

SLC6A18 유전자의 minisatellites 5 (SLC6A18-MS5)의 고혈압과의 관련성 및 진화적 의미

허창환 · 이상엽 · 설소영 · 권정아 · 정윤희 · 정정남* · 선우양일*

동아대학교 자연과학대학 생명과학과

Received October 27, 2008 / Accepted December 16, 2008

Minisatellite 5 of SLC6A18 (SLC6A18-MS5): Relationship to Hypertension and Evolutional Level.

Chang-Hwan Heo, Sang-Yeop Lee, So-Young Seol, Jeong-Ah Kwon, Yun Hee Jeong, Chung-Nam Chung* and Yangil Sunwoo*. *Department of Biological Science, Dong-A University, Busan 604-714, Korea* - SLC6A18, one of the neurotransmitters, was reported the possible relationship to hypertension, and it contained eight blocks of minisatellites. In this study, SLC6A18-MS5 sequence which showed the highest heterozygosity among seven minisatellites was analyzed using the Transfac software, the putative binding sites for the transcription factor Pax4 and HNF4 were discovered as a result. The HNF4 is involved in the diabetes pathway and suggested the relationship to hypertension. Thus, we investigated the putative functional significance of allelic variation in this minisatellites with respect to susceptibility for hypertension. To address this possibility, we analyzed genomic DNA from the blood of 301 hypertension-free controls and 184 cases with hypertension. A statistically significant association was not identified between the allelic distribution of SLC6A18-MS5 and occurrence of hypertension. We then examined the meiotic segregation of SLC6A18-MS5 and it was transmitted following Mendelian inheritance. Therefore, this locus could be useful markers for paternity mapping and DNA fingerprinting. Moreover, we undertook a comprehensive analysis of the genomic sequence to address the evolutionary events of these variable repeats. SLC6A18 minisatellites regions are only conserved in human and primates. This result suggested that intronic minisatellites analysis is powerful evolution marker for the non-coding regions in primates and can provide a great insight to the molecular evolution of repeated region in primates.

Key words : SLC6A18-MS5, hereditary, Hypertension, HNF4

서 론

아미노산, 당, 뉴클레오티드 및 무기이온의 세포막 통과에 관여하는 막 단백질 Solute carrier (SLC) family에 속하는 SLC6A18 (solute carrier family 6, member 18) 유전자는 SLC6A15, SLC6A16, SLC6A17, SLC6A19 그리고 SLC6A20과 함께 orphan 그룹에 속한다[4]. 이들 중 SLC6A18과 SLC6A19는 인간의 5번 염색체 단완의 말단 5p15.33 부위에 나란히 위치하고 있으며[20], 이들 유전자들의 발현은 특히 전뇌와 신장 부분에서 높은 발현을 보여[8], 여러 신경전달물질과 관련된 질병에 영향을 줄 것으로 보인다[4,6]. Rice 등 [17]과 Wu 등 [19]의 연구 보고에 따르면, 염색체 5p15 영역과 인간의 고혈압 발생이 매우 밀접한 연관성이 있다는 것이 밝혀졌다. 이렇게 고혈압과의 관련성이 제기되는 영역에 SLC 유전자 그룹으로 SLC6A18과 SLC6A19 유전자가 위치한다. 또한 인간의 SLC6A18과 80%의 상동성을 가지는 mouse의 murine XT 유전자[12] knockout 실험에서 고혈압이 유발됨이 보고되었다[16]. 그러므로 본 연구는 고혈압과의 관련성이 예상되는

SLC6A18 유전자에 주목하였다.

