

## Polymorphisms of KCNE1 Gene in Korean Population

Hyung-Ran Lee and Min Yoo<sup>†</sup>

Department of Biology, Keimyung University, Taegu 704-701, Korea

Long QT Syndrome (LQT) is a congenital disease due to the failure of electrical system of the heart. We have analyzed KCNE1 gene which is known to be the cause of Type V LQT in Korean genome. Although SNPs of KCNE1 have been reported for Chinese and Malaysians no data are available for Korean people yet. PCR primers were prepared to investigate the sequences for normal and SNP at G30A, G112A, C162T. They were different only by 3' ends. Genomic DNAs were extracted from the people who were known to be normal clinically (35) or patients (20) with metabolic disease. As results, we were able to recognize several SNPs in these Korean samples. Some people were homozygous or heterozygous depending upon the type of SNP. This study should facilitate the research on the cause of Type V LQTS and to develop the further therapy at genetic level.

**Key Words:** KCNE1, SNP, Long QT syndrome

KCNE1은 Long QT Syndrome의 원인 유전자 중 하나이다 (Splawski et al., 1998). 이 질환은 심장의 전기시스템 장애 때문에 발생하는 것으로서 심박동 유지를 위한 재분극이 원활하지 못해 의식을 잃거나 돌연사까지도 유발될 수 있는 질환이다 (Hirao et al., 1996; Viskin et al., 1996). KCNE1 유전자는 21번 염색체에 위치하는데 (Splawski et al., 1998), 그동안 노력한 결과 모두 4종류의 polymorphism ([G30A (Thr10Thr)], [G112A (Ser38Gly)], [C162T (Phe54Phe)], [G253A (Asp85Asn)])이 전세계적으로 알려져 있다 (Koo et al., 2005). 그러나 이 변이들이 질병과 직접 연관되어 있는지 여부는 아직 밝혀지지 않은 상태이다. 인간게놈프로젝트 이후 SNP (single nucleotide polymorphism)에 대한 연구가 국가별로 활발히 진행되고 있다. SNP가 모든 환자에서 직접적인 병인은 아닐지라도 일부 환자에서는 상당한 연관성이 있다고 여겨지기 때문이다. 게다가 SNP는 인종 간에 차이를 보이기 때문에 각 국가별로 이를 정확히 분석하는 것이 유전자 진단에 핵심 요소이다. 본인들은 2002년에 한국인 게놈으로부터 KCNE1 유전자를 온전히 분리해 그 염기서열을 보고한 바가 있고 (Yeo et al., 2002), 본 연구를 통해 상기 보고된 4가지

변이 중 어느 것이 한국인 게놈에 특이적으로 나타나는지, 또 wild type과 SNP의 상대적 분포는 어떠한지 등 다형성을 확인하고자 하였다.

임상적으로 정상 판정을 받은 20대 남녀 35명으로부터 동의를 받고 사혈침을 이용해 혈액을 소량 채취하였다. 대사성환자의 혈액은 경북대학교 의료원에서 제공받았다. 혈액으로부터의 genomic DNA 분리는 QIAamp DNA Blood Mini kit (QIAGEN, Germany)을 사용해 실시하였다. PCR 기계는 TaKaRa (Japan)의 gradient PCR 기기를 사용하였다. 상기에서 언급한 것처럼 모두 4종류의 SNP가 보고되어 있기에 PCR primer 역시 총 4개 set를 제작하였다. 각 set별로 sense primer를 2개 제작하였는데 3' 끝이 wild type에 해당하도록 1개, SNP에 해당하도록 1개씩 제작하였다 (Table 1). Antisense primer는 모든 set에 공통되도록 하나만 제작하였다. PCR 반응의 특이성을 높이기 위해 ARMS (Amplification Refractory Mutation System) 방법에 따라 primer의 3' 끝 바로 앞 염기를 주형 DNA와 동일하게 제작하였다. Fig. 1에는 SNP 4종류의 위치와 각각을 분석하기 위해 제작된 primer들의 상대적 위치를 나타내었다. PCR 반응은 SNP별로 annealing 조건을 다르게 하여 실시하였다 (Table 2). PCR 반응물을 1.5% agarose gel에서 16.5 V/cm로 30분간 전기영동하여 원하는 크기의 DNA band가 증폭되었는지 확인한 다음 사진촬영하여 보관하였다.

