# DNA 복제와 DNA 수복에 관여하는 Eukaryotic DNA polymerase 유전자군

1957년 진핵생물의 DNA polymerase로서 최초로 pol α가 발견되었으며, 약 10년 후 pol β, pol γ가 발견되었다. 초기에는 pol α 가 핵내 DNA 복제, pol β가 DNA 수복, pol γ가 미토콘드리아 DNA 복제에 각각 관여하는 것으로 단순히 생각되었으나, 1980년대에 새롭게 pol δ, pol ε이 핵내 DNA 복제에 관여하는 것으로 밝혀져, 하나의 DNA 대사경로에 하나의 polymerase가 관여한다는 공식이 더 이상 성립되지 않게 되었다. 게다가 최근 몇 년 동안 적어도 10여개의 신규 DNA polymerase가 발견되었다. 신규 DNA polymerase가 주형 (template) 손상부위를 회복하고 DNA를 합성하거나 면역 글로불린 유전자의 다양성을 획득하는 수단 중 하나인 체세포 돌연변이에 관여한다는 것이 밝혀진 것은 획기적인 발견이었다. 본 고에서는 고전적인 DNA polymerase와 신규 DNA polymerase로 나눠 살펴보겠다.

## 서론

DNA를 주형 (template)으로 하여 DNA를 합성하는 DNA 의존성 DNA polymerase는 그 기능에 따라 ① 복제 DNA polymerase, ② 수복 DNA polymerase로 분류할 수 있는데, 뒤에서 소개하는 신규 polymerase는 이 두 가지 기능을 모두 가지고 있다. 한편 DNA polymerase는 아미노산의 1차 배열 및 3차 구조의 유사점에 따라 6가지 group으로 분류할 수 있다. 즉, 대장균의 pol I를 대표하는 A family, pol II로 대표되는 B family, pol III의 αsubunit으로 대표되는 C family, 고세포 (古細胞) pol II로 대표되는 D family, 진핵생물의 pol β로 대표되는 X family, UmuC/DinB/Rev1/Rad30 super family로 이루어진 Y family이다. 이 중 진핵생물에 존재하는 것은 A, B, X, Y의 4종류이다 (표 1).

## Ⅰ. DNA 복제에 관여하는 DNA pol α, δ, ε 및 DNA pol γ

### 1. 1차 구조 및 3차 구조의 유사점

진핵생물의 핵 DNA를 복제하는 polymerase인 DNA pol α, δ, ε은 모두 B family에 속하며, 미토콘드리아 DNA를 복제하는 pol γ는 A family에 유래한다. B family의 polymerase 유전자군에는 아미노산 1차 배열이 잘 보존된 I 에서 VI까지의 6개 영역이 관찰되며, N말단부터 IV, II, VI, III, I, V 순서로 존재한다. N 말단에 존재하는 영역 IV는 proof-reading 기능에 관여하는 3' →5' exonuclease 활성을 지닌다. B family polymerase 입체구조 해석에서 효소활성 중심을 구성하는 도메인은 대장균의 pol I이나 HIV (Human Immunodeficiency Virus)의 역전사 효소까지 반복되고 있어, 이들 polymerase가 공통의 prototype에서부터 진화해 왔음을 알 수 있다[1]. 본 고에서는 핵 DNA를 복제하는 DNA pol α, δ, ε에 대해 알아본다.

### 2. pol α

pol α는 4종류의 subunit으로 구성된 tetramer로 가장 큰 분자량을 가지는 subunit이 polymerase 활성을 지닌다. 나머지 3개의 subunit 중 2개는 DNA primase 활성을 지니며, 마지막 B subunit에서는 효소 활성이 검출되지 않는다.

pol α는 primase와 복합체를 만드는 것에서 예상할 수 있듯이 DNA 복제 기점에서 복제 개시 복합체를 형성한다. pol α/primase는 약 10염기의 RNA와 그것을 연결하는 20 ~ 30염기의 DNA를 합성할 수 있다. 이렇게 합성된 염기 primer로부터 pol δ, pol ε이 leading strand 및 lagging strand를 신장시킨다. 이 polymerase switch (pol switch)는 RF-C (replication factor C)와 ATP 결합에 의해 제어되고 있다고 RF-C 구조해석을 통해 예상된다 (그림 1). RF-C는 5종류의 subunit으로 이루어진 pentamer로, ATP 비결합 상태에서는 마치 엄지손가락과 검지 손가락을 U자형으로 한 구조를 만드는데, ATP가 결합하면 손가락이 더 벌어진 C자형 구조로 변한다. RF-C의 구조변화에 따라 고리 구조를 한 PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen) 복합체가 RF-C와 상호작용함으로써 고리의 일부가 열려 PCNA가 DNA에 붙게 된다. PCNA는 pol δ 및 pol ε과 상호작용 하므로 결과적으로 이 두개의 신장용 polymerase가 DNA에 결합하게 된다. RF-C는 PCNA를 DNA에 붙인 후 자신의 ATPase 활성에 의해 다시 구조변화를 유발하여 DNA로부터 분리된다. 이러한 pol switch는 leading strand에서는 복제 기점의 수만큼, lagging strand에서는 Okazaki fragment의 수만큼 일어나는 것으로 생각된다. 이 밖에 pol α의 특징으로는 다른 복제 DNA polymerase와 달리 스스로 교정기능을 갖고 있지 않다는 점을 들 수 있다. 그러나 RP-A (replication protein A)와 결합함으로써 잘못된 염기가 합성될 확률이 크게 줄어든다는 것이 생화학적으로 증명되고 있다.

표1. 진핵생물의 DNA polymerase

| 분류 | 그리스어 | 별명 | 클래스 | 기능 |
|---|---|---|---|---|
| 고전적 DNA polymerase | α (alpha) | - | B | DNA 복제 개시, 상동 DNA 수복 |
| | β (beta) | - | X | BER γ |
| | γ (gamma) | - | A | 미토콘드리아 DNA 복제 |
| | δ (delta) | - | B | 핵 DNA 복제, BER, NER, MMR, 상동 DNA 수복 |
| | ε (epsilon) | - | B | 핵 DNA 복제, BER, NER, 상동 DNA 수복, 체크포인트 제어 |
| 신규 DNA polymerase | ζ (zeta) | Rev3/Rev7 | B | 손상부위를 수복하는 DNA 합성 (mismatch primer로부터의 신장), 체세포 돌연변이 |
| | η (eta) | polV,Rad30A | Y | 손상부위를 수복하는 DNA 합성, 체세포 돌연변이 |
| | ι (iota) | Rad30B | Y | 손상부위를 수복하는 DNA 합성, 체세포 돌연변이 |
| | κ (kappa) | DinB1 | Y | 손상부위를 수복하는 DNA 합성 |
| | - | Rev1 | Y | dCMP 전이효소, 탈염기 부위를 주형으로 하는 DNA 합성 |
| | θ (theta) | - | A | crosslinker로부터의 DNA 회복 |
| | λ (lambda) | - | X | BER |
| | μ (mu) | - | X | 기능이 알려지지 않음 |
| | σ (sigma) | Trf4 | X | 자매염색분체 copy zone 부위의 DNA 복제 |
| | ψ (phi) | pol5 | B | 필수 유전자이지만 DNA 복제에는 필요하지 않다 (출아효모) |

pol α/primase는 세포 주기에 의존한 인산화가 일어나고 있다. 특히, 효소 활성이 없는 B subunit은 출아효모에서는 S기 처음부터 M기를 벗어날 때까지 인산화 되어 pol α/primase의 활성을 조절한다. 또한, pol α/primase는 S기가 시작될 때 이상하게도 M기로 들어가는 것을 막기 위한 S/M기 check point에 관여한다. Check point 유도에는 *de novo* DNA 합성이 아닌 primase에 의한 RNA primer 합성이 중요한 것으로 보인다.

