

# PCR-중합 효소 연쇄 반응

류 성 원 / 결핵연구원 분자생물과

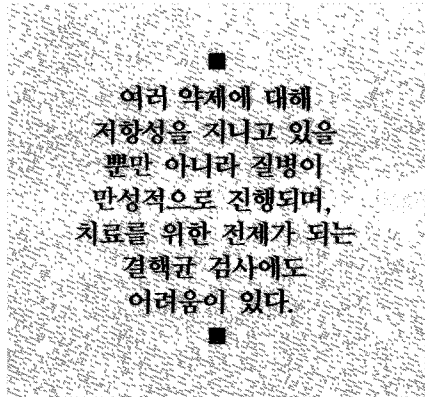
Mycobacteria에 속하는 결핵은 세포벽의 높은 지질 함량으로 인하여 에탄올과 염산의 혼합액 처리시 특정 염료를 유지하므로 항산성(acid-fast)세균이라 불리운다.

실제로 결핵균은 건조 중량의 50% 이상이 고분자량의 지질인 미콜산(mycolic acid)으로 구성되어 있다.

이러한 성질 때문에 여러 약제에 대해 저항성을 지니고 있을 뿐만 아니라 질병이 만성적으로 진행되며, 치료를 위한 전제가 되는 결핵균 검사에도 어려움이 있다.

전통적으로 사용되고 있는 결핵균 검사로는 도말 검사, 배양 검사, 균동정 검사, 약제 감수성 검사 등이 있으며 여기서 좀 더 발전된 방법이 있다.

BACTEC, SSCP(Single Strand Conformational Polymorphism), Geneprobe, RAPD(Random Amplified Polymorphic DNA), Long PCR, Substraction DNA

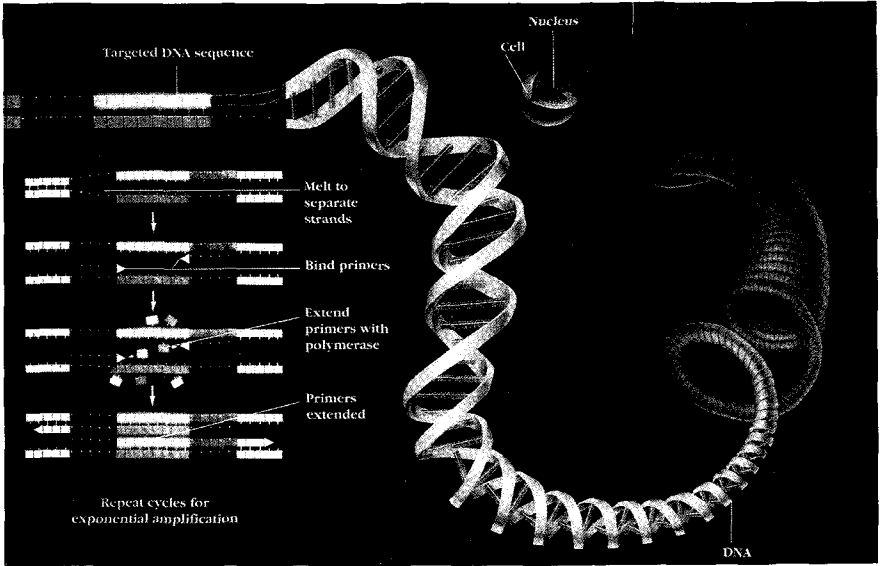


Amplification 등이 있다.

그리고 가장 보편화되었고 이 분야에 종사하지 않는 일반인에게까지도 알려지고 있는 PCR이 있다.

PCR은 Polymerase Chain Reaction(중합 효소 연쇄 반응)의 약자로 1983년 Kary Mullis에 의해 고안되었으며 핵산의 특정 조각을 손쉽게 수백만배 이상 증폭시킬 수 있는 분자 생물학적 방법이다.

극미량의 DNA 조각이 불과 몇 시간



만에 수백만 배의 DNA로 늘어나는 반복적인 반응이 시험관 안에서 일어나는 것이다.

개략적인 원리는 위 그림과 같다.

—그림설명—

• cell : 세포.

생명의 기본단위. 독립적으로 증식할 수 있는 최소의 단위

• nucleus : 핵.

대부분의 동식물 세포에 있는 구조로 세포의 생활에 필수적인 막에 싸인 구형의 덩어리이다. DNA와 RNA 합성의 중심부.

• chromosome : 염색체.

고등 세포에 있는 스스로 복제되는 물질. DNA로 구성되고 유전 정보를 전달

• DNA : Deoxyribo nucleic acid.

