

SLC6A19 Minisatellites 7(SLC6A19-MS7)의 심근경색과의 관련성과 진화적 분석

설소영 · 이상엽 · 엄지훈 · 윤해순[#] · 선우양일[#]

동아대학교 자연과학대학 생명과학과

(Received October 9, 2009; Revised December 7, 2009; Accepted December 7, 2009)

Analysis of Minisatellite 7 of SLC6A19 (SLC6A19-MS7) for the Relationship to Myocardial Infarction and Evolutional Level

So-Young Seol, Sang-Yeop Lee, Ji-Hoon Yum, Hae-Soon Yoon[#] and Yangil Sunwoo[#]

Department of Biological Science, Donga-A University

Abstract — SLC6A19 which reported as a neurotransmitter was composed of seven minisatellites. In previous our study, the minisatellites variants of SLC6A19-MS7 showed the susceptibility for hypertension. When this minisatellite sequences were analyzed using the bioinformatic tool, USF1 (upstream transcription factor 1) was found in this region as a putative transcription factor binding site. USF1 is binding with E-boxes which has a consensus sequence of CACGTG. USF1 is a ubiquitously expressed transcription factor and involved in the transcriptional control of many genes including the molecular pathogenesis of cardiovascular disease. Thus, we investigated that the putative functional relationship between the minisatellites variants and susceptibility for myocardial infarction. A case-control study was performed that compared genomic DNA from 400 controls and 225 cases with myocardial infarction. There were no significant differences observed in the overall allelic distribution of minisatellites between controls and cases, which indicates that this polymorphism is not responsible for myocardial infarction susceptibility. Hence, we analyzed the five different minisatellites alleles from this study and characterized 14 different repeats units (Unit1~Unit14). Then, we evaluated the DNA composition, phylogenetic tree, and pairwise distances of its repeats. The variability of each repeats differed from 2.33% to 16%. The phylogenetic trees for the four SLC6A19-MS7 minisatellites exhibited very different shapes in their branches and distances, and present most common 8 repeats allele was the longest 14 repeats allele. Therefore, this result may help to understand for the evolutional level of the length of minisatellites.

Keywords □ SLC6A19-MS7, myocardial infarction, USF1, minisatellites evolution

막 단백질은 척추동물에게 있어서 전체 유전자의 10% 이상을 차지하며,¹⁾ 그 종류로는 G-단백질 수용체, Kinase 수용체, 이온 채널 및 Solute carrier 등이 있다. 이들 중 Solute carrier(SLC) family는 아미노산, 당, 뉴클레오티드 및 무기이온의 세포막을 통과하도록 조절한다.²⁻⁵⁾ Solute carrier(SLC) family에 속하는 SLC6A19(solute carrier family 6, member 19) 유전자는 SLC6A15, SLC6A16, SLC6A17, SLC6A18 그리고 SLC6A20과 함께 orphan 그룹에 속한다.⁶⁻⁸⁾ 이들 중 SLC6A18와 SLC6A19는 인간의 5번 염색체 단완의 말단 5p15.33 부위에 나란히 위치하고 있다.⁹⁾

염색체 말단에 위치하는 유전자들은 유전자 내에 많은 반복서열을 가지고 있다.¹⁰⁻¹²⁾ 이러한 구조적 특징을 가진 다른 유전자들에서 반복서열인 minisatellites의 길이에 따른 변이가 질병과 연관되어 있다는 것이 많이 보고되었다.^{11,13,14)} 본 연구에서 주목한 SLC6A19 유전자는 염색체 말단에 존재하며 유전자의 intron 부위에 7개의 반복서열영역이 확인되었다.¹⁵⁾ 또한 SLC6A19 유전자 내에 존재하는 minisatellite 중 SLC6A19-MS7 영역이 인간의 고혈압과 매우 밀접한 연관성이 있다는 것이 밝혀졌다.¹⁵⁾ 고혈압이라고 하는 것은 매우 흔한 질병이지만 이러한 고혈압으로 인하여 뇌, 심장, 신장, 눈 등이 손상된다. 특히 고혈압을 치료하지 않고 방치하면 혈액을 순환시키는 원동력이 되는 순환계의 중추기관인 심장에 부담을 주게 된다.¹⁶⁾ 본 연구에서는 이렇게 고혈압과 연관성을 가진 SLC6A19-MS7 영역의 염기서열을 분석하고, 그 기능적 연관성을 조사하기 위하여 생물정보학적 방