염색체 말단에 위치하는 유전자들은 유전자 내에 많은 반복 서열을 가지고 있다[10,14]. 이러한 구조적 특징을 가진 다른 유전자들에서 반복서열인 minisatellites의 길이에 따른 변이가 질병과 연관되어 있다는 것이 밝혀졌다[5,10,13]. SLC6A18 유전자는 염색체 말단에 존재하며, 염색체 말단 영역에 존재하는 다른 유전자들처럼 유전자의 Intron 부위에 많은 반복서열이 발견되었다[9,20]. SLC6A18 유전자의 Intron 영역에서 8개의 minisatellites (VNTR, various number of tandem repeats) 영역이 밝혀졌으며, 이중 5개(SLC6A18-MS1, -MS2, -MS4, -MS5, -MS6)는 다형성을 나타내었고 나머지 3개(SLC6A18-MS3, -MS7, -MS8)는 단형성을 나타낸다는 것이 보고되었다[20]. 앞선 연구에서 SLC6A18 유전자 내의 minisatellites의 변이가 고혈압과의 관련성을 나타내는지를 조사하기 위해, 다형성을 가진 minisatellites 영역에서 대립형질 빈도에 따라 1% 이상인 일반 대립형질(common alleles)과 1% 미만인 희귀 대립형질(rare alleles)로 나누어 대조군과 고혈압 환자군을 비교하였다[20]. 그 결과, 다형성을 나타내는 4개의 영역(SLC6A18-MS1, -MS2, -MS4, -MS6)에서는 고혈압과의 관련성이 통계적인 의미를 나타내지 않았다. 앞선 연구에서는 총 5개의 다형성 영역 중 4개의 다형성 영역만을 조사하였고, SLC6A18-MS5는 이러한 다형성 영역 중에 가장 높은 다형성

***Corresponding author**

Tel : +82-51-200-7262, Fax : +82-51-200-7269

E-mail : cnchung@dau.ac.kr, yisunwoo@dau.ac.kr

을 나타내어 일반 대립형질과 희귀 대립형질로 나누기 어렵고 고혈압과의 관련성을 조사하지 않았다.

그러므로 본 연구에서는 SLC6A18-MS5 영역에 대하여 희귀대립형질과 일반대립형질의 비율을 조사하고, 대조군과 환자군에서 나타나는 대립형질의 길이에 따른 전체적 분포 경향을 조사하여 고혈압과의 관련성을 조사하고자 한다. 이를 위해 서로 관련성이 없는 건강한 성인 301명과 고혈압 환자 184명의 혈액에서 추출한 genomic DNA를 주형으로 SLC6A18-MS5 영역에서 볼 수 있는 대립형질을 조사하고, 그 분포를 고혈압의 유무, 나이, 성별에 따른 차이를 비교하였고, 더욱 많은 가계도 분석을 통해 정확한 유전 여부도 확인하였다. 또한 human, monkey, mouse, rat과 dog에서 SLC6A18 유전자의 exon 및 intron 그리고 반복서열 부분의 진화적 수준을 비교 분석하였다.

재료 및 방법

생물정보학

SLC6A18의 구조 및 염기서열은 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)와 Ensemble Genome Browser (<http://www.ensembl.org/index.html>)에서 확인하였고[3], SLC6A18-MS5 영역의 PCR을 위해 primer (SLC6A18-MS5:F-ctgggctgcctgggtgctgc & R-cctgccccagaccgaagtc)를 제작하였다[20]. 인간과 다른 동물과의 비교 분석을 위해 genomic sequence alignment는 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)의 BLAST를 사용하였고[1], vista (<http://genome.lbl.gov/vista/index.shtml>)를 이용해 그래프로 나타내어[15] UCSC (<http://genome.ucsc.edu/>)와 병합하였다. SLC6A18-MS5 영역의 transcription factor의 존재 여부를 확인하기 위해 transfac tool의 Match™ public version 1.0을 (<http://www.gene-regulation.com/cgi-bin/pub/programs/match/bin/match.cgi>)이용하였다.

Genomic DNA 추출

PCR 반응에 사용한 genomic DNA는 상호 관련성이 없는 건강한 성인 남녀 301명 및 고혈압환자 184명, 그리고 3대로 구성된 4가족과 2대로 구성된 16가족의 총 20가족의 혈액으로부터 추출하였다. 고혈압 환자의 판정 기준은 systolic blood pressure (SBP)가 140 mmHg 이상이거나 diastolic blood pressure (DBP)가 90 mmHg 이상인 환자로 하였다. 모든 샘플은 부산의 동아대학교와 충북대학교에서 얻었고 이 실험에 대한 IRB를 통과하였다: 동아의료원(#IRB-06-10-02 & IRB-07-10-7), 충북대학병원(#IRB-2006-1).

