

최신 Single Nucleotide Polymorphism (SNP) 분석법의 원리 및 유전자 연구 응용법

차희재

고신대학교 의과대학 유전학교실

Principle and Application of Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Analysis

Hee-Jae Cha

Department of Parasitology and Genetics, Kosin University College of Medicine, Busan, Korea

Abstract

This mini review describes the principles, protocols, and applications of three commercially available Single Nucleotide Polymorphism (SNP) genotyping platforms, the TaqMan® SNP Genotyping Assay, SNPLex™ Genotyping System and Gene Chip Assay. These technologies meet the requirements of multiple SNP applications in genetics research including diseases based on genetic background. This article also describes a set of SNP selection guide and useful web sites for SNP informations. Overall, the TaqMan assay format is suitable for low- to mid-throughput applications in which a high assay conversion rate, simple assay workflow, and low cost of automation are desirable. The SNPLex Genotyping System, on the other hand, is well suited for SNP applications in which throughput and cost-efficiency are essential, e.g., applications requiring either the testing of large numbers of SNPs and samples, or the flexibility to select various SNP subsets. Gene Chip Assay is powerful tool to analyze whole SNPs and has benefit to find new SNPs involved diseases or phenotype but has a defect that it is costly. In the conclusion, this article suggests the appropriate methods for the desired experiments by comparing with these three SNPs technologies.

Key words : Single Nucleotide, Polymorphism, Tag Man, SNPLex, Gene Chip

서 론

어떤 종의 생명체이건 각 개체 간에는 아주 다른 독특한 유전적인 정보를 가지고 있다. 인간에게도 이러한 개개의 유전적인 차이가 존재하며 신체적 특징, 질병의 유무, 성격 등 여러 가지 개인의 특징을 결정하는 중요한 요인으로 작용하고 있다. 이러한 유전적인 정보의 차이는 유전자의 카피 수, 반복된 변이 유전자의 수, 특정 유전자의 삽입 혹은 결함, 그리고 단일 염기서열의 변이 등 여러 가지 형태로 존재한다. 이중 단일 염기서열의 변이 (Single Nucleotide Polymorphism, SNP)는 가장 많은 경우 그리고 가장 대표되는 유전자 다양성을 결정 짓는 요소

이다. 실제 인간의 유전자에서 수백 염기마다 단일 염기의 변이가 발견되어 지고¹⁾ 이러한 다양한 단일 염기의 변화는 통계학적인 분석을 통해 유전적 질병의 표식자 및 특정 약물에 대한 개개의 다양한 반응성을 결정하는 인자로써 연구되고 있다²⁾. 더구나 이러한 유전적인 질병이나 약물에 관한 반응의 차이에 관련된 염기의 변이는 유전적인 양상을 띠기 때문에 질병에 대한 대처 및 각 개인에 맞는 맞춤형 약물효과를 찾는 것이 가능하므로 중요한 연구과제로 대두되고 있다³⁾. 따라서 단일 염기의 변이를 연구하기 위해서는 빠르고 정확하며 재현성을 갖추며 작은 단가에 단일 염기 변이를 조사할 수 있는 방법이 필요하다. 이를 위해 여러 가지 방법들이 개발되었으며 본 리뷰에서는 최근 단일 염기 변이를 조사하는 대표적인 방법인 TaqMan 방식의 Single Nucleotide Polymorphism (SNP) 분석법과 SNPLex™ Genotyping System 및 인간의 전체 SNP를 조사하는 GeneChip®

교신저자 : 차 희 재
주소 : 602-702, 부산광역시 서구 압남동 34번지
고신대학교 의과대학 유전학 교실
TEL : 051-990-6428

Human Mapping 500K Array 방법을 설명하고 그 원리 및 응용분야를 소개하고자 한다. 더불어 여러 가지 인간 유전자의 정보를 제공하고 있는 웹사이트들을 소개하고 이를 활용한 특정 유전자의 SNP 표식자 선정에 중요한 기본적인 정보를 설명하여 단일 염기 변이와 관련된 여러 유전적 질병 및 맞춤형 약품 개발 연구에 관심을 가진 연구자들에게 도움이 되고자 한다.

TaqMan® 방식의 SNP Genotyping Assay

TaqMan® 방식의 SNP Genotyping Assay는 Polymerase Chain Reaction (PCR) 방법에 바탕을 두고 하나의 튜브 안에서 모든 반응이 일어나서 결과를 얻을 수 있는 방법으로 AmpliTaq Gold® DNA Polymerase의 5' exonuclease activity를 이용한다^{4,5)}. PCR과 마찬가지로 조사를 원하는 염기서열을 중심으로 좌, 우로 PCR primer가 있어야 하고 조사를 원하는 염기에서 각각 다른 형광으로 표지된 두 가지 종류의 oligonucleotide probes가 존재하여야 한다. 이 probe들은 다른 염기서열에 따라 다른 종류의 형광이 5' 말단에 붙어 있으며 3' 말단에는 minor groove binder (MGB)가 연결된 quencher (NFQ)가 붙어 있는 형태를 취하고 있다⁶⁾. 이러한 quencher는 5' 말단의 형광이 빛을 내는 것을 방해하는 작용을 한다⁷⁾. 하지만 염기서열이 정확히 일치하여 probe가 목표 DNA에 결합하면 AmpliTaq Gold® DNA Polymerase가 5' exonuclease activity를 발동하여 각 PCR 사이클마다 probe에 결합된 형광을 끊어 버려 형광은 quencher로부터 자유로워져서 자신이 지닌 고유의 형광을 발하게 된다⁸⁾ (Fig. 1). 따라서 한 종류의 SNP probe set은 forward primer, reverse