[#]본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 051-200-7262 (팩스) 051-200-7269
(E-mail) hsyoon@dau.ac.kr, yisunwoo@dau.ac.kr

법을 사용하여 transcription factor binding site를 분석하였다. 그 결과 지질과 당 대사 작용에 있어서 다양한 유전자를 조절하는 전사 인자로서 CACGTG 서열을 가진 E-Box 부위에 결합하는 USF1(upstream transcription factor 1)의 binding site를 발견하였다. 이러한 USF1은 심장 혈관 관련 질병에 관련된 유전자를 포함한 많은 유전자들의 전사조절에 관여한다.¹⁷⁾ 그러므로 본 연구는 심장질환과 SLC6A19-MS7 유전자의 연관성에 주목하여, SLC6A19-MS7 영역에서 나타나는 minisatellites variant와 심근경색의 연관성을 조사하였다. 대조군으로 400명의 정상인과 심근경색 환자군 225명의 genomic DNA를 이용하여 case-control study를 수행하였다.

Case-control study를 통해 얻어진 5 종류의 minisatellites alleles의 염기서열을 결정하여 총 14 종류(Unit 1~Unit 14)의 반복서열 단위를 확인하였다. SLC6A19-MS7 영역의 minisatellites 길이에 대한 진화적 수준을 이해하기 위하여 각 반복서열을 이용한 pairwise distances와 계통발생학적 분석을 수행하였다.

실험방법

Genomic DNA 추출

다형성 조사를 위한 PCR 반응에 사용한 genomic DNA는 상호 관련성이 없는 심근경색 환자 남녀 225명의 혈액과 대조군 400명의 혈액으로부터 genomic DNA를 분리하였다(Fig. 1). 심근경색의 병태생리학적 상태를 평가하는 심전도를 통해 생애 첫

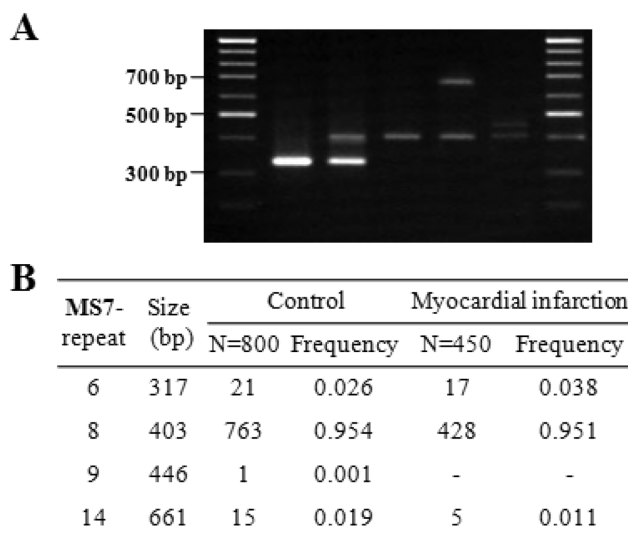


Fig. 1 - The electrophoretic patterns and allelic frequency of SLC6A19-MS7. (A) Polymorphic patterns of SLC6A19-MS7 in upper panel. It showed the allelic pattern of control and myocardial infarction groups that has 4 alleles and 5 patterns. (B) The allelic frequency, size of PCR products and repeat number are indicated in the lower panel.

ST절 상상을 나타내는 환자를 실험군으로 사용하였다. 이때 ST절이라 하는 것은 심전도 검사 시 나타나는 여러 가지 변화 중 손상부위에서 상승 현상을 나타내는 것이다. 그리고 대조군으로는 본 실험실에서 기 발표된 논문의 대조군을 사용하였다.¹⁵⁾ Genomic DNA를 분리하기 위하여, 먼저 혈액 400 μ l와 lysis buffer(1.28 mM sucrose, 40 mM Tris-Cl pH 7.5, 20 mM MgCl₂, 4% Triton X-100), 그리고 멸균수를 각각 1:1:3 비율로 섞어, 얼음 위에서 10분간 두었다. 1500 rpm의 속도로 4에서 15분간 원심분리 후 상층액을 버린 후, 다시 lysis buffer와 멸균수를 첨가하고 원심 분리하였다. General lysis buffer(800 mM guanidine HCl, 300 mM Tris-Cl pH 8.0, 5% Tween-20, 0.5% Triton X-100)를 첨가하고 protease K(20 mg/ml)를 50°C에서 60분간 처리하였다. 37°C에서 30분 정도 RNase A(10 mg/ml)를 처리한 후, Phenol 처리로 단백질을 제거하였다. 상층액을 isopropanol로 DNA를 침전시킨 뒤 70% EtOH로 DNA를 씻고 잠깐 동안 말린 후, TE[10 mM Tris-Cl(pH 8.0), 1 mM EDTA(pH 8.0)] 100 μ l 에 녹여 사용하였다.