혈액에서 genomic DNA를 분리하기 위해 혈액과 lysis buffer (1.28 mM sucrose, 40 mM Tris-Cl (pH 7.5), 20 mM MgCl₂, 4% Triton X-100)와 멸균수를 각각 1:1:3의 비율로 섞어 얼음 위에 10분간 방치한 후, 4°C에서 1,500 rpm으로 15분간 원심

분리하였다. 상층액을 제거한 후, lysis buffer와 멸균수를 넣고 vortex하여 4°C에서 3,000 rpm으로 3분간 원심분리하였다. 다시 상층액을 버리고 lysis buffer를 첨가하여 vortex한 후, proteinase K (20 mg/ml)를 넣어 50°C에서 60분간 처리하였다. 그 다음 37°C에서 30분간 RNase 처리한 후, Phenol로 단백질을 제거하였다. Isopropanol로 DNA를 침전시킨 뒤 70% EtOH로 씻고 잠시 말린 후, TE [10 mM Tris-Cl (pH. 8.0), 1 mM EDTA (pH. 8.0)]에 녹여 사용하였다.

PCR 반응

혈액에서 추출한 genomic DNA 100 ng을 주형으로 5x Green GoTaq Buffer (Promega, Madison, USA), 25 mM MgCl₂, 0.2 mM dATP, dGTP, dCTP, dTTP, 10 pM primer, Promega GoTaq Flexi DNA polymerase (Promega, Madison, USA)를 섞어 40 µl의 혼합물을 만들었다. 이 혼합물을 94°C에서 2분간 1회 pre-denaturation한 후, 94°C에서 45초간 변성시킨 후, 68°C에서 1분 30초간 반응을 30회 반복한 후, 다시 72°C에서 7분간 반응의 연장을 수행하였다. 이렇게 PCR을 통해 얻은 산물을 2% LE agarose gel (SeaKam, Rockland, USA)에서 100 V로 전기영동하여, 서로 다른 개체에서 나타나는 대립형질의 빈도와 경향을 비교하였다. DNA size marker로는 100 bp ladder (Axygen, Union City, USA)를 사용하여 대립형질을 분석하였다.

결과 및 고찰

SLC6A18-MS5 영역의 생물정보학적 분석

앞선 연구에서 4개의 다형성 반복서열 부분에서 고혈압과의 관련성을 얻지 못하였으나, SLC6A18-MS5 영역에 대한 연구가 이루어지지 못했다.[20] 그러므로 본 연구에서는 이들 중 heterozygosity가 가장 높은 SLC6A18-MS5 영역에 대해서 생물정보학적 방법으로 transcription factor binding site와 같은 특정한 조절 영역에 대해 분석하였다. 일반적으로 유전자의 promoter 부위에 transcription activity를 가지지만 유전자의 promoter 영역이외의 intron 부분에서도 transcription activity를 가지는 E-Box 부분이 존재함이 보고되었다[11]. 따라서 intron에 위치하고 있는 SLC6A18-MS5 영역에서도 이러한 유전자 조절기능을 가지는 부분이 존재한다면, SLC6A18 유전자의 활성화에 영향을 줄 수 있을 것이다. 이를 전제로 SLC6A18 유전자와 고혈압과의 관련성을 조사할 수 있을 것으로 보인다. 그러므로 SLC6A18-MS5 부분에서의 transcription factor binding site를 생물정보학 프로그램을 이용하여 선별하고 관련성을 조사하였다.

Transcription factor binding site를 찾기 위하여 Transfac의 match program을 이용하여 서열 내의 transcription factor binding site를 분석한 결과, Pax4와 HNF4의 binding site가



Fig. 1. Transcription factor binding site in Human SLC6A18-MS5. We found two transcription factor binding site in Human SLC6A18-MS5 by Transfac program Match™ Public 1.0 version. PAX4 binding site located every unit of SLC6A18-MS5 and HNF-4 was found between unit 6, 7 and unit 9, 10.