### 3. pol δ

복제 DNA polymerase 중에서 종간에 pol δ가 가장 잘 보존되어 있다. 포유류에서는 4개의 subunit으로 구성되며, dimer 구조를 취하고 있다. 앞에서도 언급했듯이 pol δ는 pol α/primase가 합성한 염기 primer를 토대로 하여 PCNA와 상호작용 하면서 긴 DNA를 합성한다. pol δ가 dimer를 구성함으로써 leading strand와 lagging strand 복제가 서로 보완되는 것으로 생각된다. pol δ는 pol ε처럼 3' →5' exonuclease 활성도 갖고 있어 DNA 합성 충실도 (fidelity)가 매우 높다. 실제로 exonuclease 활성을 지닌 영역에 변이가 생기면 염색체 DNA에 다수의 변이가 축적되어, 돌연변이 쥐에서는 고비율로 암이 발생한다. pol δ는 S기에 가장 많이 인산화되어 cyclin 의존성 kinase와의 상호작용하는 것이 보고되고 있다.

### 4. pol ε

pol ε는 모든 효모에서 하나의 큰 subunit과 세 개의 작은 subunit으로 이루어진 hetero tetramer를 구성한다. 작은 subunit 중 하나는 dimer를 만드는 능력이 있으므로 pol δ처럼 dimer의 polymerase 형성이 가능하다. 유전학적 · 생물학적 실험결과로 볼 때 pol ε가 DNA 복제에 관여하는 것은 틀림없다. pol ε는 pol δ에 비해 신장반응 연속성이 높아, pol ε이 leading strand을, pol δ가 lagging strand 합성을 담당할 것으로 예상된다.

그러나 출아효모에서는 pol ε의 효소활성에 중요한 N 말단의 보존영역을 결실시켜도 세포가 생존한다는 보고는 이 가설과 모순 된다. 그렇다면 pol ε의 존재 의의는 무엇일까? 그 답은 C 말단 영역에서 찾을 수 있다. 분열효모에서 pol ε의 N 말단을 결실한 세포는 출아효모처럼 생존 가능하지만 DNA 손상을 대량으로 축적한다는 점과 C 말단 영역 변이에서는 정상적인 S기 check point가 기능을 하지 못하기 때문에, C 말단 영역은 DNA 합성 정지를 인식하고 그 신호를 보내는 과정에 관여하는 것으로 생각된다. 진화 과정에서 pol ε는 pol δ과는 달리 DNA 복제의 질을 모니터링 하는 sensor polymerase로서의 기능을 획득하였을지도 모른다.

## Ⅱ. DNA 수복에 관여하는 DNA polymerase

### 1. pol β

DNA는 세포 내 · 외의 다양한 원인에 의해 많은 손상을 입는다. 이러한 DNA 손상은 다양한 DNA 수복계에 의해 수복되지만, 그 중 비교적 적은 염기 손상을 수복시키는 염기 제거 수복 (base excision repair; BER)에 pol β가 활약한다. pol β는 하나의 단백질로만 이루어진 polymerase로, N 말단에는 dRP (deoxyribose phosphate) lyase 활성과 하나의 사슬로 된 DNA 결합능이 존재하며 C 말단에는 polymerase 활성이 있다. BER에 대한 자세한 내용은 다른 총설[2]에서 다루기로 하고, 치환되는 염기가 하나 (short-patch BER) 또는 여러개 (long-patch BER)에 따라 사용되는 polymerase가 달라진다 (그림 2). 어떠한 경우이든 먼저 DNA glycosylase가 손상염기를 제거한 후, 염기가 제거된 부위에 특이적인 endonuclease (AP endonuclease)가 염기가 제거된 부위 (AP측)의 5' 쪽 phosphodiester 결합을 절단한다. Short-patch BER에서는 절단부위의 5' 말단이 염기가 없는 dRP이므로, 이 상태로는 새로 합성한 고리와 결합할 수 없다. 따라서 pol β가 지닌 dRP lyase 활성으로 5' block이 제거되어 5' -OH 말단이 생겨나 ligase로 회복이 완성된다. pol β mouse 유래의 섬유아(線維芽) 세포는 MMS (methyl-methanesulfonate)에 대해 높은 감수성을 나타내는데,