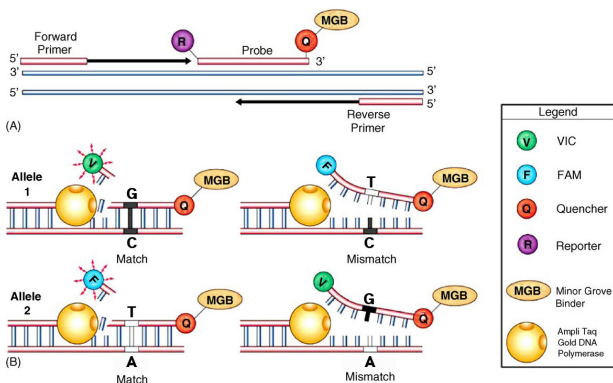


Fig. 1. (A) TaqMan® SNP Genotyping Assay에서 probe 및 primer의 구성. (B) TaqMan® SNP Genotyping Assay의 작용 기작⁸⁾.

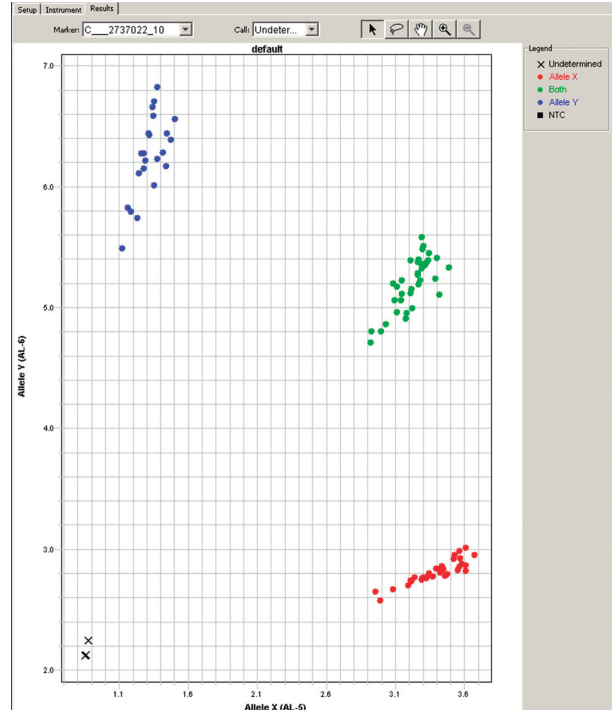


Fig. 2. (A) TaqMan® SNP Genotyping Assay에 의한 genotyping 형태. X축은 VIC 형태의 형광, Y축은 FAM 형태의 형광 측정값. Allele X (푸른점), allele Y(푸른점), heterozygote (녹색점), template DNA를 첨가하지 않은 경우 (X) 로 구분된다.

primer 와 두 종류의 probe set으로 구성되어 있다. 예를 들어 Fig. 1처럼 Allele 1번의 사람은 특정 부위 염기가 C (Cytosine) 이고 Allele 2번의 사람은 특정 부위의 염기가 A (Adenosine) 라고 가정하면, SNP probe set에는 C와 정확히 결합하는 염기서열 G (Guanine)를 지닌 probe와 A와 정확히 결합하는 염기서열인 T (Thymine)를 지닌 probe 두 가지가 모두 들어 있다. 그리고 이들 probe는 각각 VIC와 FAM이라는 다른 종류의 형광으로 표지되어 있다. 이러한 probe set을 모두 넣고 AmpliTaq Gold® DNA Polymerase가 들어 있는 master mix와 allele 1의 DNA를 넣고 PCR 반응을 실시한다면 Fig. 1처럼 AmpliTaq Gold® DNA는 C와 정확히 결합하는 G를 지닌 VIC 표지 probe의 형광만을 제거하게 되며 T를 지니고 FAM이 결합된 probe에서는 형광을 끊어 내지 못하게 된다. 따라서 allele 1의 경우에는 VIC이라는 형광 밖에 방출이 되지 않는다. 하지만 G 대신 A를 지닌 allele 2의 경우 같은 probe set을 넣고 PCR 반응을 일으킬 경우 AmpliTaq Gold® DNA Polymerase가 T를 지닌 probe의 형광만을 끊을 수 있으므로 FAM 형광만이 방출되고 VIC는 방출되지 않는다. 만약 G와 A를 모두 지닌

