

Y 염색체 단완 미세결실 유전자검사 사례보고

이지현¹ · 김한나¹
V. Shinde² · 신동훈^{3,4}
이승덕^{1,3}

¹서울대학교 의과대학 법의학교실

²데칸대학교 고고학교실

³서울대학교 의학연구원 법의학연
구소

⁴서울대학교 의과대학 해부학교실

접 수 : 2014년 6월 16일
수 정 : 2014년 7월 28일
게재승인 : 2014년 8월 19일

책임저자 : 이승덕
(110-799) 서울시 종로구 연건동 대학로
103번지, 서울대학교 의과대학 법의학교
실
전화 : +82-2-740-8359
FAX : +82-2-764-8340
E-mail : sdlee@snu.ac.kr

DNA Analysis of a Microdeletion Case on Y Chromosome

Ji Hyun Lee¹, Hanna Kim¹, V. Shinde², Dong Hoon Shin^{3,4}, Soong Deok Lee^{1,3}

¹Department of Forensic Medicine, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea

²Department of Archaeology, Deccan University, Pune, India

³Institute of Forensic Science, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea

⁴Department of Anatomy, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea

The Y-chromosome, as with other chromosomes in the cell, is subject to mutations. However, unlike autosomal genes, the Y chromosome does not undergo recombination, and therefore individuals from different geographical regions may have differing distribution patterns with respect to Y-chromosome mutations. More detailed knowledge and information regarding Y-chromosome mutations might therefore provide insights into phylogenetic history and personal identification. Here, we describe a case study involving genotype-phenotype discrepancy in an Indian male individual. We found that the mistyping in sex determination was caused by a deletion in the amelogenin Y (AMEL Y) gene. Furthermore, on examining the short tandem repeat (Y-STR) loci using the PowerPlex[®] Y23 System, we found four more deleted loci on Yp11.2 (DYS576, DYS481, DYS570, and DYS458) in this sample. We performed deletion mapping for this sample, and we propose that the microdeletion on the Yp11.2 locus occurred approximately in the 6.44 Mb to 9.75 Mb region. Previous studies have reported that the AMEL Y deletion is a common mutation in the Indian population. Taking into account regional differences, we also analyzed several area-specific Y-chromosome mutations.

Key Words : AMELY, Y-STR, Deletion, Yp11.2

서 론

친자 확인이나 혈연 인척관계 확인을 위한 유전자 검사를 할 경우, 또는 개인 식별의 경우 성별은 매우 중요한 요소이다. 표현형은 남성인데, 유전자형이 여성으로 나올 경우 부정확한 결과를 도출하여 혼동을 줄 수 있다.

인도인의 시료를 분양 받아 민족 간 유전자 정보를 수집하던 중, 표현형은 남성인 사람의 시료의 상염색체 짧은연쇄반복

(short tandem repeat, STR) 결과가 XX임을 발견하였다. 동일인의 Y-STR 결과를 살펴보니 23개의 유전자위 중 amelogenin Y (이하 AMELY)와 근접한 지역의 4개의 유전자위에서 유전자형이 검출되지 않은 것을 발견하였고, 이 사람을 AMELY null 남성으로 간주하였다. 추가적인 연구를 통해 진짜 AMELY null 남성인지, 그렇다면 어느 부위까지 결실이 일어났는지를 파악하였다.

결실이 일어난 것으로 추정되는 Yp11.2부위는 Y 염색체의 성결정영역(sex determining region, SRY) 유전자와는 관련

이 없는 곳이지만, 법의학에서나 산전 진단 시 흔히 성별을 감식하는 데 사용된다. Y 염색체의 단완 11.2 (Yp 11.2) 부위의 유전자 성별 감식 시동체(프라이머, primer) 결합 부위에 전좌 또는 돌연변이, 결실로 인해 amelogenin Y gene (AMELY)이 증폭되지 않아 실제 법의학 적용과 산전 진단에서 성별 입력에 대한 오해의 소지가 있을 수 있다는 보고가 있었다.¹⁾ AMELY를 포함한 Yp11.2 부위의 결실은 인도인과 특히 동남아시아에서 많이 발견되었다고 한다.^{2,3)}

이를 관련 논문들에 대한 고찰과 함께, 이러한 사례를 증례의 형태로 보고하여 amelogenin 유전자를 이용하여 성별 검사를 하였을 때 돌연변이에 의해 초래할 혼동을 줄이고자 한다.

