

## Cloning and Expression of Human KCNE1 Gene

Qing Ye, Su-Won Kim, Jong-won Kim and Min Yoo<sup>†</sup>

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

KCNE1 is the causal gene of long QT syndrome. KCNE1 gene is located in chromosome 21. In compliance with this KCNE1 gene the proteins come out. KCNE1 is responsible for  $K^+$  channel which maintains the normal function of the heart muscle for contraction. Affected individuals manifest prolongation of the QT interval on electrocardiograms, a sign of abnormal cardiac repolarization. The clinical features of LQT result from episodic cardiac arrhythmias, such as torsade de pointes and ventricular fibrillation. Blood DNA was isolated and kept in 4°C refrigerator. The KCNE1 gene was amplified by PCR method and about 414 bp band was identified by agarose gel electrophoresis. PCR products were inserted into pGEX-4T-1 vector in order to express KCNE1 protein after treatment with IPTG SDS-PAGE was carried out and the protein band which was about 47 kDa was clearly observed. Results of this study would contribute to the detailed understanding of KCNE1 protein function and to designing better treatment of Long QT syndrome.

**Key Words:** KCNE1 gene, Long QT syndrome, QT interval,  $K^+$  channel, pGEX-4T-1 vector, SDS-PAGE, Cloning, Expression

### 서 론

QT 연장증후군 (Long QT Syndrome: LQTS)은 심장의 전기시스템 장애 때문에 발생하는 질환이다. LQTS은 평소에 아무런 증상이 없다가도 운동이나 스트레스에 의해 발생하는 경우가 많으므로 정확한 진단과 치료를 위해 연구가 시급한 상황이다 (Geelen et al., 1998). 보고에 의하면 QT 연장증후군 환자 중 일부는 가족력을 나타낸다고 알려져 있다. 이는 이 질환에 유전적 소인이 강하게 작용하고 있음을 시사하는 것이다 (Keating et al., 1996). 심지어는 후천적인 경우일지라도 유전자의 염기서열이 돌연변이된 경우가 많기 때문에 유전자 차원에서의 연구가 반드시 요구되는 질환이다. QT는 심전도를 시행해서 나타나는 심장의 Q파와 T파의 거리를 의미한다. 심장은 수축을 위해서 전기적으로 탈분극하며 이때 심장근육이 수축하여 피를 내보내게 된다. 이것이 비정상적으로 길어질 때를 QT 연장증후군이라 한다. QT 연장증후군에는 유전적인 이유로 오는 선천성과 복용하던 약으로 인해

유발되는 후천성이 있다 (Hirao et al., 1996).

선천성 QT 연장증후군 (Inherited Long QT Syndrome)에는 최소 12가지의 유전자가 관련이 있는 것으로 그 동안 확인되었다. 한쪽이나 또는 양쪽 부모에게서 결합의 유전자를 상속 받으면 전기적 충전에 관여하는 이온 채널에 문제가 생기게 된다.

선천성 QT 연장증후군은 난청의 유무에 따라서 로마노-와드 증후군 (Romano-Ward Syndrome. RWS)과 제벨랑귀-닐슨 증후군 (Jervell and Lange-Nielsen Syndrome. JLNS)으로 또한 나뉘어진다 (Jervell and Lange-Nielsen et al., 1957; Romano et al., 1963; Ward et al., 1964). 제벨랑귀-닐슨 증후군은 로마노-와드 증후군에 비해 빈도가 적지만 증상은 양쪽 부모에게서 결합 유전자를 상속받기 때문에 더 심한편이고 선천성 청각장애가 동반되기 마련이다.

후천성 QT 연장증후군 (Acquired Long QT Syndrome)의 일차적 원인으로서는 저칼슘혈증, 저마그네슘혈증, 저칼륨혈증, 영양 실조, 급성 심근염, 심근막염 등을 들 수 있다. 또한 여러 가지 약물의 부작용이나 전해질 장애로 올 수도 있다.

