

한국인과 몽골인에서 나타나는 사립체 DNA의 다형성

김근철^{1,†}, 김애진^{1,†}, 김기정^{2,3,†}, 이광호^{2,4}, 박애자⁵, 김재현⁶,
다스제벡투멩⁷, 노맹석⁸, 김경용^{2,9}

¹강원대학교 자연과학대학 생명과학부, ²중앙대학교 대학원 문화과학과,
³중앙대학교 의과대학 미생물학교실, ⁴중앙대학교 자연과학대학 생명과학과,
⁵중앙대학교 의과대학 진단검사의학과, ⁶동아대학교 인문과학대학 고고미술사학과,
⁷몽골국립대학 사회과학대학원 인류고고학부,
⁸부경대학교 자연과학대학 통계학과, ⁹중앙대학교 의과대학 해부학교실

간추림 : 사립체 DNA는 모계 유전을 하고 세포 내에 존재하는 DNA의 수가 많기 때문에, 집단인류학, 범죄학에서 유용하게 사용되고 있다. 그러나 사립체 DNA 내의 다양한 염기서열 부위에서 다형성 (heteroplasmy)이 보고됨에 따라 유전 양상을 이해하는 데 어려움을 겪고 있다. 본 연구에서는 약 200여 시료의 한국인과 몽골인을 대상으로 사립체 DNA에서 다형성을 조사하였다.

연구방법으로 한국인과 몽골인 혈액을 채취하여 사립체 DNA의 coding region과 control region에 대한 PCR 증폭을 통한 염기서열분석을 수행하였다.

그 결과, coding region과 control region에서 각각 5염기부위, 총 10염기부위에서 다형성이 확인되었고, 염기서열의 한 부위 이상에서 다형성이 관찰된 시료는 한국인 6시료와 몽골인 17시료였다. 특히 한국과 몽골을 포함한 동아시아지역에 특이적으로 높게 나타나는 haplogroup D를 결정할 때 중요하게 분석되는 5178염기위치의 경우 총 23시료 중 6시료에서 비교적 많은 다형성이 관찰되었다. 따라서, haplogroup D를 결정할 때 또 다른 염기부위인 4883염기위치를 추가적으로 분석해야 한다고 생각된다. 또한, 다른 haplogroup과 subhaplogroup을 결정하는 염기위치인 204, 4853, 16249 등에서도 다형성이 발견되었다.

따라서, 집단유전학 등의 분야에서 한국인 등의 동아시아인을 대상으로 사립체 haplogroup을 결정할 때 민족 특이적인 여러 SNP염기부위들을 조사함으로써 더 정확한 결과를 얻을 수 있을 것으로 사료된다.

(2008년 9월 8일 접수, 2009년 1월 2일 게재승인)

찾아보기 낱말 : 다형성, 한국인, 몽골인, haplogroup, 사립체 DNA, coding region, control region

서론

인간의 사립체 DNA는 총 16.5 Kb의 원형 genome으로, 1.1 Kb의 과변이부위 I (hypervariable segment

*본 연구는 문화재청 산하 국립문화재연구소에서 지원한 문화재 보존기술 연구개발 (R & D) 사업 (2006~2007)으로 수행되었음.

†공동 제1저자로서 동등한 역할을 수행하였음.

교신저자: 김경용 (중앙대학교 대학원 문화과학과, 의과대학 해부학교실)

전자우편: skull@cau.ac.kr

I, HVS I)과 II를 포함하는 non-coding region (control region)을 가지고 있다. 사립체 DNA는 모계 유전을 하고 세포 내에 존재하는 DNA의 수가 많으며, 재조합이 일어나지 않고, DNA repair 기능이 없어 핵 DNA에 비해 5~10배 빠르게 변이가 일어난다 (Seo 등 1998, D'Eustachio 2002, Chung 등 2005, Wang과 Boles 2006, Van Leeuwen 등 2008). 이러한 이점 때문에 민족간의 유전적 유연관계를 밝히려는 연구나 법의학 등에서 유용하게 이용되고 있으며, 특히 다

른 염기부위에 비해 변이율이 더 높은 control region에서의 염기변이는 민족의 이동과 진화, 인류학, 범죄학에서 많이 사용되고 있다(Seo 등 1998, Chung 등 2005). 하지만, 인류 집단의 유전 양상을 연구할 때 분석되는 haplogroup 모두를 control region만으로 정의하기에는 어려움이 따르며, 같은 haplogroup에 속하더라도 과변이부위 I의 유형이 모두 동일하지 않은 경우가 보고되어 있다. 따라서, control region만을 분석하여 인류의 기원 및 이동에 관해 연구하는 방법은 제한적일 뿐 아니라, 그렇다고 사립체 DNA의 모든 염기서열을 분석하는 방법은 시간과 비용적인 측면에서 비효율적이다(Alvarez-Iglesias 등 2007). 따라서, 이러한 결점을 해결하기 위해 coding region의 변이가 일어나는 특징적인 염기위치를 선정하여 분석하는 방법이 증가하고 있는 추세이다(Kivisild 등 2002, Yao 등 2002). 하지만, 최근에 582염기위치에서 T/C 다형성(Moslemi 등 2004)과 12313염기위치에서 T/C 다형성(Filosto 등 2008), 5417과 11778염기위치에서의 A/G 다형성(Howell 등 2005) 등 coding region의 다양한 염기부위에서 다형성이 보고됨에 따라 인류의 근연 관계를 연구하기 위한 haplogroup 분석에 어려움을 겪는 실정이다.