실험 결과 [G30A]의 경우 정상인 35명과 환자 20명

\*논문 접수: 2008년 6월 18일

수정재접수: 2008년 7월 28일

<sup>†</sup>교신저자: 유민, (우) 704-701 대구광역시 달서구 신당동 1000, 계명대학교 생물학과

Tel: 053-580-5537, Fax: 053-580-5537

e-mail: ymin@kmu.ac.kr

atctgtatcc agaggaaata gccaaaggata ttcagaggtg tgcctgggaa gtttgagctg  
cagcagtgga acctaatgc ccaggatgat cctgtctaac accacagcgg tgagccctt (35)  
tctgaccaag ctgtggcagg agacagttea gcagggtggc aacatgtcgg gcctggcccg (95)  
caggtecccc cgcagctg acggcaagct ggaggecctc tacgtctca tggtactggg (155)  
attctgc ttcttcaacc tgggcatcat getgagctac atccgtcca agaagctgga (215)  
gactegaac gaccattca acgtctacat cgagtcgat gcctggcaag agaaggacia (275)  
ggcctatgtc caggcccggg tectggagag ctacaggtcg tgetatgtcg ttgaaaacca (335)  
tctggccata gaacaacca acacacacct tectgagacg aagcctccc catgaacccc (395)  
accactggct aaaactggac acatcctgcc tggcaacctg attttctaat cacattctc (455)  
tcatactctt tattgtgatg gataccactg gatttcttt tggetgttgt aagggtgag (515)  
gggtggatta atgacactgt tcaactgttt ctctaaaate acgttcttt gtgatagact (575)

**Fig. 1.** DNA sequence of KCNE1 gene and locations of 4 different SNPs (G30A, G112A, C162T, G253A). Numbers represent relative sequence of each line assuming "A" of ATG as number 1. PCR sense primers were designed as underlined and the sequence of antisense primer is double underlined. Circled bases (○) represent the location of SNPs.

**Table 1.** Primers used for PCR amplification of KCNE1 gene

Type	Primer sequence	GC%	SNPs
Sense	Wild 5' tgtctaacaccacagcgggtgagg 3'	56	G30A
	SNP 5' tgtctaacaccacagcggtgaga 3'	52	
	Wild 5' cccgcaggtcccccgagg 3'	85	G112A
	SNP 5' cccgcaggtcccccgagga 3'	80	
	Wild 5' tcatggtactgggattctac 3'	45	C162T
	SNP 5' tcatggtactgggattctat 3'	40	
	Wild 5' tcaacgtctacatcgagtcgg 3'	50	G253A
	SNP 5' tcaacgtctacatcgagtcga 3'	45	
Antisense	5' ccaaaaagaaatccagtggtatc 3'	40	

**Table 2.** Conditions for PCR amplification

SNP	Denaturation	Annealing	Extension	Cycle
	30 sec	30 sec	30 sec	
G30A		58.4°C		35 cycles
G112A	94°C	58.4°C	72°C	
C162T		55°C		
G253A		55°C		

**Table 3.** Relative ratio of KCNE1 polymorphisms in Korean genome

		KCNE1			
		G30A	G112A	C162T	G253A
		Number/total (%)			
Control	w/w	35/35 (100)	27/35 (77)	35/35 (100)	34/35 (97)
	w/s	0/35 (0)	3/35 (9)	0/35 (0)	1/35 (3)
	s/s	0/35 (0)	5/35 (14)	0/35 (0)	0/35 (0)
Patient	w/w	20/20 (100)	17/20 (85)	20/20 (100)	20/20 (100)
	w/s	0/20 (0)	3/20 (15)	0/20 (0)	0/20 (0)
	s/s	0/20 (0)	0/20 (0)	0/20 (0)	0/20 (0)

모두에서 wild type (W/W)만이 확인되었다. [G112A]의 경우는 정상인에서 wild type (W/W)이 27명, heterozygote type (W/S)이 3명, 그리고 SNP homozygote type (S/S)이 5명 확인되었다. 환자에서는 wild type (W/W)이 17명, heterozygote type (W/S)이 3명 발견되었으나 SNP homozygote type (S/S)은 발견되지 않았다. [C162T]의 경우 정상인과 환자 모두에서 wild type (W/W)만 확인되었다. [G253A]의 경우 정상인에서 wild type (W/W)이 33명, heterozygote type (W/S)이 1명이었고 SNP homozygote type (S/S)은 관찰되지 않았다. 환자 20명은 모두 wild type (W/W)으로 확인되었다. 실험 결과는 Fig. 2의 전기영동 사진으로 요약하였고, 각 SNP별로 상대적 분포를 Table