현재 QT 연장증후군의 원인 유전자는 10종류 이상이 확인되었다 (Table 1) (Murai et al., 1989; Keating et al., 1991; Jiang et al., 1994; Curran et al., 1995; Schott et al., 1995; Wang et al., 1995; Splawski et al., 1997). 증후군별로는 LQTS1부

\*접수일: 2010년 11월 8일 / 수정일: 2010년 12월 24일  
채택일: 2010년 12월 27일

<sup>†</sup>교신저자: 유민, (우) 704-701 대구광역시 달서구 신당동 1000, 계명대학교 자연과학대학 생물학과  
Tel: +82-53-580-5537, Fax: +82-53-580-5537  
e-mail: ymin@kmu.ac.kr

**Table 1.** Classification of long QT syndrome

Genes	Locus	Syndrome	Encoded protein	Ion channel	Frequency (%)
KCNQ1	11p15.5	LQTS1	Kv7.1 $\alpha$	$I_{ks}\downarrow$	34
KCNH2	7p35	LQTS2	Kv11.1 $\alpha$	$I_{ks}\downarrow$	40
SCN5A	3p21	LQTS3	Nav1.5 $\alpha$	$I_{Na}\uparrow$	11
ANK2	4q25	LQTS4	Ankyrin-B	$I_{Na,K}\downarrow$ $I_{Ncx}\downarrow$	3
KCNE1	21q22.1	LQTS5	Mink $\alpha$	$I_{ks}\downarrow$	5
KCNE2	21q22.1	LQTS6	MiRP1 $\alpha$	$I_{kr}\downarrow$	1.6
KCNJ2	17q23	LQTS7	Kir2.1 $\alpha$	$I_{kl}\downarrow$	4
CACNA1C	12p13.3	LQTS8	Can1.2 $\alpha$ 1c	$I_{caL}\uparrow$	<1
CAV3	3p25	LQTS9	caveolin-3	$I_{Na}\uparrow$	1
SCN4B	11q23	LQTS10	Nav1.5 $\beta$ 4	$I_{Na}\uparrow$	<1
AKAP9	7q21-q22	LQTS11	Yotiao	$I_{ks}\downarrow$	<1
SNTA1	20q11.2	LQTS12	PMCA4b	$I_{Na}\uparrow$	<1
KCNQ1	11p15.5	JLNS1	Kv7.1 $\alpha$	$I_{ks}\downarrow$	<1
KCNE1	21q22.1	JLNS2	mink $\beta$	$I_{ks}\downarrow$	<1

**Table 2.** List of PCR primers for the expression of KCNE1 gene

Primer	Orientation	DNA sequence	GC%	Size (bp)
4F1	Sense	GGG AAG GAA TTC ATC CTG TCT AAC ACC ACA	46	30
4F2	Sense	GGG AAG GAA TTC CAT CCT GTC TAA CAC CAC A	48	31
4F3	Sense	GGG AAG GAA TTC CCA TCC TGT CTA ACA CCA CA	50	32
4R1	Antisense	CCC AAT CTC GAG TCC AGT TTT AGC CAG TGG	53	30

터 LQTS12까지의 원인 유전자는 모두 로마노-와드 증후군의 원인 유전자이고 JLNS1부터 JLNS2까지의 원인 유전자는 제벨 랑취-닐슨 증후군의 원인 유전자이다 (Splawski et al., 2000; Ai T et al., 2002; Mohler et al., 2004; Splawski et al., 2004; Lehnart et al., 2007).

본 연구에서는 KCNE1 유전자를 한국인의 게놈에서 온전하게 분리하고 염기서열을 파악하고자 하였다. 그다음에 증폭된 KCNE1 유전자를 제한효소를 처리하여 발현벡터 (PGEX-4T-1)에 클로닝하고 IPTG 처리하여 SDS-PAGE E로 발현된 단백질을 확인하였다. 본 연구의 결과는 향후 KCNE1 유전자를 연구하는데 있어, QT 연장증후군에 대한 생리학적 기전을 연구하고 진단 및 치료법을 개발하기 위한 소중한 자료가 될 것으로 기대된다.

## 재료 및 방법

### 재료

실험에 사용한 DNA는 계명대학교 학생들의 동의를 얻어 채취한 혈액으로부터 분리하였다. pGEX-4T-1은 연세대학교 의과대학 김명희 박사로부터 제공받았다. 각종

제한효소들 및 해당 buffer들은 TakaRa (Japan)의 제품을, PCR 기기는 TaKaRa (Japan)의 gradient PCR 기기를, 단백질 전기영동기는 BIO-RAD (USA)의 제품을 각각 사용하였다. 기타 초자기구는 일회용을 사용하거나 121°C에서 20분간 고압멸균하였다.