다형성이란 하나의 세포, 조직, 또는 개체에서 한 가지 이상의 사립체 DNA 유형이 나타나는 형태로, 모든 개체에 존재하는 것으로 여겨지고 있다. 또한, 몇 세대에 걸친 유전적 부동(genetic drift)을 통해 homoplasmly가 분리되는 과정에서 새로운 변이가 일어나는 중간단계로 나타나는 것으로 알려져 있다(Wilson 등 1997, Salas 등 2001). 다형성은 주로 세 가지 형태로 생각할 수 있다. 즉, 세포 하나의 사립체 DNA 유형은 같지만 세포 간에 차이가 생겨서 나타나는 경우와 세포 하나에서 사립체가 서로 다른 haplotype 유형을 보이거나, 마지막으로 각각의 사립체가 서로 다른 유형을 보이는 경우이다(Lutz 등 2000). 특히 사립체 질환이 있는 개체의 경우 변이 DNA와 정상 DNA가 한 세포 안에 다양한 비율로 혼합되어 존재할 때 다형성이 나타나게 된다(Yu 등 2007).

사립체 DNA의 다형성은 특징적인 염기서열에서 일어나는 것이 아니라 여기저기 산재되어 나타난다고 알려져 있다. 하지만 최근 연구에 따르면 사립체 DNA의 염기변이의 다형성에는 공통점이 있을 것으로 주장되고 있으며, 다른 시기에 존재하던 개체군의 연구에 의해 다형성이 시간이 지남에 따라 축적되는 것으로 밝혀지고 있다(Lagerström-Fermér 등 2001, D'Eustachio 2002). 하지만 이러한 연구결과에도 불구하고, 민족의 기원이나 이동에 관한 연구에서 사립체 DNA의 다형성은 고려되지 않고 있다(Wilson 등 1997).

본 연구는 한국인 139시료와 몽골인 96시료의 사립체 DNA의 control region인 과변이부위 I과 II뿐만 아니라 10부위의 coding region을 분석하는 과정에서 보여진 특정 염기서열위치의 다형성을 정리하였으며, 이러한 결과들을 향후 집단유전학 등의 계통연구에서 반영하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 혈액 시료

본 연구는 한국인 139명과 몽골인 96명의 혈액으로부터 추출한 사립체 DNA의 염기 서열정보를 분석하였다. 한국인은 중앙대학교 병원에 내원한 환자들의 동의를 얻어 혈액을 채취하였고, 몽골인의 경우 몽골의 울람바트라 대학의 대학생들을 대상으로 지원자들의 허락을 얻어 96명의 혈액을 채취하였다.

2. DNA 추출

채취한 혈액으로부터 DNA를 추출하는 과정에서 외부로부터 오염을 방지하기 위하여 실험자는 장갑과 마스크, 실험복을 착용하였으며, 모든 장비나 PCR 작업대 등은 상온화된 락스 원액으로 세척한 후 사용하였고, 멸균이 가능한 모든 재료들은 고압습윤멸균법(autoclave)으로 121°C에서 최소 30분간 멸균하였다. 멸균에 의해 손상되는 플라스틱 소모품들은 멸균이 보증된 제품들, 또는 사람 DNA와 DNA 분

Table 1. Primer pairs for PCR amplification

Number	Localization	Sequences	Size
Primer 1	MT584F	AGC TTA CCT CCT CAA AGC	155
	MT739R	GTG GTG ATT TAG AGG GTG	
Primer 2	MT2932F	GGG ATA ACA GCG CAA TCC	145
	MT3077R	GTC TGA ACT CAG ATC ACG	
Primer 3	MT3279F	CAG AGG TTC AAT TCC TCT TC	286
	MT3565R	TTC ATA GTA GAA GAG CGA TG	
Primer 4	MT4621F	GTT CCA CAG AAG CTG CCA TC	355
	MT4976R	TCC ACC TCA ACT GCC TGC TA	
Primer 5	MT5041F	TAG CAG TTC TAC CGT ACA AC	240
	MT5281R	GTG AAT TCT TCG ATA ATG GC	
Primer 6	MT5336F	CCT CTA CTT CTA CCT ACG	158
	MT5494R	AAA GGG GAG ATA GGT AGG	
Primer 7	MT8190F	CAA ACC ACA GTT TCA TGC	198
	MT8388R	ACG GTA GTA TTT AGT TGG G	
Primer 8	MT9743F	AGA GTA CTT CGA GTC TCC	253
	MT9996R	AAG AGT AAG ACC CTC ATC AA	
Primer 9	MT10085F	CAA CAC CCT CCT AGC CTT AC	398
	MT10483R	TAA ATG AGG GGC ATT TGG	
Primer 10	MT12616F	TTG TTC GTT ACA TGG TCC	180
	MT12796R	GCA AGA AGG ATA TAA TTC C	
Primer 11	MT15974F	ACT CCA CCA TTA GCA CCC AA	447
	MT16421R	TTG ATT TCA CGA GGA TGG T	
Primer 12	MT15F	CAC CCT ATT AAC CAC TCA CG	414
	MT429R	CTG TTA AAA GTG CAT ACC GCC A	

해효소가 없는 것으로 보증된 일회용 제품들을 사용하였다. 또한, 모든 작업 동안에 멸균된 에어로졸 방지 피펫 또는 피펫팁을 사용하였으며 (Kim 등 2007a, b, Kim 등 2008), 실험자로부터 오염이 유래되었는지를 추적하고자 실험자의 사립체 DNA를 분석하여 시료의 결과와 비교하였다.