핵산의 일종.

■  
**핵은**  
**대부분의**  
**동식물 세포에 있는**  
**구조로 세포의 생활에**  
**필수적인 막에 싸인**  
**구형의 덩어리이다.**  
 ■

■  
**PCR은 결핵균 검사와 같은 의학적 진단 이외에 과학적 수사(법의학)와 생물진화학 분야에서 많이 응용되고 있다.**  
 ■

- **targeted DNA sequence** : 목표로 정해진 DNA 염기 서열
- **melt to separate strand** : 열을 가해 가닥을 분리시킨다.
- **bind primers** : primer를 부착시킨다.
- **extend primers with polymerase** : 중합 효소에 의한 primer의 연장
- **primers extended** : 연장된 primers
- **repeat cycles for exponential amplification** : 기하급수적으로 증폭시키기 위해 위의 과정이 반복된다.

두 가닥으로 되어있는 원래의 DNA를 끊기 위해 Target DNA에 열을 가하게 되며, 온도가 내려가면 각 가닥 끝 부분의 Target Strip에 Primer가 붙은 후 중합 효소가 Nucleotide들로부터 새로운 가닥을 만들기 시작하고, 다시 온도를 높이면 새로 형성된 가닥들이 떨어져

나가는 반응을 되풀이하여 DNA를 증폭하게 된다.

이 반응은 온도에 따라 간단히 Denature(94~96°C), Annealing(37~65°C), Extension(약 72°C)의 3단계로 구분할 수 있다.

그리고 PCR에 꼭 필요한 것들로는

- **Template DNA** : PCR target sequence가 들어있다.

반응이 시작되기 위해서는 아래의 것들이 template안에 들어 있어야 한다.

(1~5ng의 cloned DNA(plasmid), 500ng genomic DNA, 10<sup>4</sup> copies, 250 ng mRNA, 1μg total RNA)

- **Two Primers** : target sequence를 복제하기 위한 개시 부위가 있다. 짧고 단일 가닥의 polynucleotides.

primers의 디자인은 PCR protocol을 개발하는데 중요한 관건이 된다. <다음페이지 그림 참조>

- **Four dNTPs** : Deoxyribonucleoside Triphosphates

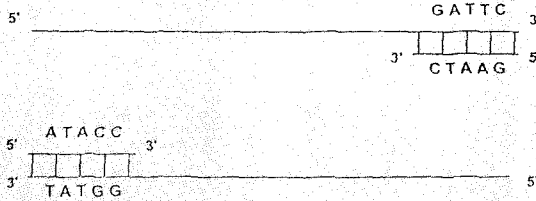
DNA block을 형성한다.

열 안정성 DNA 중합 효소와 효율적으로 작용하는 여러 염기가 분석되어 있는데, 그 예는 다음과 같다.

dUTP, dTTP, dig-dUTP, biotin-dNTPs, ddNTPs, fluorescent-dNTPs, 7-deaza-dGTP

- **Thermostable DNA Polymerase** :

## Primer Annealing



target sequence에 상보적인 두개의 새로운 DNA 가닥을 합성한다.

- Divalent cations ( $Mg^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ )
- Appropriate reaction Buffer and Salt 등이 있다.

PCR은 결핵균 검사와 같은 의학적인 단 이외에 과학적 수사(법의학)와 생물진화학 분야에서 많이 응용되고 있다.

사건 현장에서 발견되는 용의자의 머리카락 한 조각, 혈흔 하나라도 정확하게 그 대상을 찾아낼 수 있고, 고대의 미이라나 화석으로부터 얻어진 손상된 DNA 한 조각으로 과거의 질병과 유전적 계통을 짐작할 수 있다.

이론적으로는 구강 내 상피 세포로도 PCR 분석이 가능하므로 우편물 폭탄의 우표에 침을 바른 테러리스트도 찾아낼 수 있다.

그리고 일부에서는 PCR을 이용해

■  
 최첨단 과학 시대에  
 온갖 발명품과 의학적  
 발전을 접하지만,  
 우리는 아직도 수천년전  
 질병인 결핵과 함께  
 호흡하며 살고 있다.  
 ■

DNA 꼬리표를 만드는 일을 진행하고 있는 데, 모조품 방지와 고유 물질의 식별을 위해 지폐, 의류, 가전용품 등 전부분의 물건들을 DNA Marker로 인식시키려는 시도이다.

최첨단 과학 시대에 온갖 발명품과 의학적 발전을 접하지만, 우리는 아직도 수천년전 질병인 결핵과 함께 호흡하며 살고 있다. †