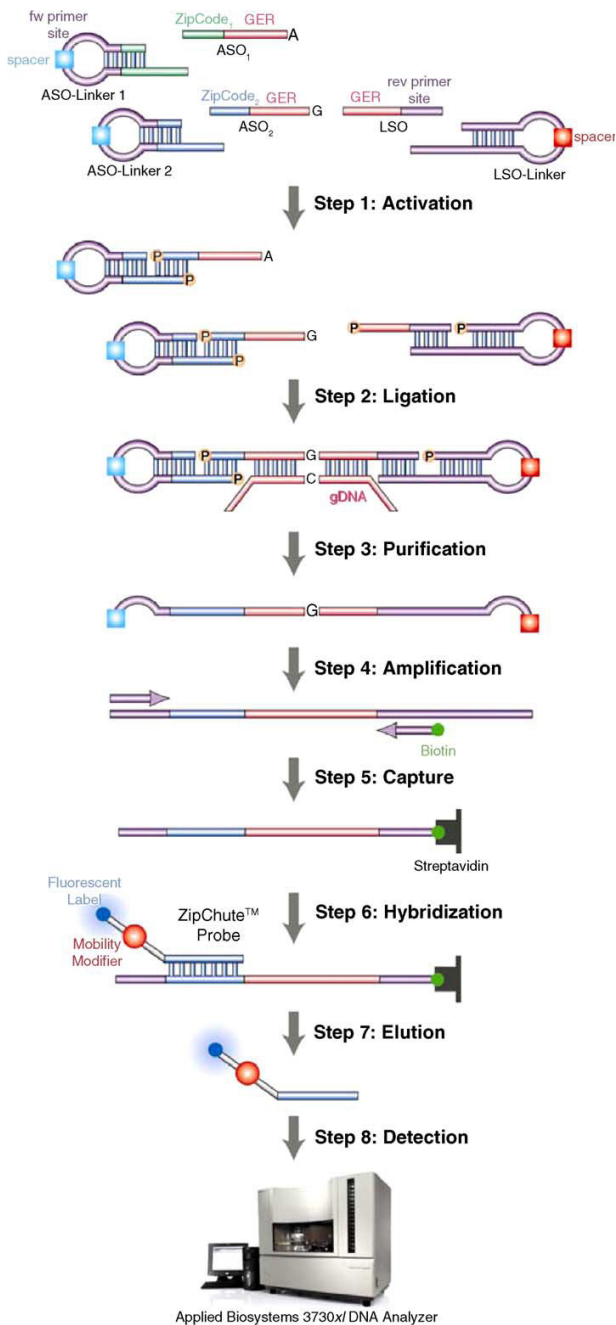


Fig. 3. SNplex Genotyping System의 원리⁸⁾

heterozygote 타입의 사람인 경우에는 두 가지 probe가 각각 결합이 가능하므로 VIC과 FAM이 모두 방출될 것이다. 하지만 이러한 경우에는 G와 A를 각각 반반씩 지닌 경우이므로 각각의 형광량은 반반씩 존재할 것이다. 이러한 반응 결과를 형광을 읽을 수 있는 real time PCR 기계로 측정 시 Fig. 2 같은 양상의 결과를 얻을 수 있다⁸⁾. 이러한 TaqMan 방식의 SNP Genotype Assay는 무엇보다도 저렴하고 간편한 방법을 장점으로 들 수 있다. 반응이 단순한 PCR 반응으로 모든 과정이 끝나고 이후 형광

을 읽을 수 있는 기계로 반응 결과를 읽으면 모든 반응이 종결되므로 빠른 시간 안에 대량의 sample의 genotype을 조사할 수 있다. 반면 각각의 SNP 별로 하나의 tube에서 반응이 일어나므로 여러 종류의 SNP를 동시에 검사하고자 할 때는 불편한 점이 있다.

