


납에 의한 건강장애의 조기진단을 위한 유전자 칩 개발

연구책임자: 화학물질안전보건센터 소장 양정선

연구원: 김태균·박인정·김민기·이선웅·허경화·강성규·박건구

2001년 인간 게놈 프로젝트의 완성으로 사람의 염기서열에 관한 정보가 얻어지게 되었다. DNA 칩은 짧은 시간에 수 만개의 염기서열을 동시에 분석할 수 있으며 엄청난 양의 유전자 발현 분석을 가능하게 하는 최첨단 기술이라고 할 수 있다. 이 연구는 납에 노출된 경력이 있는 사람의 말초 혈액을 사용하여 납에 의하여 발현이 변화된 유전자를 상용 유전자칩 (약 8,000개의 이미 밝혀진 사람 유전자를 상용칩을 사용하여 검색함)과 SSH방법 (칩에 없는 유전자를 검색함)을 이용, 납중독 유전자마커를 발굴하고, 이를 이용하여 납중독을 조기에 진단할 수 있는 유전자칩을 제작하기 위해 수행되었다. 평균 혈중납 농도는 32.7ug/dL의 수준인 폐 자동차 배터리로 부터 납을 추출하여 연골을 생산하는 근로자들 20명을 선정하고, 사무직 근로자 중 납노출군과 성별, 나이, 흡연, 음주 습관이 일치하는 20명을 선발하여 각각 노출군-대조군 짝을 지워 실험하였다. 실험 결과, 총 8,170개의 유전자 중 납 노출군에서 발현이 증가된 유전자는 26%였으며 발현이 감소된 유전자는 7%였다. 그 중 평균 증가율이 2배 이상인 유전자 236개, 평균 감소율이 2배 이상 감소된 유전자 24개를 발굴하였다. 연구결과, 대조군에 비하여 노출군에서 100배 이상 발현이 증가된 경우는 acute undifferentiated leukemias와 연관이 있을 것으로 추정되는 CD33, CD33 antigen 관련 유전자 및 regulate diverse cellular functions, bone metabolism(RAMP3), Oncogene family와 효소 관련 유전체 등이 납에 의해 발현이 증가된 것으로 나타났다. 반면, 납에 의해 유전자 발현이 억제된 경우는 모두 24건으로 대부분 효

소 활성화와 관련된 유전자 또는 아직까지 그 기능이 정확히 밝혀지지 않은 유전자들이었다.

상용칩에 수록되어 있지 않은 유전자에 대한 정보는 최근 개발된 SSH(Subtraction Suppressive Hybridization)기법으로 발굴할 수 있다. Sequencing된 염기서열들을 바탕으로 NCBI의 BLAST program을 이용하여 기존의 유전자들과의 DNA sequencing homology를 검색하여 각 샘플마다 가장 높은 homology를 나타내는 유전자들을 선별하였다. SSH에 의해 검색된 유전자 마커를 사용하여 pin-microarray법에 의하여 유전자 칩을 제작하였으며 납 노출군과 대조군에 대한 분석 결과 평균 2배 이상의 증가를 보인 유전자 5개를 발굴하였다. 이들은 malignant melanoma, clone MM J9, 혈액응고에 관련된 TBXAS1 gene for thromboxane synthase 등과 관련된 유전자들이 포함되어 있었다. 또한 SSH에 의하여 2배 이상의 감소를 보인 유전자 5개를 발굴하였으며 이들 중 세포 증식과 이동에 중요한 역할을 하는 metalloproteinase M20 등이 포함되어 있었다. 본 연구에서는 8.2k 상용칩과 SSH클론을 이용한 cDNA칩을 이용하여 납에 의해 발현이 증가되는 유전자 마커 총 241개, 발현이 감소된 유전자 마커 29개를 발굴하였으며 pin-microarray법에 의하여 유전자 칩을 제작하였다. 납에 의해 변이된 유전자 발현은 간접적인 생체영향 지표로서 납 중독에 의한 조기 임상 증상이 발현되기 이전의 조기진단 도구로 이용될 수 있으므로, 이 연구결과는 지속적인 개발연구를 통해 납중독의 조기진단 및 예방에 기여할 것으로 기대된다. 

제공/ 산업안전보건연구원 직업병연구센터