PCR 반응

SLC6A19-MS7 영역을 PCR로 증폭하기 위해 primer(SLC6A19-MS7: F-catggcaatgggtgccacctg & R-tgaggaatgtcccaggcaga)를 사용하였다.¹⁵⁾ 100 ng의 Genomic DNA와 10 μ M의 primer를 Go Tag polymerase(Promega, WI)을 이용하여 다음과 같은 조건에서 PCR을 수행하였다(50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl, pH 9.0, 3.0 mM MgCl₂, 0.2 mM dTTP, dCTP, dGTP, and dATP/total 40 μ l). PCR 반응은 9700 Thermocycler(Perkin-Elmer, CA)를 사용하여 94°C, 2분간 1회, 그리고 94°C에서 30초, 65°C에서 20초, 72°C에서 1분간 처리된 온도변화를 30회 반응 시킨 후, 72°C에서 7분간 1 cycle의 연장 반응을 수행하였다.

이렇게 PCR을 통해 얻은 산물을 1.5% LE agarose gel (TAKARA, Japan)에서 100 V로 전기영동하여, 서로 다른 개체에 나타나는 대립형질의 빈도와 경향을 비교하였다. DNA size marker로는 100 bp ladder(Invitrogen, CA)를 사용하여 대립형질을 분석하였다. 그리고 각각의 대립형질의 PCR product를 TA Cloning kit(Invitrogen, CA)을 사용하여 cloning 하고 이를 이용하여 서열을 분석하였다.

생물정보학적 방법

NCBI(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)와 Ensemble Genome Browser(<http://www.ensembl.org/index.html>)를 이용하여 SLC6A19의 구조 및 염기서열을 확인하였다.¹⁸⁾ SLC6A19-MS7 영역의 전사인자의 존재 여부를 확인하기 위해 transfac tool의 MatchTM public version1.0(<http://www.gene-regulation.com/cgi-bin/public/programs/match/bin/match.cgi>)을 이용하였다. 또한, 각 반복 서

열 단위의 상동성 조사 및 계통발생학적 분류를 위해 5 종류의 minisatellites alleles의 염기서열을 결정하였다. 총 14종류의 repeat unit이 동정되었고, 각 repeat 사이의 pairwise distance를 조사하기 위해 ClusterX와 Mega4 프로그램을 이용하여 비교 분석하였다.

실험 결과 및 고찰

SLC6A19-MS7 영역의 생물정보학적 분석

유전자의 발현 조절 영역으로서 대개 유전자의 upstream 영역에서 전사 활성 조절이 이루어지지만 유전자의 intron 영역에서도 전사 활성을 가지는 E-Box 부분이 존재하여 실제 전사활성에 영향을 준다는 것이 보고되었다.¹⁹⁾ 그러므로 SLC6A19-MS7 영역이 고혈압에 대한 susceptibility에 영향을 준다면 intron 영역인 이 부분에서도 유전자에 어떤 형태로든 영향을 줄 것으로 가정될 수 있다. 이러한 가정 하에 본 연구실에서 SLC6A19-MS7 영역의 염기서열을 이용하여 생물정보학적 방법으로 전사인자 결합 자리에 대해 분석하였다.