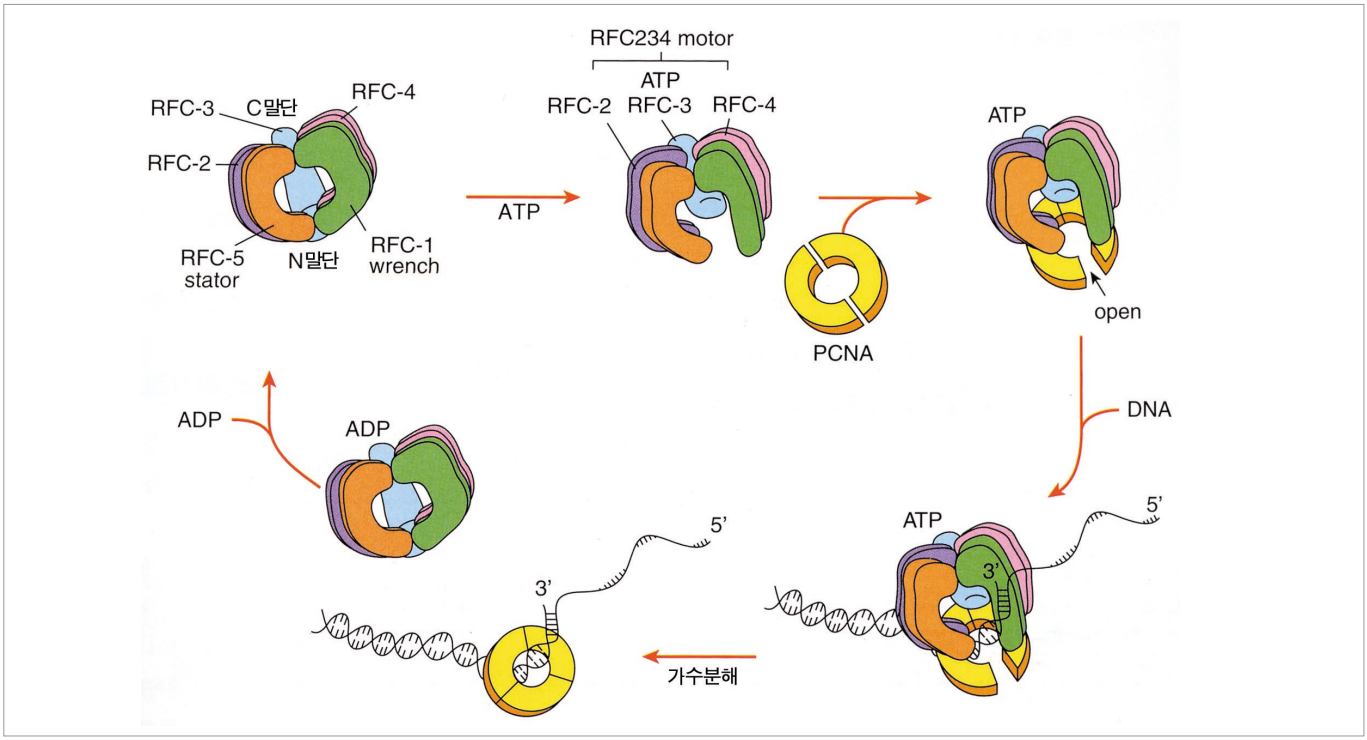



그림 1 RF-C에 의한 PCNA의 DNA에 대한 로딩
ATP가 RF-C subunit 중 RFC-234에 결합하면 RF-C subunit의 N말단이 해리된다. RF-C에 결합한 PCNA 고리는 RF-C의 구조변화에 대응하여 열 수 있다. RF-C와 PCNA 복합체는 DNA에 결합하면 ATP를 가수분해하여 RF-C는 본래의 구조로 되돌아가 DNA로부터 해리된다. PCNA는 DNA 상에서 닫히거나 고리 구조로 바뀌어 남게된다.
O' Donnell M, et al:Curr Biol(2001)11:R935-946에서 변경.

pol β의 dRP 리아제 활성만 회복되면 감수성 항진은 거의 정상화 된다[3]. 그 결과 BER에서의 polymerase 활성은 다른 polymerase로 대용이 가능하지만 pol β의 dRP lyase 활성은 필수임을 암시한다. 한편 long-patch BER에서는 손상염기를 포함해 2~6 nucleotide가 바뀌는데, 주로 pol δ또는 pol ε이 DNA 합성에 관여한다. DNA 복제시와 마찬가지로 RF-C, PCNA를 필요로 하므로 PCNA 의존성 경로라고도 불린다. 최근 pol β도 이 경로에 관여한다는 실험결과가 있어, 생물에 있어 BER이 얼마만큼 중요하며 백업 경로를 얼마나 잘 발달시켜왔는가를 엿볼 수 있다.

### 2. 그 밖의 DNA polymerase에 의한 DNA 수복

pol δ또는 pol ε는 앞에서 언급한 long-patch BER 뿐 아니라 nucleotide 제거 수복 (nucleotide excision repair; NER)에서의 DNA 합성에 관여한다. Mismatch 수복에서는 pol δ가 DNA를 합성한다. 이 밖에 유전학적 실험 중 적어도 출아효모에서는 DNA의 double strand 절단 후의 상동 DNA 재조합 수복에 세 개의 복제 DNA polymerase가 관여하고 있음을 암시하고 있다[4].

## III. 손상 극복 DNA를 합성하는 신규 DNA polymerase 군

### 1. 손상 극복 DNA 합성

생물은 다양한 DNA 손상에 대응할 수 있는 DNA 수복계를 가지고 있다. 그렇지만 염색체가 복제되기 전에 모든 손상이 수복되는 것은 아니다. 복제 folk가 아직 회복되지 못한 손상 부위를 만나면 통상의 pol δ나 pol ε는 DNA 손상을 회복하지 못하고 복제가 저해되어 DNA gap이나 절단이 일어나 세포가 죽게 된다. 이런 현상을 피하기 위해 대장균에서 사람에 이르기까지 생물은 복제 후 수복기구를 만들어 왔다. 복제 후 수복에는 손상을 변화시키는 DNA 합성과 상동 DNA 재조합의 2가지 경로가 있다 (그림 3). 최근 몇 년간 고전적 DNA polymerase 이외에 다양한 생물종으로부터 여러 가지 DNA polymerase가 보고되어 왔다 (표 1). 그 중에서도 Y family (X 다음의 Y, 또는 그 존재 의의가 Why?)로 분류되는 polymerase group은 ① 손상 부위를 수복하여 DNA를 합성할 때 새로 부가되는 nucleotide와 주형 염기와의 특이성이 반드시 일치하지는 않는다. ② 그 결과, 손상을 수복하는 합성 활성을 지닌 DNA polymerase는 모두 정상 염기를 주형으로 했을 때의 fidelity (DNA 합성의 정확성)보다 매우 낮다, ③ processivity (개시된 DNA 합성이 얼마나 연속적으로 일어날 수 있는가)가 매우 낮다고 하는 공통된 성질을 갖고 있다[5]. 아마도 손상에 의해 복제 folk가 block되면 손상을 수복하는 합성 polymerase가 몇 개의 염기로 이루어진 짧은 DNA 합성을 수행하여 손상을 수복한 후, 바로 복제 polymerase로 진행되는 것으로 생각된다. 생물이 여러 개의 손상을 수복하는 DNA polymerase를 준비하는 것은 아래에서 언급한 것처럼 손상 종류에 따라 구분하기 위해서인 듯 하다.

### 2. pol η

pol η은 쥐, 사람, 닭, 초파리, 효모에서 homologue로 보고되고 있으며, 사람에 있어서 homologue는 색소성 건피증 변형 type의 책임유전자 (XP-V 유전자)로서 hanaoka 박사 그룹이 관찰하였다[6]. 나중에 XP-V 유전자 산물은 출아효모의 Rad30 유전자가 암호화하는 pol η로서 사람의 homologue인 것으로 밝혀졌다[7]. XP-V 환자에서는 이 유전자 변이에 의해 일광 과민성, 피부암이 매우 많이 발생한다. 이것은 pol η이 자외선에 의해 생긴 DNA 손상부위를 정확히 수복하여 DNA를 복제함을 나타내준