SNplex™ Genotyping System

SNplex™ Genotyping System은 동시에 여러 가지 SNP를 작은 양의 DNA로 검사할 수 있는 장점이 있다. Fig. 3에서와 같이 SNplex Genotyping System은 universal ZipChute™ probe를 사용한 oligonucleotide ligation/PCR assay (OLA/PCR) 방법에 기반을 두고 있다⁸⁾. Probe set의 구성은 genotype에 따른 두 종류의 Zipcode probe와 (여기서는 A와 G를 각각 지님) 이 probe에 상보적으로 결합할 수 있는 두 종류의 ASO-Linker가 존재한다. 그리고 reverse 편에서 사용될 동일한 reverse primer와 이에 상보적으로 결합하는 LSO-linker로 구성된다. 이러한 probe set을 activation과 ligation 반응을 거치게 되면 중간 부분이 빈 고리 편 모양의 두 가지 genotype이 다른 probe set이 구성된다. 이 probe set에 genomic DNA를 결합할 때에 genomic DNA의 genotype과 상보적으로 결합하는 형태의 probe는 (여기서는 G를 지닌 probe) probe set의 중간 빈 부분이 genomic DNA와 상보적인 결합을 하지만 genotype이 다른 probe set은 결합하지 못한다. 여기에 exonuclease를 첨가하면 상보적인 결합을 하지 않은 모든 DNA가 파괴되고 상보적인 결합을 한 probe와 genomic DNA set은 파괴되지 않고 남게 된다. 이러한 probe와 genomic DNA set을 purification step을 걸쳐 분리한 후 링커의 염기서열을 바탕으로 제작된 primer를 사용하여 PCR 증폭을 실시한다. 이때 primer에 biotin이 붙은 primer를 사용하여 증폭된 유전자를 streptavidin 칼럼을 사용하여 capture한 후 Zipcode 염기서열과 결합하는 형광이 결합된 Zipcure probe를 사용하여 Applied Biosystems 3730 혹은 3730xl DNA Analyzers로 읽음으로 특정 염기를 지닌 genomic DNA의 존재여부를 검사한다. 이러한 검사방법을 위해 97 universal linkers가 개발되어 있고 Zipcure probe의 경우 형광의 양과 형광의 종류를 달리하여 여러 가지 종류의 probe를 Fig. 4와 같이 개발하여 동시에 여러 가지 SNP를 실시할 수 있게 하였다. 실제로 이를 이용하여 47가지의 SNP를 동시에 검사할 수 있

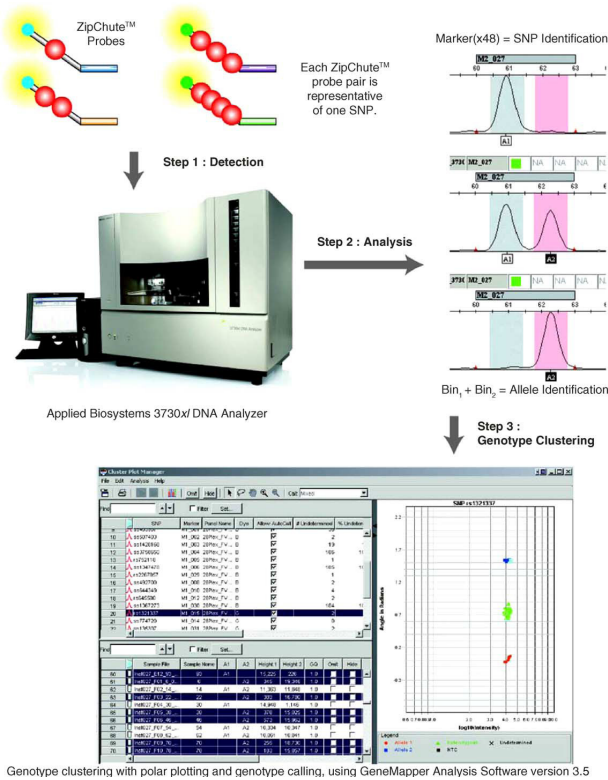


Fig. 4. SNPLex Genotyping System 검사 방법⁸⁾

다. 이러한 SNPLex Genotyping System 방법은 여러 가지 SNP를 동시에 실시하여 비용을 절감하는 기대효과를 얻을 수 있으나 TaqMan 방식에 비해 복잡한 단점을 지니고 있다.

Gene Chip Assay

Affymatrix사의 gene chip assay set는 기존의 PCR 증폭 방식이 아닌 hybridization 방법을 이용하고 있다. 미리 제작된 SNP chip set에 제한 효소로 잘게 자르고 형광을 표지한 genomic DNA 조각을 hybridization 후 micro-array와 비슷한 방식으로 genotype을 분석하는 방법이다⁹⁾ (Fig. 5). Gene Chip Assay의 장점은 한꺼번에 많은 SNP를 동시에 수행할 수 있다. 수많은 SNP probe를 붙인 chip을 사용하므로 한 번의 반응에 10만에서 50만 SNP를 동시에 수행할 수 있다. Affymatrix사에서는 100K (10만 SNP chip), 250K (25만 SNP chip)에 이어 500K (50만 SNP chip) gene chip을 개발하여 한번에 50만 가지 SNP의 genotype을 한 번의 반응으로 분석할 수 있다¹⁰⁾. 이러한 chip set의 개발은 유의성 있는 전체의 SNP를 다 조사할 수 있으므로 특정 유전 관련 질병의 원인을 규명하는데