발견되었다(Fig. 1). 이 중에서 HNF4는 젊은 층의 성인기 발병 당뇨병 과정에 관련되며 TYPE II 당뇨병과 연관되어 있다 (kegg. <http://www.genome.jp>). 또한 transcription factor로서 insulin의 발현을 조절하고, 반대로 insulin과 FKHR의 상호작용에 의해서 HNF4의 발현 또한 조절된다고 보고되었다 [2,7]. Pax4 역시 당뇨와 연관되어 있고, 특히 Pax4의 발현은 HNF4에 의해서도 조절된다[18]. 당뇨와 고혈압과의 관련성은 많은 임상결과에서 밝혀져 있다. 따라서 많은 유전자에서 transcription factor로 알려진 HNF4가 minisatellite 영역에서 factor로 작용한다면, SLC6A18-MS5 영역이 고혈압과의 감수성에 영향을 미칠 것으로 예상된다.

SLC6A18-MS5 유전 조사

앞선 논문에서 높은 heterozygosity를 나타내는 SLC6A18-MS5가 멘델의 법칙으로 유전된다면 친자 및 혈연관계의 확인과 법의학적 분석 등에 유용하게 쓰일 수 있을 것이다[20]. SLC6A18-MS5 영역은 높은 heterozygosity를 나타내므로 이를 검증하기 위해서는 가족 내에서 대립형질의 분리 과정을 좀 더 많은 샘플에서 이루어져야 한다. 그러므로 본 연구에서는 이를 확인하기 위해 총 20 가족(3대 4가족, 2대 16가족)의 혈액에서 채취한 genomic DNA를 주형으로 PCR을 수행하였다. 그 결과, SLC6A18-MS5가 멘델의 법칙에 의해 부모의 두 대립유전자가 감수분열을 통해 각각 하나의 대립유전자를 자손에게 정확히 전달되는 것을 확인하였다(Fig. 2A, 3대 가족; Fig. 2B, 2대 가족). 그러므로 높은 다양성을 나타내는 SLC6A18-MS5의 특성을 이용하여, 친자 및 혈연관계 확인, 법의학적 분석 등에 효과적으로 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

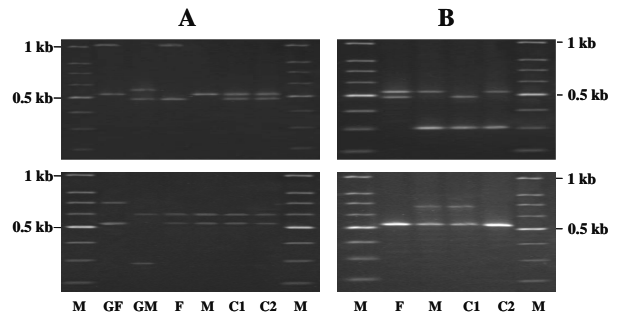


Fig. 2. Meiotic inheritance of SLC6A18-MS5. PCR primers specific to SLC6A18-MS5 minisatellites were used to analyze the length of the minisatellites in the genomic DNA obtained from family members. The pedigree demonstrates the relationship between family groups used in this study: first generation (lanes GF and GM grandfather and grandmother, respectively), second generation (lanes F and M; fathers and mothers), and third generation (lanes C1 and C2). M corresponds to the size marker.

Minisatellites 길이 변이와 고혈압과의 관련성

Minisatellites 길이 변이에 따른 고혈압과의 관련성을 조사하기 위하여 SLC6A18-MS5의 영역에 대하여 상호 관련성이 없고 고혈압이 없는 성인 남녀 301 명과 고혈압환자 184 명을 분석하였다. 대립형질을 분석한 결과, 대조군에서는 4 회(223 bp)에서 24 회(1037 bp) 반복된 크기까지 22 종의 대립형질과 72 종의 패턴을 관찰할 수 있었다. 이들 중 519 bp 크기의 13 회 반복된 대립형질의 빈도가 0.46로 가장 일반적인 대립형질로 나타났고 heterozygosity는 0.749로 다양한 대립형질을 가지고 있음을 확인하였다. Fig. 3A는 301 명의 대조군에서 나타난 22 종류의 서로 다른 대립형질의 크기를 보여주고 있다. 고혈

