

**Forensic Applicability of Short Tandem Repeat (STR)
Genotyping by Fluorescent Detection**
(형광검출법에 의한 STR marker의 유전자형 분석의 법과학적 적용성)

선 문 숙

국립과학수사연구소 법의학부 생물학과

모든 인간은 각각의 독특한 유전적 구성을 지니고 있다. 그 결과 각각의 특징적인 표현형 또는 형태적인 외관을 지니게 된다. 이러한 유전적 다형현상 (genetic polymorphism)이 이전에는 전기영동과 혈청학적 방법 등을 이용한 단백질 수준에서 분석되어 졌다. 그러나 사람의 유전자중 단백질 합성에 관여하는 exon은 전체 유전자의 10% 정도이며 대부분의 유전자 변이는 intron이나 exon의 발현을 조절하는 근접 유전자에서 많이 나타나기 때문에 단백질 수준에서 다형 연구를 통해 전체의 유전적 변이와 genome을 분석하기 어렵다. 따라서 DNA 클로닝, DNA 염기서열 분석과 제한효소 이용 방법과 같은 새로운 분자생물학적 기술의 발달과 함께 genome상에서의 유전적 변이성과 그 변이성의 원인을 규명하려는 노력이 이루어졌으며 바로 이 DNA 염기서열 자체에서 나타나는 변이를 DNA 다형현상이라고 말한다. 이러한 DNA 다형현상은 사람 genome의 연관 지도를 작성하는데에도 이용될 수 있다. 또한 유전병과 유전질환들에 대해서, 그것에 책임있는 유전자 산물이 규명되지 않았다고 해도 하나 이상의 다형성을 나타내는 DNA 마커와 질환의 유전자가 함께 연관되어 있다는 것을 설명함으로써 특정 염색체 부위에 그 질환의 유전자를 염색체 지도상에 작성할 수 있다. 반복 단위의 길이가 6 bp 이상인 것들을 minisatellite 또는 VNTR (variable number of tandem repeat)이라 하고 1-5 bp 정도까지를 microsatellite simple sequence length polymorphism 또는 STR (short tandem repeat)이라 부른다. VNTR은 주로 염색체 말단 부위에 위치하는데 비하여 STR은 genome 상에 고루 퍼져 분포하고 있다. 따라서 염색체 지도를 작성하기 위해서는 VNTR 보다 STR이 더 유용하며 또한 그 크기가 작기 때문에 손상된 DNA나 미량의 DNA로도 분석할 수 있다는 장점이 있다. 이 때문에 이러한 반복 부위들은 각 개인을 식별하는 법과학 분야에서 뿐만 아니라 인류학에서도 이용되고 있으며 친생자 확인 또는 가계 분석이나 혈연관계를 연구하는 데에도 널리 이용되고 있다. 사람 genome 내에 다수로 존재하며 높은 다형성을 나타내는 이러한 VNTR이나 STR은 현재도 계속 개발되고 있으며 더불어 그들의 유전적 특성에 대해서도 활발히 연구가 진행되어 유전자지도 작성, 의료 진단분야를 포함하여 법과학 분야에서도 유용한 마커로 이용되고 있다.

이러한 다형현상을 보이는 DNA 부위들을 분석하는 방법으로 처음에는 RFLP 방법

이 사용되었으나 PCR이 개발되면서 PCR-sequencing이나 polyacrylamide gel 전기영동을 이용한 AMP-FLP, allele-specific oligonucleotides (ASOs)를 이용한 dot-blot hybridization 등이 사용되어 왔다. 최근 Orita 등이 고안해 낸 변성된 단가닥 DNA의 구조적인 변화에 근거한 SSCP (single strand conformation polymorphism) 방법으로 많은 염기 치환에 의한 돌연변이를 검출해 내고 있다. 따라서 유전질환의 인자 규명과 mapping을 위해 그리고 법과학적인 시료의 특성에 대해 정확하고 정밀한 결과를 얻을 수 있다는 장점으로 전 염색체상에 골고루 산재해 있는 STR marker에 대해 PCR과 PAG 전기영동에 의한 연구가 현재 활발히 이루어지고 있다.