Transfac의 match program을 이용하여 SLC6A19-MS7 서열 내의 전사 인자 결합 자리를 분석한 결과 USF1 결합 자리가 발견되었다. USF1 유전자는 basic helix-loop-helix leucine zipper family의 전사 인자로 지질과 당 대사 작용에 있어서 다양한 유전자들을 조절하는 인자이다. 그리고 이 유전자는 CACGTG 서열을 가진 E-Box 부위에 결합한다.²⁰⁾ USF1에 의해서 조절되는 많은 유전자들 중 APOE, ABCA1, AGT와 같은 유전자들은 심장 혈관 관련 질병에 관련된 것이 보고되었다.¹⁷⁾ 그러므로 본 연구에서는 고혈압의 susceptibility에 영향을 주는 SLC6A19-MS7 영역이 심근경색에도 영향을 미칠 것으로 예상되어 실험을 진행하였다.

Minisatellites variants와 심근경색과의 관련성

심장질환과 SLC6A19-MS7와의 연관성에 주목하여, SLC6A19-MS7 영역에서 나타나는 minisatellites variant와 심근경색의 연관성에 대하여 case-control study를 수행하였다. 대조군으로 400명의 상호 연관성이 없는 성인 남녀 400명을 분석하고 심근경색 환자군 225명의 genomic DNA를 이용하여 SLC6A19-MS7의 영역에 대하여 Minisatellites 다형성을 조사하였다. 대립형질을 분석한 결과, 대조군에서는 317 bp의 6회 반복된 크기에서 661 bp의 14회 반복된 크기까지 4종의 alleles과 5종의 haploid 패턴을 관찰할 수 있었다(Fig. 1A). 대조군과 심근경색환자의 minisatellites alleles의 출현빈도를 조사한 결과는 Fig. 1B에서 보여주는 것과 같이 유의한 차이를 나타내지 않았다. 심근경색환자 225명에서는 3 종류의 대립형질만이 관찰되었으나, 9번의 repeats를 가지는 allele의 경우는 rare allele로서 비교 개체군 수가 실험군

에 비해 대조군이 두 배가량이므로 대조군에서만 나타났을 것으로 보인다. 두 그룹 모두에서 403 bp 크기의 8회 반복된 대립형질의 빈도가 각각 95.4%, 95.1%로 가장 일반적인 대립형질로 나타났다.

이러한 결과에 의해 인간의 SLC6A19 유전자 내에 존재하는 SLC6A19-MS7의 길이에 따른 심근경색과의 관련성은 통계적 유의성이 없는 것으로 확인되었다. 그러나 본 결과는 단지 SLC6A19-MS7 영역의 반복서열에 대한 비교 결과이기 때문에 전체 SLC6A19 유전자가 심근경색과의 관련성이 있을 가능성을 배제할 수는 없다.