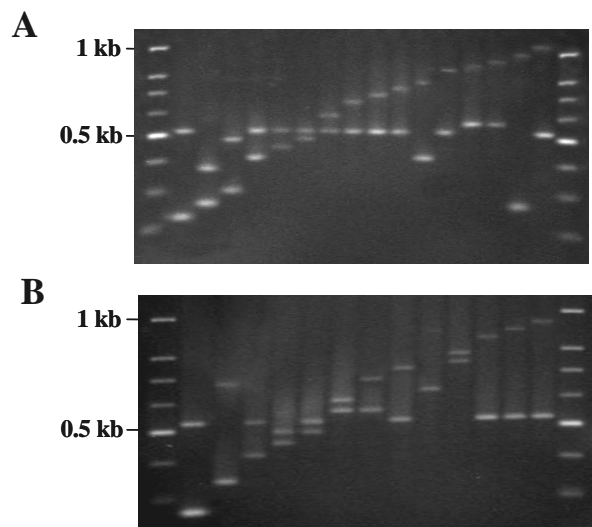


Fig. 3. It shows allele of SLC6A18-MS5. A is Control group allele that has 22 alleles and 72 patterns. Figure B is hypertension group allele that has 21 alleles and 40 patterns.

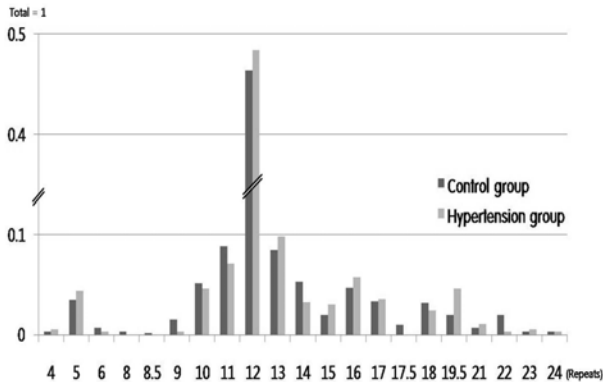


Fig. 4. Compare hypertenion group with control group. As a result of comparing two groups, they have a similar aspect.

압환자 184 명에서는 21 종류의 대립형질과 40 종류의 패턴이 관찰되었다(Fig. 3B). 대조군과 고혈압 환자군 사이에 대립형질과 패턴은 높은 heterozygosity로 인해 매우 다양한 형태를 나타냈다. 530 bp의 12번 반복된 대립형질의 빈도가 각각 0.46과 0.48로 가장 일반적인 대립형질로 나타났고, 다른 대립형질의 출현빈도 및 길이에 따른 변이 폭 역시 비슷한 수준으로 나타났다(Fig. 4).

SLC6A18 유전자와 80% 이상의 상동성을 보이는 XT2 유전자를 제거한 mouse에서 고혈압 발생이 보고되었지만[16], 인간의 SLC6A18 유전자 내에 존재하는 SLC6A18-MS5의 길이에 따른 고혈압과의 관련성은 없는 것으로 확인되었다. 이러한 결과는 SLC6A18의 다른 minisatellite 영역에 대한 고혈압의 감수성 연구 보고와 동일한 결과를 나타내었다[20]. 이는 적어도 많은 다른 유전자에서 볼 수 있는 minisatellites 길이 변이에 따른 질병과의 감수성이 보고된 것과는 달리 SLC6A18의 minisatellites 길이 변이와 고혈압은 관련성이 없는 것으로 보인다. 하지만 반복서열에 대한 결과이기 때문에 여전히 SLC6A18 유전자가 고혈압과의 관련성이 있을 가능성은 배제될 수 없다.

SLC6A18 유전자의 진화적 관계

Mouse의 XT2 유전자는 고혈압과의 관련성이 보고되었으나, 본 연구에서 minisatellites 길이 변이와 고혈압은 관련성이 없는 것으로 나타났다. 이에 따라 인간의 SLC6A18 유전자와 다른 척추동물인 monkey (Rhesus; *Macaca mulatta*), mouse (*Mus musculus*), rat (*Rattus norvegicus*) 그리고 dog (*Canis familiaris*)를 genomic 수준에서의 비교를 통해 진화적 관계를 살펴보았다(Fig. 5, Table 1).

