

1. Polymerase Chain Reaction 지문 해설

1993년 노벨 화학상은 중합 효소 연쇄 반응(PCR)을 개발한 멀리스에게 수여된다. 염기 서열을 아는 DNA가 한 분자라도 있으면 이를 다량으로 증폭할 수 있는 길을 열었기 때문이다. PCR는 주형 DNA, 프라이머, DNA 중합 효소, 4종의 뉴클레오타이드가 필요하다. 주형 DNA란 시료로부터 추출하여 PCR에서 DNA 증폭의 바탕이 되는 이중 가닥 DNA를 말하며, 주형 DNA에서 증폭하고자 하는 부위를 표적 DNA라 한다. 프라이머는 표적 DNA의 일부분과 동일한 염기 서열로 이루어진 짧은 단일 가닥 DNA로, 2종의 프라이머가 표적 DNA의 시작과 끝에 각각 결합한다. DNA 중합 효소는 DNA를 복제하는데, 단일 가닥 DNA의 각 염기 서열에 대응하는 뉴클레오타이드를 순서대로 결합시켜 이중 가닥 DNA를 생성한다.

PCR 과정은 우선 열을 가해 이중 가닥의 DNA를 2개의 단일 가닥으로 분리하는 것으로 시작한다. 이후 각각의 단일 가닥 DNA에 프라이머가 결합하면, DNA 중합 효소에 의해 복제되어 2개의 이중 가닥 DNA가 생긴다. 일정한 시간 동안 진행되는 이러한 DNA 복제 과정이 한 사이클을 이루며, 사이클마다 표적 DNA의 양은 2배씩 증가한다. 그리고 DNA의 양이 더 이상 증폭되지 않을 정도로 충분히 사이클을 수행한 후 PCR를 종료한다. 전통적인 PCR는 PCR의 최종 산물에 형광 물질을 결합시켜 발색을 통해 표적 DNA의 증폭 여부를 확인한다.

PCR는 시료의 표적 DNA 양도 알 수 있는 실시간 PCR라는 획기적인 개발로 이어졌다. 실시간 PCR는 전통적인 PCR와 동일하게 PCR를 실시하지만, 사이클마다 발색 반응이 일어나도록 하여 누적되는 발색을 통해 표적 DNA의 증폭을 실시간으로 확인할 수 있다. 이를 위해 실시간 PCR에서는 PCR 과정에 발색 물질이 추가로 필요한데, '이중 가닥 DNA 특이 염료' 또는 '형광 표식 탐침'이 이에 이용된다. 이중 가닥 DNA 특이 염료는 이중 가닥 DNA에 결합하여 발색하는 형광 물질로, 새로 생성된 이중 가닥 표적 DNA에 결합하여 발색하므로 표적 DNA의 증폭을 알 수 있게 한다. 다만, 이중 가닥 DNA 특이 염료는 모든 이중 가닥 DNA에 결합할 수 있기 때문에 2개의 프라이머끼리 결합하여 이중 가닥의 이합체(二合體)를 형성한 경우에는 이와 결합하여 의도치 않은 발색이 일어난다.

형광 표식 탐침은 형광 물질과 이 형광 물질을 억제하는 소광 물질이 붙어 있는 단일 가닥 DNA 단편으로, 표적 DNA에서 프라이머가 결합하지 않는 부위에 특이적으로 결합하도록 설계된다. PCR 과정에서 이중 가닥 DNA가 단일 가닥으로 되면, 형광 표식 탐침은 프라이머와 마찬가지로 표적 DNA에 결합한다. 이후 DNA 중합 효소에 의해 이중 가닥 DNA가 형성되는 과정 중에 탐침은 표적 DNA와의 결합이 끊어지고 분해된다. 탐침이 분해되어 형광 물질과 소광 물질의 분리가 일어나면 비로소 형광 물질이 발색되며, 이로써 표적 DNA가 증폭되었음을 알 수 있다. 형광 표식 탐침은 표적 DNA에 특이적으로 결합하는 장점을 지니나 상대적으로 비용이 비싸다.