DNA 추출방법으로 시료에 500 µL의 DNA 용출 완충액 (20 mM EDTA pH 8.0, 50 mM Tris HCl pH 8.0, 1% sodium dodecyl sulfate, 0.1 M NaCl, 0.5 mg/mL proteinase K)을 가하고 55°C에서 30분간 반응시켰다. 동량의 페놀 클로로포름 이소아밀 알코올 (25:24:1, v/v/v)을 첨가한 후 원심분리하여 상청액을 모았고, 이 상청액에 100% 알코올을 상청액의 두 배량을 넣고 -20°C에서 8~12시간 침전시켰다. 원심분리하여 침전물을 모은 후 RNA 분해효소가 포함된 멸균된 50 µL의 증류수를 넣어 침전물을 녹이고, 중합효소연쇄반응 (Polymerase Chain Reaction,

PCR)으로 DNA의 추출 여부를 확인하였다.

3. PCR

PCR은 GeneAmp® 9700을 사용하여 수행하였고, Oligo™ V6.5 소프트웨어를 이용하여 PCR 증폭에 최적인 프라이머들을 제작하여 사용하였다 (Table 1). 한 염기위치에 대해 두 종 이상의 프라이머쌍을 디자인한 후 시험 PCR을 거쳐 최적의 프라이머쌍을 결정하여 실험을 수행하였다. 각 염기부위는 25 µL 반응 조건에 1~2 µL의 DNA 시료와 10 pM 농도의 각 염기위치에 해당하는 primer 2 µL, 1 mM dNTPs, 280 µg/µL BSA, 2.5 mM MgCl₂, 1X Super-therm Gold 완충액, 2.5 U Super-therm Gold Taq DNA polymerase (Hoffman-LaRoche, USA)가 이용되었다. 증폭주기 조건은 95°C에서 10분간 1주기, 95°C에서 45초, 62°C에서 45초, 72°C에서 45초의 42주기, 72°C에서 10분

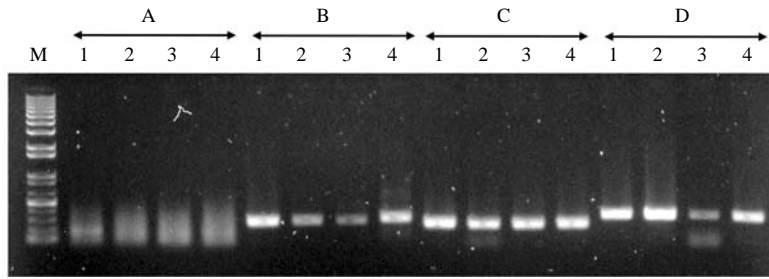


Fig. 1. Mitochondrial DNA analysis using combinatory primer sets for nucleotide position 5178. When PCR amplifications do not become accomplished due to condition of samples, it produces new primer sets. After that, original primer sets and new primer sets combination and making total 4 primer sets, and it accomplished PCR amplification. And it used primer sets where the result is best in experiment about under selecting. In the example, primer sets of 5178 regions were decided with C. A : F5101-R5281, B : F5101-R5367, C : F5041-R5281, D : F5041-R5367, M : 1 kb DNA ladder marker, 1, 2, 3, 4 : samples.

의 1주기로 구성하였다. PCR 산물은 브롬산 에티디움(Ethidium Bromide, EtBr)이 포함된 1% 아가로스 젤에 전기영동하여 증폭여부를 확인하였고, 증폭여부가 확인된 시료는 깨끗한 염기서열 결과를 얻기 위해 젤을 잘라내어 Rapid Gel Extraction Kit (TA-KARA, Japan)를 이용하여 정제하였다.

4. DNA 염기서열 분석

분석된 사립체 DNA의 염기서열은 DNA STAR 2002 version program을 통해 사립체 DNA를 이용한 연구의 기준 염기서열로 활용되고 있는(Andrews 등 1999) revised Cambridge Reference Sequence (rCRS)와 함께 배열하여 염기변이를 확인하였고, 그 결과는 Microsoft Excel table (Microsoft Corporation, CA, USA)로 기록하여 정리하였다.

결 과

1. DNA 추출 및 PCR 증폭

본 연구에서는 한국인과 몽골인 약 235명으로부터 채취한 혈액에서 DNA를 추출하여 사립체 DNA의 과변이부위 I과 과변이부위 II 및 coding region 내의 10부위의 염기서열을 대상으로 PCR 증폭을 수행하였다. 각 시료의 DNA 상태에 따라서 PCR 산

물의 양이 다르기는 했지만, 대부분 충분한 산물을 얻을 수 있었다. 하지만, 몽골인 시료는 몽골로부터 이송되어 왔기 때문에 보관 방법이나 운반 시 소요된 시간에 따라서 간혹 시료의 상태가 좋지 않은 경우가 있었다. 따라서, PCR 증폭이 어려웠던 시료는 anneal 온도를 조절하거나 프라이머의 활성을 높이기 위해 BSA, MgCl₂, 효소 등의 농도를 조절하거나, 또는 새로운 프라이머쌍을 제작하여 기존의 프라이머쌍과 혼합해서 실험을 진행하기도 하였다(Fig. 1). 이 결과 총대상 시료의 12부위에 대한 PCR 증폭을 모두 성공적으로 완료하였다.