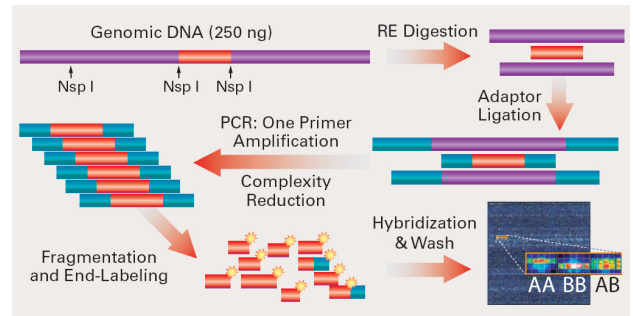


Fig. 5. Gene Chip Assay의 원리⁹⁾

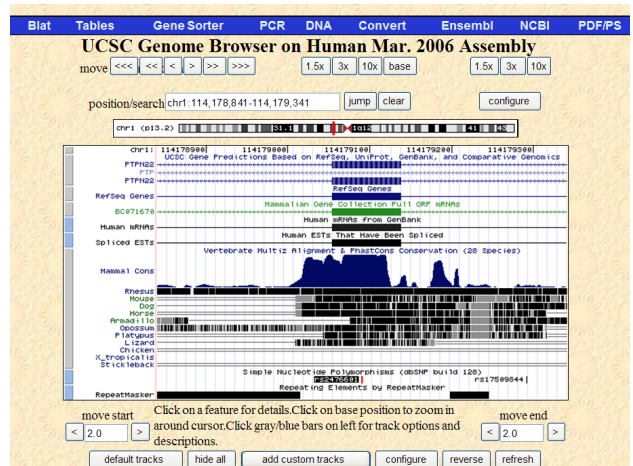


Fig. 6. UCSC genome browser에 의한 SNP 검색결과

매우 유리하다. 실제로 이러한 방법을 통해 여러 가지 유전적인 요소와 질병의 연관성에 대해 활발한 연구가 이루어지고 있다. 하지만 이러한 chip set는 고가이며 한 chip set로 두 명 분량의 반응만이 가능하므로 통계적인 숫자를 확보하기에서는 다소 비경제적인 단점이 있다.

SNP Probe의 선정 및 design

SNP Genotyping Assay에 사용되는 probe set들 중 인간의 것들은 거의 대부분이 applied biosystem 같은 전문 회사에 의해 상업적으로 판매되고 있다. 판매가 되지 않는 경우는 직접 primer 및 probe를 합성 의뢰할 수 있는데 이 또한 원하는 부위에 대한 간단한 정보만 입력하고 주문을 의뢰하면 합성이 가능하며 probe set가 제대로 작동하는지 까지 조사하여 주므로 원하는 부위의 SNP assay를 수행하는데 큰 어려움이 없다. 문제는 어떠한 부위의 어떤 SNP를 선정하여 사용해야 할 것이다. 이를 위해서는 조사를 원하는 유전자에 어떤 SNP가 보고되어 있는지를 조사할 필요가 있다. 특정 유전자의 SNP를 조사할 수

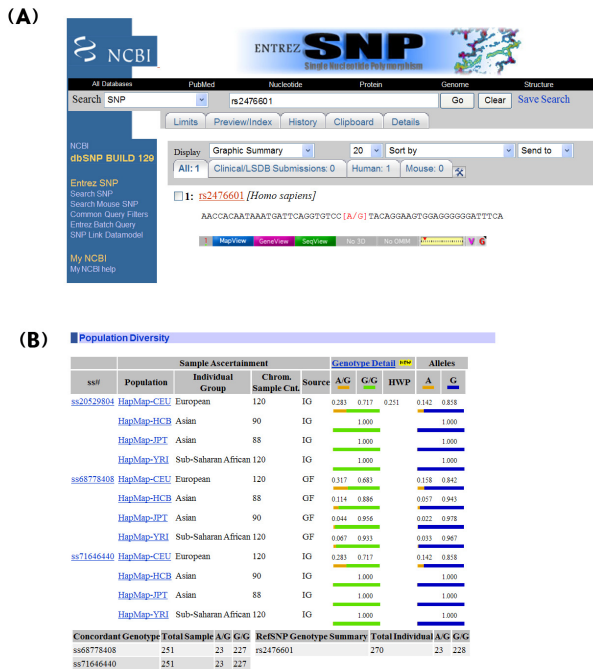


Fig. 7. NCBI Entrez SNP site를 통한 SNP 검색 결과 (A). NCBI Entrez SNP site에 수록된 SNP의 인종별 다양성 조사 결과 (B)

있는 인터넷 사이트는 여러 가지가 있지만 필수적인 사이트 두 가지만 소개하고자 한다. 먼저 UCSC Genome Browser를 간단히 소개 하고자 한다. (<http://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgGateway>). 유전자에 관한 연구를 하려면 이 사이트의 방대한 정보를 이용하지 않을 수 없다. UCSC Genome Browser는 University of California, Santa Cruz의 Center for Biomolecular Science & Engineering에서 개발하여 서비스하고 있는 웹사이트로 이 웹사이트에는 인간 뿐만 아니라 여러 가지 동물들의 밝혀진 모든 유전자에 대한 정보들을 보유하고 있다. 물론 보고된 모든 SNP에 관한 정보를 특정 염색체안의 특정 유전자의 어떠한 부위에 존재하는지와 그 정보 및 내용까지 모두 검색이 가능하다. 이 웹사이트의 genome browser의 검색란에서 특정 유전자의 이름을 넣어 검색하면 몇 번 염색체 상의 어느 부위에 유전자가 존재하는지를 검색할 수 있고 유전자상의 모든 SNP들을 확인할 수 있다 (Fig. 3). 유전자의 위치를 확인하면 좀 기능을 통해 유전자의 앞쪽 5' 조절 부위부터 3' 끝까지를 자세히 살펴 볼 수가 있는데 rs (Reference SNP의 약자) 로 시작되는 SNP 넘버 및 이에 해당하는 SNP에 관한 정보도 이러한 방법을 통해 하나하나 자세히 검색 할 수 있다. 그리고 무엇보다도 여러 가지 동물의 유전자를 비교한 염기서열의 보존도 (conservancy)가 표시되어 있으므로