실시간 PCR에서 발색도는 증폭된 이중 가닥 표적 DNA의 양에 비례하며, 일정 수준의 발색도에 도달하는 데 필요한 사이클은 표적 DNA의 초기 양에 따라 달라진다. 사이클의 진행에 따른 발색도의 변화가 연속적인 선으로 표시되며, 표적 DNA를 검출했다고 판단하는 발색도에 도달하는 데 소요된 사이클을 Ct값이라 한다. 표적 DNA의 농도를 알지 못하는 미지 시료의 Ct 값과 표적 DNA의 농도를 알고 있는 표준 시료의 Ct값을 비교하면 미지 시료에 포함된 표적 DNA의 농도를 계산할 수 있다. PCR는 시료로부터 얻은 DNA를 가지고 유전자 복제, 유전병 진단, 친자 감별, 암 및 감염성 질병 진단 등에 광범위하게 활용된다. 특히 실시간 PCR를 이용하면 바이러스의 감염 여부를 초기에 정확하고 빠르게 진단할 수 있다.

TIP 이 지문의 경우 이러한 네 가지 포인트를 인식한 뒤 읽으면 수월하다.

1. 정보의 나열
2. 긴 호흡의 문장과 복잡한 서술 방식
3. 정보간의 유기적인 관계성 파악
4. 세부 디테일 파악

염기 서열을 아는 DNA가 한 분자라도 있으면 이를 다량으로 증폭할 수 있는 길을 열었기 때문이다.

Comment 첫 문장의 중요성이다. ‘염기 서열을 아는 DNA가 한 분자라도 있으면 다량으로 이를 증폭할 수 있다.’ 라는 말은 앞으로 서술할 과정들을 세부 설명 없이 한 문장으로 요약해 놓은 것이기 때문에 중요하다. 첫 문단의 중요성은 언제나 강조된다. 딱히 연어 같 독해 포인트는 없으나, 정말 중요한 정보이므로 계속 상기한 채 글을 읽어야 한다.

PCR는 주형 DNA, 프라이머, DNA 중합 효소, 4종의 뉴클레오 타이드가 필요하다.

Comment PCR이 실행되기 위해서 필요한 것들을 전부 나열하는 방식으로 글이 전개된다. 이는 앞으로 서술할 내용들이 무엇인지 알려주는 시작점이 되며, 이들 간의 관계를 정확히 알아야 문제를 풀거나 독해를 수월하게 할 수 있다.

주형 DNA란 시료로부터 추출하여 PCR에서 DNA 증폭의 바탕이 되는 이중 가닥 DNA를 말하며, 주형 DNA에서 증폭하고자 하는 부위를 표적 DNA라 한다.

Comment ‘A란 B이다.’ 식의 서술이다 A와 B사이의 삽입된 글이 길어질수록 정보를 처리하기가 힘들어 지니 주의하고 연습을 꾸준히 하는 것이 좋다. “주형 DNA란”이라는 부분에서 어떤 대상을 특별히 집어 설명할 때 쓰는 보조사 “란”이 쓰였다. “주형 DNA”의 정의를 내릴 때 쓰는 서술 방식이므로 각별히 주의를 하며 읽자. 그 뒤로는 “시료로부터 추출하여 PCR에서 DNA 증폭의 바탕이 되는”이라는 관형절을 사용하여 “이중 가닥 DNA”를 수식함과 더불어 “이중 가닥 DNA”의 정의를 설명하고 있다. 개념어에 대한 정의이므로 그냥 읽고 넘어가면 안 된다. “주형 DNA에서 증폭하고자 하는 부위”=“표적 DNA”라면서 “표적 DNA”에 대한 정의를 내리고 있다. 결론만 요약하자면 “시료로부터 추출하여 PCR에서 DNA 증폭의 바탕이 되는”이라는 관형절을 주의하고, “주형 DNA에서 증폭하고자 하는 부위”=“표적 DNA”로 표현하면서 “표적 DNA”에 대한 정의를 내리고 있다.

프라이머는 표적 DNA의 일부분과 동일한 염기 서열로 이루어진 짧은 단일 가닥 DNA로, 2종의 프라이머가 표적 DNA의 시작과 끝에 각각 결합한다. DNA 중합 효소는 DNA를 복제하는데, 단일 가닥 DNA의 각 염기 서열에 대응하는 뉴클레오타이드를 순서대로 결합시켜 이중 가닥 DNA를 생성한다.

