

개인식별을 위한 한국인 ABO 혈액형
유전자의 염기서열 분석

연세대학교 대학원
의 과 학 과
신 경 진

개인식별을 위한 한국인 ABO 혈액형
유전자의 염기서열 분석

지도 김 종 열 교수

이 논문을 박사 학위논문으로 제출함

2001년 12월 일

연세대학교 대학원

의 과학과

신 경 진

신경진의 박사 학위논문을 인준함

심사위원 인

심사위원 인

심사위원 인

심사위원 인

심사위원 인

연세대학교 대학원

20001년 12월 일

감사의 글

이 논문이 완성되기까지 시종 세심한 지도와 격려를 아끼지 않으시고 오늘날 법의학이라는 학문의 길을 걸을 수 있도록 큰 힘으로 도와주신 김종열 교수님께 깊은 존경과 감사를 드립니다. 그리고 세심한 곳까지 자상한 가르침을 주신 조상호, 박광균, 윤창륙 교수님께 경의를 표하며, 멀리 뉴질랜드에서 충고와 조언을 아끼지 않으신 최종훈 교수님께도 감사드립니다.

또한 본 연구의 진행에 많은 도움을 주신 구강내과학교실 의국원과, 실험에 여러 모로 도움을 주신 법의학과 양윤석 선생에게도 감사의 마음을 전합니다.

늘 뒤에서 든든한 힘이 되어 주시고 어려울 때마다 용기를 주신 부모님과 말없이 지켜봐 준 아내 혜영, 딸 지원, 그리고 예지네 가족, 다은네 가족에게도 항상 깊은 고마움을 느낍니다. 끝으로 힘들고 긴 투병생활 중에도 온갖 지원을 아끼지 않으시고 물심양면 도와 주셨던 장모님께 두 손 모아 깊이 감사드리며, 이제는 하느님의 품에서 영원히 평안하실 장모님의 영전에 이 논문을 바칩니다.

2002년 1월

저자 씀

차 례

그림 및 표 차례	iv
국문요약	v
I. 서 론	1
II. 연구대상 및 방법	5
1. 연구대상	5
2. 연구방법	6
III. 결 과	11
1. ABO 유전자의 PCR 증폭	11
2. ABO 유전자형	12
3. ABO 대립유전자	17
4. ABO 유전자의 개인식별 정보력	19
5. 친자확인 검사에 적용 예	19
IV. 고 찰	21
V. 결 론	29
참고문헌	30
영문초록	37

그림 및 표 차례

Fig. 1. Electrophoretic patterns of PCR amplification products of ABO gene	11
Fig. 2. Sequence analysis of the 261st and the 526th nucleotide	13
Table 1. Blood types frequencies of the subjects (n = 100)	5
Table 2. Nucleotide sequences of primers used for PCR and sequencing	7
Table 3. ABO genotypes observed in 100 Koreans	14
Table 4. Genotypes frequencies of ABO gene	16
Table 5. ABO alleles observed in 100 Koreans	17
Table 6. Allele frequency of ABO gene in Korean	18
Table 7. Statistical parameter for ABO gene	19
Table 8. Application of ABO genotyping to paternity test	20
Table 9. Major allele frequencies of ABO gene in 5 population	26

국 문 요 약

개인식별을 위한 한국인 ABO 혈액형 유전자의 염기서열 분석

한국인에서 발현되는 ABO 혈액형 유전자의 유전자형과 대립유전자의 빈도를 알아보고, ABO 유전자의 개인식별 정보력을 산출하여 ABO 유전자의 법의학 적 유용성을 평가해 보고자 서로 혈연관계가 없는 한국인 100명을 무작위로 선택하여 유전자를 추출하고, ABO 유전자의 exon 6와 exon 7에 대한 염기서열을 분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 한국인에서 ABO 유전자의 염기다형성은 exon 6의 nucleotide 261, 297 등 2부위와 exon 7의 nucleotide 467, 526, 579, 646, 657, 681, 703, 771, 796, 803, 829, 930 등 12부위에서 나타났다.
2. 한국인 집단에서 18개의 ABO 유전자형과 7개의 대립유전자를 관찰할 수 있었으며, O01형 대립유전자가 가장 높은 빈도 (27.6%)로 나타났으며, 다음으로 A102형 (22.0%)과 B101형 (22.0%), O02 (21.0%)의 순으로 관찰되었다.
3. A형 대립유전자는 A101형이 21.4%, A102형이 78.6%로 나타났으며, B형 대립유전자는 B101형이 97.7%으로 대부분을 차지하였고, O형 대립유전자는 O01형과 O02형, O04형이 각각 56.0%와 42.0%, 2.0%로 나타났다.

