNA 의존적인 ATP 가수 분해 활성을 나타내는 것으로 알려져 있다(Sehorn et al. 2004). 또한 DMC1는 ATP 존재하에서 상동적대합 반응 및 상동쇄교환반응을 촉매하는 것으로 나타났다(Sehorn and Sung 2004; Sakane et al. 2008). 이 처럼 DMC1과 RAD51의 생화학적 성질은 유사하지만 다른 회합 상태를 나타내는 것으로 알려져 있다. 전자 현미경에 의한 관찰에서 DMC1은 8 량체의 링구조를 형성하고, 그 링구조가 쌓이도록 DNA에 결합하는 것으로 밝혀졌다(Masson et al. 1999; Passy et al. 1999). 또한 X선 결정 구조 해석에 의한 분석에서도 DMC1 8 량체의 링 구조를 형성한다고 보고하였다(Kinebuchi et al. 2004). 이 DNA에서 관찰되는 DMC1 링 구조는 RAD51에서는 보이지 않기 때문에 링 구조를 형성하여 DNA에 결합하는 것은 DMC1의 특징이라고 할 수 있다. 한편 DMC1는 ATP 존재 하에서 RAD51과 마찬가지로 DNA에서 나선형 필라멘트 구조를 형성하고, 상동적대합반응 및 가닥 교환 반응을 촉매하는 것도 보고되었다(Sehorn et al. 2004; Bugreev et al. 2005). 그 때문에 DMC1 링 구조는 ATP와 결합하여 활성화형 필라멘트 구조로 변환되는 것을 생각할 수 있지만(Kagawa and Kurumizaka 2010), DMC1 링 구조의 기능과 의의는 밝혀지지 않았다. 상술한 바와 같이, DMC1과 RAD51의 생화학적 특성은 비슷하지만, DMC1는 감수분열기 특이적으로 발현하는 것부터, RAD51과는 다른 기능을 갖는 것일 수 있다. 출아 효모의 분석에서 RAD51 자매염색체 사이에서 상동 재조합을 수행하는 반면, DMC1 자매염색체 사이가 아닌 상동 염색체 사이의 상동 재조합에서 우위적으로 작용하는 것이 밝혀졌다(Roeder 1997; Schwacha and Kleckner 1997). 이것은 DMC1은 상동 염색체 간의 키아즈마 형성에 중요한 역할을 담당하는 것으로 시사하고 있다. 또한 DMC1에 의해 형성된 D-loop 구조는 RAD51의 그것과 비교하여 DNA helicase에 의해 해리하기 어려운 것이 밝혀졌다(Bugreev et al. 2011). 이것은 DMC1 의존적인 상동 재조합 반응은 비교 차 재조합체를 낼 SDSA 경로가 아닌 Holliday 구조 통한 복구 경로가 선택되는 것을 시사하고 있다(Fig. 2 참조). 또한 DMC1은 RAD51 및 RecA와 달리 가닥 교환 반응에 의해 형성되는 염기쌍 사이에 불일치를 포함해도 안정적인 염기쌍을 형성하는 것으로 밝혀졌다(Lee et al. 2015). 부친 및 모친 유래 상동 염색체의 DNA 서열은 거의 동일하지만 약간 다르다. 그 때문에 이 불일치 존재 하에서도 가닥 교환 반응을 촉매할 수 있다는 DMC1의 성질은 상동 염색체 사이의 상동 재조합에 중요하다고 생각된다. RAD51과 DMC1 기능 차이의 해명은 감수분열기 재조합에 의한 키아즈마 형성의 메커니즘

을 이해하는 데 중요하다.