증례

아시아 지역 여러 민족들의 유전적 특징을 비교하는 목적으로 연구를 수행하던 과정 중 인도인의 시료를 분양 받아 유전자를 분석하는 과정에서 표현형은 남성인 사람의 시료의 상염색체 STR 결과가 XX임을 발견하였다. 진짜 AMELY null 남성인지 재확인 필요하였고, 이를 위해 추가적인 검사를 실시하였다. 시료들은 DNA 원액의 형태로 검사를 진행하는 연구자에게 전달되었고, 연구자들은 시료가 인도인 남성에게서 유래하였다는 정보를 제외하고는 모든 인적 사항에 대해서는 모르는 상태에서 검사가 진행되었다. 본 보고에 대한 사항은 서울대학교 의과대학 및 서울대병원 임상시험심사위원회 (institutional review board, IRB) 심의 면제 과정을 거쳤다.

상염색체 STR검사는 PowerPlex® 16 kit (Promega Corporation, Madison, WI)를 사용하였다. 이 키트는 법의유전

학 분야에서 흔히 사용되는 상업용 키트로 상염색체상의 16개 STR 유전자위를 검사할 수 있다. 제조사가 원하는 방법을 사용하여 PCR을 진행하였고, 확실한 결과 도출을 위하여 반복검사를 진행하였다. 반복 검사 모두에서 amelogenin에서 여성의 소견을 보이는 것을 제외하고는 일반적인 결과를 얻을 수 있었다(Fig. 1). Y-STR검사는 PowerPlex® Y-23 kit (Promega)를 역시 제조사가 원하는 방법을 따라 사용하였다. 이 키트는 Y 염색체상의 23개의 STR 유전자위들을 검사할 수 있는데, 본 대상인에 대해서는 반복적인 실험을 진행하였음에도 불구하고 Y 염색체 단완 부위 중에서 AMELY가 위치한 Yp11.2에 존재하는 DYS576, DYS481, DYS570, DYS458의 4개의 유전자위에서는 결과를 얻을 수 없었다(Fig. 2).

이 남성의 Y염색체 단완 부위 결실의 여부와 그 위치를 판별

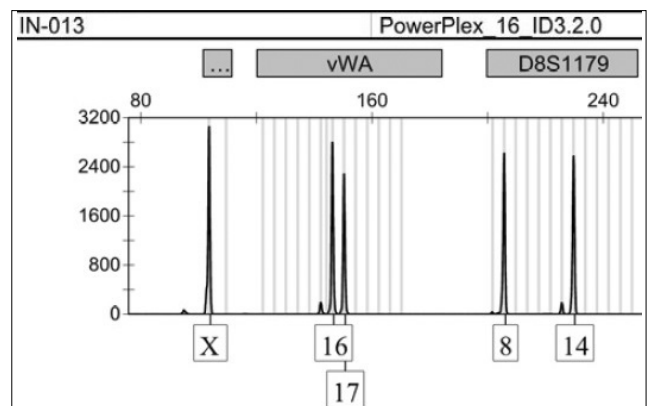


Fig. 1. This electropherogram is a sex typing result using autosomal test system.

Table 1. Comparison with Those Found in Other Studies on the Basis of STSs Analysis

No.	Markers	India	Jobling et al. [4]	Lattanzi et al. [8]	Yong et al. [9]	Kumagai et al. [10]
*	DYS456	+				
1	sY877	+				
2	sY1012	+				
3	sY716	+				+
4	sY1242	-	-	-	-	
*	AMELY	-				
5	sY881	-				
*	DYS458	-				
6	sY939	-				
7	sY1101	-				
8	sY57	-	-			
9	sY1293	-			-	-
10	sY59	-	+	+	+	
11	sY1243	-	+			
12	sY1244	-	+			
13	sY714	+				
*	DYS19	+				
Position of deletions (Mb)		6.44-9.75	6.44-9.17	6.44-9.17	6.44-9.17	6.44-9.14

*: STR loci from PowerPlex® Y-23 kit, others are STS markers.