4. ABO 유전자형과 대립유전자의 빈도로부터 산출된 관측이형접합도, 기대이형접합도, 다형정보력은 각각 0.670, 0.784, 0.744였으며, 개체식별력은 0.924, 평균부권배재력은 0.576이었다.

이상의 결과에 나타난 ABO 유전자의 유전적 다형성을 종합해 볼 때, 염기서열 분석에 의한 ABO 유전자형의 결정은 범죄와 관련된 개인식별, 친자확인 검사, 가족관계의 확인 등 법의학적 개인식별에 유용하게 적용될 수 있을 것으로 사료된다.

핵심되는 말 : ABO, 유전자형, 대립유전자, 개인식별, 염기서열 분석

개인식별을 위한 한국인 ABO 혈액형 유전자의 염기서열 분석

< 지도 김 종 열 교수 >

연세대학교 대학원 의과학과

신 경 진

I. 서 론

개인식별 (individual identification)은 생체 또는 시체의 신원을 밝히는 것을 말한다 (문국진 1998, 山本勝一 1995). 신원이란 어떤 사람을 다른 사람과 구별시켜 주는 모든 자료의 총체로서, 신원을 입증해 주는 자료에는 본적, 출생지, 주소, 성명, 학력, 경력 등 비신체적인 자료와 인종, 성별, 연령, 체격, 골격, 안모, 피부색, 눈동자색, 모발, 혈액형, 지문, 장문, 족문, 구순문, 치아상태 등 신체적인 자료가 있다 (김영구 등 1998). 신원을 밝혀주는데 기여하는 이러한 여러 자료 중 ABO식 혈액형은 거의 모든 사람들이 자신 또는 가족의 혈액형을 알고 있으며, 학생부기록, 병적기록, 의무기록 같은 공공문서에 기록되어 있는 경우가 많아 개인식별에서 매우 중요한 자료가 된다.

Landsteiner (1901)는 한 사람의 적혈구가 다른 사람의 혈청과 섞일 경우 응집하는 현상을 관찰하여 사람의 혈액에는 두 종류의 항원 (A항원, B항원)과 두 종류의 항체 (A항체, B항체)가 있음을 알아냈고, 이들의 조합으로 혈액은

분류하여 오늘날의 ABO식 혈액형의 기초를 마련하였다. 그 후, MN식, Rh식 같은 여러 종류의 혈액형이 발견되었지만 ABO식 혈액형은 수혈에서 여전히 가장 중요한 체계로 사용되고 있다 (Issitt 1989). 또한 혈액형은 멘델의 법칙에 따라 부모에서 자식으로 유전되고, 혈흔을 비롯하여 타액, 뇨, 위액, 정액, 땀과 같은 사람의 분비물에서도 혈액형을 비교 판별할 수 있어 친자확인 검사 (Melvin et al 1988), 범죄와 관련한 개인식별 (Lee 1988)에 이용될 뿐만 아니라 혈액형이 민족마다 다른 분포를 보이는 점을 이용하여 인류의 이동이나 민족사이의 관련성을 연구하는 인류유전학 (Gaensslen, and Lee 1990)영역에서도 유용하게 이용되고 있다.