본 연구는 마커로써의 유용성이 높기 때문에 최근 많이 사용되고 있는 (dC-dA)_n (dG-dT)_n dinucleotide repeat sequence에 근거한 21개의 STR 마커들에 대해 genomic DNA를 형광으로 표식한 primer를 이용하여 증폭하고 그 산물을 672 Genescan software를 갖춘 automated sequencer를 통해 분석하는 방법으로 대립유전자와 유전자형의 빈도 분포 및 그들의 유용성 (informativeness)을 분석하여 이들 genetic marker에 대한 한국인 집단의 유전적 특성을 파악하고자 하였으며 이러한 STR 마커들의 다형현상을 개인 식별 및 친생자 확인에 적용하여 그 유용성을 평가하고자 하였다.

그 결과 증폭 산물의 크기 측정값의 평균 정확도와 정밀도는 각각 99.48%와 99.83%로 상당히 높았다. 또한 이들 STR 마커들은 한국인 집단에서 0.547 내지 0.865의 이형접합률을 나타내었으며 19개의 좌위가 0.7 이상의 높은 이형접합률을 보였다. 이들 마커들의 polymorphism information content (PIC)는 0.494 내지 0.851의 범위로 나타나며 D20S115를 제외한 20개의 STR 마커가 0.5 이상의 PIC를 보였으며 이중 17개의 마커가 0.7 이상의 PIC를 나타내어 일반적으로 (CA)_n 단위를 가진 microsatellite는 높은 유용성을 지님을 볼 수 있었다. 이러한 방법의 예민도를 평가하기 위해 일련의 희석농도의 주형 DNA로부터 증폭한 결과, 21개의 STR 마커에 대해 Genescanner상에서 형광 표식을 검출해 내기 위해 필요한 주형 DNA의 최소량은 약 0.04 ng으로 나타났다. ASOs hybridization에 의해 HLA-DQ α 좌위를 분석한 경우는 주형 DNA의 최소량이 1.6 ng으로 나타났고, AMP-FLP의 silver 염색 방법에 의해 VNTR의 DIS80 좌위를 분석한 경우는 0.5 ng으로 나타났다. 또한 심하게 분해된 10가지 시료의 주형 DNA로부터 11개의 STR 마커에 대한 유전자형의 결과를 얻을 수 있었다. 이에 비해 ASOs hybridization에 의해 HLA-DQ α 좌위를 분석하는 경우에는 8가지 시료에서, AMP-FLP의 silver 염색 방법에 의해 VNTR의 DIS80 좌위를 분석하는 경우에는 4가지 시료에 대해 유전자형의 결과를 얻을 수 있었다.

각 마커의 유전자형의 빈도와 그 분포로부터 개인 식별의 가능성을 평가해 보면, 21개의 마커에 대해 최다 빈도의 유전자형으로 구성된 개체가 발생할 빈도는 6.11×10^{11} 이었고, 최소 빈도 유전자형으로 구성된 개체가 발생할 빈도는 6.85×10^{51} 의 값을 보였으며 21개의 마커에 대해 임의의 두 개체의 유전자형이 우연히 일치될 가능성은 2.27×10^{23} 으로 나타났다. 또한 각 마커에 대한 식별력은 0.737을 나타낸 D20S115 좌위를 제외한 20개의 마커가 0.8 이상의 값을 보였다.

21개의 마커 모두 멘델식 유전 법칙에 따라 유전됨을 볼 수 있었으며, 각 마커에 대한 대립인자의 빈도로부터 산출된 친자가 아님을 확신할 수 있을 가능성을 나타내는 값 (probability of nonpaternity)을 21개의 마커에 대해 조합하면 거의 100%의 값을 보였다. 또한 친생자 관계가 배제되지 않는 한 가계에서 친생자일 가능성 (relative chance of paternity)이 10개의 STR 마커의 유전자형에 대해 거의 100%를 나타내었다.

이상과 같이 STR 좌위의 multiplex genotyping은 그 방법상에서 상당히 경제적이며 노동력을 절감하고 빠른 시간 안에 다수의 시료를 분석할 수 있는 방법으로 높은 정확성과 정밀성을 가진 분석 결과를 얻을 수 있다. 또한 얻어진 대립유전자의 빈도와 그 분포에 대한 자료들은 그 결과에 따라 유전자 지도 작성을 위한 마커로서의 특징에 대한 정보를 제공하고 한국인을 대상으로 하는 유전 질환과 유전자와의 연관성을 연구하는데 기본적인 정보를 줄 수 있는 자료가 될 것이다. 또한 이러한 DNA 다형현상 분석 방법을 법과학에 적용하여 높은 예민도를 가지고 DNA형을 분석하여 개인 식별 및 친생자 확인에 직접적으로 이용될 수 있을 것이다.