### 혈액 DNA으로부터 KCNE1 유전자의 PCR 분리

혈액에서 DNA를 분리하기 위하여 DNA blood mini kit (Qiagen)을 사용하였다. DNA는 4°C 냉장고에 보관하였다. PCR 반응에 사용된 primer들은 Table 2와 같다. PCR 반응 조건은 pre-denaturation 반응은 94°C에서 5분, denaturation 반응을 94°C에서 30초, Annealing 반응 시간은 Primer별로 차이가 있었는데, KCNE1-4F1는 52°C에서 30초, KCNE1-4F2는 57°C에서 30초, KCNE1-4F3는 62.4°C에서 30초, extension 반응을 72°C에서 30초씩 모두 35회 실시하였다. Post-extension 반응은 72°C에서 7분간 유지하였다.

### PCR 반응산물의 제한효소 처리

PCR 산물을 vector 안으로 삽입하기 위해 EcoR I과 Xho I을 사용하여 절단하였다. PCR 산물 4  $\mu$ l, 10  $\times$  buffer

2  $\mu$ l, *EcoR* I (15 units/ $\mu$ l) 1  $\mu$ l를 첨가하여 멸균수로 전체 반응 부피가 20  $\mu$ l가 되게 한 다음, 37°C incubator에서 1시간 반응시켰다. 반응물에 *Xho* I (10 units/ $\mu$ l) 1  $\mu$ l를 첨가하여 37°C incubator에서 1시간 재반응하였다. 끝나면 4°C에 보관하였다. pGEX-4T-1 vector는 Plasmid miniprep kit (Bioprogen)을 사용하여 분리하였다. 분리된 vector에 제한효소 처리된 PCR 산물을 넣기 위해서 *EcoR* I과 *Xho* I으로 vector를 반응시켰다. 조건은 앞에서와 동일하였다. 처리한 것을 원심분리한 후 상층액을 1.5 ml eppendorf tube로 옮겨 담았다. CI 용액을 동량으로 첨가한 후 원심분리하였고, 상층액을 다시 옮겨 2배의 ethanol과 NaAc 용액을 넣고 -20°C에서 하룻밤 방치하였다. 다음날에 다시 4°C에서 원심분리하였고 상층액을 모두 제거한 후 70% ethanol로 세척하고 나서 DNA pellet을 건조시켰다. -20°C에 냉동 보관하였다.

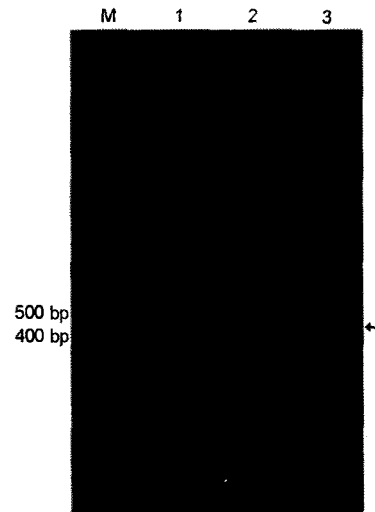
#### pGEX-4T-1를 이용한 KCNE1 유전자의 클로닝

제한효소를 처리한 PCR 산물을 pGEX-4T-1 plasmid에 ligation하였다. PCR 산물 1  $\mu$ l, vector 3  $\mu$ l, T4 DNA ligase (3 units/ $\mu$ l) 1  $\mu$ l, 2  $\times$  rapid ligation buffer 5  $\mu$ l를 사용하여 37°C incubator에서 1시간 동안 배양하였다.

Competent cell을 만들기 위해 LB broth 5 ml에 *E. coli* JM109 균의 콜로니를 접종하여 shaking incubator에서 150 rpm, 37°C로 15시간 배양하였다. 배양한 균액을 LB broth 20 ml에 1% 접종한 후 shaking incubator에서 150 rpm, 37°C로 3시간 배양하였다. 배양액을 얼음에 10분간 방치한 후 원심분리하였다. 상층액을 버리고 나서 0.1 M  $\text{CaCl}_2$ 를 넣어 균을 현탁한 후 얼음에 20분 방치하여 다시 원심분리하였다. 상층액은 버리고 0.1 M  $\text{CaCl}_2$  200  $\mu$ l에 현탁한 후 80% glycerol을 50  $\mu$ l 넣은 후 잘 섞어주었다. Competent cell 100  $\mu$ l에 ligation 산물 10  $\mu$ l를 첨가한 후 얼음에 방치하였고, 연속해서 42°C에서 100초간 heat shock 처리하였다. 이어서 얼음에 2분간 방치한 뒤 LB broth 900  $\mu$ l를 첨가하여 37°C incubator에서 1시간 배양하였다. 배양을 마친 후 LB amp 배지에 100  $\mu$ l씩 도말하여 37°C에서 밤새 배양하였다.