일반적인 ABO식 혈액형은 항원-항체 반응에 기초한 혈청학적인 검사로 판정하고 있으나 법의학적인 검사대상이 되는 시료는 생물학적 증거물의 오염과 부패로 인해 혈액형 결정에 많은 어려움이 따르게 된다 (Gaensslen 1983). 즉, 외부환경에 노출된 ABO 항원과 항체는 파괴되거나 분해되어 혈액형 판정이 불가능한 경우가 종종 있으며, 약 25%의 사람은 체액에 ABO 항원이 존재하지 않는 비분비형으로 체액만으로 혈액형 판정이 불가능한 경우가 있다. 또한 ABO 항원과 항체는 다른 종 (species)으로부터 유래된 ABO 유사물질에 교차 반응하는 경우도 있고, 혈청학적인 방법에 의한 혈액형 판정은 피해자의 질내 용물과 피의자의 정액이 혼합된 검체에서는 용이하지 않으며, 시료의 종류에 따라서는 다른 방법의 혈청학적 검사를 시도하여야 할 경우도 있다.

기존의 혈청학적인 방법에 의한 혈액형 결정의 문제점을 해소하기 위해서 중합효소연쇄반응 (polymerase chain reaction: PCR)에 의한 ABO 혈액형 유전자를 검사하는 방법이 제시되었다. Yamamoto 등 (1995a)은 ABO 유전자의 다형성을 조사하였고, 이를 바탕으로 PCR과 제한효소에 의한 restriction fragment length polymorphism (RFLP)를 관찰하여 A, B, O 대립유전자를 구별할 수 있는 ABO genotyping을 보고하였다. 이후 여러 분자생물학적 방법을 이용하여 ABO 유전자형을 결정하기 위한 많은 연구가 있었으며, 그 결과

ABO 유전자에는 많은 변종이 존재함이 밝혀졌고, 이러한 다양한 종류의 유전자형을 효과적으로 분석하기 위하여 allele-specific primer (ASP)를 이용한 PCR (Ugozzoli, and Wallace 1992), denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE)를 이용한 PCR 산물의 분석 (Johnson, and Hopkinson 1992) 또는 PCR 산물의 single-strand conformation polymorphism (SSCP) 관찰 (Ogasawara et al, 1996), PCR-direct sequencing (Nata et al 1997) 등 여러 방법을 시도하였다. ABO 유전자형의 결정을 위해 주로 사용되는 PCR-RFLP, ASP-PCR, PCR-DGGE, PCR-SSCP와 같은 기법들은 특정 염기서열의 변이에 따른 제한효소에 의한 절단여부, PCR 증폭 여부 또는 전기영동상에서 나타나는 증폭산물의 이동도의 차이로 그 유전자형을 구분하고 있으나, ABO 유전자형에 많은 변종이 있음을 고려해 볼 때 ABO 유전자의 염기서열을 직접 검색하여 ABO 유전자형을 결정하는 것이 바람직하다.

항원-항체 반응에 의한 ABO식 혈액형 판정의 결점을 극복하기 위하여 ABO 유전자형 결정법을 법의학적 개인식별 실무에 적용하려면, 특정 집단에서의 ABO 유전자형과 각 대립유전자의 빈도를 우선 조사하고, ABO 유전자의 개인식별 정보력을 평가해 보아야 할 것이다. 혈액학적인 연구의 결과로 독일 (Nishimukai et al 1996, Watanabe et al 1997), 이탈리아 (Villa et al 1996), 영국 (Yip 2000), 중국 (Yip, Yow, and Lewis 1996), 일본 (Fukumori et al 1996, Ogasawara et al 1996, Watanabe et al 1997), 한국 (Kang et al 1997) 집단에서의 ABO 유전자형과 각 대립유전자의 빈도는 이미 보고되어 있으나, 법의학적 관점에서 ABO 유전자의 개인식별 정보력을 평가한 국내외의 연구는 없다.

한편, Kang 등 (1997)이 PCR-RFLP 방법으로 한국인 집단에서의 ABO 유전자형과 대립유전자의 빈도에 대하여 보고하였으나, PCR-RFLP 방법으로는 구분할 수 없는 유전자형이 있는 바 한국인의 ABO 유전자에 대한 완전한 염기서열 분석이 필요하다. 이에 본 연구에서는 한국인 100명을 대상으로 ABO

유전자의 exon 6와 exon 7의 전체 염기서열을 분석하여 한국인 집단에서 발견된 ABO 유전자형과 대립유전자의 빈도를 조사하고 이들로부터 개인식별 정보량을 산출하여 개인식별 실무에 응용할 수 있는 기초자료를 제시하고자 한다.