SLC6A19-MS7 alleles 길이 변이와 진화적 관계

비교 유전체학 연구에서 종간의 진화 관계를 추적하기 위해서

```

MS7_6R GCAGCCCCGGGCTGTGTAACAGCTCTGTCCCCGGCCGTGTGT
GCAGCCCCGGGCGTGTGAACAGCTCTGTCCCCGGCCGTGCGT
GCAGCCCGGGCATGTGAGCAGCTCTGTCCCCGGCAGTGTGT
GCAGCCCCGGGTGTGTAACAGCTCTGTCCCTGGCCATATGT
GCAGCCCCCAGTTGTGTGAACAGCTCTGTCCCTGGCCGTGCGT
GCAGCCCCGGGCGTGTGAGCAGCTCTGTCCCCGGCCCT

MS7_7R GCAGCCCCGGGCTGTGTAACAGCTCTGTCCCCGGCCGTGCGT
GCAGCCCCGGGCGTGTGAACAGCTCTGTCCCCGGCCGTGCGT
GCAGCCCCCAGGCGTGTGAACAGCTCTGTCCCCGGCCGTGCGT
GCAGCCCGGGCATGTGAGCAGCTCTGTCCCCGGCAGTGTGT
GCAGCCCCGGGTGTGTAACAGCTCTGTCCCTGGCCATATGT
GCAGCCCCCAGTTGTGTGAACAGCTCTGTCCCTGGCCGTGCGT
GCAGCCCCGGGCGTGTGAGCAGCTCTGTCCCCGGCC

MS7_8R GCAGCCCCGGGCTGTGTAACAGCTCTGTCCCCGGCCGTGTGT
GCAGCCCCGGGCGTGTGAACAGCTCTGTCCCCGGCCGTGCGT
GCAGCCCCCAGGCGTGTGAACAGCTCTGTCCCCGGCCGTGTGT
GCAGCCCCGGGCGTGTGAACAGCTCTGTCCCCGGCCGTGCGT
GCAGCCCGGGCATGTGAGCAGCTCTGTCCCCGGCAGTGTGT
GCAGCCCCGGGTGTGTAACAGCTCTGTCCCTGGCCATATGT
GCAGCCCCCAGTTGTGTGAACAGCTCTGTCCCTGGCCGTGCGT
GCAGCCCCGGGCGTGTGAGCAGCTCTGTCCCCGGCC

MS7_9R GCAGCCCCGGGCTGTGTAACAGCTCTGTCCCCGGCCGTGTGT
GCAGCCCCGGGCGTGTGAACAGCTCTGTCCCCGGCCGTGCGT
GCAGCCCCCAGGCGTGTGAACAGCTCTGTCCCCGGCCGTGTGT
GCAGCCCGGGCATGTGAGCAGCTCTGTCCCCGGCAGTGTGT
GCAGCCCCGGGTGTGTAACAGCTCTGTCCCTGGCCATATGT
GCAGCCCCCAGTTGTGTGAACAGCTCTGTCCCTGGCCGTGCGT
GCAGCCCCGGGCGTGTGAGCAGCTCTGTCCCCGGCCCT

MS7_14R GCAGCCCCGGGCTGTGTAAGCTCTGTCCCCGGCCGTGCGT
GCAGCCCCGGGCGTGTGAACAGCTCTGTCCCCGGCCGTGCGT
GCAGCCCCCAGGCGTGTGAACAGCTCTGTCCCCGGCCGTGTGT
GCAGCCCGGGCATGTGAGCAGCTCTGTCCCCGGCAGTGTGT
GCAGCCCCGGGTGTGTAACAGCTCTGTCCCTGGCCATATGT
GCAGCCCCCAGTTGTGTGAACAGCTCTGTCCCTGGCCGTGCGT
GCAGCCCGGGCATGTGAGCAGCTCTGTCCCCGGCAGTGTGT
GCAGCCCCGGGTGTGTAACAGCTCTGTCCCTGGCCATATGT
GCAGCCCCCAATTGTGTGAACAGCTCTGTCCCTGGCCGTGCGT
GCAGCCCCGGGCGAGTGTGAGCAGCT

```

Fig. 2 – Multiple alignments of the nucleotides sequences for SLC6A19-MS7 alleles: MS7_6R, _7R, _8R, _9R and _14R.

많은 경우에 유전자의 coding 영역이 사용되고 있다. 본 연구에서는 minisatellites 길이 변이를 이용하여 진화적인 관점에서 길이의 변화가 어떻게 이루어졌는가를 추론하기로 하였다. 위의 실험을 통하여 인간의 SLC6A19-MS7 영역에서 분리한 각각 6번 반복, 8번 반복, 9번 반복, 14번 반복을 가진 총 4개의 minisatellites alleles(SLC6A19-MS7_6R, -MS7_8R, -MS7_9R, -MS7_14R)이 얻어졌다. 본 연구에서 얻어진 4개의 minisatellites alleles과 본 연구실의 Seol *et al.*(2008) 등에 의해 얻어진 7번 반복의 SLC6A19-MS7_7R을 포함하여 총 5개의 minisatellites

alleles을 각각 TA vector에 cloning하여 각각의 DNA 염기서열을 결정하였다(Fig. 2). 이 염기서열의 결정으로 얻어진 repeats 단위를 비교분석하여, 총 14 종류의 repeats units(Unit 1~Unit 14)를 얻을 수 있었다(Fig. 3A). 서로 다른 5개의 minisatellites alleles은 총 14개의 repeats units가 각각 서로 달리 연결되어 이루어져 있었다(Fig. 3B).