Comment “프라이머는 표적 DNA의 일부분과 동일한 염기 서열로 이루어진 짧은 단일 가닥 DNA로, 2종의 프라이머가 표적 DNA의 시작과 끝에 각각 결합한다.”문장을 처리할 때, ①“표적 DNA의 일부분과 동일한 염기 서열로 이루어진 짧은 단일 가닥 DNA”, ②“2종의 프라이머가 표적 DNA의 시작과 끝에 각각 결합” 이렇게 정보에 번호를 맞춰 밑줄 쳐 가며 읽으면 조금 더 수월하게 읽을 수 있다.

①번 정보에, “표적 DNA의 일부분과 동일한” 염기서열로 이루어진 짧은 단일 가닥 DNA가 프라이머인 것을 알 수 있는데, 이 또한 관형절에 주의하며 읽어야 정보를 한결 수월하게 인식할 수 있다. 그냥 염기 서열로 이루어진 것이 아니라, 표적 “DNA의 일부분과 동일한” 염기서열로 이루어진 것을 알아야 한다.

DNA 중합 효소는 DNA를 복제하는 것이 첫 번째, “단일 가닥 DNA의 각 염기 서열에 대응하는”의 수식을 받는 뉴클레오타이드를 순서대로 결합시켜 이중 가닥 DNA를 생성한다고 나와있다 이 것이 바로 두 번째다. 뉴클레오타이드에 대한 정의가 관형절로 숨어있는 것이다. 이를 잘 발굴해 내어 정보를 인식하자. 결론만 말하자면. 1. 각각의 관형절 잘 보기, 2. 뉴클레오타이드에 대한 정의 찾기. 이다

PCR 과정은 우선 열을 가해 이중 가닥의 DNA를 2개의 단일 가닥으로 분리하는 것으로 시작한다. 이후 각각의 단일 가닥 DNA에 프라이머가 결합하면, DNA 중합 효소에 의해 복제되어 2개의 이중 가닥 DNA가 생긴다. 일정한 시간 동안 진행되는 이러한 DNA 복제 과정이 한 사이클을 이루며, 사이클마다 표적 DNA의 양은 2배씩 증가한다. 그리고 DNA의 양이 더 이상 증폭되지 않을 정도로 충분히 사이클을 수행한 후 PCR를 종료한다.

Comment PCR 과정은 “우선” 이라고 제시되어 있으므로, 과정이 여러 가지로 복잡할 것이라는 예측을 할 수 있다. ①열을 가해 이중 가닥의 DNA를 2개의 단일 가닥으로 분리하는 것으로 시작한다. ②이후 각각의 단일 가닥 DNA에 프라이머가 결합하면, ③DNA 중합 효소에 의해 복제되어 2개의 이중 가닥 DNA가 생긴다.

열을 가해 이중 가닥의 DNA를 2개의 단일 가닥으로 분리하는 것으로 시작하여, 각각의 단일 가닥 DNA에 앞서 설명한 프라이머(표적 DNA의 일부분과 동일한 염기 서열로 이루어진 짧은 단일 가닥 DNA로, 2종의 프라이머가 표적 DNA의 시작과 끝에 각각 결합한다)가 결합 → DNA 중합 효소가 이를 복제하여 2개의 이중 가닥 DNA로 만든다. ‘그리고’가 나왔다, 정보를 추가적으로 제시할 때 쓰이는 접속사로서 이는 DNA의 양이 더 이상 증폭되지 않을 정도로 충분히 사이클을 수행했다면 PCR을 종료한다는 내용을 앞의 정보와 이어주고 있다. 요약하자면 이중 가닥 DNA를 단일 가닥 2개로 분리하여 그곳에 프라이머를 결합시켜 복제되면 2개의 이중 가닥 DNA가 생기는 것이다. 그리고 DNA의 양이 더 이상 증폭되지 않을 정도로 충분히 사이클을 수행한 다음 PCR을 종료한다.

전통적인 PCR는 PCR의 최종 산물에 형광 물질을 결합시켜 발색을 통해 표적 DNA의 증폭 여부를 확인한다. PCR는 시료의 표적 DNA 양도 알 수 있는 실시간 PCR라는 획기적인 개발로 이어졌다. 실시간 PCR는 전통적인 PCR와 동일하게 PCR를 실시하지만, 사이클마다 발색 반응이 일어나도록 하여 누적되는 발색을 통해 표적 DNA의 증폭을 실시간으로 확인할 수 있다.