#### GST 융합 단백질 발현

LB amp 액체배지에 1% 접종하여 OD<sub>600</sub>이 0.4~0.6이 될 때까지 150 rpm, 37°C로 배양하였다. 1 mM IPTG를 첨가하고 37°C에서 150 rpm으로 4시간 추가 배양하였다. 대조군으로 IPTG 처리하지 않은 형질전환된 4F1, 4F2, 4F3,



**Fig. 1.** Agarose gel electrophoresis of PCR products (M: 100 bp DNA ladder. 1: Insert of 4F1 PCR product. 2: Insert of 4F2 PCR product. 3: Insert of 4F3 PCR product).

pGEX-4T 콜로니를 LB amp 액체배지에 접종하여 같은 방법으로 배양하였다.

배양액을 1.5 ml eppendorf tube에 1 ml 넣고 원심분리하였다. 상층액은 버리고 다시 배양액 1 ml을 넣은 다음에 앞의 방법을 2번 더 반복하였다. 상층액을 모두 제거하고 1  $\times$  PBS 용액을 넣어 균을 현탁하였다. 초음파분쇄기로 균을 1분간 파쇄하였다. 균액을 4°C에서 원심분리한 다음 새로운 1.5 ml eppendorf tube에 상층액 24  $\mu$ l와 5  $\times$  SDS sample loading buffer를 6  $\mu$ l를 섞어 100°C에서 3분간 끓였다. 이것을 원심분리하여 SDS-PAGE로 전기영동 하였다.

## 결 과

#### KCNE1 유전자 PCR 반응산물의 염기서열 분석

혈액 DNA를 분리하여 전기영동한 결과, DNA가 관찰 가능한 양으로 분리된 것을 확인하였다. Table 1의 primer로 PCR하였고 그 PCR 산물을 전기영동하여 band가 약 414 bp에 나타나는 것을 확인하였다 (Fig. 1). PCR 산물을 더욱 확실한 data를 위하여 (주)마크로젠이 의뢰하여 DNA sequencing 확인하였다. KCNE1 유전자를 대장균에서 발현시키기 위하여 sense primer를 3종류를 만들었다 (Table 2). 4F1 primer의 *EcoR* I 위치 뒤에 염기 (C)를 한 개 추가하여 4F2 primer를 제작하였고, 4F1 primer의 *EcoR* I 위치 뒤에 염기 (CC)를 두 개 추가하여 4F3의 primer를 제작하였다. 3종류를 만든 이유는 해석률 (reading

frame)이 리보조움에 의해 3개씩 읽힐 때 하나씩 밀려 질 수도 있기 때문이었다. 이렇게 만든 primer를 사용해

PCR 반응시킨 후 클로닝하였고, 염기가 1~2개 추가된 primer인 4F2와 4F3의 PCR 결과도 전기영동상으로는 4F1의 밴드와 크기에서 별다른 차이가 없기 때문에 발현된 KCNE1 단백질은 SDS-PAGE로 확인하였다.



Fig. 2. SDS-PAGE of expressed KCNE1 protein fused to GST. (M: protein size markers. O: IPTG added. X: No IPTG)