각각의 repeats units 간의 상동성을 조사하기 위하여 ClusterX와 Mega4 프로그램을 이용하였다. Table I에서 보여주는 것과 같이 각 repeat 사이의 pairwise distance를 조사하기 위해 비교 분석을 수행하였다. 표에서 ND로 표시된 것은 비교되는 반복서

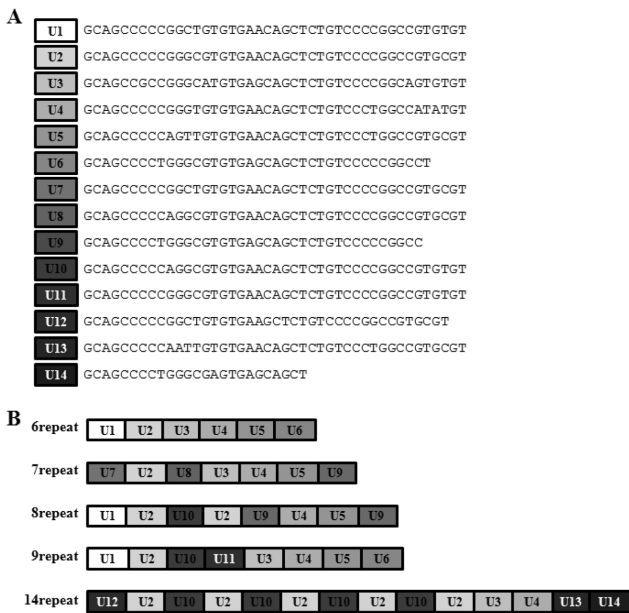


Fig. 3 – Graphical representation of individual repeats unit distributions for each minisatellites alleles. (A) The sequence of each repeats units were shown in upper panel. (B) The repeats unit distributions are presented for each minisatellites alleles (MS7_6R, _7R, _8R, _9R and _14R).

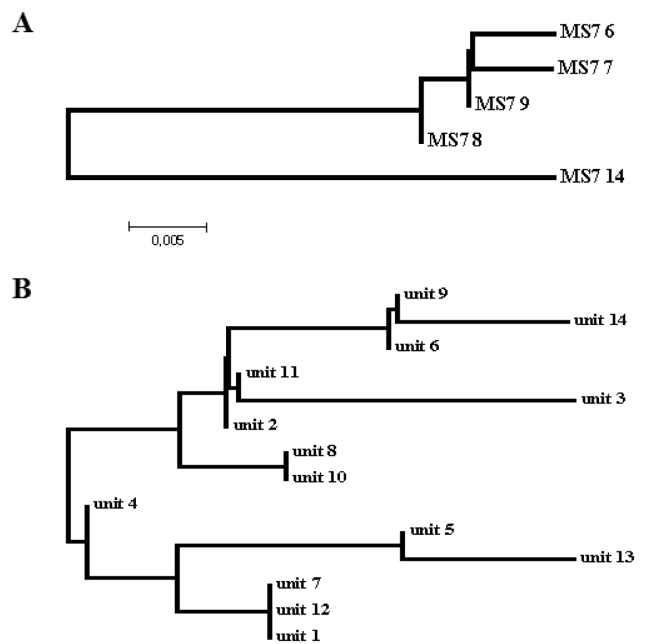


Fig. 4 – Phylogenetic trees for SLC6A19-MS7 (A) Phylogenetic trees for the five minisatellites in SLC6A19-MS7. (B) Phylogenetic trees for the repeat units in SLC6A19-MS7.

Table I – Similarity among the units of SLC6A19-MS7 minisatellite repeats array

	U1	U2	U3	U4	U5	U6	U7	U8	U9	U10	U11	U12	U13	U14
U1														
U2	95													
U3	93.1	91.67												
U4	94.59	94.59	87.5											
U5	92.5	90.7	94.44	94.59										
U6	87.88	93.94	90.91	90.63	94.74									
U7	100	95.35	95.45	94.59	93.02	87.88								
U8	92.5	97.67	88.89	91.89	93.02	90.91	93.02							
U9	87.88	93.94	90.91	90.63	94.74	100	87.88	90.91						
U10	93.02	97.5	88.37	91.89	92.5	90.91	92.5	100	90.91					
U11	95.35	100	90.7	94.59	90	93.94	95	97.5	93.94	97.67				
U12	95	90.7	100	89.19	88.37	100	95.35	100	100	100	90			
U13	96.43	96.67	94.44	100	97.67	94.74	96.77	90.7	94.74	90	96.3	95.45		
U14	ND	88	ND	84	ND	96	ND	84	96	84	88	ND	ND	

Blast2.2.20, ND: shorter than 20 nucleotides

열의 길이가 20 bp 이하로 짧아 처리하지 않은 것이며, 100으로 비교된 부분은 앞뒤 일부서열을 간격조정으로 맞추고 나머지 부분의 값이 완전히 매치되는 것을 나타낸다. 따라서 이러한 조정 값을 제외하고 전체적으로 보이는 repeats units 사이에서 나타나는 변이정도는 2.33~16%로 나타났다.