2. 다형성 양상

한국인, 몽골인 시료를 이용하여 superhaplogroup부터 subhaplogroup까지 하향식 분석 방식으로 사립체 DNA의 haplogroups을 결정하는 과정에서 나타난 다형성 양상을 분석하였다. 반복된 실험을 통해 한 염기서열위치에서 두 종 이상의 염기가 동시에 나타나는 현상을 다형성으로 기준을 정한 후 분석을 진행하였다. 그 결과, coding region인 3546, 3553, 4764, 4853, 5178염기위치와 control region인 HV1과 HV2에서 187, 204, 234, 16228, 16249염기위치 등, 총 10부위에서 다형성을 확인하였고, 적어도 한 염기부위 이상에서 다형성이 관찰된 시료는 한국인 6시료와 몽골인 17시료였다(Table 2).

Table 2. Results of polymorphism and heteroplasmy in mitochondrial DNA of Korean and Mongolian

	Korean				Mongolian			
	Number of analyses	Number of polymorphism	Number of heteroplasmy	% of heteroplasmy ¹	Number of analysis	Number of polymorphism	Number of heteroplasmy	% of heteroplasmy ¹
Coding								
3546	14				16	8	8	50.0
3553	14				16	10	10	62.5
4764	57	1	1	2	43			
4853	57				43	1	1	2.3
5178	96	40	2	2.2	57	20	4	7.0
D-loop								
187	131				96	1	1	1.0
204	131	6	1	0.8	96	6		
234	131	1	1	0.8	96			
16228	139				80	1	1	1.3
16249	139	5			80	1	1	1.3

¹Heteroplasmy rate : number of heteroplasmy from the location which is analyzed/number of analyses

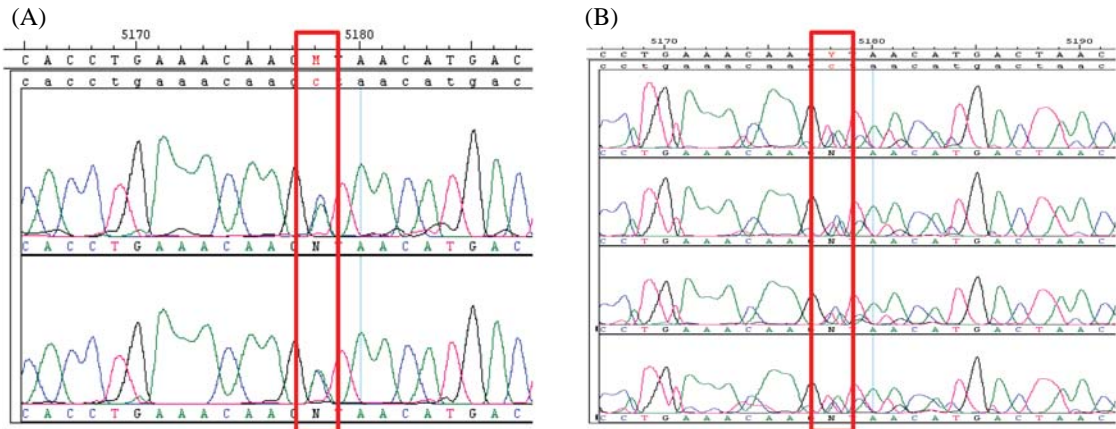


Fig. 2. Displayed patterns of heteroplasms in 5178 site in Korean (A) and Mongolian (B). We confirmed the heteroplasmy in 5178 site at two samples of the Korean and four samples of the Mongolian. Interestingly, Korean showed C/A heteroplasmy, while Mongolian displayed C/A/T triple heteroplasmy.

사립체 DNA의 coding region에 속하는 5178염기 위치의 경우에는 한국인 96시료와 몽골인 57시료를 분석한 결과, 한국인 40시료와 몽골인 20시료에서 변이가 일어났다. 즉, 한국인 43.5%, 몽골인 35.1%의 변이율을 보였으며, 한국인과 몽골인에서 공통적으로 다형성이 나타났다. 비록, 한국인 2시료(3.51%)와 몽골인 4시료(7.01%)로 다형성률은 낮지만, 한국과 몽골을 포함한 동아시아지역에 특이적으로 높게

나타나는 haplogroup D를 결정하는 염기서열이기 때문에 이 염기서열위치에서의 다형성은 동아시아 민족간의 유연관계를 밝히려는 연구에서 중요하다. 또한, 흥미롭게도 한국인에서의 5178염기위치는 C/A transversion을 보이는 데 반해, 몽골인의 경우 C/A/T의 triple 다형성을 나타내었다(Fig. 2).