NCBI에서 Human (ref|NC_000005.8|NC_000005:1275470-1302303 *Homo sapiens* chromosome 5), monkey (ef|NC_007863.1|NC_007863:908887-936620 *Macaca mulatta* chromosome 6), mouse (ref|NC_000079.5|NC_000079:c73818470-

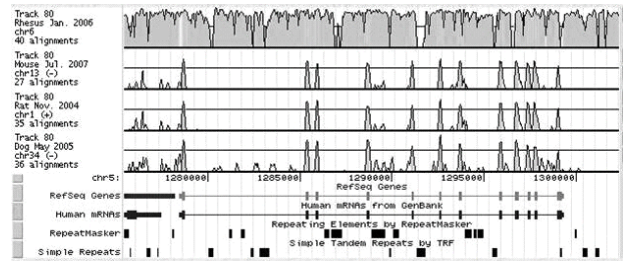


Fig. 5. Genomic sequence alignment of SLC6A18 multiful species. Only monkey has highly conserved whole gene region, another species conserved just exon region. Some LTR were conserved in Dog, but minisatellite region did not have other species except Monkey.

Table 1. Genomic sequence alignment of SLC6A18 by NCBI blast

	q. start	q. end	s. start	s. end	identity	length
monkey	1	26717	165	27734	90.83167	24083
mouse	957	23585	489	16801	83.70714	1924
rat	941	23585	464	16267	85.87353	1866
dog	394	22811	16936	34146	88.23818	2035
*monkey	6	1937	6	1937	94.83	1935
*mouse	168	1871	113	1819	80.79	1707
*rat	160	1871	64	1778	80.64	1715
*dog	748	1896	2266	3417	80.82	1152

*mRNA sequence

73796200 *Mus musculus* chromosome 13), rat (ref|NC_005100.2|NC_005100:30412234-30432059 *Rattus norvegicus* chromosome 1), dog (ref|NC_006616.2|NC_006616:c14352979-14314804 *Canis familiaris* chromosome 34)의 염기서열을 blast를 이용하여 alignment하였을 때, human과 monkey에서는 mRNA 부분뿐 아니라 유전자 전체 영역에서 90% 이상의 유사도를 보였다(Table 1). 반면 mouse, rat, dog에서는 대략 2 kb의 영역에서만 80%의 유사도를 나타내었다(Table 1). 또한 전체 genome이 아닌 mRNA 수준의 비교에서도 monkey의 경우 94%의 유사도를 보인 반면, mouse, rat, dog에서는 약 80%의 유사도를 보였다(Table 1): mRNA (Human :gi|32699071|ref|NM_182632.1| *Homo sapiens* solute carrier family 6, member 18 (SLC6A18), mRNA; Monkey: gi|109076653|ref|XM_001119131.1| PREDICTED: *Macaca mulatta* similar to solute carrier family 6; Mouse: gi|148747296|ref|NM_001040692.2| *Mus musculus* solute carrier family 6; Rat: gi|8394203|ref|NM_017163.1| *Rattus norvegicus* solute carrier family 6; Dog: gi|74003122|ref|XM_535804.2| PREDICTED: *Canis familiaris* similar to Sodium- and chloride-dependent transporter *XTRP2*).

이를 vista를 통하여 genome sequence alignment 한 후 UCSC genome browser와 merging하여 시각화하였다. 그 결

과, NCBI Blast를 이용한 alignment와 마찬가지로 mRNA 부분 이외의 영역에서 monkey를 제외한 다른 종에서는 보존된 부분이 거의 없었다(Fig. 5). 이러한 결과는 intron 영역에서 보존된 부분이 거의 없어 intron 영역에 위치한 minisatellites의 분석이 영장류의 비암호화 영역에서 중요한 진화 마커로 사용될 수 있음을 나타낸다. 또한 암호화 영역이 아닌 비암호화 영역에서의 다형성이 질병과 관련이 되었을 경우 특이적 마커로서 효용성을 가질 수 있고, 이에 따른 영장류만의 독특한 현상으로서 연구 가치가 있을 것으로 사료된다.