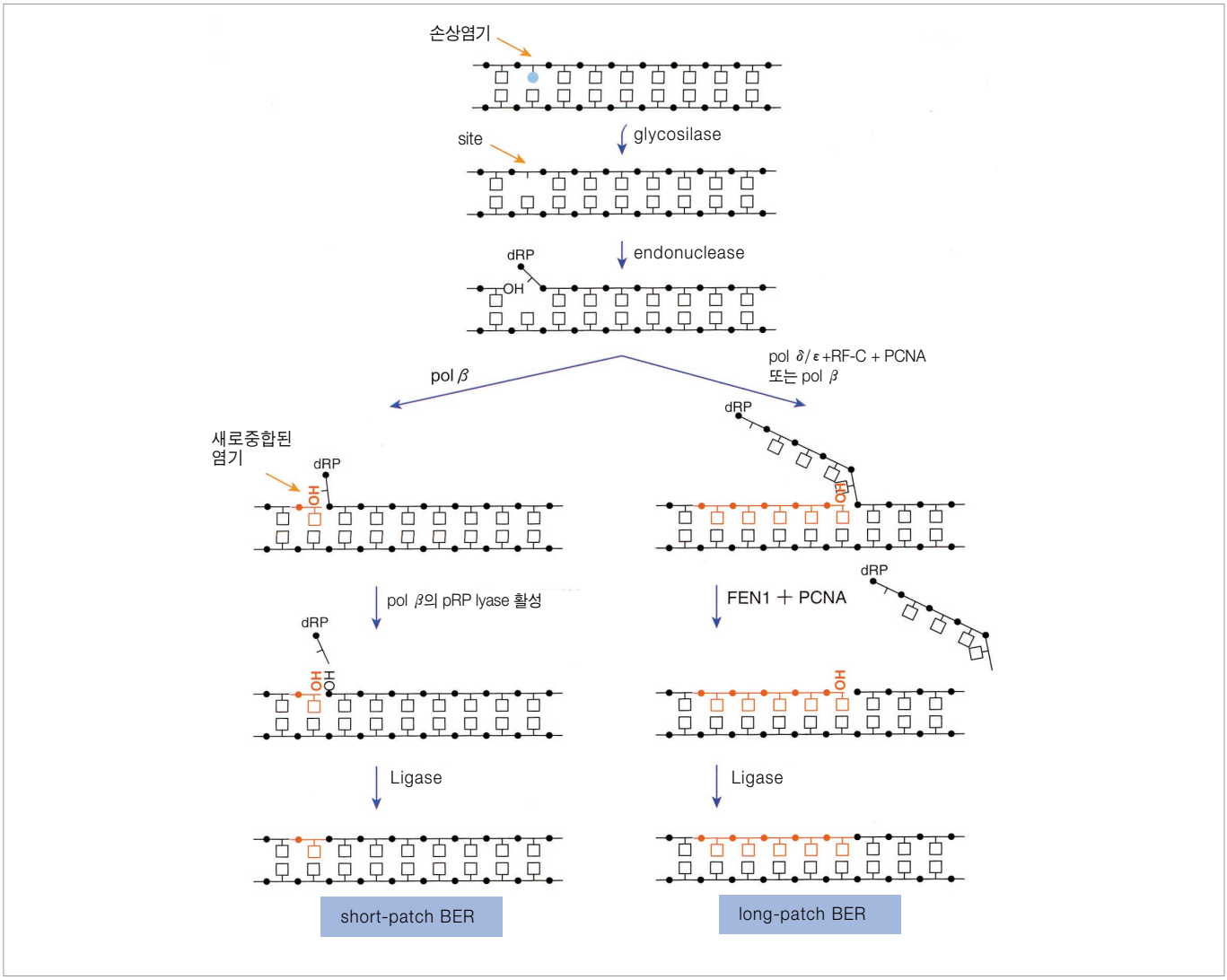



그림 2 진핵생물의 염기 제거 수복 경로
정상적인 염기를 □, 손상염기를 ●, DNA strand의 인산 골격을 ●으로 나타내었다. 적색 구조는 새로 중합된 염기를 나타낸다. 여기에서는 간략히 AP endonuclease 활성이 없는 1가성 DNA glycosilase의 경우만 나타내었다. long-patch BER에서는 5' dRP는 nucleotide와 함께 FEN1 (flap endonuclease)에 의해 제거된다.

다. 자외선에 의한 주요 DNA 손상에는 바로 옆에 존재하는 pyrimidine 염기가 corss-link된 cyclobutane형 pyrimidine dimer (CPD)와 (6-4) 광산물이 있으며, pol η은 CPD를 수복할 수 있지만 다른 쪽 손상인 (6-4) 광산물은 수복하지 못한다. 자외선에 의한 DNA 손상은 NER로도 수복되지만, 그 발생 빈도수가 많아 NER만으로는 수복이 어려워 많이 발생하는 CPD 처리를 pol η도 담당하고 있으므로 양자는 역할을 잘 분담하고 있는 것으로 보인다. pol η은 자외선에 의한 DNA 손상 뿐 아니라 cisplatin에 의한 손상, AAF (N-2-acetylaminofluorene) 부가체, O6-methylguanine 등에 대해서도 올바른 염기 도입을 가능하게 한다. pol η 자신은 exonuclease 활성, 즉 proof-reading 기능이 없으므로 잘못된 염기가 도입된 경우는 DNA 합성을 정지하고, 다른 exonuclease가 교정을 하여 돌연변이를 피한다. pol η은 이상과 같은 DNA 손상에 대해서는 error-free이지만, 8-oxoguanine, benzopyrene 부가체, 탈 염기 부위를 수복할 경우는 잘못된 염기를 도입할 경우가 있다 (error-prone).

pol η은 S기에 복제 folk에 모이며, 자외선을 조사시키면 복제 folk에 축적된다. 이러한 pol η이 축적되어 있는 곳에서는 C 말단 영역이 중요하며, XP-V 환자의 유전자에서는 이 영역에 변이가 발견되기도 했다. C 말단에는 PCNA 결합영역이 있으며, PCNA는 RF-C, RP-A 공존 하에서 pol η의 활성을 높여준다.

### 3. pol κ

pol κ는 대장균에서의 손상 수복 polymerase의 일종인 pol IV (DinB)로 진핵세포에 있어서의 homologue이다. 분열효모, 닭, 쥐, 사람에 존재하지만 출아효모나 초파리에는 존재하지 않는다[8].

손상되지 않은 DNA를 주형 (template)으로 했을 경우, 변이 도입빈도가 $10^{-3}$~$10^{-4}$로 높으며, T의 주형에 대해 C를 도입하는 경향이 강하므로 T→G의 변이 type 염기 치환이 일어나기 쉽다. 이외에 염기 결실에 따른 frame shift 변이를 일으키기 쉽다는 것도 특징이다. 손상 DNA에 대해서 pol κ는 pol η과 마찬가지로 DNA 손상 종류에 따라 error-free 또는 error-prone 중 어느 하나의 경로로 극복한다. 염기 탈락 부위나 8-oxoguanine에 대해서는 A가 우선적으로 들어가 error-prone이 되지만, benzopyrene 부가체에 대해서는 error-free로 기능을 한다. AAF에 의한 DNA 손상일