한국인 시료에서만 나타난 다형성은 coding region의 4764염기위치와 control region의 204, 234염기위

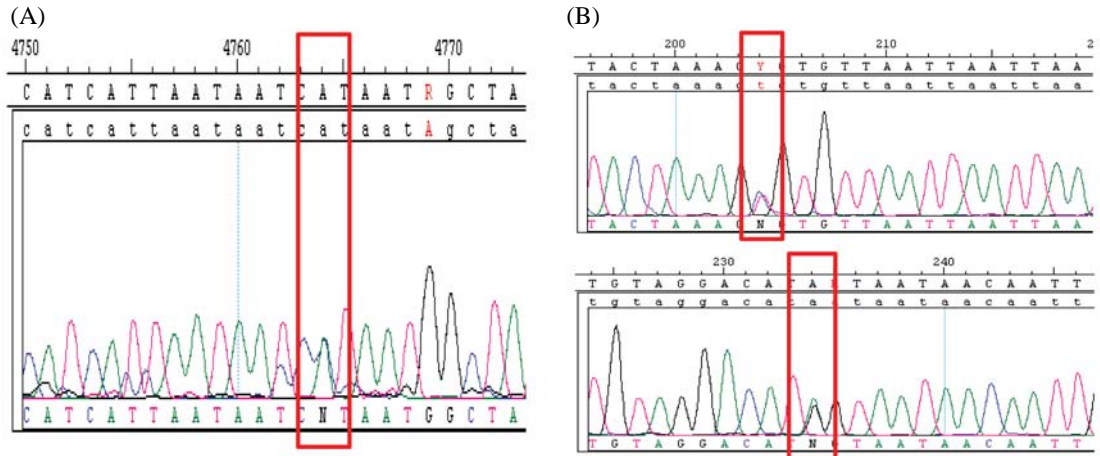


Fig. 3. Heteroplasmy observed in the only Korean population. It was shown in 4764 position of coding region (A) and 204, 234 positions of control regions (B).

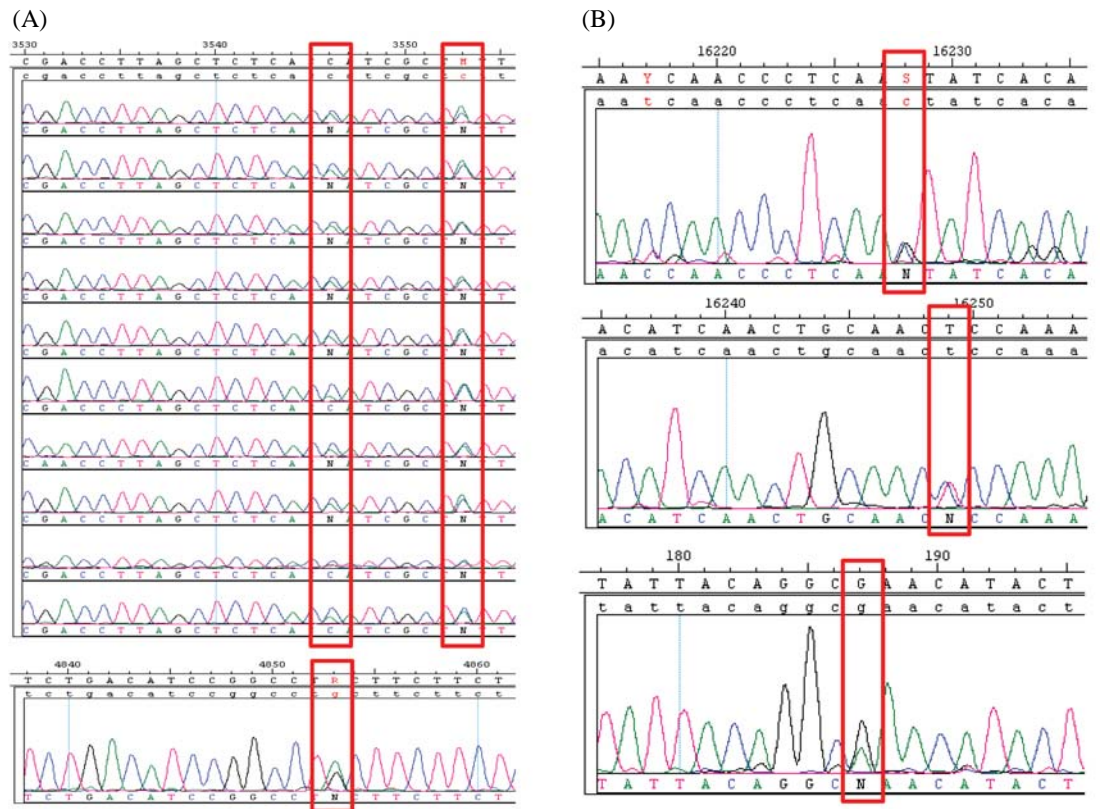


Fig. 4. Heteroplasmy observed in the only Mongolian population. It was shown in 3546, 3553, 4853 positions of coding region (A) and 187, 16228, 16249 of control regions (B).