SNP 존재 부위에서의 SNP가 일어난 위치의 중요성을 검색할 수 있다. 또한 SNP가 실제 단백질로 되는 coding region에 위치 할 경우 아미노산 서열을 바꾸는지 여부를, 5' 조절 부위에 존재하는 경우 특정 전사 조절 인자의 결합부위인지 여부를 조사 할 수가 있어 SNP 선정 시 반드시 검색하여야할 사이트이다. UCSC genome browser와 더불어 SNP 검색 시 찾아보아야 할 웹사이트가 National Health Institutes (NIH)의 National Center for Biotechnology Information (NCBI)에서 제공하는 SNP 검색 사이트이다 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=snp>). 이 사이트에서도 여러 가지 SNP에 대한 정보를 조사 할 수 있지만 무엇보다도 두드러진 것이 population diversity (인종별 다양성)이다. 여러 인종에서 SNP를 실제로 조사한 통계 결과를 제시하여 SNP를 선정 할 때 많은 도움을 준다. 이러한 사이트들을 통해 이제 특정한 유전자의 SNP에 관한 모든 정보를 얻을 수 있게 되었다. 하지만 무엇보다도 중요한 것은 이러한 여러 가지 SNP 중에 어떠한 것을 선택하여 assay를 수행하는가 하는 것이다. 물론 모든 SNP을 다 검사하면 좋겠지만 실제 SNP probe가 고가이고 또 여러 가지 유전자를 스크리닝 하다 보면 모든 SNP를 수행 한다는 것은 비효율적이며 재정적으로도 무리가 온다. 그러므로 유전자의 다양성이 실제로 표현되는 형질과 연관될 가능성이 높은 SNP를 선택하는 것이 중요하다. 이러한 SNP의 선택에는 대개 다음의 조건을 충족하는 것을 선택한다.

- 1) Evolutionarily conserved regions
- 2) Exon에 위치한 non-synonymous SNPs (SNP에 의해 Amino Acid가 바뀌는 것)
- 3) Exon/Intron Boundaries
- 4) 2kb 내외의 Promoter 부위. Transcription Factor Binding Sites
- 5) First Intron. Transcription Factor Binding Sites
- 6) Populational diversity 상의 결과

첫 번째의 진화상 보존된 부위는 SNP 설정 시 아주 주목하여 보아야 할 사항이다. 진화상 보존된 유전자 서열은 대개 중요한 역할을 담당할 가능성이 크다^{11,12)}. UCSC genome browser에서는 포유류 내에서의 이러한 진화적으로 보존된 부위를 mammal cons로 표시된 그래프로 보여주는데 이러한 보존된 염기서열에 SNP가 있을 경우 대개 중요한 부위로서 조사해 볼 가치가 높다. 그리고 이러한