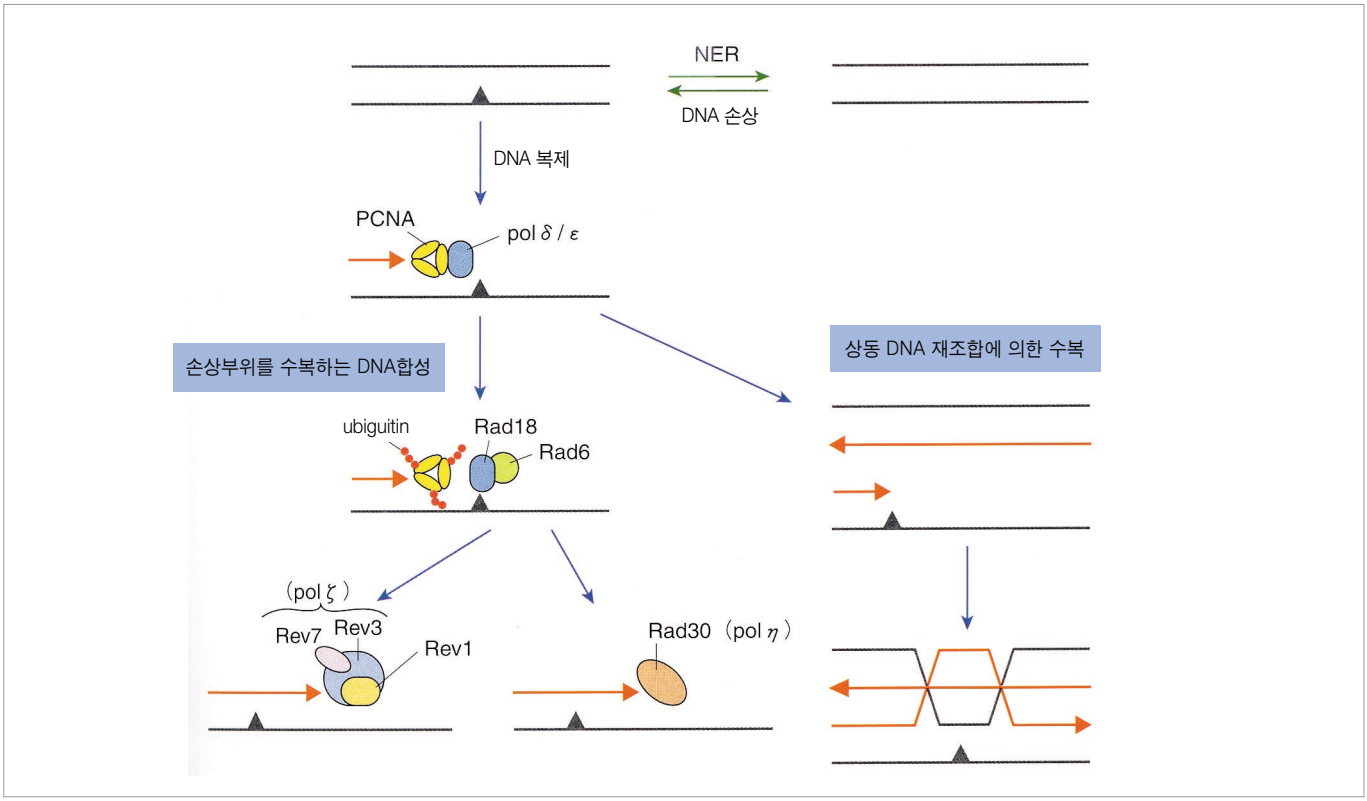



그림 3 DNA 손상 복제에 따른 회복 메커니즘
DNA 손상을 ▲로 나타낸다. DNA를 복제하지 않을 때는 DNA 손상은 염기 제거 회복 (NER)에 의해 회복되지만, DNA 복제가 시작되면 복제 folk가 손상부위에서 일어나 죽게 된다. 복제 folk 진행은 손상부위를 수복하는 DNA 합성 또는 상동 DNA 재조합 수복에 의해 재개된다. 이 그림에서 나타내듯이 효모의 경우는 손상부위를 수복하는 DNA 합성 경로가 모두 Rad6/Rad18 down stream에 있지만, 척추동물에서는 모든 손상부위를 수복 DNA 합성이 Rad6/Rad18에 의존하는 것은 아니다. 자세한 것은 본문 참조.

경우는 약간 복잡하여 G에 부가된 AAF 대사산물에 따라서는 C가 들어가기도 하고 (error-free) T가 들어가기도 (error-prone) 한다. 그러나 정제된 pol κ에서는 자외선에 의한 DNA 손상이나 cisplatin이 부가된 염기는 극복할 수 없다.

또한 pol κ발현은 benzopyrene 등 DNA 손상을 일으키는 물질에 의해 매우 교묘하게 제어되고 있음이 최근 발견되었다[9]. 다이옥신 수용체라고 불리는 transcription 활성인자는 다이옥신이나 benzopyrene과 결합하면 세포질에서 핵으로 이행한다 (그림 4). 핵에 들어간 다이옥신 수용체는 DNA 상의 다이옥신 수용체 결합부위와 결합함에 따라 특정 유전자 발현을 촉진한다. 이러한 유전자 산물의 대표로 benzopyrene 배출를 촉진하는 효소와 pol κ가 있다. benzopyrene 등 DNA 독성물질에 노출된 경우, benzopyrene의 배출을 촉진함과 동시에 benzopyrene에 의한 DNA 손상을 정확히 수복할 수 있는 pol κ가 우선적으로 작용하여 돌연변이를 막고 있는 것으로 생각된다.

## 4. pol ι

pol ι는 효모 Rad30의 또 다른 human homologue로서, Rad30B라고도 불리는 것으로 쥐, 초파리에서 동일한 homologue가 발견되고 있지만 효모나 다른 하등 진핵생물에는 존재하지 않는다. 이 밖에 닭에서도 현재까지 homologue는 발견되지 않았다. 정제한 사람의 pol ι는 탈염기 부위 반대측에 주로 G를, AAF 부가 guanine 반대 측에 주로 C를 넣는 활성이 검출되고 있지만, 그 이후의 DNA 신장은 불가능하다. 그러나 최근 제창되고 있는 2단계로 손상 부위를 수복하는 DNA 합성 모델에 따르면[12] 손상부위 이후의 strand 신장을 pol ζ (후술)이 담당할 가능성이 있다 (그림 5).

pol ι는 손상되지 않은 DNA에 대해 T 반대 측에 올바른 염기인 A보다 오히려 G를 더 효율적으로 도입하는 경향이 있다. pol β와 마찬가지로 dRP lyase 활성이 있어 BER에 관여할 가능성이 있다. 이 두 가지 특징에 의해 pol ι은 오히려 변이를 억제하는 경우가 있다[13](그림 6). 예를 들면 C가 5MeC와 같은 수식을 받으면 탈아미노화되어 T로 변한다. 그 결과 생긴 G-T mismatch pair의 G는 mismatch에 작용하는 DNA glycosilase에 의해 제거된다. 여기에 pol β가 작용하면 G로부터 A로의 염기 치환이 일어나는데, pol ι는 T 반대 측에 A보다 G를 더 많이 도입하므로 다른 경로에서 T가 제거되어 C로 치환될 때까지 올바른 유전정보를 유지할 수 있다.