이러한 5개 minisatellites alleles의 계통수를 조사한 결과, SLC6A19-MS7_6R, -MS7_7R, -MS7_8R, -MS7_9R의 alleles은 최근에 분기되어 매우 유사한 염기서열을 갖고 있었으며(Fig. 4A), SLC6A19-MS7_14R은 Unit 2와 Unit 10의 반복으로 이루어져 다른 대립형질과 다른 양상을 보였다. 각 반복단위의 계통수를 보면 반복단위의 위치에 따라 같은 군집을 이루는 것을 알 수 있다. alleles의 첫 번째 반복단위를 이루는 Unit 1, Unit 7, Unit 12의 반복단위가 같은 군집을 이루고(Fig. 3B, Fig. 4B), 나머지도 각 반복단위의 사이에 작은 변이를 갖는 반복단위가 삽입되어 있는 것을 알 수 있다. 이러한 계통발생학적 분석결과를 미루어 SLC6A19-MS7 영역은 서로 다른 minisatellites 중에서 가장 긴 14 반복서열을 가진 alleles로부터 변이에 의해 짧은 alleles들이 출현된 것으로 보이며, 현재에는 8번 반복서열을 가진 것이 가장 common allele로 안정화된 것으로 보인다.

결 론

본 연구는 SLC6A19-MS7 영역에서 나타나는 minisatellites variant와 심근경색의 연관성을 조사하기 위하여 case-control study를 수행하였다. 그 결과, SLC6A19-MS7의 대립형질 분포가 대조군과 심근경색 환자 그룹 간에 차이를 나타내지 않아 직접적인 영향을 주지 않는 것으로 나타났다. 이러한 Case-control study를 통해 얻어진 5 종류의 minisatellites alleles의 염기서열을 결정하여 총 14 종류(Unit 1~Unit 14)의 반복서열 단위를 확인하였다. SLC6A19-MS7 영역의 minisatellites 길이에 대한 진화적 수준을 이해하기 위하여 각 반복서열을 이용한 pairwise distances와 계통발생학적 분석을 수행하였으며, 이러한 결과는 minisatellites 길이에 대한 진화적 수준을 이해하는데 도움이 될 것으로 사료된다.

감사의 말씀

이 논문은 2007학년도 동아대학교 학술연구비(공모과제) 지원에 의하여 연구되었음.

참고문헌

1) Venter, J. C., Adams, M. D., Mayers, E. W., Li, P. W., Mural, R. J., Sutton, G. G., Smith, H. O., Yandell, M., Evans, C. A.,

Holt, R. A., et al. : The sequence of the human genome. *Science* **291**(5507), 1304 (2001).

2) Chen, N. H., Reith, M. E. and Quick, M. W. : Synaptic uptake and beyond: the sodium- and chloride-dependent neurotransmitter transporter family SLC6. *Pflugers Arch.* **447**(5), 519 (2004).

3) Engel, K., Zhou, M. and Wang, J. : Identification and characterization of a novel monoamine transporter in the human brain. *J. Biol. Chem.* **279**(48), 50042 (2004).

4) Takanaga, H., Mackenzie, B., Peng, J. B. and Hediger, M. A. : Characterization of a branched-chain amino-acid transporter SBAT1 (SLC6A15) that is expressed in Human Brain. *Biochem Biophys Res Commun.* **337**(3), 892 (2005).

5) Gether, U., Andersen, P. H., Larsson, O. M. and Schousboe, A. : Neurotransmitter transporters: Molecular function of important drug targets. *Trends Pharmacol Sci.* **27**(7), 375 (2006).

6) Carlsson, A. : Perspectives on the discovery of central monoaminergic neurotransmission. *Annu. Rev. Neurosci.* **10**, 19 (1987).

7) Hoglund, P. J., Adzic, D., Scicluna, S. J., Lindblom, J. and Fredriksson, R. : The repertoire of solute carriers of family 6: Identification of new human and rodent genes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **336**(1), 175 (2005).