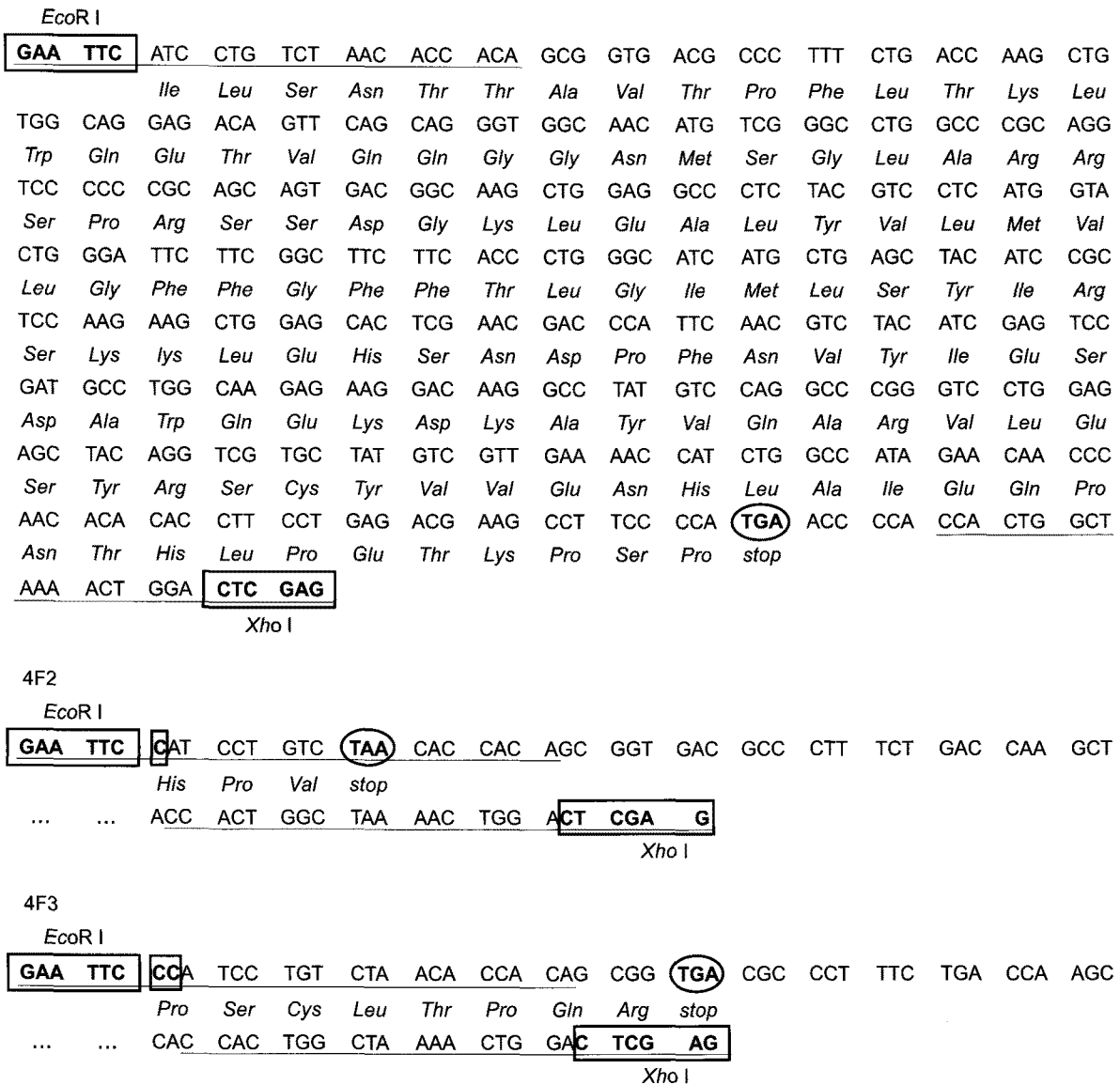
### pGEX-4T-1에 KCNE1 유전자의 단백질 발현

KCNE1 유전자의 단백질 발현을 확인하기 위한 대조군으로는 pGEX-4T-1 vector 자체를 사용하였다. 실험결과 IPTG를 처리하지 않은 콜로니들에서는 발현이 전체 관찰되지 않았다. 4F1 PCR product가 삽입된 콜로니에서만 IPTG를 처리하였을 때, 약 47 kDa의 분자량을 갖는 선명한 band가 관찰되었다 (Fig. 2). 그림의 1, 2번 샘플은 KCNE1 유전자를 클로닝하지 않은 pGEX-4T-1 플라스미드 자체이다. 3, 4번 샘플은 4F1 PCR 산물을 클로닝한 것