## 5. pol ζ 및 Rev1

출아효모에서 자외선 조사 후의 복귀 돌연변이율이 야생형보다 낮은 변이주로서 rev1, rev3, rev7이 보고 되었으며, 그 후 각각의 변이를 보상하는 유전자 Rev1, Rev3, Rev7이 관찰되었다. 즉, 이들 유전자는 돌연변이를 유발하는 작용이 있다. 3개의 유전자는 모두 효모에서 닭, 쥐, 사람까지 상동유전자가 존재한다. Rev1은 대장균에서 손상부위를 수복하는 DNA 복제에 관여하는 UmuC (pol V의 subunit)와 부분적으로 상동성이 있지만, 그 외에는 N 말단에 BRCT 도메인을, C 말단에는 Rev1 특이적인 영역을 지닌 단백질이 있다. BRCT 도메인은 세포 주기 checkpoint나 DNA 회복과 관련된 단백질에서 종종 보이는 서열로, 단백질간 상호작용에 관여하는 것으로 여겨진다. Rev1의 DNA polymerase 활성은 주형의 G에 의존해 primer의 3' 단에 C를 중합시키는 dCMP 전이효소이지만, 주형이 탈염기 부위인 경우보다 높은 활성을 나타낸다.

Rev3은 1차구조부터 B family에 속하는 몇몇 polymerase와 상동성이 있

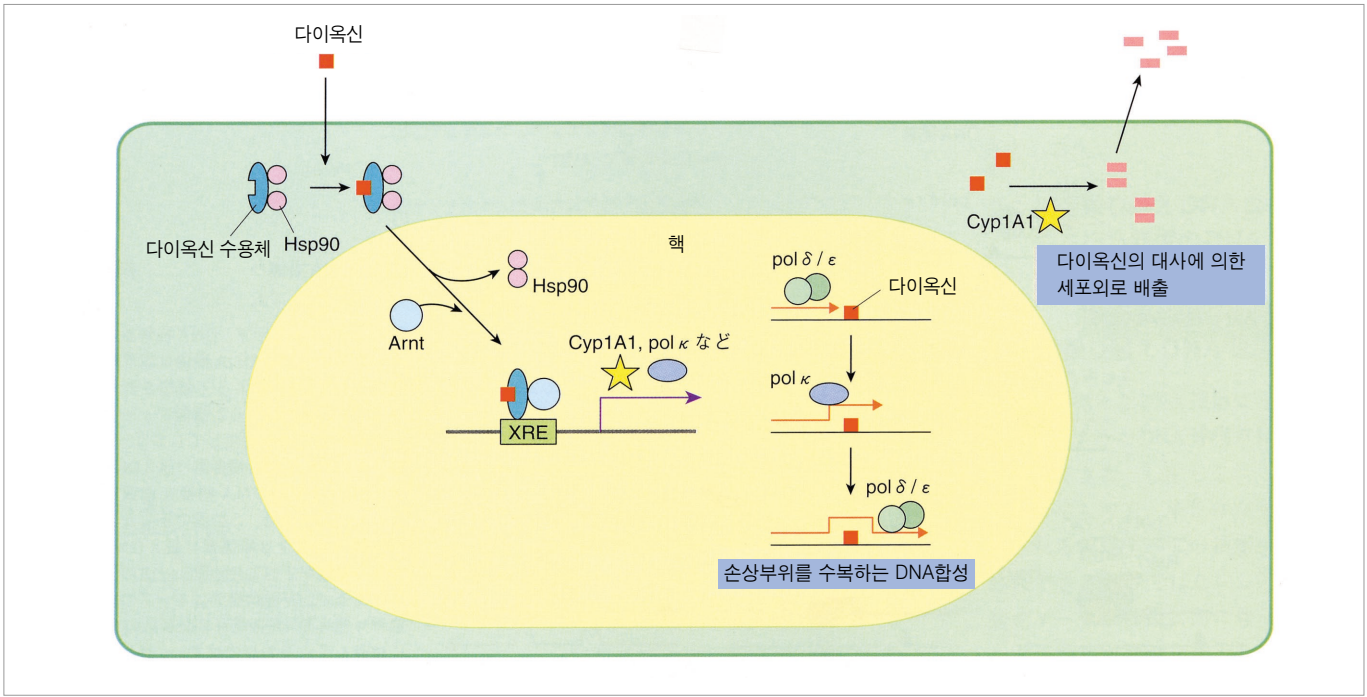



그림 4 pol κ의 다이옥신에 의한 발현 유도
다이옥신 수용체는 Hsp90과 결합해 세포질에 존재하지만, 디이옥신이 더 결합하면 핵으로 이행한다. 핵 내에서 다이옥신 수용체는 Arnt (arylhydrocarbon receptor nuclear translocator)와 복합체를 형성하며, DNA 상의 XRE (xenobiotic responsive element) 배열에 결합한다. XRE 서열은 pol κ나 Cyp1A1 유전자 상류에 존재하며, 다이옥신 수용체 결합에 의해 transcription가 촉진된다. pol κ는 손상 극복 DNA 합성에, Cyp1A1은 다이옥신을 대사하여 세포 밖으로의 배출을 촉진한다.

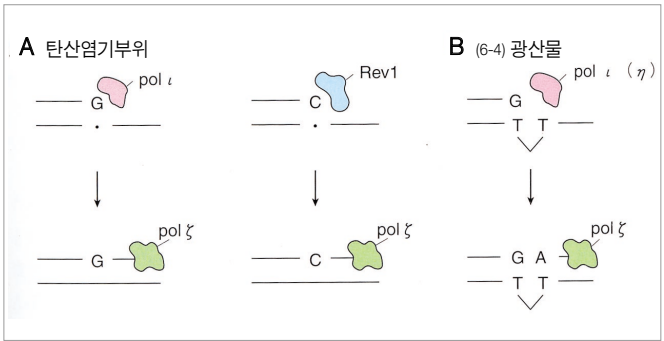



그림 5 손상 극복 DNA 합성의 2단계 모델
A: 탈염기 부위 반대 측에 pol ι는 G를, Rev1은 C를 부가할 수 있지만, 그 후 DNA 합성은 중단되어 버린다. 그러나 pol ζ가 존재하면 DNA 신장이 효율적으로 이루어진다.
B: 자외선에 의한 (6-4) 광산물의 경우도 pol ι 또는 pol η이 처음 염기를 도입한 시점에 DNA 합성이 중단되지만 (이 경우는 G-T의 mispair), pol ζ는 mispair의 primer 말단에서도 DNA 신장 반응을 실시할 수 있다.
A; adenine, C; cytosine, G; guanine, T; thymine, ·; 탈염기 부위

