

# 사상의학의 객관화를 위한 유전적 분석 연구

조 동욱\* · 이 창수\*\* · 고 병희\*\* · 홍 석철\*\* · 이 의주\*\* · 권 건혁\*\* · 조 황성\*

## Genetic analysis study of Sasang Constitution classification

*DongWuk Cho, HwangSung Cho*

Korea Institute of Oriental Medicine

*ByungHee Ko, Suckchull Hong, Euiju Lee, Gwenhyuck Kwon*

Department of Oriental Medicine, Kyung-Hee University

*ChangSoo Lee*

Department of Biochemistry, Kon-Kuk University

The main idea of Sasang medicine is that everyone has his own unique constitution. There are four kinds of constitutions and these are Taeyang, Soyang, Teaum and Soum. Although Sasang medicine is a unique and originative medical theory with creative ideas of Korean traditional medicine, the classification of individual constitution mainly depends on the methods which may not be objectively proven and scientifically understood. This study was carried out to establish scientific understanding of Sasang medicine by investigating the possible genetic difference among four constitutions. Sasang constitution classification was performed by Sasang medicine research group in Korea Institute of Oriental Medicine and Kyung Hee University. Genomic DNA was prepared from the blood of individuals of different constitutions and RAPD(Random amplified polymorphic DNAs) analysis was then carried out to investigate the possible difference among different constitutions on DNA level. For RAPD analysis, ten different random primers were applied to Teaum, Soyang and Soum group DNA samples and the presence of DNA markers specific for each constitution was investigated.

[Key words] Sasang medicine, genetic analysis, RAPD

## 1. 서론

1894년 동무 이제마선생에 의하여 창안된 사상의학은 태양인, 소양인, 태음인, 소음인의 네가지 체질을 설정하고 각 체질에 대한 생리, 병리, 진단감별법, 치료와 약물에 이르기까지 서로 연계를

---

\* 한국한의학연구소

\*\* 경희대학교 한의학과

\*\*\* 건국대학교 생화학과

갖고 이를 임상에 응용할 수 있는 새로운 방향을 제시하고 있다(1). 한편 사람의 모든 형질은 유전자의 정보에 따라 나타나는 것이며, 사상의학에서 제시하는 체질적 속성 역시 유전자가 지닌 형질에 내재되어 있는 속성이라 할 수 있다. 사상의학에서 사용되는 체질진단의 방법은 거시적인 방법으로서 다양한 방법이 제시 되어 있으나 객관성과 정확성이 떨어진다고 할 수 있다. 따라서 유전적 분석을 통한 체질분류법 연구에서는 각 체질을 인체유전학적인 면에서 검토하고 연구하여 체질별 상이성 및 상관성을 찾아 보고, 체질분류의 객관화를 기초를 마련하고자 한다.

이러한 연구를 위한 대표적인 방법으로 흔히 DNA fingerprinting법(2)에서 사용하는, DNA 수준에서 DNA의 다형성을 연구하는 RFLP(Restriction fragment length polymorphisms)법(3~4)과 RAPD(Random amplified polymorphic DNAs)법(5) 등이 있는데, RFLP법은 유전적 특성에 따라 DNA 상의 특정한 염기서열을 인식하여 절단하는 제한효소로 DNA 단편을 절단한 후 전기영동으로 분획하고 특이적으로 결합하는 probe를 이용하여 DNA의 단편 길이의 변이성을 검색하는 방법이고, RAPD법은 증합효소연쇄반응법인 PCR(Polymerase Chain Reaction)기법을 이용하여 random primer로 임의의 DNA를 증폭시켜 다형성을 검출하는 방법이다. RAPD법은 RFLP법에 비하여 절차가 간단하고 극미량의 DNA로도 분석이 가능하므로 DNA 판별에 유용하게 이용될 수 있기 때문에 최근 유전적 분석연구 분야에서 많이 활용되고 있다(6~9). 따라서 본 연구에서는 사상체질 판별에 의하여 분류된 체질간의 차이점을 DNA 수준에서 탐색, 식별하고자 PCR기법에 의한 RAPD 분석을 실시하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 사상체질의 판별 및 제놈 DNA 분석용 샘플 선정

사상체질의 판별은 경희의료원 동서중합건강진단센터에 1996년 4월부터 7월까지 내원한 남녀를 대상으로 한국한의학연구소 임상연구부와 경희대학교 한의과대학의 사상의학교실이 공동으로 수행하였다. 유전적 분석 연구에 사용된 혈액샘플은 한국한의학연구소의 임상연구부와 경희대학교 한의과대학의 사상의학교실에서 실시한 체질 판별이 일치한 경우의 개인들로 부터 2ml 채취하여 사용하였다.