8) Broer, S. : The SLC6 orphans are forming a family of amino acid transporters. *Neurochem Int.* **48**(6-7), 559 (2006).

9) Yoon, Y. H., Seol, S. Y., Heo, J., Chung, C. N., Park I. H. and Leem, S. H. : Analysis of VNTRs in the solute carrier family 6, member 18 (SLC6A18) gene and essential hypertension. *DNA Cell Biol.* **27**(10), 559 (2008).

10) Leem, S. H., Kouprina, N., Grimwood, J., Kim, J. H., Mullokandov, M., Yoon, Y. H., Chae, J. Y., Morgan, J., Lucas, S., Richardson, P., Detter, C., Glavina, T., Rubin, E., Barrett, J. C. and Larionov, V. : Closing the gaps on human chromosome 19 revealed genes with a high density of repetitive tandemly arrayed elements. *Genome Res.* **14**(2), 239 (2004).

11) Jeong, Y. H., Kim, M. C., Ahn, E. K., Seol, S. Y., Do, E. J., Choi, H. J., Chu, I. S., Kim, W. J., Kim, W. J., Sunwoo, Y. and Leem, S. H. : Rare Exonic Minisatellite Alleles in MUC2 Influence Susceptibility to Gastric Carcinoma. *PLoS One.* **2**(11), e1163 (2007).

12) Jeffreys, A. J., Wilson, V. and Thein, S. L. : Hypervariable minisatellite regions in human DNA. *Nature* **314**, 67 (1985).

13) Krontiris, T. G., Devlin, B., Karp, D. D., Robert, N. J. and Risch, N. : An association between the risk of cancer and mutations in the HRAS1 minisatellite locus. *N. Engl. J. Med.* **329**(8), 517 (1993).

14) Fiskerstrand, C. E., Lovejoy, E. A. and Quinn, J. P. : 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 (1999).
- 15) Seol, S. Y., Lee, S. Y., Kim, Y. D., Do, E.J., Kwon, J. A., Kim, S. I., Chu, I. S. and Leem, S. H. : Minisatellite polymorphisms of the SLC6A19: Susceptibility in Hypertension. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **374**(4), 714 (2008).
- 16) Acelajado, M. C. and Oparil, S. : Hypertension in the elderly. *Clin Geriatr Med.* **25**(3), 391 (2009).
- 17) Komulainen, K., Alanne, M., Auro, K., Kilpikari, R., Pajukanta, P., Saarela, J., Ellonen, P., Salminen, K., Kulathinal, S., Kuulasmaa, K., Silander, K., Salomaa, V., Perola, M. and Peltonen, L. : Risk alleles of USF1 gene predict cardiovascular disease of women in two prospective studies. *PLoS One* **2**(5), e69 (2006).
- 18) Birney, E., Andrews, T. D., Bevan, P., Caccamo, M., Chen, Y., Clarke, L., Coates, G., Cuff, J., Curwen, V., Cutts, T., Down, T., Eyras, E., Fernandez-Suarez, X. M., Gane, P., Gibbins, B., Gilbert, J., Hammond, M., Hotz, H. R., Iyer, V., Jekosch, K., Kahari, A., Kasprzyk, A., Keefe, D., Keenan, S., Lehtvaslaiho, H., McVicker, G., Melsopp, C., Meidl, P., Mongin, E., Pettett, R., Potter, S., Proctor, G., Rae, M., Searle, S., Slater, G., Smedley, D., Smith, J., Spooner, W., Stabenau, A., Stalker, J., Storey, R., Ureta-Vidal, A., Woodwark, K. C., Cameron, G., Durbin, R., Cox, A., Hubbard, T. and Clamp, M. : An overview of Ensembl. *Genome Res.* **14**(5), 925 (2004).
- 19) Kim, C. H., Ardayfio, P. and Kim, K. S. : 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**(27), 24797 (2001).
- 20) Naukkarinen, J., Gentile, M., Soro-Paavonen, A., Saarela, J., Koistinen, H. A., Pajukanta, P., Taskinen, M. R. and Peltonen, L. USF1 and dyslipidemias: converging evidence for a functional intronic variant. *Hum. Mol. Genet.* **14**(17), 2595 (2005).