진화적인 보존도는 다른 2번에서 5번까지의 조건에서 함께 고려해야 할 사항이다. 두 번째의 exon에 위치한 non-synonymous SNP의 경우는 실제로 아미노산 서열이 SNP에 의해 바뀌므로 중요한 역할을 할 가능성이 높다. 이중에서도 + 혹은 - 의 charge를 띠는 아미노산이나 proline 같이 kinker 역할을 담당하는 단백질이 바뀔 경우는 단백질의 구조가 바뀔 가능성이 높으므로 특히 주목하여 연구 할 필요가 있다. 더불어 단백질이 효소일 경우 active site의 아미노산 변화를 유발하는 SNP의 경우 중요한 역할을 담당할 가능성이 크다. 세 번째의 exon 과 intron 경계부위는 RNA splicing에 관여할 가능성이 높다. 이 부위에 SNP이 존재하면 splicing 이상으로 인한 다른 크기의 단백질이 형성될 가능성이 있으므로 SNP 선택 시 유념하여야 한다. 네 번째의 2 kb내외의 promoter 부위는 단백질의 발현을 조절하는 부위로서 이 부분이 SNP으로 인해 염기서열이 바뀌면 단백질의 발현 양상이 바뀔 가능성이 있다. 특히 transcription factor (전사조절인자)가 결합하는 부위이거나 단백질 발현 조절에 중요한 역할을 담당하는 것으로 보고된 염기서열에 SNP이 존재한다면 중요한 역할을 할 가능성이 높다. 다섯 번째의 첫 번째 intron의 경우 promoter 부위와 더불어 전자조절인자가 결합하고 단백질의 발현에 영향을 미칠 가능성이 높다고 보고되어 있으므로 유념하여 살펴 볼 필요가 있다. 이러한 여러 가지 조건과 더불어 반드시 고려하여야 하는 것이 여섯 번째의 populational diversity상의 결과이다. 이 populational diversity는 여러 실제로 여러 인종에서 SNP를 조사한 결과인데 NCBI Entrez SNP site를 통한 SNP 검색 결과에서 조사할 수 있다. 실제로 많은 SNP들이 다양성이라기보다는 돌연변이 형태로 유전자 서열이 다른 것이 SNP로 등록된 것들이 많다. 그리하여 SNP assay를 수행해 보면 100퍼센트 한 가지 allele의 형태로만 나타나는 것이 많은데 이러한 경우는 적합한 SNP라고 보기가 어렵다. 따라서 두 가지 타입의 각각 다른 allele 와 이들 유전형질의 heterozygote까지 세 가지 형태를 모두 보여주는 SNP가 실제 유전자의 다양성과 질병과의 연관성을 연구하는데 보다 적합한 SNP이라 할 수 있다. 그러므로 인종별 SNP 결과를 참고하여 한쪽의 형질만 나오는 SNP의 경우 probe로 선정하지 않는 편이 좋다.

SNP analysis의 방향과 응용

Human Genome Project가 완수되고 인간의 모든 유전자가 밝혀지면서 인간 유전자의 다양성 및 그 중요성에 대한 연구가 활발히 이루어졌다. 실제로 두 명의 사람을 무작위로 뽑아 유전자를 비교해 볼 때 0.1%의 염기서열이 서로 다른 것으로 보고되었으며 이러한 다양한 유전 정보는 polymorphism 이라 불린다. 요즘 이러한 다양한 유전정보는 특정한 유전병에서 뿐만 아니라 당뇨, 비만, 고혈압 등 일반적인 질병들과의 연관 여부가 활발히 연구되고 있다¹³⁾. 단일 염기의 다양성은 이러한 유전자 다양성의 거의 대부분을 차지하고 있으며 이미 여러 가지 유전관련 인자 및 병의 원인과 밀접한 관련을 가진 것으로 보고되고 활발한 연구가 진행되고 있다. 현재 SNP의 분석은 여태까지 밝혀지지 않은 많은 질병의 요인을 밝히는데 이용되고 있으며 특정 질병의 검사법 및 진단도 구로도 사용이 가능하다¹⁴⁾. 또한 개개인에 따른 맞춤형 약물을 연구하는 pharmacogenetics에도 SNP는 중요한 도구로 사용된다. 각각의 개인이 약물 대사 효소, 약물 운반 단백질, 약물 수용체 및 약물에 대한 반응성이 다르고 관여하는 유전자가 다르다고 보고되고 있으며 유전적인 다양성과 약물에 대한 반응의 다양성이 연관되어 많은 연구가 이루어지고 있다^{15,16,17)}. 특히 특정 항암제의 감수성 및 작용 효과는 암 유발 환자의 항암제 투여를 결정하는 중요한 요인으로 SNP와 연관되어 활발한 연구가 진행되고 있다.

SNP의 연구는 질병뿐만 아니라 여러 가지 분야에서 응용될 수 있다. 많은 학자들이 진화적인 연구에 SNP를 사용하고 있고 진화의 뿌리 및 기원 환경에 따른 유전자 변화의 양상을 분석하는데 단일 염기서열의 변화를 관련지어 연구하고 있다. 또 단일 염기서열의 다양성은 친자 판별이나 종의 구분에 사용될 수 있다. 특정 염기의 변화 여부를 관찰하여 유전적으로 얼마나 가까운지를 판독할 수 있는 정보가 될 수 있으며 최근 많은 논란이 되고 있는 한우와 수입소의 감별에도 SNP가 이용될 수 있다. 최근 식약청에서는 한우와 수입소를 감별하기 위해 한우와 수입소의 3000여 가지의 SNP를 분석하여 한우와 수입소에서 다른 70여개의 SNP를 구분하여 이를 한우 및 수입소의 감별에 사용하기 위한 시스템을 구축하였다¹⁸⁾. 단일 염기서열의 분석 및 여러 응용분야와의 관련 여부를 통해 많은 학문적인 발전과 실생활의 도움이 가능하다. 광범위한 SNP의 분석 및 연구는 유전과 관련이 모호

했던 여러 질병의 원인을 분석하는 실마리를 제공해 줄 뿐만 아니라 여러 가지 치료 방법 및 진단 방법의 개발을 가능하게 하여 준다. 더불어 개개인에게 맞는 맞춤형 약품, 맞춤형 항암제등의 개발을 가능하게 하여 질병을 치료에 큰 도움을 줄 수 있다. 더불어 기타 여러 학문이나 응용분야에 적용이 가능하다. 하지만 아직까지 많은 연구가 필요한 시점이고 이제 막 SNP의 분석이 시작되고 있으므로 많은 투자와 노력으로 집중하여 연구할 필요성이 있는 좋은 개척분야라고 생각한다.