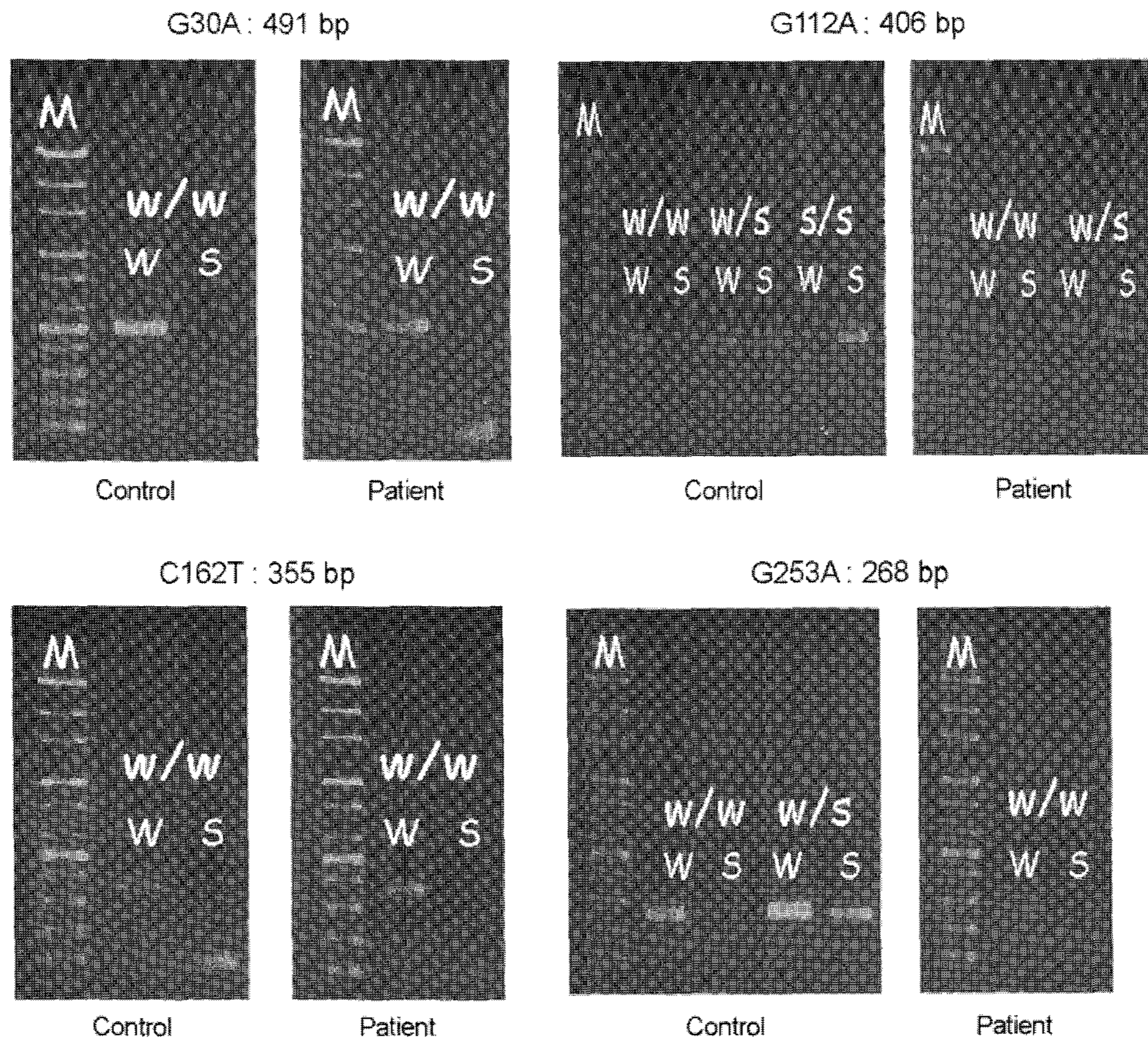


Fig. 2. Results of PCR reactions for KCNE1 polymorphisms (G30A, G112A, C162T, G253A).

3에 정리하였다.

KCNE1은 LQT의 원인 유전자 중 하나이다. QT는 심장 세포가 다음 박동을 준비하는데 걸리는 시간을 말하는데 LQT 환자는 이 수치가 일반인보다 0.45초 이상 긴 것이 특징이다 (Keating et al., 1991). LQT를 진단하는데 있어 어려운 점은 평상시에는 아무런 증상을 보이지 않다가도 운동이나 스트레스 등으로 갑자기 발병한다는 것이다 (Jervell and Lange-Nielsen, 1957; Luft, 2001). 게다가 환자마다 발병의 직접적인 원인이 조금씩 달라서 초기 진단이 어렵고 (Dean et al., 1993), 가족력이 있어 유전자 차원에서의 대책 마련이 시급한 실정이다. 우리가 조사한 변이 중 일부가 다른 아시아 국가에서 확인된 바 있었지만 (Koo et al., 2005) 아직 한국인에서는 관련 데이터가 전혀 없는 실정하기에 본 연구는 한국인 특이적 맞춤 진단을 위해 중요하다고 하겠다. 우리는 연구를 통해 한국인에게도 polymorphism이 분명히 존재한다는 사실과, 그 상대적 분포가 다른 아시아 민족과 구별된다는 것을 확인하였다. 이들 polymorphism과 LQT와의 인과 관계가 아직 분명하지는 않지만 향후 DNA chip과 같은 유전자

차원에서의 진단 방법을 개발할 수 있는 가능성을 제시하였다는 점에서 학문적 기초 자료로 기여할 것을 기대하는 바이다.

