

PCR이란 무엇인가

박영길 / 결핵연구원 생화학실 연구원

세포나 미생물의 특정 DNA 부위를 증폭하고자 할 때 이용되는 PCR (polymerase chain reaction, 핵산 중합효소 연쇄반응)은 1983년 미국 Cetus사의 Mullis 에 의해 고안되었고, 그 후 PCR에 의한 마이코 박테리아의 동정 및 검출이 특정 염기서열의 연구가 이루어지면서 활발히 시도되었으며, 아이젠하크 등은 IS 6110을 이용하여 본격적으로 PCR이 결핵균 검출에 유용한 도구로 사용될 수 있다는 가능성을 제시하였다. PCR에 의한 DNA 증폭은 단시간 내에 이루어진다는 장점 때문에 유전병 및 미생물의 진단에 이용될 뿐 아니라 법의학 분야 및 장기이식에 따른 조직접합 시험에도 이용될 것으로 예상된다. 이에 따라 국내에서도 결핵연구원에서 최초로 일반 임상검사에 적용함으로써 현재 많은 호평을 받고 있는 PCR에 대하여 알아본다.

PCR이란 무엇인가?

우리는 가끔 기침을 한다. 처음에는 감기려니 하고 가까운 약국에서 약을 사먹는다. 그런데 기침은 멈출 줄 모르고 한 달 이상 계속되면서 전혀 낫지 않는다.

마음 한구석에는 불안감이 자리잡고 결국 병원에 가서 엑스레이를 찍어본다. 그 결과 이상한 점이 발견되면 폐결핵, 폐렴, 폐암 등이 의심된다.

결핵이라는 가장 확실한 증거는 결핵균의 발견이다. 그러나 결핵균은 너무 작아서 우리의 맨눈으로는 볼 수가 없다.

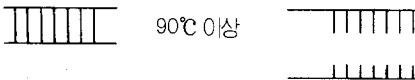
현미경을 이용해서 볼 수도 있지만, 결핵균 수가 적을 경우에는 현미경으로도 보기가 매우 어려워진다. 그렇다면 적은 수를 많게 하면 되지 않을까? 배양검사를 통하여 적은 수의 결핵균이 많아진다. 그러나 결핵균은 자라는 속도가 매우 느리므로 배양검사는 4주 이상이라는 오랜 시간이 필요하게 된다. 그렇다면 속도를 좀 더 빠르게 하는 방법은 없을까? 그것이 PCR이다. 즉 빠른 시간내에 적은 수의 결핵균을 볼 수 있게 만드는 것이다. 현미경이 크기가 작아서 볼 수 없는 결핵균을 볼 수 있게 해주는 돋보기라면 PCR은

수가 적어서 볼 수 없는 결핵균을 볼 수 있게 해주는 돋보기인 것이다.

PCR은 어떻게 하는 것인가?

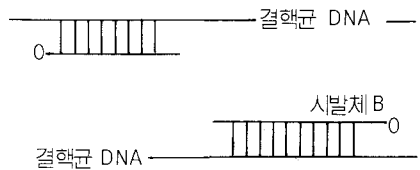
모든 생물에는 핵산물질이 있는데 이것은 각 종마다 조금씩 다른 부위를 갖고 있는 특징이 있다. 결핵균도 결핵균만이 갖고 있는 특정부위가 있다. 이 특정부위를 많이 만들 수 있을까? 복사를 하면 된다. PCR은 복사하는 것과도 같다. 복사를 하려면 원본이 있어야 된다. 만약에 원본(결핵균)이 없다면 복사(PCR)를 해도 아무 것도 나오지 않는다. 즉 결핵이 의심되는 사람의 객담이나 소변, 혈액, 뇌척수액, 늑막액, 조직 등에 결핵균이 있어야 한다.

결핵균에 여러가지 시약 처리를 하여 DNA라는 핵산물질을 뽑는다. 이 DNA는 긴 사다리를 꼬아 놓은 모양이다. 알다시피 사다리는 두 줄이 있고 가운데 짧은 토막이 연결되어 있다. 두 줄을 네 줄로 만들려면 어떻게 하면 될까? 우선 두 줄을 서로 떼어 놓아야 한다. DNA는 90°C 이상이 되면 가운데 연결이 끊어진다.