Comment 지금까지 해낸 것들의 결과물을 “최종 산물”이라고 짧게 요약하여 제시하고 있다. 앞 문장과 뒷 문장 그리고 문단과 문단끼리 붙여 읽는 것이 더욱 중요해 졌다는 것이다. 최종 산물(DNA 중합 효소에 의해 복제되어 2개의 이중 가닥 DNA가 생긴)을 결합시켜 “발색”을 통해 표적 DNA의 증폭 여부를 확인한다고 서술되어 있다. 발색은 곧 DNA의 증폭 여부 확인 수단인 것이다. 또한 “시료의 표적 DNA 양도 알 수 있는” 실시간 PCR이라는 것이 개발되었다. 앞의 관형절이 실시간 PCR을 수식하며 정의내리는 것이다. 늘 강조하지만 관형사나 관형어, 관형절은 언제나 중요한 정보를 담고 있다. 여기서 전통적 PCR과 실시간 PCR의 공통점과 차이점이 드러나는데, 전통적 방식과 실시간 방식 모두 동일하게 PCR을 실시하지만, “하지만” 하지만에 집중해서 읽어야 한다. 하지만이 나오면 반대되거나 새로운 정보, 한계점 등을 서술할 수 있다. 실시간 PCR은 사이클“마다” 발색 반응이 일어난다. 이것이 첫 번째 정보고, 또한 “누적되는”이 앞서 나올 명사 “발색”을 수식 한다 그냥 발색이 아닌 것이다. 이러한 누적되는 발색이 일어나 표적 DNA의 증폭을 실시간으로 확인할 수 있다는 것이다. 요약하자면 대상간 공통점과 차이점을 잘 비교하고, 관형사, 관형어, 관형절의 기능을 잘 파악하자.

이를 위해 실시간 PCR에서는 PCR 과정에 발색 물질이 추가로 필요한데, '이중 가닥 DNA 특이 염료' 또는 '형광 표식 탐침'이 이에 이용된다. 이중 가닥 DNA 특이 염료는 이중 가닥 DNA에 결합하여 발색하는 형광 물질로, 새로 생성된 이중 가닥 표적 DNA에 결합하여 발색하므로 표적 DNA의 증폭을 알 수 있게 한다. 다만, 이중 가닥 DNA 특이 염료는 모든 이중 가닥 DNA에 결합할 수 있기 때문에 2개의 프라이머끼리 결합하여 이중 가닥의 이합체(二合體)를 형성한 경우에는 이와 결합하여 의도치 않은 발색이 일어난다.

Comment “이를” 이 나왔으므로 앞과 뒤의 관계를 잘 파악하는 것이 중요하다. 추가 정보로 실시간 PCR에서 발색 물질이 추가로 필요하다고 제시된다. '이중 가닥 DNA 특이 염료' 또는 '형광 표식 탐침'이 필요하다고 한다. 첫 번째로 나온 특이 염료부터 서술하고 있는데, 당연히 특별한 말이 없다면 순서대로 서술하는 것이 옳다. 특이 염료는 “이중 가닥 DNA에 결합”하여 발색하는 형광 물질이다. “새로 생성된” 이중 가닥 표적 DNA에 결합한다고 서술되어 있는데, “새로 생성된”이 언제 생성되었고, 어떤 것이 생성되었는지 알아야 글을 읽는 데 수월하다. 특이 염료는 표적 DNA의 증폭을 알 수 있게 하나, 모든 이중 가닥 DNA에 결합할 “수” 있기 때문에 2개의 프라이머끼리 결합하여 이중 가닥의 이합체를 형성한 경우 이(이합체)와 결합하여 의도치 않은 발색이 일어난다고 서술되어 있다. 결합할 “수”있다고 쓴 것은 확실한 것이 아닌, 가능성을 담고 있다는 뜻이며, 2개의 프라이머 끼리 결합=“이중 가닥의”의 수식을 받는 “이합체”인 것이다. 이러한 이합체와 결합하여 의도치 않은 발색이 일어난다고 한다. 요약하자면, '특이 염료=모든 이중 가닥 DNA와 결합 가능', -> 이중 가닥의 이합체 형성 -> 이합체와 결합하여 의도치 않은 발색 일어난다.

