

초록번호 23-2

제 목	국 문	Multiplex PCR을 이용한 NAT1 유전자의 새로운 유전자형 조사방법		
	영 문	A novel method of NAT1 genotyping by multiplex PCR		
저 자 및 소 속	국 문	김용대, 김 현 충북대학교 의과대학 예방의학교실		
	영 문	Yong-Dae Kim, Heon Kim Dept. of Preventive Medicine, College of Medicine, Chungbuk National University		
분 야	환경	발 표 자	김용대	
발표 형식	구연	발표 시간	15분	
진행 상황	연구완료 (), 연구중 (○) → 완료 예정 시기 : 98 년 9 월			
<p>1. 연구 목적</p> <p>본 연구는 유방암의 중요한 위험인자로 알려져 있는 N-acetyltransferase(NAT1) 유전자의 다양한 유전자형을 분석하여 유방암 환자와 대조군의 분포를 알아보고 유전자형에 따른 유방암 발생의 위험도를 알아보기 위한 연구의 전 단계로서 보다 간편하고 경제적으로 유전자형을 분석할 수 있는 방법을 개발하고자 시행되었다.</p> <p>2. 연구 방법</p> <p>유방암 환자의 혈액에서 추출한 DNA를 NAT1 유전자에 특이적인 primer를 이용하여 증폭시킨 후 multiplex PCR에서의 주형으로 사용하였다.</p> <p>1) 1단계 multiplex PCR - RFLP : NAT1 유전자의 1095 위치에 점돌연변이가 일어난 NAT1*10, NAT1*14, NAT1*17과 돌연변이가 일어나지 않은 NAT1*4, NAT1*15를 구별하기 위하여 1095 위치의 염기가 서로 다른 두 개의 primer와 1088 위치에서 점돌연변이가 일어난 NAT1*10과 NAT1*14에만 특이적으로 반응하는 primer를 동시에 사용하여 PCR을 시행하였다. 증폭된 PCR 산물은 제한효소인 MseI으로 절단한 후 20% polyacryamide gel 상에서 그 단편들을 비교하여 typeI(NAT1*11), typeII(NAT1*4, NAT1*15), typeIII(NAT1*10, NAT1*14, NAT1*17)의 세군으로 분류하였다.</p>				

2) 2단계 multiplex PCR - RFLP : type II와 type III의 유전자형을 세분하기 위해서 NAT1*14와 NAT1*15에 특이적인 각각의 primer와 모든 유전자형과 반응할 수 있는 primer를 동시에 반응시켜 증폭 시킨 후 제한 효소인 *PshA* I으로 절단하여 20 % polyacrylamide gel 상에서 그 단편들을 비교하여 최종적으로 각각의 유전자형을 확인하였다.

3. 연구결과

1단계 multiplex PCR - RFLP 결과 53, 33, 25, 11 base pair의 단편을 갖는 type I 과 87, 33, 12 base pair의 type II, 그리고 62, 33, 25, 11 base pair의 type III군을 각각 확인 하였다.

2단계 multiplex PCR에서 176 base pair, 161 base pair의 증폭산물을 확인함으로써 NAT1*14와 NAT1*15를 분류할 수 있었으며 나머지 증폭산물의 RFLP 방법을 통해서 NAT1*17을 분류하였다.

4. 고찰

최근 NAT1의 다형성이 NAT 활성과 관련이 있다는 사실이 밝혀지면서 각종 유방암을 포함한 각종 질병과의 관련성에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으며 NAT1의 새로운 유전자형이 계속 보고되고 있는 추세이다.

NAT1 유전자의 유전자형 분포는 인종에 따라서도 매우 다른 분포 양상을 보이기 때문에 우리나라 사람들의 유전자형 분포를 파악하는 것도 시급한 과제로 생각되며 이를 위해서는 보다 간편하고 정확한 진단 방법의 개발은 필수적이라 하겠다.

일반적으로 다양한 NAT1 유전자형을 진단하기 위해서는 매우 많은 종류의 제한 효소로 처리를 해야하므로 많은 시간적, 경제적 손실이 뒤따른다. 본 연구가 비록 모든 유전자형에 대한 분석은 할 수 없다는 한계를 가지고 있지만 기존의 방법이 지니고 있는 이러한 불편함을 보완할 수 있는 새로운 방법이라는 점에서 매우 고무적으로 생각된다. 이 부분에 대한 연구가 더욱 보완된다면 향후 NAT1 유전자의 다형성과 각종 질환 사이의 관계를 밝히는데 매우 유용하게 이용되리라 생각되며 더 나아가 다른 여러 가지 유전자의 다형성을 확인하는데도 이용될 수 있으리라 생각된다.