

크기가 큰 유전자에 대한 보다 간편한 유전자 진단 : 역전사-중합효소 연쇄반응과 직접 염기서열 분석

서울대학교 의과대학 소아과학교실

정해일, 이범희, 강주형, 강희경, 하일수, 최용

최근 유전성 질환과 연관된 많은 원인 유전자들이 알려지고 있으나, 이들 유전자 중 상당 수는 그 크기가 크고 질병과 연관된 공통된 돌연변이나 돌연변이의 호발부위가 없어, 유전자 진단의 실제 임상적 적용이 어렵다. 예를 들어 성염색체 우성 유전 Alport 증후군과 연관된 COL4A5 유전자는 전체 51개 exon으로 구성되어 있고 transcript의 크기도 5-kb에 달하며, 공통된 돌연변이나 돌연변이의 호발부위가 없다. 따라서 각 환자에서의 유전자 진단에는 전체 exon을 DNA로부터 중합효소 연쇄반응(PCR)으로 증폭한 뒤 그 산물 각각의 DNA 염기서열 분석이 필요하다. 이 경우 전체 51회의 PCR 및 102회의 염기서열 분석이 시행되어야 한다. 이러한 과정을 줄이기 위하여 PCR 산물의 single-strand conformational polymorphism (SSCP) 등 screening과정을 추가할 수 있으나, PCR-SSCP의 돌연변이 발견율은 최고 50% 정도에 불과하고 그럴 경우에도 51회의 PCR과 그에 따르는 51회의 SSCP 과정이 필요하다.

이에 대한 대안으로 연구자들은 말초혈액 유핵세포에서 분리한 RNA로부터 역전사(reverse transcription, RT) 반응으로 cDNA를 얻고, 이로부터 PCR 후 염기서열 분석을 시행하는 방법을 도입하였으며, 말초 혈액에서 발현하는 COL4A5 mRNA는 극소량이므로 이를 극복하기 위하여 nested PCR 법을 이용하였다. 이 경우 RNA 추출과 1회의 RT 과정이 추가되지만 1차 PCR 4회, nested PCR 8회 등 총 12회의 PCR과 16회의 염기서열 분석만이 필요하다.

또한 같은 방법으로 COL4A5유전자 이외에도 PHEX 유전자(저인산혈증 구루병), SLC12A3 유전자(Gitelman 증후군) 및 CLCN5 유전자(Dent 병) 등의 유전자 진단에 성공하였다.

이 방법으로 여러 유전성 질환에 대한 유전자 진단의 실용화가 가능하며, 앞으로 모근세포 혹은 요침사 세포 등에 대한 적용도 가능하리라 생각한다.