으며, 정제한 Rev3에서 polymerase 활성이 검출되었다. Rev3 단독으로는 매우 약한 활성이었지만, Rev7과 복합체를 형성하면 수십배의 활성 증가를 보이므로 Rev3/Rev7 복합체는 pol ζ로 명명되었다. pol ζ는 3'→5' exonuclease 활성은 없으며, 자외선 조사에 따른 DNA 손상 중 CPD를 수복할 수는 있지만 활성은 매우 약하다. Rev1는 단독으로는 탈염기 부위 반대측에 dCMP를 부가하지만 탈염기 부위의 5' 측이 G일 경우 그 이후의 DNA 신장 반응은 일어나지 않는다. 그러나 pol ζ가 공존하면 신장반응이 효율적으로 일어난다. 또한 pol ι 단독으로는 자외선 조사에 의해 주형에 발생한 (6-4) thymine dimer 광산물의 최초의 T를 수복한 시점에 DNA 합성반응이 멈춰버리지만, pol ζ가 존재하면 효율적으로 신장이 이루어진다. 따라서 pol ζ은 손상 극복 DNA 합성에서 손상부위에 mismatch한 염기가 도입된 후의 primer 끝으로부터 DNA를 효율적으로 신장시키는데 오히려 중요한 역할을 하고 있는 것으로 생각된다 (그림 5). pol ζ이 proof-reading 기능을 갖고 있지 않은 것이 이 점에서는 오히려 유리해진다. 최근 사람 Rev7은 Rev1과도 결합한다는 보고가 있어, 이 2단계 모델을 지지하고 있다[14].

효모에서 Rev3 유전자는 생존에 필수가 아님에도 불구하고 Rev3 knockout 쥐는 치사당했다[15)-17)]. 쥐에서는 손상 극복 DNA polymerase가 태자기의 세포증식에 중요한 기능을 하고 있을지도 모른다.

## Ⅳ. 그 밖의 신규 DNA polymerase

### (1) pol ζ

출아효모에서는 Trf4 유전자에 암호화된 필수유전자. 또 하나의 상동유전자 Trf5, 자매염색분체의 결합 (cohesion)에 관여하는 Smc1과 복합체를 만든다. pol σ는 결합 부위의 pol δ/ε과 같이 DNA 합성의 역할로 추정된다.

### (2) pol ψ

출아효모의 pol 5 유전자에 암호화 된 필수유전자. Error-free polymerase 임에도 불구하고 3'→5' exonuclease 활성이 없다. 또한 염색체 DNA 복제에는 필수가 아니다. 상동유전자는 분열효모에도 의존하지만, 다른 진핵생물에서는 아직 관찰된 바 없다.

### (3) pol λ

pol β와 상동성이 있는 polymerase로, pol β처럼 dRP lyase 활성이 있으며, BRCT 도메인을 지닌다. 정소에 다수 존재하며, 감수분열 시의 DNA 수복 (특히 BER)에 관여할 가능성이 있다.

### (4) pol θ

Cross-linker에 의한 DNA 손상 수복기능이 제창되고 있다.

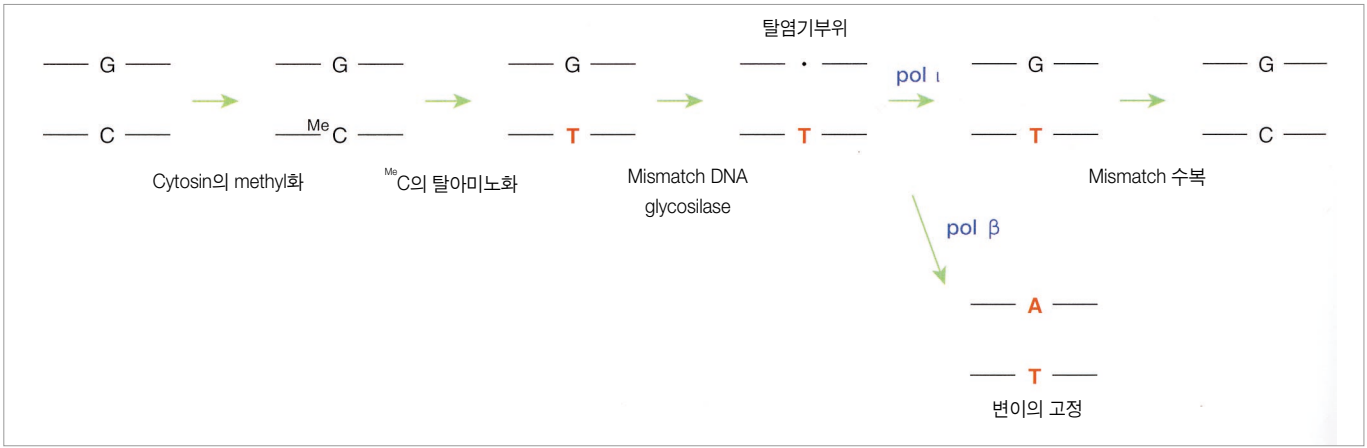



그림 6 pol ι에 의한 변이 억제
pol ι는 어떤 상황에서는 변이 도입을 억제할 경우가 있다. 예를 들면 C가 methyl화 되면 methylcytosine이 되며, 탈아미노화되어 T로 변한다. 여기에서 mismatch DNA glycosilase에 의해 G가 제거된 후 BER 경로에서 pol β가 기능한 경우는 A가 부가되어 변이가 고정되어 버린다. 그러나 BER 경로에서 pol ι의 dRP lyase 활성이 사용된 경우는 탈염기 부위에 G가 도입되므로 mismatch 수복이 작용해 본래 염기로의 복귀 가능성이 남는다.
A; adenine, C; cytosine, G; guanine, T; thymine, MeC; methylcytosine

### (5) pol μ

Terminal Transferase (DNA 합성에 주형을 필요로 하지 않음)와 상동성이 있으며, 주형이 되는 염기의 존재에 의해 효소활성이 촉진된다. 말초임파 조직에서 많이 발현된다. BRCT 도메인을 지니지만 DNA 수복과의 관련성은 현재로서는 없다.