감수분열재조합에서 RAD51 기능

감수분열기의 세포는 RAD51 이외에 DMC1도 기능한다. 따라서 감수분열기 재조합은 RAD51과 DMC1의 양자가 협력하여 기능하는 것을 생각할 수 있다. 유전학적 해석으로부터 DMC1은 감수분열기 재조합에 필수이며, 중심적인 역할을 담당하고 있는 것으로 알려져 있지만, RAD51의 역할에 대해서는 아직 불분명한 점이 많다. 출아 효모를 이용한 분석에서 감수분열기 재조합에서 Rad51 의존적인 재조합 반응은 Hed1, Mek1, Red1 등에 의해 억제되는 것으로 보고되었다(Busygina et al. 2008, 2012; Niu et al. 2009; Liu et al. 2014). Hed1는 Rad51와 직접 결합하여 Rad51의 보조 인자인 Rad54의 결합을 저해하는 한편, Mek1는 Rad54를 인산화하는 것으로 Rad51의 Rad54와의 상호 작용을 저해한다. 또한 Red1은 자매 염색체 간의 Rad51 의존적인 재조합을 억제하는 것으로 알려져 있다. 흥미롭게도, 이러한 Rad51 의존적 재조합 반응의 억제를 해제하면 상동 염색체간의 재조합 효율이 저하된다는 것이 밝혀졌다(Liu et al. 2014). 따라서 Rad51 의존적인 재조합 반응의 억제는 Dmc1에 의한 우선적으로 상동 염색체 간의 재조합에 중요하다는 것을 생각할 수 있다. 최근 상동적 대합 활성이 결손된 Rad51 II3-A 돌연변이를 도입한 효모주는 유리 방사선에 대해 높은 감도를 나타내는 반면, 감수분열기 재조합의 상동 염색체간의 재조합 효율은 야생형과 동일한 정도인 것으로 보고되었다(Cloud et al. 2012). 이것은 Rad51상동적 대합 활성은 감수분열기 재조합에 중요하지 않은 것을 시사하고 있다. 또한 애기장대에서 Rad51 유전자 결손주에 RAD51의 C 말단에 GFP가 부가된 융합 단백질(이하, RAD51-GFP로 표기)을 발현시키면 DNA 이중 가닥 절단 손상을 유발하는 약제인 마이토마이신 C (MMC)에 대해 높은 감수성을 나타내는 반면, 감수분열기에서 교차 재조합체의 형성 효율은 야생형과 동일한 정도이라고 밝혔다(Da Ines et al. 2013). 이러한 사실은 RAD51은 상동적대합 활성과는 다른 감수분열기 특이적인 기능이 있는 것을 시사하고 있다.

따라서 감수분열기 재조합을 더 자세히 이해하기 위해서는 감수분열기 구체적인 염색질 구조를 형성하는 Synaptonema 복합체에서, DMC1 및 RAD51가 촉매하는 상동 재조합 반응의 메커니즘 분석이 절실히 필요하다.

사 사

이 논문은 2017년도 정부(과학기술정보통신부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업임(한국연구재단에서 부여한 과제번호 :2017R1A2B4007473).