하기 위해 Y 염색체의 각 부분에 대한 특이적인 STS (sequence-tagged site) 마커를 이용하였다. 유전자형이 검출되지 않은 4개의 유전자위를 포함하는 DYS456 (4.31 Mb)부터 DYS19 (10.11Mb) 사이에 위치한 13개의 STS를 선정하였다.⁴⁾ STS 프라이머 정보와 PCR 조건은 National Institute of Health website (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)를 통해 얻었다. STS마커는 sY877, sY1012, sY716, sY1242, sY881, sY939, sY1101, sY57, sY1293, sY59, sY1243, sY1244,

sY714 마커를 사용하였다. AMELY에 결실이 없는 다른 인도인과 9948A (Promega)와 함께 전기영동을 진행하여 밴드가 관찰되지 않으면 결실로 간주하였다.

본 대상자는 SY1242부터 SY1244까지의 STS 마커 PCR 결과가 나오지 않았다. 따라서 5.42 Mb부터 6.443 Mb 사이에서 결실이 시작되어 9.46 Mb에서 9.75 Mb 사이에서 결실이 끝나는 것으로 판단하였다. STS 분석 결과를 토대로, 결실 위치를 나타내었다(Fig. 3).

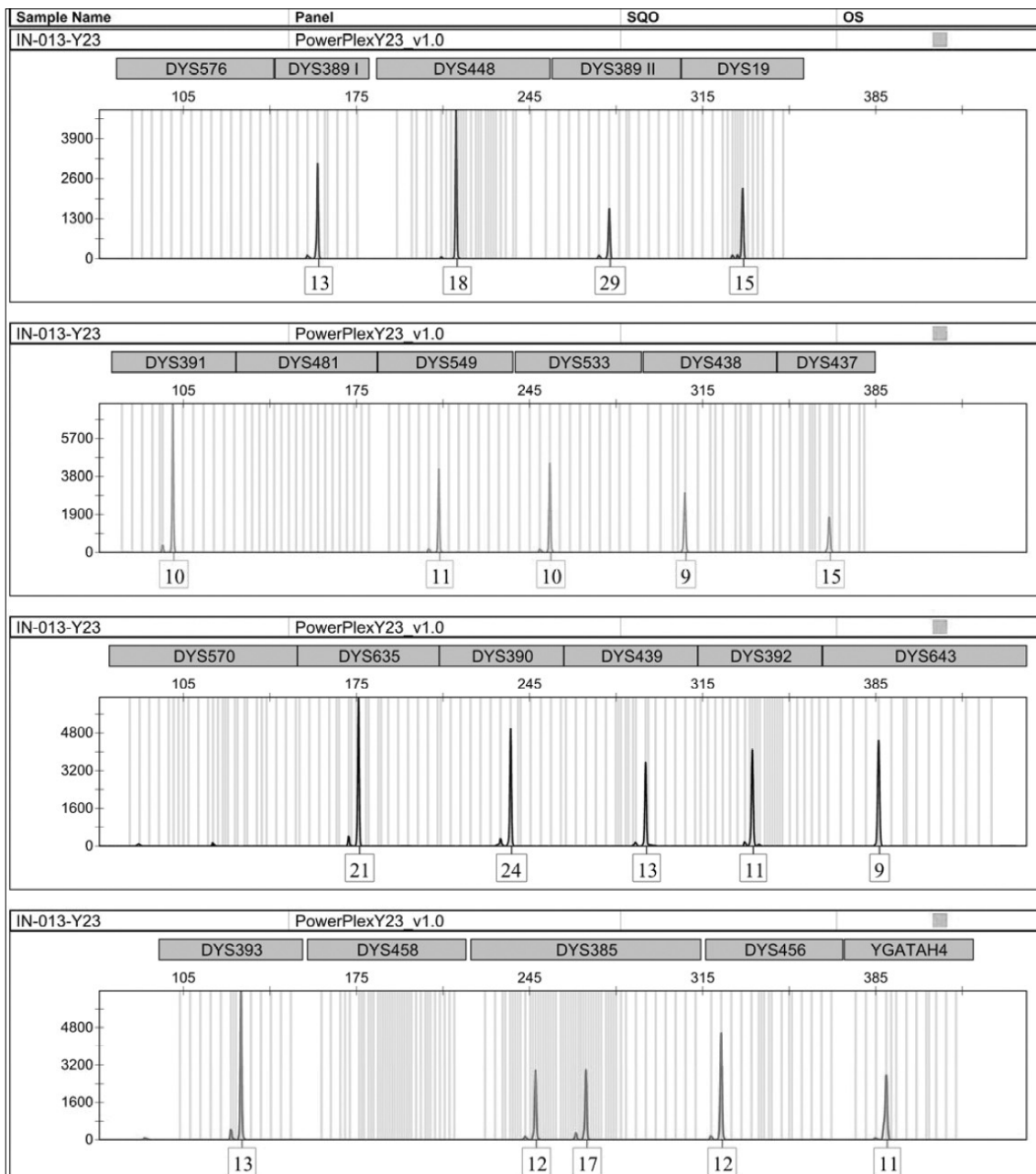


Fig. 2. This electropherogram is a DNA Typing result using PowerPlex[®] Y-23 kit, indicates deletion at locus DYS576, DYS481, DYS570, DYS458.

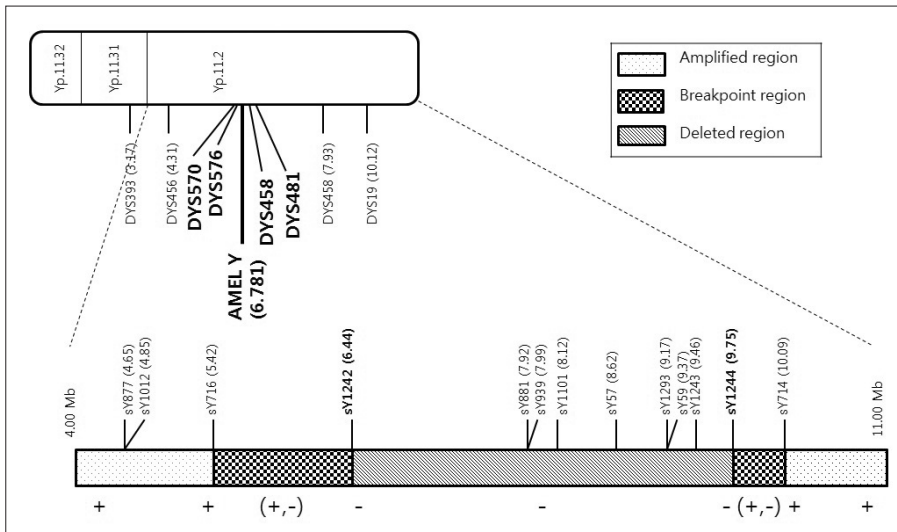