치에서 관찰되었는데 (Fig. 3), 이 중 4764염기위치는 총 57시료에서 분석되어 한 시료에서만 다형성이 나타났다. 또한, control region의 204염기위치는 한국인과 몽골인 모두 6시료에서 염기변이가 관찰되었으나, 한국인의 한 시료에서만 다형성이 나타났고, 234염기위치는 4764염기위치와 마찬가지로 한 시료에서만 다형성이 관찰되었다. 반면, 한국인, 몽골인에서 비슷한 시료수가 분석되었음에도 불구하고, 몽골인에서만 특이적으로 나타나는 다형성은 coding region의 3546, 3553, 4853염기위치와 control region의 187, 16228, 16249염기위치였으며 (Fig. 4), 이중 3546염기위치는 총 16시료 중 8시료에서 다형성이 관찰되었고, 3553염기위치 역시 16시료 중 10시료에서 높은 비율의 다형성을 확인할 수 있었다. 이 두 염기위치는 다른 염기위치에 비해 다형성률이 50%와 62.5%로 매우 높게 나타났다. 또한, 4853염기위치는 43시료를 분석하였으나 한 시료에서만 다형성이 관찰되었고, control region인 187염기위치는 96시료 중 한 시료에서, 16228염기위치 역시 80시료 중 한 시료에서 다형성이 나타났다. 16249염기위치는 한국인 5시료에서 변이를 보였으나 다형성은 관찰할 수 없었고, 몽골인 한 시료에서만 다형성을 확인할 수 있었다.

고 찰

사립체 DNA의 염기서열변이에 대한 연구는 민족의 이동, 인류의 진화과정을 조사하는 집단 인류학, 실종자 및 사건현장의 개인식별 등과 관련된 범죄학에서 유용하게 사용되고 있다 (Seo 등 1998, Chung 등 2005). 개인식별 또는 민족, 인종에 따른 특이적인 염기서열정보가 제시됨에 따라 사립체 DNA coding region의 염기서열변이 분석을 이용한 연구가 증가하는 추세이지만, coding region의 다양한 염기서열에서 존재하는 다형성 현상으로 분석에 어려움이 있는 것도 또한 현실이다. 따라서 본 연구에서는 한국인 139시료와 몽골인 96시료의 사립체 DNA의 control region인 과변이부위 I과 과변이부위 II,

뿐만 아니라 10부위의 coding region을 분석하여 두 민족에서 나타나는 다형성 빈도 등을 조사하였고, 이러한 특정 염기서열위치에서 나타나는 다형성을 이해함으로써 계통연구에 응용할 수 있는지에 대해 연구하였다.

다형성이란 한 염기서열위치에서 두 종류 이상의 염기가 동시에 나타나는 현상으로, 본 연구에서 나타난 한국인, 몽골인의 사립체 DNA의 다형성 양상은 coding region인 3546, 3553, 4764, 4853, 5178염기위치, control region인 187, 204, 234, 16228, 16249염기위치 등 총 10부위에서 보였으며, 한국과 몽골을 포함한 동아시아지역에 특이적으로 높게 나타나는 haplogroup D를 결정하는 데 중요한 5178염기위치에서의 다형성이 한국인과 몽골인에서 공통적으로 나타남을 확인하였다. 따라서 집단인류학 연구에서 사립체의 염기서열 정보를 이용하여 haplogroup D를 결정할 때 5178염기위치만을 분석한다면, 이 부위에서 다형성이 나타날 때 haplogroup의 결정에 어려움이 따를 것이다. Derenko 등 (2007)과 Kong 등 (2006)의 연구에 따르면, haplogroup D를 결정할 때 5178염기위치뿐만 아니라 4883염기위치, 과변이지역 I의 16362염기위치를 추가적으로 분석했다. 따라서 haplogroup D를 결정할 때 4883염기위치를 추가적으로 분석한다면 더 신뢰할 수 있는 결과를 얻으리라 생각된다 (Tanaka 등 2004, Kong 등 2006, Derenko 등 2007).

한국인 시료의 coding region의 4764염기위치, control region의 204, 234염기위치의 다형성은 한, 두 시료에서만 보였고 haplogrouping에 기준이 되는 염기위치로 보고된 바 없기에 개체간 변이로 추정된다. 그러나 204염기위치는 haplogroup인 M7a1b와 B5b, B5b2c를 결정할 때 중요한 요소이고 (Kong 등 2006), N1의 subhaplogroup인 N1b, N1c, N1e 등을 결정할 때 중요하다 (Derenko 등 2007). 따라서 haplogroup을 결정하기 위해 5178염기위치와 마찬가지로 다른 염기에서의 변이를 추가적으로 분석해야 할 것이다. 예를 들어, subhaplogroup M7a1b를 결정하기 위해 coding region의 5108염기위치나 과변이부위 II의 207염기위치를 분석한다면, B5b를 결정하

기 위해 coding region의 1598, 8829, 12631염기위치 등을 분석하고(Kong 등 2006), N1c를 결정하기 위해 과변이부위 II의 195, 207, 210염기위치 또는 coding region의 11025, 11437염기위치 등을 분석하는 등 복합적인 방법을 사용해야 할 것으로 사료된다(Derenko 등 2007).

반면, 몽골인에서 특이적으로 나타나는 다형성은 coding region의 3546, 3553, 4853염기위치와 control region의 187, 16228, 16249염기위치였으며(Fig. 4), 이 중 4853염기위치는 haplogroup G2b를 결정할 때 중요한 것으로 알려져 있고(Kong 등 2006), 4853염기위치를 보충하기 위한 염기서열은 coding region의 3593이나 8877염기위치 등이 있다. 또한, 16249염기위치는 Kong 등에 의해 haplogroup D4a3, B4f, F1b를 결정할 때 중요한 것으로 밝혀졌으며(Kong 등 2006), Roostalu 등의 연구에서는 haplogroup H의 subhaplogroup인 H6a를 나눌 때 필요하다고 밝혀져 있다(Roostalu 등 2007). 이 역시 앞서 서술한 것과 같이 보충적인 염기위치가 필요하며, 그 예로 D4a3를 위해 coding region의 5466염기위치를, 또는 F1b를 결정하기 위해 12633, 16232염기위치 등을 추가적으로 분석한다거나(Kong 등 2006), H6a를 결정하기 위해 10589, 16129염기위치 등을 분석해야 할 것으로 생각된다(Roostalu 등 2007).