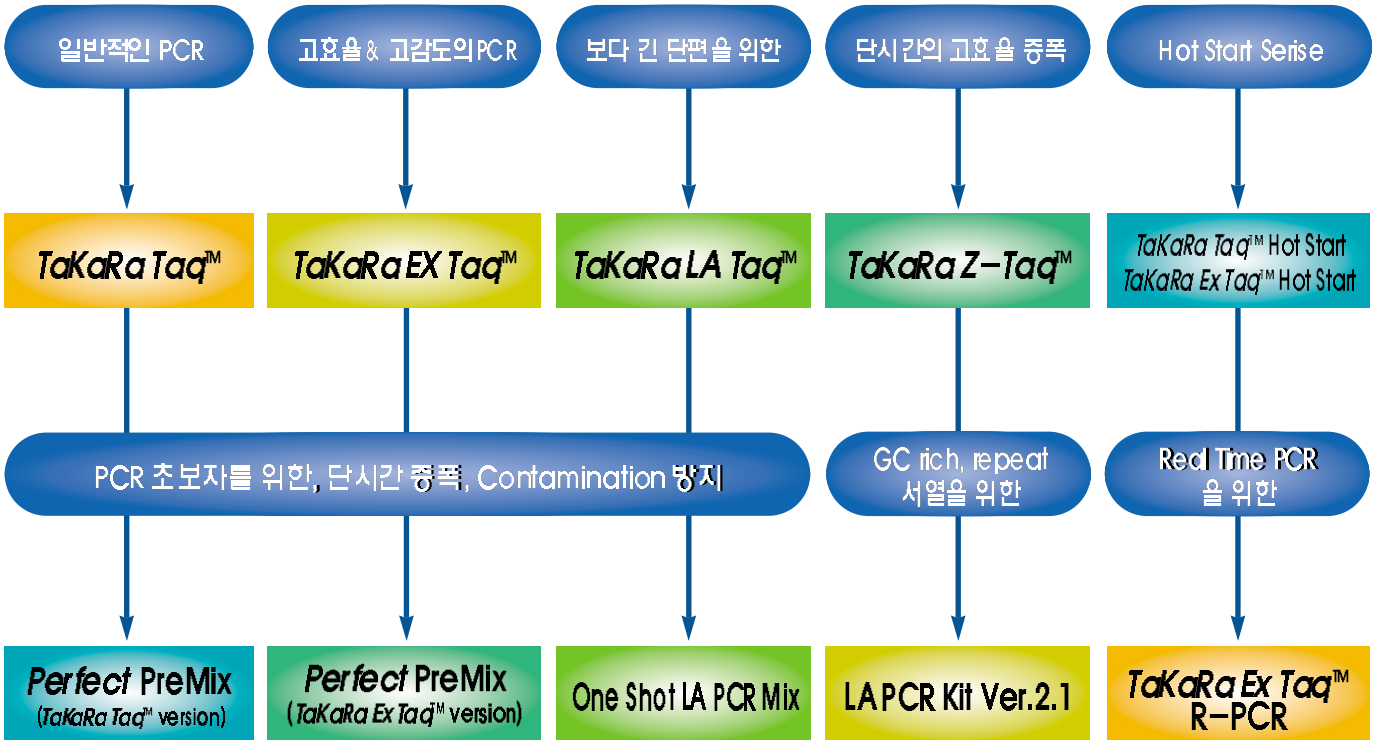
## 맺음말

다양한 생물종의 게놈 프로젝트가 진행되는 가운데 High-throughput 해석 결과, 신규 DNA polymerase가 속속 발견되어 왔다. 그러나 출아효모나 사람의 게놈 서열 해독이 이미 완료되었기 때문에 앞으로 다수의 신규 DNA polymerase가 더 발견되리라고는 생각하기 어려울 것이다. DNA polymerase 기능을 명확히 밝히기 위해서는 정제한 단백질의 효소활성 조사가 매우 중요하지만, pol κ의 예처럼 유전자 knockout 실험에서 비로서 명백해지는 사실도 있다. 개체 수준에서의 기능에 대해서는 knockout 쥐를 이용한 해석, 세포 수준에서의 기능에 대해서는 유전자 targeting이 용이한 DT40 세포를 이용한 해석이 점점 더 중요해질 것이다.

## 참고문헌

1) Franklin MC, *et al*: Cell (2001) **105**: 657-667
2) 池田正五 : 단백질 핵산효소 (2001) **46**: 916-923
3) Sobol RW, *et al*: Nature (2000) **405**: 807-810
4) Holmes AM, *et al*: Cell (1999) **96**:415-424
5) Ohmori H, *et al*: Mol Cell (2001) **8**: 7-8
6) Masutani C, *et al*: Nature (1999) **399**: 700-704
7) Johnson RE, *et al*: Science (1999) **285**: 263-265
8) Ogi T, *et al*: Genes Cells (1999) **4**: 607-618
9) Ogi T, *et al*: Genes Cells (2001) **6**: 943-953
10) Ogi T, *et al*: Proc Natl Acad Sci USA (2002) **99**: 15548-15553
11) Okada T, *et al*: J Biol Chem (2002) **277**: 48690-48695
12) Woodgate R : Mutat Res (2001) **485**: 83-92
13) Bebenek K, *et al*: Science (2001) **291**: 2156-2159
14) Murakumo Y, *et al*: J Biol Chem (2001) **276**: 35644-35651
15) Bemark M, *et al*: Curr Biol (2000) **10**: 1213-1216
16) Wittschieben J, *et al*: Curr Biol (2000) **10**:1217-1220
17) Esposito G, *et al*: Curr Biol (2000) **10**:1217-1224
18) Hoege C, *et al*: Nature (2002) **419**: 135-141
19) Tateishi S, *et al*: Mol Cell Biol (2003) **23**: 474-481
20) Yamashita YM, *et al*: EMBO J (2002) **21**: 5558-5566
21) Faili A, *et al*: Nature (2002) **419**: 944-947

# The Best PCR Enzymes




## 사용구분의 기준

| 증폭길이 | *TaKaRa Taq*™ *Pyrobest*™ DNA Polymerase | < | *TaKaRa Ex Taq*™ *TaKaRa Z-Taq*™ | < | *TaKaRa LA Taq*™ |
|---|---|---|---|---|---|
| λ DNA | | | | | |
| 권장 증폭길이 | ~6 kbp 정도 | | ~20 kbp 정도 | | ~35 kbp 정도 |
| 증폭가능 길이 | ~12 kbp 정도 | | ~30 kbp 정도 | | ~48 kbp 정도 |
| Human genomic DNA | | | | | |
| 권장 증폭길이 | ~2 kbp 정도 | | ~10 kbp 정도 | | ~20 kbp 정도 |
| 증폭가능 길이 | ~4 kbp 정도 | | ~20 kbp 정도 | | ~30 kbp 정도 |

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 정확도(fidelity) | *TaKaRa Taq*™ | < | *TaKaRa Ex Taq*™ *TaKaRa Z-Taq*™ | < | *TaKaRa LA Taq*™ | < | *Pyrobest*™ DNA Polymerase |
| 증폭효율 | *TaKaRa Taq*™ | ≒ | *Pyrobest*™ DNA Polymerase | < | *TaKaRa LA Taq*™ | ≦ | *TaKaRa Ex Taq*™ *TaKaRa Z-Taq*™ |
| 반응속도 | *TaKaRa Z-Taq*™이 *TaKaRa Taq*™ 보다 5배 더 빠르다 | | | | | | |

| 제품명 | *TaKaRa Taq*™ | *TaKaRa Ex Taq*™ | *TaKaRa LA Taq*™ | *TaKaRa Z-Taq*™ | Pyrobest™ DNA Polymerase |
|---|---|---|---|---|---|
| Code | R001 | RR001 | RR002 | R006 | R005 |

주) PCR 증폭단편의 길이가 길어질수록 필요한 주형 DNA의 양이 많아지고 또 PCR 조건도 엄밀해진다.