### 2. Primer 합성

RAPD분석에 사용한 random primer는 10-mer(10-nucleotide primer)로서 DNA 합성기로 standard phosphoramidate 화학법(10)에 의해 합성하였다. 합성된 시료는 30% ammonium hydroxide로 53°C 에서 12시간 처리하고 나서 건조 시킨 후에 증류수에 녹여서 사용하였다.

### 3. 제놈 DNA의 정제

혈액샘플에서 제놈 DNA의 추출은 Blin과 Stafford(11)의 방법에 따라서, 혈액 샘플을 proteinase K로 처리하여 세포를 용해시킨후, phenol 처리를 하여 단백질을 변성시키고, ethanol

을 첨가하여 DNA를 침전 추출하였다. DNA의 순도는 흡광도<sub>260</sub> 과 흡광도<sub>280</sub> 의 비율로 측정하여 그 비율이 1.7 이상인 것 만을 사용하였다. 또한 추출된 제놈 DNA가 거대 분자량임을 0.8% agarose gel을 이용한 전기영동으로 확인하였다.

#### 4. RAPD 분석을 위한 PCR 조건

DNA의 RAPD분석을 위한 PCR 증폭반응액 50 $\mu$ l 혼합액에는 100mM Tris-Cl (pH 8.3), 50mM KCl, 1.5mM MgCl<sub>2</sub>, 0.001% gelatin, 100 $\mu$ M 썸의 dATP, dCTP, dGTP와 dTTP(Pharmacia), 0.2 $\mu$ M primer, 100 $\mu$ g genomic DNA 와 0.5 unit의 *Taq* DNA polymerase(Promega)를 포함시켰다. DNA 증폭반응은 95 $^{\circ}$ C, 36 $^{\circ}$ C 그리고 72 $^{\circ}$ C에서 각 1분씩 45 사이클로 프로그램하여 실시하였다.

#### 5. 전기영동

PCR에 의한 증폭산물은 Horizontal slab gel에서 TAE(0.04M Tris-acitrate, 0.001M EDTA) 완충용액을 사용하여 1.2% agarose gel에서 전기영동한 후, agarose gel을 ethidium bromide로 염색한 후에 UV transilluminator를 사용하여 DNA 밴드를 관찰하고 필요한 경우 Polaroid DS-34 camera를 사용하여 gel 사진을 찍었다. DNA size marker로는 1kb ladder(BRL)를 사용하였다.

### III. 결과 및 고찰

사상체질판별에 의하여 분류된 각 체질의 차이를 DNA수준에서 식별이 가능한지에 대하여 조사해 보고자 체질별 DNA의 다형성을 RAPD법으로 분석하였다. RAPD분석법에 의하여 얻어지는 DNA band의 다형성은 최근 유전분석연구에 널리 사용되는 수단으로 본 연구에서는 태음인, 소양인, 소음인의 혈액샘플에서 추출한 제놈 DNA와 합성된 random primer 10개(primer A ~ J)를 사용하여 RAPD분석법을 실시하였다.

분석에 사용한 DNA는 동일한 체질 4개체(남·여 각 2개체씩)의 DNA샘플을 동량 혼합하였고, 여기에 primer를 첨가하여 PCR을 실시한 후 증폭된 DNA를 전기영동하여 agarose gel 상에 나타난 DNA band를 그림 1과 2에 표시하였다. 그림 1과 2에서 M으로 표시된 lane은 DNA size marker를 나타내는 것이고, 그림 1의 A, B, C, D, E 그리고 그림 2의 F, G, H, I, J로 표시된 것은 각각 다른 random primer를 의미하며, 각 primer에 따른 태음인, 소양인, 소음인의 DNA 'band는 1(태음인), 2(소양인), 3(소음인)으로 나타내었다. 그림에서 볼 수 있듯이 각 primer에 의하여 검출된 DNA band의 수는 대개 8개 이내이며, 크기는 2kb 이하에서 주로 검출되었다. DNA band의 검출양상은 다른 종류의 primer에 따라 각각 다르게 나타났으며, primer C, D, E, F, I 를 사용한 경우에는 체질간의 검출 band 양상이 비슷하게 나타났고, primer A, B, G, H를 사용한 경우에는 체질간 DNA band의 검출 유무 혹은 검출감도에 있어서 차이를 보였다. 따라서 이후의 연구에서는 체질간 DNA band의 검출 유무 혹은 검출감도에 있어서 차이를 나타낸

경우의 primer는 제외하고, 체질간 검출 DNA band 양상이 비슷하게 나타난 경우의 primer를 취하여 태음, 소양, 소음 등의 각 체질에 대해서 체질-특이적으로 검출되는 DNA band를 찾을 때까지 RAPD 분석을 실시한다.