References

- Aboussekhra A, Chanet R, Adjiri A, Fabre F (1992) Semidominant suppressors of Srs2 helicase mutations of *Saccharomyces cerevisiae* map in the RAD51 gene, whose sequence predicts a protein with similarities to prokaryotic RecA proteins. *Mol Cell Biol* 12:3224-3234
- Aihara H, Ito Y, Kurumizaka H, Yokoyama S, Shibata T (1999) The N-terminal domain of the human Rad51 protein binds DNA: structure and a DNA binding surface as revealed by NMR. *J Mol Biol* 290:495-504
- Allers T, Lichten M (2001) Differential timing and control of noncrossover and crossover recombination during meiosis. *Cell* 106:47-57
- Basile G, Aker M, Mortimer RK (1992) Nucleotide sequence and transcriptional regulation of the yeast recombinational repair gene RAD51. *Mol Cell Biol* 12:3235-3246
- Baumann P, Benson FE, West SC (1996) Human Rad51 protein promotes ATP-dependent homologous pairing and strand transfer reactions in vitro. *Cell* 87:757-766
- Benson FE, Stasiak A, West SC (1994) Purification and characterization of the human Rad51 protein, an analogue of *E. coli* RecA. *EMBO J* 13:5764-5771
- Bishop DK, Park D, Xu L, Kleckner N (1992) DMC1: a meiosis-specific yeast homolog of *E. coli* recA required for recombination, synaptonemal complex formation, and cell cycle progression. *Cell* 69:439-456
- Bugreev DV, Golub EI, Stasiak AZ, Stasiak A, Mazin AV (2005) Activation of human meiosis-specific recombinase Dmc1 by Ca²⁺. *J Biol Chem* 280:26886-26895
- Bugreev DV, Pezza RJ, Mazina OM, Voloshin ON, Camerini-Otero RD, Mazin AV (2011) The resistance of DMC1 D-loops to dissociation may account for the DMC1 requirement in meiosis. *Nat Struct Mol Biol* 18:56-60
- Busygina V, Sehorn MG, Shi IY, Tsubouchi H, Roeder GS, Sung P (2008) Hed1 regulates Rad51-mediated recombination via a novel mechanism. *Genes Dev* 22:786-795
- Chen J, Villanueva N, Rould MA, Morrical SW (2010) Insights into the mechanism of Rad51 recombinase from the structure and properties of a filament interface mutant. *Nucleic Acids Res* 38:4889-4906
- Chen Z, Yang H, Pavletich NP (2008) Mechanism of homologous recombination from the RecA-ssDNA/dsDNA structures. *Nature* 453:489-494
- Cloud V, Chan YL, Grubb J, Budke B, Bishop DK (2012) Rad51 is an accessory factor for Dmc1-mediated joint molecule formation during meiosis. *Science* 337:1222-1225
- Cole F, Kauppi L, Lange J, Roig I, Wang R, Keeney S, Jasin M (2012) Homeostatic control of recombination is implemented progressively in mouse meiosis. *Nat Cell Biol* 4:424-430
- Conway AB, Lynch TW, Zhang Y, Fortin GS, Fung CW, Symington LS, Rice PA (2004) Crystal structure of a Rad51 filament. *Nat Struct Mol Biol* 11:791-796
- Da Ines O, Degroote F, Goubely C, Amiard S, Gallego ME, White CI (2013) Meiotic recombination in *Arabidopsis* is catalysed