#### 감사의 글

본 연구는 교육과학기술부와 한국산업기술재단의 지역혁신인력양성사업으로 수행된 연구결과임.

#### REFERENCES

- Curran ME, Splawski I, Timothy KW, Vincent GM, Green ED, Keating MT. A molecular basis for cardiac arrhythmia: HERG mutations cause long QT syndrome. *Cell* 1995. 80: 795-803.
- Dean JC, Cross S, Jennings K. Evidence of genetic and phenotypic heterogeneity in Romano-Ward syndrome. *J Med Genet*. 1993. 30: 947-950.
- Hirao H, Shimizu W, Kurita T, Suyama K, Aihara N, Kamakura S, Shimomura K. Frequency-dependent electrophysiologic properties of ventricular repolarization in patients with congenital

- long QT syndrome. *J Am Coll Cardiol.* 1996. 28: 1269-1277.
- Hori N, Wiest R, Groszmann RJ. Enhanced release of nitric oxide in response to changes in flow and shear stress in the superior mesenteric arteries of portal hypertensive rats. *Hepatology* 1998. 28: 1467-1473.
- Jervell A, Lange-Nielsen F. Congenital deaf-mutation, functional heart failure with prolongation of the QT Interval, and sudden death. *Am heart J.* 1957. 54: 59-68.
- Jongbloed R, Marcelis C, Velter C, Doevendans P, Geraedts J, Smeets H. DHPLC analysis of potassium ion channel genes in congenital long QT syndrome. *Hum Mutat.* 2002. 20: 382-391.
- Keating MT. The long QT syndrome. A review of recent molecular and physiologic discoveries. *Medicine* 1996. 75: 1.
- Keating MT, Atkinson D, Dunn C, Timothy K, Vincent GM, Leppert M. Linkage of a cardiac arrhythmia, the long QT syndrome, and the Harvey ras-1 gene. *Science* 1991. 252: 704-706.
- Keating MT, Atkinson D, Dunn C, Timothy K, Vincent GM, Leppert M. Consistent linkage of the long QT syndrome to the Harvey ras-1 locus on chromosome 11. *Am J Hum Genet.* 1991. 49: 1335-1339.
- Koo SH, Woon FH, Lee JD. Genetic polymorphisms in KCNQ1, HERG, KCNE1 and KCNE2 genes in the Chinese, Malay and Indian populations of Singapore. *Br J Clin Pharm.* 2005. 61: 301-308.
- Lai LP, Deng CL, Moss AJ, Kass RS, Liang CS. Polymorphism of the gene encoding a human minimal potassium ion channel (Mink). *Gene* 1994. 151: 339-340.
- Luft FC. Genetics and sudden cardiac death. *J Mol Med.* 2001. 79: 477-479.
- Newton CR, Graham A, Heptinstal ILE, Powell SJ, Summers C, Kalsheker N. Analysis of any point mutation in DNA. The amplification refractory mutation system (ARMS). *Nucleic Acids Res.* 1989. 17: 2503-2516.
- Paulussen AD, Gilissen RA, Armstrong M, Doevendans PA, Verhasselt P, Smeets HJ. Genetic Variations of KCNQ1, KCNH2, SCN5A, KCNE1 and KCNE2 in drug-induced long QT syndrome patients. *J Mol Med.* 2004. 82: 182-188.
- Splawski I, Shen J, Timothy GM, Vincent MH, Lehmann, Keating MT. Genomic Structure of Three Long QT Syndrome Genes: KVLQT1, HERG, and KCNE1. *Genomics* 1998. 51: 86-97.
- Yeo SI, Kim SW, Kim YN, You KH, Shin SW, Kim MH, Song JC, Yoo M. Complete Nucleotide Sequence of KCNE1 in Korean Genome. *J Biomed Lab Sci.* 2002. 8: 185-188.
- Viskin S, Alla SR, Barron HV, Heller K, Saxon L, Kitzis I, Hare GF, Wong MJ, Lesh MD. Mode of onset of torsade de pointes in congenital long QT syndrome. *J Am Coll Cardiol.* 1996. 28: 1262-1268.
- Wenham PR, Newton CR, Price WH. Analysis of apolipoprotein E genotypes by the amplification refractory mutation system. *Clin Chem.* 1991. 37: 241-244.