<b>ATG</b>	TCC	CCT	ATA	CTA	GGT	TAT	TGG	AAA	ATT	AAG	GGC	CTT	GTG	CAA	CCC	ACT
Met	Ser	Pro	Ile	Leu	Gly	Tyr	Trp	Lys	Ile	Lys	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Thr
CGA	CTT	CTT	TTG	GAA	TAT	CTT	GAA	GAA	AAA	TAT	GAA	GAG	CAT	TTG	TAT	GAG
Arg	Leu	Leu	Ile	Glu	Tyr	Leu	Glu	Glu	Lys	Tyr	Glu	Glu	His	Leu	Tyr	Glu
CGC	GAT	GAA	GGT	GAA	AAA	TGG	CGA	AAC	AAA	AAG	TTT	GAA	TTG	GGT	TTG	GAG
Arg	Asp	Glu	Gly	Asp	Lys	Trp	Arg	Asn	Lys	Lys	Phe	Glu	Leu	Gly	Leu	Glu
TTT	CCC	AAT	CTT	CCT	TAT	TAT	ATT	GAT	GGT	GAT	GTT	AAA	TTA	ACA	CAG	TCT
Phe	Pro	Asn	Leu	Pro	Tyr	Tyr	Ile	Asp	Gly	Asp	Val	Lys	Ile	Thr	Gln	Ser
ATG	GCC	ATC	ATA	CGT	TAT	ATA	GCT	GAC	AAG	CAC	AAC	ATG	TTG	GGT	GGT	TGT
Met	Ala	Ile	Ile	Arg	Tyr	Ile	Ala	Asp	Lys	His	Asn	Met	Leu	Gly	Gly	Cys
CCA	AAA	GAG	CGT	GCA	GAG	ATT	TCA	ATG	CTT	GAA	GGA	GCG	GTT	TTG	GAT	ATT
Pro	Lys	Glu	Atg	Ala	Glu	Ile	Ser	Met	Leu	Glu	Gly	Ala	Val	Leu	Asp	Ile
AGA	TAC	GGT	GTT	TCG	AGA	ATT	GCA	TAT	AGT	AAA	GAC	TTT	GAA	ACT	CTC	AAA
Arg	Tyr	Gly	Val	Ser	Arg	Ile	Ala	Tyr	Ser	Lys	Asp	Phe	Glu	Thr	Leu	Lys
GTT	GAT	TTT	CTT	AGC	AAG	CTA	CCT	GAA	ATG	CTG	AAA	ATG	TTC	GAA	GAT	CGT
Val	Asp	Phe	Leu	Ser	Lys	Leu	Pro	Glu	Met	Leu	Lys	Met	Pho	Glu	Asp	Arg
TTA	TGT	CAT	AAA	ACA	TAT	TTA	AAT	GGT	GAT	CAT	GTA	ACC	CAT	CCT	GAC	TTC
Leu	Cys	his	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn	Gly	Asp	His	Val	Thr	His	Prol	Asp	Phe
ATG	TTG	TAT	GAC	GCT	CTT	GAT	GTT	GTT	TTA	TAC	ATG	GAC	CCA	ATG	TGC	CTG
Met	Leu	Tyr	Asp	Ala	Ile	Asp	Val	Val	Leu	Tyr	Met	Asp	Pro	Met	Cys	Leu
GAT	GCG	TTC	CCA	AAA	TTA	GTT	TGT	TTT	AAA	AAA	CGT	ATT	GAA	GCT	ATC	CCA
Asp	Ala	Phe	Pro	Lys	Leu	Val	Cys	Phe	Lys	Lys	Arg	Ile	Glu	Ala	Ile	Pro
CAA	ATT	GAT	AAG	TAC	TTG	AAA	TCC	AGC	AAG	TAT	ATA	GCA	TGG	CCT	TTG	CAG
Gln	Ile	Asp	Lys	Tyr	Leu	Lys	Ser	Ser	Lys	Tyr	Ile	Ala	Trp	Pro	Leu	Gln
GGC	TGG	CAA	GCC	ACG	TTT	GGT	GGT	GGC	GAC	CAT	CCT	CCA	AAA	TCG	GAT	CTG
Gly	Trp	Gln	Ala	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Asp	His	Pro	Pro	Lys	Ser	Asp	Leu
GTT	CCG	CGT	GGA	TCC	CCG	<b>GAA</b>	<b>TTC</b>									
Val	Pro	Arg	Gly	Ser	Pro	Glu	Phe									

EcoR I

Fig. 3. Location of cloning site of EcoR I (GAATTC) and ATG as an initiation codon of pGEX-4T-1. The size of leader protein is about 29.93 kDa.



**Fig. 4.** Location of 4F1, 4F2, 4F3 and antisense primers and the antipated proteins. TAA and TGA represent the stop codons (4F1: 17.095 kDa, 4F2: 0.387 kDa, 4F3: 1.025 kDa). *EcoR* I and *Xho* I sites are boxed.

이지만 3번은 IPTG를 처리하고 4번은 IPTG를 처리하지 않는 경우이다. 이 두 가지 샘플을 비교하면 protein size marker의 43 kDa부터 55 kDa 사이에서 KCNE1 유전자의 단백질이 발현된 것을 확실하게 확인할 수 있었다. 5, 6 번 샘플은 4F2의 샘플이고 5번은 IPTG를 처리한 경우, 6번은 IPTG를 처리하지 않은 경우이다. 마지막, 7, 8번은 4F3의 샘플이고 7번은 IPTG를 처리하였고, 8번은 IPTG를 처리하지 않았다. 2번 샘플과 7번 샘플은 윗 부분으로 끌림 형상이 관찰되었는데 이는 SDS-PAGE 실험 중에 그 두 종류 샘플 양이 지나치게 많았기 때문이다.