Fig. 3. The deletion map based on approximate locations of each STS marker.

The '+' indicates the presence and the '-' indicates the absence of each specific marker. Deletion around Yp11.2 occurred approximately in the range of 6.44Mb to 9.75 Mb.

고 찰

본 연구결과를 YHRD (<http://www.yhrd.org/Research/Amelogenin+Y+deletions>)에 공개되어있는 다른 AMELY deletion 결과⁴⁻⁸⁾들과 비교한 내용을 Table 1에 요약하였다. 인도인 중 하플로그룹(haplogroup) J2e1의 결과와 STR과 STSs 결실 결과가 유사한 것을 알 수 있었지만 본 사례에서는 제한된 양의 DNA 시료를 제공 받아 실험을 수행한 상황으로 더 세밀한 결실 부위를 알 수 있는 세부적인 STS 마커에 대한 실험과 하플로그룹을 알 수 있는 추가실험을 진행하지는 못하였기에 타 인도인과의 직접적인 비교는 불가능하였다. Y-STR 타이핑 결과를 기초로 하플로그룹을 예측해 주는 프로그램인 Whit Athey's Haplogroup Predictor 27-haplogroup program (<http://www.hprg.com/hapest5/hapest5b/hapest5.htm>)을 이용하여, 지역선택에서 South Asia와 Equal Priors 선택에 관계없이 100%의 동일한 결과인 J2b를 얻었다. 이는 위에서 언급된 하플로그룹과 다소 차이가 있는데, 프로그램에서 활용하고 있는 하플로그룹이 다양하지 않고, 본 사례에서 결실 때문에 활용할 수 있는 유전자의 수가 적어 위와 같은 차이가 발생한 것으로 추측한다.