그러므로 집단유전학 분야에서 사립체 DNA 분석 후 haplogrouping을 시도할 때 다형성 현상이 나타난 염기서열 외에 다른 염기위치에 대한 분석이 병행되어야 할 필요성이 절실히 요구된다.

참 고 문 헌

- Alvarez-Iglesias V, Jaime JC, Carracedo A, Salas A : Coding region mitochondrial DNA SNPs : Targeting East Asian and Native American haplogroups. *Forensic Sci Int Genet* pp 44-55, 2007.
- Andrews RM, Kubacka I, Chinnery PF, Lightowlers RN, Turnbull DM, Howell N : Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA. *Nat Genet* 23: 147, 1999.
- Chung U, Lee HY, Yoo JE, Park MJ, Shin KJ : Mitochondrial DNA CA dinucleotide repeats in Koreans : the presence of length heteroplasmy. *Int J Legal Med* 119: 50-53, 2005.
- Derenko M, Malyarchuk B, Grzybowski T, Denisova G, Dambueva I, Perkova M, Dorzhu C, Luzina F, Lee HK, Vanecek T, Villems R, Zakharov I : Phylogeographic analysis of mitochondrial DNA in northern Asian populations. *Am J Hum Genet* 81: 1025-1041, 2007.
- D'Eustachio P : High levels of mitochondrial DNA heteroplasmy in human hairs by Budowle et al. *Forensic Sci Int* 130: 63-67, 2002.
- Filosto M, Tonin P, Scarpelli M, Savio C, Greco F, Mancuso M, Vattemi G, Govoni V, Rizzuto N, Tupler R, Tomelleri G : Novel mitochondrial tRNA Leu (CUN) transition and D4Z4 partial deletion in a patient with a facioscapulohumeral phenotype. *Neuromuscul Disord* 18: 204-209, 2008.
- Howell N, Kubacka I, Keers SM, Turnbull DM, Chinnery PF : Co-segregation and heteroplasmy of two coding-region mtDNA mutations within a matrilineal pedigree. *Hum Genet* 116: 28-32, 2005.
- Kim K, Kim KY, Jeon E, Togloom A, Cho YO, Lee MS, Lkhagvasuren G, Choi JH, Tumen D, Ja Park A, Kim KC, Park KW, Kim JH, Noh M, Yoo KJ, Lee KH : Technical note: improved ancient DNA purification for PCR using ion-exchange columns. *Am J Phys Anthropol* 136: 114-121, 2008.
- Kim KJ, Togloom A, Jeon EH, Lee MS, Cho YO, Lkhagvasuren G, Min NY, Choi JH, Kim JD, Kim KC, Kim JH, Noh M, Park JW, Park AJ, Yoo KJ, Mustafokulov S, Lee KH, Chung SI, Lee WB, Kim KY : Comparison between morphological sex and genotype sex of Uzbekistan ancient bones using improved amelogenin PCR amplification method. *Korean J Phys Anthropol* 20: 257-265, 2007a. (in Korean)
- Kim KJ, Togloom A, Jeon EH, Lee MS, Cho YO, Lkhagvasuren G, Choi JH, Tumen D, Kim KC, Kim JH, Noh M, Park JW, Park AJ, Yoo KJ, Kim JD, Lee KH, Kim KY : Development of ancient DNA isolation method for improved PCR amplification. *Korean J Phys Anthropol* 20: 267-281, 2007b. (in Korean)
- Kivisild T, Tolk HV, Parik J, Wang Y, Papiha SS, Bandelt HJ, Villems R : The emerging limbs and twigs of the East Asian mtDNA tree. *Mol Biol Evol* 19: 1737-1751, 2002.
- Kong QP, Bandelt HJ, Sun C, Yao YG, Salas A, Achilli A,