## 고 찰

QT 연장증후군은 평소에 아무런 증상이 없다가도 운동이나 스트레스에 의해 발병하는 경우가 많으므로 정확한 진단과 치료를 위해 연구가 시급한 상황이다 (Geelen et al., 1998). KCNE1 유전자는 QT 연장증후군의 원인 유전자 중 하나이다. 주요 증상은 심실 부정맥과 돌연사인데 갑작스런 스트레스를 받거나 (예: 갑작기 놀람, 화를 냄, 통증), 전화 벨소리를 듣거나, 운동과 관련되어 주로 나타난다. 최근에 가족력이 보고되면서 점점 유전적 경

향이 높은 질환, 그리고 이온 채널 질병으로 인정되고 있다 (Yeo et al., 2002).

본 연구에서는 4F1 primer는 정상 염기서열에 기초하여 만들었으며, 4F2 primer는 4F1 primer의 *EcoR* I 위치 뒤에 염기를 한 개 추가하였다. 4F3 primer는 4F1 primer의 *EcoR* I 위치 뒤에 염기를 두 개 추가하였다. 이렇게 만든 이유는 단백질 발현을 위한 reading frame 세 가지를 비교 테스트하기 위함이었다. pGEX-4T-1 expression vector에 *KCNE1* 유전자를 클로닝하고 단백질 발현을 시켰을 때 SDS-PAGE에 나타날 결과는 다음과 같이 예측되었다. 4F1, 4F2, 4F3 중 어떤 primer를 사용하든지 개시코돈(ATG)의 위치부터 *EcoR* I의 위치까지는 염기서열이 똑 같기 때문에 약 29.93 kDa의 단백질이 만들어질 것으로 계산되었다 (Fig. 3). 4F1을 이용한 클로닝 산물은 정지코돈(TGA)의 위치가 원래 위치에 그대로 있기에 리보솜에 의해 읽히면 *EcoR* I 제한효소 위치부터 정지코돈(TGA)까지 약 17.095 kDa의 단백질이 추가로 발현될 것이 예상되었다. 4F2의 경우는 정지코돈(TAA)의 위치가 4F1의 정지코돈에 있는 위치보다 앞당겨 나올 것이 예상되었고, 4F3의 경우 정지코돈(TGA)의 위치는 4F1의 정지코돈의 위치보다도 앞당겨질 것으로 예상되었다.

결과적으로 발현된 단백질은 4F1의 경우 약 47 kDa ( $29.93 + 17.095 = 47.025$  kDa)이고, 4F2와 4F3의 단백질 분자량은 각각 30.31 kDa ( $29.93 + 0.38 = 30.31$  kDa), 30.95 kDa ( $29.93 + 1.02 = 30.95$  kDa)으로 4F1의 경우보다 훨씬 작을 것으로 예상되었다 (Fig. 4). 실제로 IPTG를 처리한 다음 SDS-PAGE로 이를 확인한 결과, 4F1 PCR product가 대장균에 삽입된 경우에서만 약 47 kDa의 분자량을 갖는 선명한 단백질 band가 관찰되었다 (Fig. 2).

본 연구의 결과는 한국인에서 QT 연장증후군을 정확하게 맞춤 진단할 수 있는 방법을 개발하기 위한 첫걸음이라 할 수 있다. QT 연장증후군은 흔치 않은 질환으로, 특히 임상 증상이 관찰되지 않는 환자에서는 진단 상에 어려움이 있어 좀 더 간편하고 신속한 결과를 낼 수 있는 분자생물학적 방법이 개발되어야 한다. 본 연구는 향후 *KCNE1*의 생리학적 기전을 연구하고, 새로운 항체와 신약을 개발할 기초 연구로서 소중한 자료가 되리라 기대된다.

#### Acknowledgment

본 연구는 지식경제부 지원 계명대학교 전통미생물자원개발 및 산업화연구센터에 의한 것임.