한편 AMELY결실이 일어난 사람들이 주로 인도와 인도 아대륙에서 빈번하다는 보고들로 볼 때 민족의 차이 또는 지역의 차이에 초점을 맞추어 다양한 Y염색체 단완 부위의 결실 위치를 분석하고, 분류한다면 Y 염색체의 결실 부위도 민족을 구분하는 데 또 하나의 파라미터가 될 수 있을 것으로 예상된다.

최근 AMELY 결실에 대한 성별 오류를 보완하는 목적으로 DYS391 마커를 추가적으로 Combined DNA Index System (CODIS) 와 European Standard Set (ESS)에 포함하여야 한

다는 의견이 있고⁹⁾ 이에 따라 Promega에서는 DYS391 마커가 포함된 PowerPlex® Fusion System 키트를 선보였고, Life Technologies사에서는 GlobalFiler™ Kit를 선보였다. 하지만 DYS391 마커의 큰 크기(442-486bp)로 인해 손상된 DNA 시료에서는 분석에 오류가 있을 수 있다는 보고¹⁰⁾가 있어 손상된 시료 분석 시에는 주의가 요구된다. 우리나라에서도 외국인과의 교류가 빈번해 지고 있으며, 이에 따라 우리나라에서 발생하는 사건에서 혹은 거주자에서도 이러한 유형의 사례들이 관찰될 가능성이 있고, 위에서 설명한 것과 같은 지역성을 반영한 결실에 대한 이해는 유전자 검사 결과 해석에 적지 않게 도움될 것으로 예상된다.

이 논문은 2013년도 정부(미래창조과학부)의 재원으로 한국연구재단 바이오·의료기술개발사업의 지원을 받아 수행된 연구입니다(No. 2013-057192).

참 고 문 헌

1. Takayama T, Takada N, Suzuki R, et al. Determination of deleted regions from Yp11.2 of an amelogenin negative male. *Leg Med (Tokyo)* 2009;11 suppl 1:s578-80.
2. Jobling MA, Lo IC, Turner DJ, et al. Structural variation on the short arm of the human Y chromosome: recurrent multigene deletions encompassing Amelogenin Y. *Hum Mol Genet* 2007;16:307-16.
3. Chen W, Wu W, Cheng J, et al. Detection of the deletion on Yp11.2 in a Chinese population. *Forensic Sci Int Genet* 2014;8:73-9.
4. Turrina S, Filippini G, Voglino G, et al. Two additional reports of deletion on the short arm of the Y chromosome. *Forensic Sci Int Genet* 2011;5:242-6.

5. Chang YM, Perumal R, Keat PY, et al. A distinct Y-STR haplotype for Amelogenin negative males characterized by a large Y(p)11.2 (DYS458-MSY1-AMEL-Y) deletion. *Forensic Sci Int*. 2007;166:115-20.
6. Lattanzi W, Di Giacomo MC, Lenato GM, et al. A large interstitial deletion encompassing the amelogenin gene on the short arm of the Y chromosome. *Hum Genet* 2005;116:395-401.
7. Yong RY, Gan LS, Chang YM, et al. Molecular characterization of a polymorphic 3-Mb deletion at chromosome Yp11.2 containing AMELY locus in Singapore and Malaysia populations. *Hum Genet* 2007;122:237-49.
8. Kumagai R, Sasaki Y, Tokuta T, et al. DNA analysis of family members with deletion in Yp11.2 region containing amelogenin locus. *Leg Med (Tokyo)* 2008;10:39-42.
9. Hares DR. Expanding the CODIS core loci in the United States. *Forensic Sci Int Genet* 2012;6:e52-4.
10. Turrina S, Caratti S, De Leo D, et al. Evaluation of PowerPlex® Fusion System on samples from forensic case-work. *Forensic Sci Int Genet Suppl* 2013;4:e210-1.