- Wang CY, Zhong L, Zhu CL, Wu SF, Torroni A, Zhang YP : Updating the East Asian mtDNA phylogeny : a prerequisite for the identification of pathogenic mutations. *Hum Mol Genet* 15: 2076-2086, 2006.
- Lagerström-Fermér M, Olsson C, Forsgren L, Syvänen AC : Heteroplasmy of the human mtDNA control region remains constant during life. *Am J Hum Genet* 68: 1299-1301, 2001.
- Lutz S, Weisser HJ, Heizmann J, Pollak S : Mitochondrial heteroplasmy among maternally related individuals. *Int J Legal Med* 113: 155-161, 2000.
- Moslemi AR, Lindberg C, Toft J, Holme E, Kollberg G, Oldfors A : A novel mutation in the mitochondrial tRNA (Phe) gene associated with mitochondrial myopathy. *Neuromuscul Disord* 14: 46-50, 2004.
- Roostalu U, Kutuev I, Loogväli EL, Metspalu E, Tambets K, Reidla M, Khusnutdinova EK, Usanga E, Kivisild T, Villems R : Origin and expansion of haplogroup H, the dominant human mitochondrial DNA lineage in West Eurasia : the Near Eastern and Caucasian perspective. *Mol Biol Evol* 24: 436-448, 2007.
- Salas A, Lareu MV, Carracedo A : Heteroplasmy in mtDNA and the weight of evidence in forensic mtDNA analysis : a case report. *Int J Legal Med* 114: 186-190, 2001.
- Seo Y, Stradmann-Bellinghausen B, Rittner C, Takahama K, Schneider PM : Sequence polymorphism of mitochondrial DNA control region in Japanese. *Forensic Sci Int* 97: 155-164, 1998.
- Tanaka M, Cabrera VM, González AM, Larruga JM, Takeyasu T, Fuku N, Guo LJ, Hirose R, Fujita Y, Kurata M, Shinoda K, Umetsu K, Yamada Y, Oshida Y, Sato Y, Hattori N, Mizuno Y, Arai Y, Hirose N, Ohta S, Ogawa O, Tanaka Y, Kawamori R, Shamoto-Nagai M, Maruyama W, Shimokata H, Suzuki R, Shimodaira H : Mitochondrial genome variation in eastern Asia and the peopling of Japan. *Genome Res* 14: 1832-1850, 2004.
- Van Leeuwen T, Vanholme B, Van Pottelberge S, Van Nieuwenhuysse P, Nauen R, Tirry L, Denholm I : Mitochondrial heteroplasmy and the evolution of insecticide resistance : non-Mendelian inheritance in action. *Proc Natl Acad Sci USA* 105: 5980-5985, 2008.
- Wang Q, Boles RG : Individual human hair mitochondrial DNA control region heteroplasmy proportions in mothers and children. *Mitochondrion* 6: 37-42, 2006.
- Wilson MR, Polansky D, Replogle J, DiZinno JA, Budowle B : A family exhibiting heteroplasmy in the human mitochondrial DNA control region reveals both somatic mosaicism and pronounced segregation of mitotypes. *Hum Genet* 100: 167-171, 1997.
- Yao YG, Kong QP, Bandelt HJ, Kivisild T, Zhang YP : Phylogeographic differentiation of mitochondrial DNA in Han Chinese. *Am J Hum Genet* 70: 635-651, 2002.
- Yu HJ, Roh SY, Lee KE, Koh SK : A case of MELAS with maternally transmitted type II diabetes mellitus and deafness. *J Korean Neurol Assoc* 25: 416-418, 2007. (in Korean)

Abstract

Heteroplasmy of Mitochondrial DNA Shown in Korean and Mongolian

Keun-Cheol Kim^{1, †}, Ae-Jin Kim^{1, †}, Ki-Jeong Kim^{2,3, †},
Kwang-Ho Lee^{2,4}, Ae Ja Park⁵, Jae-Hyun Kim⁶, Dashtseveg Tumen⁷,
Maengseok Noh⁸, Kyung-Yong Kim^{2,9}

¹*Department of Biology, Division of Life Sciences, College of Natural Sciences,
Kangwon National University,*

²*Department of Science & Culture, Chung-Ang University,*

³*Department of Microbiology, College of Medicine, Chung-Ang University,*

⁴*Department of Life Science, College of Natural Sciences, Chung-Ang University,*

⁵*Department of Laboratory Medicine, College of Medicine, Chung-Ang University,*

⁶*Department of Archaeology and Art History, College of Humanities, Donga University,*

⁷*Department of Anthropology and Archaeology, School of Social Sciences,*

National University of Mongolia, Ulaanbaatar, Mongolia,

⁸*Division of Mathematical Science, College of Natural Sciences, Pukyong National University,*

⁹*Department of Anatomy, College of Medicine, Chung-Ang University, Seoul 156-756, Korea*

As characterization of mitochondrial DNA (mtDNA) shows maternal inheritance and exists as more than thousands copies per cell, it is widely used for population genetics and forensic scientific field. However, mitochondrial DNA study has difficulties because heteroplasmy of mtDNA is being reported from coding and control region. In this study, we have analyzed 200 samples to examine heteroplasmy in mitochondrial DNA of Korean and Mongolian.

The control region and coding region in mtDNA of blood from Koreans and Mongolians were analyzed with PCR amplification and sequencing.

As a result, several heteroplasmy was observed from total 10 positions including 5 positions in coding region and 5 positions in control region, respectively. Moreover, it showed more than one heteroplasmy in coding region from 6 samples in Korean and 17 samples in Mongolian. Interestingly, heteroplasmy at 5178 position was shown in 6 samples among 23 samples. Considering that the position is important for deciding haplogroup D, we suggest that additional analysis on 4883 position needs for correct haplogrouping. Beside, we also found heteroplasmy in the other positions of 204, 4853, or 16249.

Therefore, we suggest that it is required of combinatory analysis on several key nucleotide positions to obtain good results when determining mitochondrial haplogroups.

Key words : Heteroplasmy, East Asian, Haplogroup, Mitochondrial DNA, Coding region, Control region

[†]These authors contributed equally to this work.

Correspondence to : Kyung-Yong Kim (Department of Science & Culture, Chung-Ang University, Department of Anatomy, College of Medicine, Chung-Ang University)

E-mail : skull@cau.ac.kr