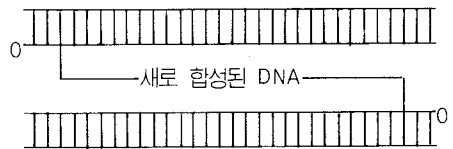


그 다음에 시발체가 필요하게 되는데 시발체란 말 그대로 출발을 시작하게 해

주는 물질이다. 겨울에 눈사람을 만들려면 처음에 작은 눈뭉치를 만들고 그것을 굴려 그 위에 눈을 묻혀 커다란 눈사람을 만든다. 시발체는 눈사람을 만들 때 필요한 작은 눈뭉치와 같다. 온도를 90°C에서 40~70°C로 낮추면 서로 떨어져 있던 DNA의 각 가닥에 시발체가 붙는다. 이때 두 가닥에 붙은 시발체는 서로 다른 것이다. 시발체는 아무 곳이나 붙는 것이 아니라 불기에 알맞은 일정한 장소에만 붙는다.



온도를 72°C로 두면, 결핵균 DNA의 한 가닥을 원본으로 하여 “핵산중합효소”라는 것에 의하여 새로운 DNA가 시발체로부터 합성되어 나간다. 이때 시발체는 한쪽 방향으로만 진행할 수 있다.

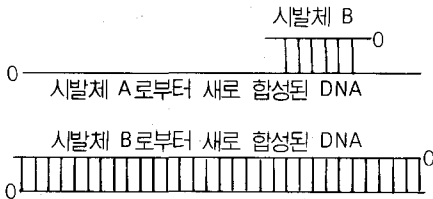


이렇게 하여 PCR의 한 과정(cycle)이 끝난다. 그 결과로 처음에 두 가닥짜리 DNA가 하나였는데 한 과정이 끝나니까

두 개로 증가한다. 이 과정을 되풀이 한다면 매번 두 배씩 늘어날 것이 아닌가. 시발체는 방향성이 있으며 서로 다른 두 개가 있다. 그래서 일정한 크기가 생길 수가 있게 된다. 어떻게 일정한 크기로 만들어질까?

그 다음 과정을 보자. 다시 온도를 높이면 붙어 있던 DNA 가닥은 떨어질 것이다. 그리고 온도를 낮추면 시발체가 붙는다. 이때 시발체가 새로 합성된 DNA에 붙는다면 다음 그림과 같이 될 것이다.

온도를 72°C로 두면 시발체 B로부터 새로운 DNA가 합성될 것이다. 그러나 이것은 한쪽 방향으로 합성이 진행되어 시발체 A까지 가게 된다. 더 이상 원본이 없으므로 진행될 수가 없다.



이제 시발체 B로부터 새로 합성된 DNA는 일정한 크기를 갖게 되었다. 이 일정한 크기를 가진 DNA를 원본으로 PCR을 실시하면 마찬가지로 일정한 크기가 생기게 된다. 따라서 이 과정을 되풀이 하면 일정한 크기가 많아진다. 이에 적당한 염색처리를 하면 자외선에서 우리 눈으로 볼 수가 있는 것이다.

처음에 결핵균이 없었다면 이런 결과는 나타나지 않을 것이다. 그러므로 최종적인 결과로서 예상한 대로 일정한 크

기가 나타난다면 결핵균이 있었다고 할 수 있으며 최종적인 결과에 아무 것도 나타나지 않거나 예상했던 크기가 아닌 다른 크기가 나타난다면 처음에 결핵균이 없었다고 할 수 있다.

PCR의 문제점은 무엇인가? 그리고 그 해결방안은 무엇인가?

PCR은 위에서 말했듯이 시발체에 의해 이루어진다. 시발체는 결핵균 DNA에만 붙어야 한다. 그러나 시발체는 꼭 결핵균 DNA에만 붙지는 않는다. 즉 다른 균에 붙어서 PCR 산물이 생길 가능성이 얼마든지 있다. 그래도 크기가 다르면 아무 상관이 없지만, 우연히 크기가 거의 비슷해서 구별이 불가능해 위양성으로 결정될 수 있다.

또 결핵균 중에는 시발체가 붙을 수 있는 부위가 없는 경우도 있다. 따라서 본 결핵연구원에서는 결핵균 DNA 중 서로 다른 두 군데를 PCR하여 보다 정확한 검사를 실시하고 있다. 또한 PCR 결과 엄청난 산물로 인한 오염이 발생하여 위양성이 일어날 수 있다. 본 연구원에서는 철저한 실험실 분리 및 여러가지 조치로 오염에 의한 위양성을 방지하고 있다.

PCR이 아직 완전한 검사법은 아니지만 기존의 결핵균 검사방법을 능가하는 훌륭한 결핵균 검사법이다. 그리고 좀 더 나은 PCR 검사법 및 결핵균 검사법을 개발하기 위해 본 연구원은 끊임없는 노력을 계속할 것이다. †