#### REFERENCES

- Ai T, Fujiwara Y, Tsuji K, Otani H, Nakano S, Kubo Y, Horie M. Novel *KCNJ2* mutation in familial periodic paralysis with ventricular dysrhythmia. *Circulation* 2002. 105: 2592-2594.
- 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.
- Geelen JL, Doevendans PA, Jongbloed RJE, Wellens HJJ, Geraedts JPM. Molecular genetics of inherited long QT syndromes. *Eur Heart J*. 1998. 19: 1427-1423.
- 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.
- Jervell A, Lange-Nielsen F. Congenital deaf-mutism, functional heart disease with prolongation of the QT interval, and sudden death. *Am Heart J*. 1957. 54: 59-68.
- Jiang C, Atkinson D, Towbin J, Splawski I, Lehmann M, Li H, Timothy K, Taggart R, Schwartz P, Vincent G, Moss A, Keating M. Two long QT syndrome loci map to Chromosome 3 and 7 with evidence for further heterogeneity. *Nat Genet*. 1994. 8: 141-147.
- Keating M, 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 M, Dunn C, Atkinson D, 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.
- Keating MT. The long QT syndrome. A review of recent molecular and physiological discoveries. *Medicine* 1996. 75: 1-5.
- Lehman SE, Ackerman MJ, Benson DW Jr, Brugada R, Clancy CE, Donahue JK, George AL Jr, Grant AO, Groff SC, January CT, Lathrop DA, Lederer WJ, Makielski JC, Mohler PJ, Moss A, Nerbonne JM, Olson TM, Przywara DA, Towbin JA, Wang LH, Marks AR. Inherited arrhythmias: A National Heart, Lung, and Blood Institute and Office of Rare Diseases Workshop Consensus Report About the Diagnosis, Phenotyping, Molecular Mechanisms, and Therapeutic Approaches for Primary Cardiomyopathies of Gene Mutations Affecting

- Ion Channel Function. *Circulation* 2007. 116: 2325-2345.
- Mohler PJ, Schott JJ, Gramolini AO, Dilly KW, Guatimosim S, duBell WH, Song LS, Haurogné K, Kyndt F, Ali ME, Rogers TB, Lederer WJ, Escande D, Le Marec H, Bennett V. Ankyrin-B mutation causes type 4 long-QT cardiac arrhythmia and sudden cardiac death. *Nature* 2003. 421: 634-639.
- Murai T, Kakizuka A, Takumi T, Ohkubo H, Nakanishi S. Molecular cloning and sequence analysis of human genomic DNA encoding a novel membrane protein which exhibits a slowly activating potassium channel activity. *Biochem Biophys Res Commun*. 1989. 161: 176-181.
- Romano C, Gemme G, Pongiglione R. Artimie Cardiach rare dell'eta pediatrica. II. Accessi sincopali per fibrillazione ventricolare parossitica. *Clin Pediatr*. 1963. 45: 656-683.
- Schott J, Charpentier F, Peltier S, Foley P, Drouin E, Bouhour J, Donnelly P, Vergnaud G, Bachner L, Moisan J, Le Marec H, Pascal O. Mapping of a gene for long QT syndrome to chromosome 4q25-27. *Am J Hum Genet*. 1995. 57: 1114-1122.
- Splawski I, Tristani-Firouzi M, Lehmann MH, Sanguinetti MC, Keating MT. Mutations in the *KCNK2* gene cause long QT syndrome and suppress *I<sub>Ks</sub>* function. *Nat Genet*. 1997. 17: 338-340.
- Splawski I, Shen J, Timothy KW, Lehmann MH, Priori S, Robinson JL, Moss AJ, Schwartz PJ, Towbin JA, Vincent GM, Keating MT. Spectrum of mutations in long QT syndrome genes: *KVLQT1*, *HERG*, *SCN5A*, *KCNE1*, and *KCNE2*. *Circulation* 2000. 102: 1178-1185.
- Splawski I, Timothy KW, Sharpe LM, Decher N, Kumar P, Bloise R, Napolitano C, Schwartz PJ, Joseph RM, Condouris K, Tager-Flusberg H, Priori SG, Sanguinetti MC, Keating MT. *CaV1.2* calcium channel dysfunction causes a multisystem disorder including arrhythmia and autism. *Cell* 2004. 119: 19-31.
- Wang Q, Shen J, Splawski I, Atkinson D, Zhizhong L, Robinson J, Moss A, Towbin J, Keating M. *SCN5A* mutations associated with an inherited cardiac arrhythmia, long QT syndrome. *Cell* 1995. 80: 805-811.
- Ward Q. A new familial cardiac syndrome in children. *J Ir med Assoc*. 1964. 54: 103-106.
- 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.