형광 표식 탐침은 형광 물질과 이 형광 물질을 억제하는 소광 물질이 붙어 있는 단일 가닥 DNA 단편으로, 표적 DNA에서 프라이머가 결합하지 않는 부위에 특이적으로 결합하도록 설계된다. PCR 과정에서 이중 가닥 DNA가 단일 가닥으로 되면, 형광 표식 탐침은 프라이머와 마찬가지로 표적 DNA에 결합한다. 이후 DNA 중합 효소에 의해 이중 가닥 DNA가 형성되는 과정 중에 탐침은 표적 DNA와의 결합이 끊어지고 분해된다. 탐침이 분해되어 형광 물질과 소광 물질의 분리가 일어나면 비로소 형광 물질이 발색되며, 이로써 표적 DNA가 증폭되었음을 알 수 있다. 형광 표식 탐침은 표적 DNA에 특이적으로 결합하는 장점을 지니나 상대적으로 비용이 비싸다.

Comment 탐침에 대해 설명하고 있다. 탐침은 형광 물질과 “이 형광 물질을 억제하는” “소광 물질이 붙어 있는” “단일 가닥 DNA 단편”으로 구성되어 있다. 소광 물질이 붙어 있는 단일 가닥 DNA 단편은 계속 수식의 연속이다. 계속해서 붙여 읽자. 탐침은 표적 DNA에서 프라이머가 결합하지 않는 부위에 특이적으로 결합하도록 설계된다고 서술되어 있다. 첫 문장에서 주목해야 할 포인트는 “단편으로,”에서 ‘로,’이다 이는 정보의 나열을 서술할 때 쓰는 글쓰기 방법이다. PCR 과정에서 이중 가닥 DNA가 단일 가닥 DNA로 되면, 형광 표식 탐침은 프라이머와 마찬가지로 표적 DNA에 결합한다. 이는 이중 가닥 -> 단일 가닥 -> 탐침은 프라이머와 마찬가지로 표적 DNA에 결합. 으로 정리할 수 있다. 앞의 내용을 한 마디로 요약한 것이 “이후 DNA 중합 효소에 의해 이중 가닥 DNA가 형성되는 과정”이다. 붙여 읽는 것은 아무리 강조해도 모자라지 않는다. 그리고 탐침은 표적 DNA와의 결합이 끊어지고 분해된다고 한다. ①탐침이 분해되어 ②형광 물질과 소광 물질의 분리가 일어나면 ③비로소 형광 물질이 발색되며, 이로써 표적 DNA가 증폭되었음을 알 수 있다. 으로 끊을 수 있다. 형광 표식 탐침은 표적 DNA에 특이적으로 결합하는 장점을 지니나 상대적으로 비용이 비싸다. 이 정보는 그냥 읽고 넘어가면 된다. 특이 염료와 대비되는 부분일 수도 있다.

실시간 PCR에서 발색도는 증폭된 이중 가닥 표적 DNA의 양에 비례하며, 일정 수준의 발색도에 도달하는 데 필요한 사이클은 표적 DNA의 초기 양에 따라 달라진다. 사이클의 진행에 따른 발색도의 변화가 연속적인 선으로 표시되며, 표적 DNA를 검출했다고 판단하는 발색도에 도달하는 데 소요된 사이클을 Ct값이라 한다. 표적 DNA의 농도를 알지 못하는 미지 시료의 Ct 값과 표적 DNA의 농도를 알고 있는 표준 시료의 Ct값을 비교하면 미지 시료에 포함된 표적 DNA의 농도를 계산할 수 있다. PCR는 시료로부터 얻은 DNA를 가지고 유전자 복제, 유전병 진단, 친자 감별, 암 및 감염성 질병 진단 등에 광범위하게 활용된다. 특히 실시간 PCR를 이용하면 바이러스의 감염 여부를 초기에 정확하고 빠르게 진단할 수 있다.

Comment (실시간 PCR에서 발색도=증폭된 이중 가닥 표적 DNA양에 비례) + 발색도 ↑ <-> 증폭된 이중 가닥 표적 DNA의 양 ↑. [일정 수준의 발색도에 도달하는 데 필요한 사이클(변수)<=>표적 DNA의 초기 양(변인)에 따른 변화]. “표적 DNA를 검출했다고 판단하는 발색도에 도달하는 데 소요된 사이클”=Ct값. 또한 [표적 DNA의 농도를 알지 못하는 미지 시료의 Ct 값 <->(비교) 표적 DNA의 농도를 알고 있는 표준 시료의 Ct값] => 미지 시료에 포함된 표적 DNA의 농도를 계산할 수 있다.