- by DMC1, with RAD51 playing a supporting role. *PLoS Genet* 9, e1003787
- Fraune J, Schramm S, Alsheimer M, Benavente R (2012) The mammalian synaptonemal complex: protein components, assembly and role in meiotic recombination. *Exp Cell Res* 318:1340–1346
- Gupta RC, Bazemore LR, Golub EI, Radding CM (1997) Activities of human recombination protein Rad51. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:463–468
- Habu T, Taki T, West A, Nishimune Y, Morita T (1996) The mouse and human homologs of DMC1, the yeast meiosis-specific homologous recombination gene, have a common unique form of exon-skipped transcript in meiosis. *Nucleic Acids Res* 24: 470–477
- Hikiba J, Hirota K, Kagawa W, Ikawa S, Kinebuchi T, Sakane I, Takizawa Y, Yokoyama S, Mandon-Pépin B, Nicolas A, Shibata T, Ohta K, Kurumizaka H (2008) Structural and functional analyses of the DMC1-M200V polymorphism found in the human population. *Nucleic Acids Res* 36: 4181–4190
- Kagawa W, Kurumizaka H (2010). From meiosis to postmeiotic events: uncovering the molecular roles of the meiosis-specific recombinase Dmc1. *FEBS J* 277:590–598
- Keeney S (2008) Spo11 and the Formation of DNA Double-Strand Breaks in Meiosis. *Genome Dyn Stab* 2:81–123
- Keeney S, Giroux CN, Kleckner N (1997) Meiosis-specific DNA double-strand breaks are catalyzed by Spo11, a member of a widely conserved protein family. *Cell* 88:375–384
- Kurumizaka H, Aihara H, Ikawa S, Kashima T, Bazemore L R, Kawasaki K, Sarai A, Radding C M, Shibata T (1996) A possible role of the C-terminal domain of the RecA protein. *J Biol Chem* 271:33515–33524
- Kurumizaka H, Ikawa S, Sarai A, Shibata T (1999) The mutant RecA proteins, RecAR243Q and RecAK245N, exhibit defective DNA binding in homologous pairing. *Arch Biochem Biophys* 365:83–91
- Lim DS, Hasty PA (1996) Mutation in mouse rad51 results in an early embryonic lethal that is suppressed by a mutation in p53. *Mol Cell Biol* 16:7133–7143
- Liu Y, Gaines WA, Callender T, Busygina V, Oke A, Sung P, Fung JC, Hollingsworth NM (2014) Down-regulation of Rad51 activity during meiosis in yeast prevents competition with Dmc1 for repair of double-strand breaks. *PLoS Genet* 10: e1004005
- Maeshima K, Morimatsu K, Horii T (1996) Purification and characterization of XRad51.1 protein, Xenopus RAD51 homologue: recombinant XRad51.1 promotes strand exchange reaction. *Genes Cells* 1:1057–1068
- Mandon-Pépin B, Derbois C, Matsuda F, Cotinot C, Wolgemuth DJ, Smith K, McElreavey K, Nicolas A, Fellous M (2002) Human infertility: meiotic genes as potential candidates. *Gynecol. Obstet Fertil.* 30:817–821
- Mandon-Pépin B, Touraine P, Kuttent F, Derbois C, Rouxel A, Matsuda F, Nicolas A, Cotinot C, Fellous M (2008) Genetic investigation of four meiotic genes in women with premature ovarian failure. *European J Endocrinol* 158:07–115
- Masson JY, Davies AA, Hajibagheri N, Van Dyck, E, Benson FE, Stasiak AZ, Stasiak A, West SC (1999) The meiosis-specific recombinase hDmc1 forms ring structures and interacts with hRad51. *EMBO J* 8:6552–6560
- Matsuo Y, Sakane I, Takizawa Y, Takahashi M, Kurumizaka H (2006) Roles of the human Rad51 L1 and L2 loops in DNA binding. *FEBS J* 273:3148–3159
- Mimitou EP, Symington LS (2008). Sae2, Exo1 and Sgs1 collaborate in DNA double-strand break processing. *Nature* 455:770–774
- Nassif N, Penney J, Pal S, Engels WR, Gloor GB (1994) Efficient copying of nonhomologous sequences from ectopic sites via P-element-induced gap repair. *Mol Cell Biol* 14:1613–1625
- Neale MJ, Keeney S (2006). Clarifying the mechanics of DNA strand exchange in meiotic recombination. *Nature* 442:, 153–158
- Niu H, Wan L, Busygina V, Kwon Y, Allen JA, Li X, Kunz RC, Kubota K, Wang B, Sung P, Shokat KM, Gygi SP, Hollingsworth NM (2009) Regulation of meiotic recombination via Mek1-mediated Rad54 phosphorylation. *Mol Cell* 36: 393–404
- Ogawa T, Yu X, Shinohara A, Egelman EH (1993) Similarity of the yeast RAD51 filament to the bacterial RecA filament. *Science* 259:1896–1899
- Passy SI, Yu X, Li Z, Radding CM, Masson JY, West SC, Egelman EH (1999) Human Dmc1 protein binds DNA as an octameric ring. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:10684–10688
- Petronczki M, Siomos MF, Nasmyth K (2003) Un ménage à quatre: the molecular biology of chromosome segregation in meiosis. *Cell* 112:423–40
- Pittman DL, Cobb J, Schimenti KJ, Wilson LA, Cooper DM, Brignull E, Handel MA, Schimenti JC (1998) Meiotic prophase arrest with failure of chromosome synapsis in mice deficient for Dmc1, a germline-specific RecA homolog. *Mol Cell* 1: 697–705
- Renkawitz J, Lademann C A, Jentsch S (2014) Mechanisms and principles of homology search during recombination. *Nat Rev. Mol Cell Biol* 15:369–383
- Reymer A, Frykholm K, Morimatsu K, Takahashi M, Nordén B (2009) Structure of human Rad51 protein filament from molecular modeling and site-specific linear dichroism spectroscopy. *Proc Natl Acad Sci USA* 106:13248–53
- Roeder GS (1997) Meiotic chromosomes: it takes two to tango. *Genes Dev* 15:2600–2621
- Sakane I, Kamataki C, Takizawa Y, Nakashima M, Toki S, Ichikawa H, Ikawa S, Shibata T, Kurumizaka H (2008) Filament formation and robust strand exchange activities of the rice DMC1A and DMC1B proteins. *Nucleic Acids Res* 6:4266–4276
- San Filippo J, Sung P, Klein H (2008) Mechanism of eukaryotic homologous recombination. *Annu Rev Biochem* 77: 229–257
- Schwacha A, Kleckner N (1997) Interhomolog bias during meiotic recombination: meiotic functions promote a highly differentiated interhomolog-only pathway. *Cell* 190:1123–1135