결 론

지금까지 대표적으로 이용되는 3가지의 SNP 분석법을 소개하였다. 문제는 어떠한 분석법으로 원하는 실험을 진행 하는가이다. 이러한 결정은 원하는 실험의 목적과 방법에 따라 결정되어야 할 것이다. Table 1에서는 3가지 SNP 분석법의 장, 단점을 요약하여 제시하고 있다. 각각의 실험 목적에 따른 합리적인 방법의 SNP 분석법을 이용하는데 본 리뷰가 도움이 되기를 바란다.

Table 1. SNP 분석법의 비교

TaqMan® 방식	SNPlex™ Genotyping	Gene Chip Assay
장점	여러 가지 SNP를 동시에 실시하여 비용을 절감	한꺼번에 많은 SNP을 동시에 수행할 수 있다. 전체 SNP를 빠른 시간 안에 전부 조사할 수 있다.
단점	각각의 SNP 별로 하나의 tube에서 반응이 일어나므로 여러 종류의 SNP를 동시에 검사하고자 할 때는 불편한 점이 있다.	비용이 고가이고 한번 반응에 두 명 분량의 반응만이 가능하므로 통계적인 숫자를 확보하기 어렵다. 단일 유전자를 여러명의 환자에서 분석하기에는 적합하지 않다.

참고문헌

- 1) Venter JC et al. : The sequence of the human genome. Science 291:1304-1351, 2001.
- 2) Risch N, Merikangas : The future of genetic studies of complex human diseases. Science 273: 1516-1517, 1996.
- 3) Botstein D, Risch N : Discovering genotypes underlying human phenotypes: past successes for mendelian disease, future

- approaches for complex disease. Nat Genet 33:228-237, 2003.
- 4) Livak KJ : Allelic discrimination using fluorogenic probes and the 5nuclease assay. Genet Anal 14:143-149, 1999.
- 5) McGuigan FE, Ralston SH : Single nucleotide polymorphism detection: allelic discrimination using TaqMan, Psychiatr. Genet 12:133-136, 2002.
- 6) Afonina I, Zivarts M, Kutayavin I, Lukhtanov E, Gamper H, Meyer RB : Efficient priming of PCR with short oligonucleotides conjugated to a minor groove binder. Nucl Acids Res 25:2657-2660, 1997.
- 7) Livak KJ, Flood SJ, Marmaro J, Giusti W, Deetz K : Oligonucleotides with fluorescent dyes at opposite ends provide a quenched probe system useful for detecting PCR product and nucleic acid hybridization. PCR Meth Appl 4:357-362, 1995.
- 8) Francisco MDLV, Katherine DL, Michael DR, Michael HW : Assessment of two flexible and compatible SNP genotyping platforms: TaqMan® SNP Genotyping Assays and the SNPlex™ Genotyping System. Mutation Research 573:111-135, 2005.
- 9) Rabbee N, Speed TP : A genotype calling algorithm for affymetrix SNP arrays. Bioinformatics 22:7-12, 2006.
- 10) BRLMM: an Improved Genotype Calling Method for the GeneChip Human Mapping 500K Array Set. Affymetrix, Inc. (forthcoming)
- 11) Subramanian S, Kumar S : Evolutionary anatomies of position and types of disease associated and neutral amino acid mutations in the human genome. BMC Genomics 7:306-312, 2006.
- 12) Miller MP, Kumar S : Understanding human disease mutations through the use of interspecific genetic variation. Hum Mol Genet 10:2319-2328, 2001.
- 13) Emilien G, Ponchon M, Caldas C, Isacson O, Maloteaux JM : Impact of genomics on drug discovery and clinical medicine. Q J Med 93:391-423, 2000.
- 14) Hirschhorn JN, Daly MJ : Genome-wide association studies for common diseases and complex traits. Nat Rev Genet 6:95-108, 2005.
- 15) Shastri BS : SNPs and haplotypes: genetics markers for disease and drug response. Int J Mol Med 11:379-382, 2003.
- 16) Shastri BS : Role of SNP/haplotype map in gene discovery and drug development: an overview. Drug Dev Res 62:142-150, 2004.
- 17) Evans WE, Johnson JA : Pharmacogenomics: the inherited basis for interindividual differences in drug response. Annu Rev Genomics Hum Genet 2:9-39, 2001.
- 18) 박미선, 신형두, 박선희, 박혜경, 김방현, 이우영, 김명철 : 한우 판별용 S N P 마커조합 (SNP MARKERS FOR DISCRIMINATION OF HANWOO) 대한민국 특허 출원번호 10-2006-0112125, 2006.