Figure 1. Amplified DNA band patterns of Teaum, Soyang and Soum samples using primer A, B, C, D and E

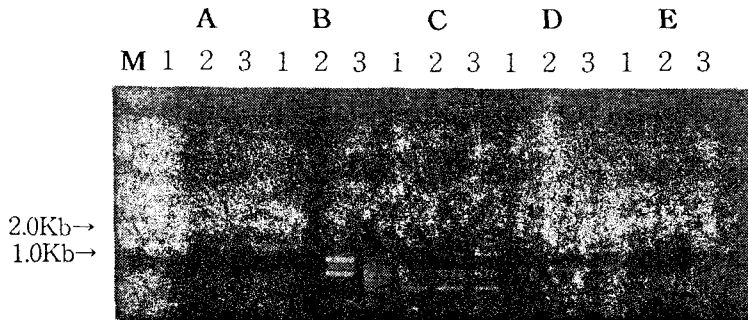
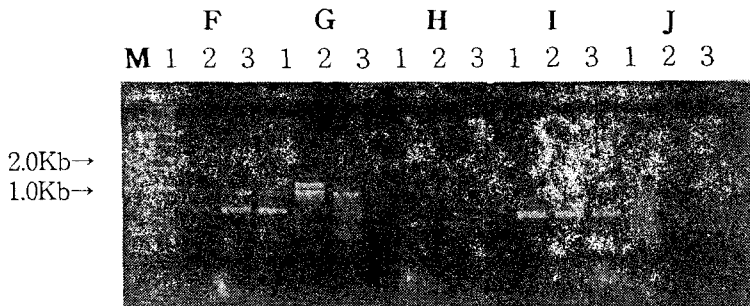


Figure 2. Amplified DNA band patterns of Teaum, Soyang and Soum samples using primer F, G, H, I and J



현재까지 염기서열이 밝혀진 유전자는 전체 유전자중의 일부분에 불과하며 비록 그 염기서열이 밝혀져 있다 하더라도 그 유전자가 어떤 기능을 하는지 또는 어느 형질에 연관되어 있는지에 대한 정보는 많이 알려져 있지 않다. 따라서 알려진 특정 유전자를 대상으로 하여 PCR방법을 수행하여 같은 종 안에서 차이를 보이는 특이적인 체질부위나 어떤 특정형질에 연관된 표지를 찾기는 매우 어려운 실정이다. 이러한 이유로 체질의 임의의 부분을 증폭하여 종간, 계통간 혹은 개체간의 증폭된 DNA band 차이에 의한 유전적인 특성 및 차이를 분석할 수 있는 RAPD분석법의 사용은 사상체질 판별연구에서 각 체질간의 유전적인 차이를 탐색하기 위하여 매우 적절한 유전적 분석법이라 할 수 있으며 이러한 분석법에 의해 검출될 수 있는 체질-특이적 DNA band는 체질판별의 객관화를 위해 유용하게 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

## 참고문헌

1. 조황성 : 동양의학의 새로운 가능성, 한국의 사상체질의학 연구. 제 1차 한의학과 중의학 학술 세미나 초록집. pp. 1~40 (1996)
2. Kuhnlein D., Dawe Y., Zadworny D. and Gavora J. S. : DNA fingerprinting: a tool for determining genetic distances between strains of poultry. *Theor Appl Genet.*, **77**, 669(1992)
3. Krawetz S. A., Bricker R. A., Connor R. B. and Dixon G. H. : Restriction fragment length polymorphism(RFLP) analysis of bovine nuclear protein genes. *Theor Appl Genet.*, **75**, 402(1988)
4. Rocha J. L., Baker J. F., Womack J. E., Sanders J. O. and Taylor J. F. : Statistical associations between Restriction Fragment Length Polymorphisms and quantitative traits in beef cattles. *J Anim Sci.*, **70**, 3360(1992)
5. Williams, J. G. K., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafaiski, J. A. and Tingey, S. V. : DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.*, **18**, 6531 (1990)
6. 이창수, 유영복, 나기준, 조병대, 최병규 : 핵산분석법에 의한 한우의 판별. 한국축산학회지, **36**, 35 (1992).
7. 이창수, 유영복, 오성종, 정태영, 류진창 : DNA 다형성 분석에 의한 한우고기 와 수입쇠고기의 육질판별. 농업과학논문집, **36**, 222 (1994)
8. Waugh, R. and Powell, W. : Using RAPD markers for crop improvement. *TIBTECH.*, **10**, 186 (1992)
9. Rani V., Parida A. and Raina S. N. : Random amplified polymorphic DNA(RAPD) markers for genetic analysis in macropropagated plants of *Populus deltoides* Marsh. *Plants Cell Reports*, **14**, 459 (1995)
10. Ausubel, F. M., Brent, R., Kingston, R. E., Moore, D. D., Seidman, J. G., Smith, J. A. and Struhl, K. : Current protocols in molecular biology. Wiley-Interscience, New York, p15. 1. 1-15. 1. 7. (1987)
11. Blin, N. and Stafford, D. W. : A general method for isolation of high molecular weight DNA from eukaryotes. *Nucleic Acids Res.*, **3**, 2303 (1976)