- Sehorn MG, Sigurdsson S, Bussen W, Unger VM, Sung P (2004) Human meiotic recombinase Dmc1 promotes ATP-dependent homologous DNA strand exchange. *Nature* 429:433-437
- Shinohara A, Ogawa H, Ogawa T (1992) Rad51 protein involved in repair and recombination in *S. cerevisiae* is a RecA-like protein. *Cell* 69:457-470
- Shinohara A, Ogawa H, Matsuda Y, Ushio N, Ikeo K, Ogawa T (1993) Cloning of human, mouse and fission yeast recombination genes homologous to RAD51 and recA. *Nat Genet* 4:239-243
- Shinohara M, Oh SD, Hunter N, Shinohara A (2008) Crossover assurance and crossover interference are distinctly regulated by the ZMM proteins during yeast meiosis. *Nat Genet* 40:299-309
- Sonoda E, Sasaki MS, Buerstedde JM, Bezzubova O, Shinohara A, Ogawa H, Takata M, Yamaguchi-Iwai Y, Takeda S (1998) Rad51-deficient vertebrate cells accumulate chromosomal breaks prior to cell death. *EMBO J* 17:598-608
- Sung P (1994) Catalysis of ATP-dependent homologous DNA pairing and strand exchange by yeast RAD51 protein. *Science* 265:1241-1243
- Symington L S (2002) Role of RAD52 epistasis group genes in homologous recombination and double-strand break repair. *Microbiol Mol Biol Rev* 66:630-670
- Szostak JW, Orr-Weaver TL, Rothstein RJ, Stahl FW (1983) The double-strand-break repair model for recombination *Cell* 33:25-35
- Tsuzuki T, Fujii Y, Sakumi K, Tominaga Y, Nakao K, Sekiguchi M, Matsushiro A, Yoshimura Y, Morita T (1996) Targeted disruption of the Rad51 gene leads to lethality in embryonic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:6236-6240
- West SC (2003) Molecular views of recombination proteins and their control. *Nat Rev Mol Cell Biol* 4:435-445
- Yoshida K, Kondoh G, Matsuda Y, Habu T, Nishimune Y, Morita T (1998) The mouse RecA-like gene Dmc1 is required for homologous chromosome synapsis during meiosis. *Mol Cell* 1:707-718
- Yu X, Jacobs SA, West SC, Ogawa T, Egelman EH (2001) Domain structure and dynamics in the helical filaments formed by RecA and Rad51 on DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:8419-8424
- Zhou Y, Caron P, Legube G, Paull TT (2014) Quantitation of DNA double-strand break resection intermediates in human cells. *Nucleic Acids Res* 42:e19