요 약

SLC6A18은 neurotransmitter로서 고혈압과 연관성이 보고되었고, 유전자 내에 총 8개의 minisatellites가 존재함이 밝혀졌다. 본 연구에서 8개 minisatellites 중 가장 높은 heterozygosity를 나타내는 SLC6A18-MS5 영역에 대하여 생물정보학적 방법으로 Transfac software를 이용하여 transcription factor binding site를 분석한 결과, Pax4와 HNF4의 binding site를 발견하였다. HNF4는 당뇨병 대사에 관여하는 것으로 고혈압과의 연관성이 있을 것으로 사료된다. 그러므로 본 연구에서는 SLC6A18-MS5 영역과 고혈압과의 연관성을 조사하기 위하여, 대조군 301명과 고혈압 환자군 184명의 genomic DNA를 이용하여 대립형질의 패턴을 조사하였다. SLC6A18-MS5의 대립형질 분포와 고혈압은 직접적인 영향을 주지 않는 것으로 나타났다. 반면 높은 heterozygosity를 나타내는 SLC6A18-MS5에 친자확인 및 DNA typing 마커로서의 유용성을 알아보기 위해 20가족의 샘플을 이용하여, 감수분열 후 자손에의 분리 형태를 조사한 결과 부모에게서 자손으로 정확히 전달되는 멘델의 법칙에 의해 분리됨을 확인하였다. 또한 SLC6A18 유전자 내의 minisatellites들의 진화적 관계를 조사한 결과, 인간과 원숭이에서만 보존적으로 나타났다. 이러한 결과는 intron 영역의 minisatellites 분석이 영장류의 비암호화 영역의 중요한 진화 마커로 사용될 수 있음을 나타내어, 영장류 특이적 진화를 이해하는데 도움이 될 것으로 사료된다.

감사의 글

이 논문은 2006학년도 동아대학교 학술연구비(공모과제) 지원에 의하여 연구되었음.

References

1. Altschul, S. F., W. Gish, W. Miller, E. W. Myers and D. J. Lipman. 1990. Basic local alignment search tool. *J. Mol. Biol.* **215**, 403-410.
2. Bartoov-Shifman, R., R. Hertz, H. Wang, C. B. Wollheim, J. Bar-Tana and M. D. Walker. 2002. Activation of the in-

ulin gene promoter through a direct effect of Hepatocyte Nuclear Factor 4a. *J. Biol. Chem.* **277**, 25914-25919.

3. Birney, E., T. D. Andrews, P. Bevan, M. Caccamo, Y. Chen, L. Clarke, G. Coates, J. Cuff, V. Curwen, T. Cutts, T. Down, E. Eyraas, X. M. Fernandez-Suarez, P. Gane, B. Gibbins, J. Gilbert, M. Hammond, H. R. Hotz, V. Iyer, K. Jekosch, A. Kahari, A. Kasprzyk, D. Keefe, S. Keenan, H. Lehvaslaiho, G. McVicker, C. Melsopp, P. Meidl, E. Mongin, R. Pettett, S. Potter, G. Proctor, M. Rae, S. Searle, G. Slater, D. Smedley, J. Smith, W. Spooner, A. Stabenau, J. Stalker, R. Storey, A. Ureta-Vidal, K. C. Woodwark, G. Cameron, R. Durbin, A. Cox, T. Hubbard and M. Clamp. 2004. An overview of Ensembl. *Genome Res.* **12**, 925-928.
4. Carlsson, A. 1987. Perspectives on the discovery of central monoaminergic neurotransmission. *Rev. neurosci.* **10**, 19-40.
5. Fiskerstrand, C. E., E. A. Lovejoy and J. P. Quinn. 1999. An intronic polymorphic domain often associated with susceptibility to affective disorders has allele dependent differential enhancer activity in embryonic stem cells. *FEBS Lett* **458**, 171-174.
6. Greengard, P. 2001. The neurobiology of slow synaptic transmission. *Science* **294**, 1024-1030.
7. Hirota, K., H. Daitoku, H. Matsuzaki, N. Araya, K. Yamagata, S. Asada, T. Sugaya and A. Fukamizu. 2003. Hepatocyte nuclear factor-4 is a novel downstream target of insulin via FKHR as a signal-regulated transcriptional inhibitor. *Biol. Chem.* **278**, 13056-13060.
8. Hoeglund, P. J., D. Adzic, S. J. Scicluna, J. Lindblom and R. Fredriksson. 2005. The repertoire of solute carriers of family 6: identification of new human and rodent genes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **336**, 175-189.
9. Jeffreys, A. J., V. Wilson and S. L. Thein. 1985. Hypervariable "minisatellite" regions in human DNA. *Nature* **314**, 67-73.
10. Jeong, Y. H., M. C. Kim, E. K. Ahn, S. Y. Seol, E. J. Do, H. J. Choi, I. S. Chu, W. J. Kim, W. J. Kim, Y. Sunwoo and S. H. Leem. 2007. Rare exonic minisatellite alleles in MUC2 influence susceptibility to gastric carcinoma. *PLoS One* **11**, e1163.
11. Kim, C. H., P. Ardayfio and K. S. Kim. 2001. An E-box Motif residing in the Exon/Intron 1 junction regulates both transcriptional activation and splicing of the human norepinephrine transporter gene. *J. Biol. Chem.* **276**, 24797-24805.
12. Kleta, R., E. Romeo, Z. Ristic, T. Ohura, C. Stuart, M. Arcos-Burgos, M. H. Dave, C. A. Wagner, S. R. Camargo, S. Inoue, M. Matsuura, A. Helip-Wooley, D. Bockenbauer, R. Warth, I. Bernardini, G. Visser, T. Eggermann, P. Lee, A. Chairoungdua, P. Jutabha, E. Babu, S. Nilwarangkoon, N. Anzai, Y. Kanai, F. Verrey, W. A. Gahl and A. Koizumi. 2004. Mutations in SLC6A19, encoding B⁰AT1, cause Hartnup disorder. *Nat. Genet.* **36**, 999-1002.
13. Krontiris, T. G., B. Devlin, D. D. Karp, N. J. Robert and N. Risch. 1993. An association between the risk of cancer and mutations in the HRAS1 minisatellite locus. *N. Engl. J. Med.* **329**, 517-523.

14. Leem, S. H., N. Kouprina, J. Grimwood, J. H. Kim, M. Mullokandov, Y. H. Yoon, J. Y. Chae, J. Morgan, S. Lucas, P. Richardson, C. Detter, T. Glavina, E. Rubin, J. C. Barrett and V. Larionov. 2004. Closing the gaps on human chromosome 19 revealed genes with a high density of repetitive tandemly arrayed elements. *Genome Res.* **14**, 239-246.
15. Mayor, C., M. Brudno, J. R. Schwartz, A. Poliakov, E. M. Rubin, K. A. Frazer, L. S. Pachter and I. Dubchak. 2000. VISTA: Visualizing global DNA sequence alignments of arbitrary length. *Bioinformatics* **16**, 1046-1047.
16. Quan, H., K. Athirakul, W. C. Wetsel, G. E. Torres, R. Stevens, Y. T. Chen, T. M. Coffman and M. G. Caron. 2004. Hypertension and impaired glycine handling in mice lacking the orphan transporter XT2. *Mol. Cell Biol.* **24**, 4166-4173.
17. Rice, T., T. Rankinen, M. A. Province, Y. C. Chagnon, L. Pérusse, I. B. Borecki, C. Bouchard and D. C. Rao. 2000. Genome-wide linkage analysis of systolic and diastolic blood pressure: the Québec Family Study. *Circulation* **102**, 1956-1961.
18. Smith, S. B., H. Watada, D. W. Scheel, C. Mrejen and M. S. German. 2000. Autoregulation and maturity onset diabetes of the young transcription factors control the human PAX4 promoter. *J. Biol. Chem.* **275**, 36910-36919.
19. Wu, Z., J. Nakura, M. Abe, J. J. Jin, M. Yamamoto, Y. Chen, Y. Tabara, Y. Yamamoto, M. Igase, X. Bo, K. Kohara and T. Miki. 2003. Genome-wide linkage disequilibrium mapping of hypertension in Japan. *Hypertens Res.* **26**, 533-540.
20. Yoon, Y. H., S. Y. Seol, J. Heo, C. N. Chung, I. H. Park and S. H. Leem. 2008. Analysis of VNTRs in the solute carrier family 6, member 18 (SLC6A18) gene and essential hypertension. *DNA Cell Biol.* **27**, 559-567.