II. 연구대상 및 방법

1. 연구대상

서로 혈연관계가 없는 100명의 한국인을 무작위로 선정하고 이들로부터 DNA를 추출하고자 소독된 면봉으로 헝겍막을 긁어 구강상피세포를 채취하였다. 구강상피를 채취한 면봉은 1.5ml microcentrifuge tube에 넣고 뚜껑을 닫은 후 DNA를 추출할 때까지 -20°C 냉동고에 보관하였다.

연구대상과 한국인 집단의 혈액형 분포는 표 1과 같다.

Table 1. Blood types frequencies of the subjects (n = 100)

Blood type	Subjects (%)	Korean population (%) [*]
A	34	34
B	25	27
AB	11	11
O	30	28
Total	100	100

* 대한적십자사 혈액수혈연구원 (2000) 자료

2. 연구방법

구강상피세포로부터 DNA를 추출하여 ABO 유전자의 exon 6와 exon 7을 중합효소연쇄반응으로 증폭한 후 그 염기서열을 분석하였다.

가. DNA의 추출

수집된 시료로부터 QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Germany)를 이용하여 다음과 같이 DNA 추출하였다. 먼저 400ul의 phosphate buffered saline (PBS), 20ul의 QIAGEN Protease, 400ul의 Buffer AL을 면봉이 담겨 있는 1.5ml microcentrifuge tube에 넣어 혼합한 다음 즉시 15초간 vortexing하였다. 56°C 순환항온수조에서 10분간 반응시킨 후 짧게 원심분리한 다음 다시 400ul의 100%에탄올을 첨가하고 vortexing한 후 짧게 원심분리하였다. 이렇게 혼합된 용액을 700ul 취하여 QIAamp spin column에 옮긴 후 6000×g로 1분간 원심분리하여 여과된 용액은 버렸다. 이러한 과정을 남아 있는 혼합액이 없어질 때까지 반복하였다. 500ul의 Buffer AW1을 넣고 6000×g로 1분간 원심분리, 500ul의 Buffer AW2을 넣고 20000×g로 3분간 원심분리, 그리고 여과된 용액을 버리고 20000×g로 다시 1분간 원심분리하였다. 150ul의 Buffer AE를 넣고 상온에서 1분간 반응시킨 후 6000×g로 1분간 원심분리하여 여과된 용액을 중합효소연쇄반응에 사용하기 전까지 -20°C 냉동고에 보관하였다.

나. 프라이머 설정

GeneBank에 등록되어 있는 ABO 대립유전자 A101의 exon 6 (GeneBank Accession No. AF134417) 염기서열과 Primer Express Software 1.0 (Applied Biosystems, CA, USA)을 이용하여 exon 6의 증합효소연쇄반응을 위한 프라이머를 설계하였으며 그 염기서열은 표 2와 같다.

한편, exon 7의 증합효소연쇄반응을 위한 프라이머는 동일한 대립유전자의 exon 7 (GeneBank Accession No. AF134418) 염기서열을 참고하였으며 Ogasawara 등 (1996)이 제시한 염기서열을 사용하였다.

각각의 프라이머는 합성한 후 polyacrylamide gel electrophoresis purification하여 사용하였다 (Genotec, Daejeon, Korea).

Table 2. Nucleotide sequences of primers used for PCR and sequencing

Name	Sequence
<i>Exon 6 primers</i>	
ABO6-1	5'-ATG TGA CCG CAC GCC TCT CT-3'
ABO6-2	5'-TCT ACC CTC GGC CAC CTC ACT-3'
<i>Exon 7 primers*</i>	
ABO7-1	5'-CCG TCC GCC TGC CTT GCA G-3'
ABO7-2	5'-AGC CCT CCC AGA GCC CCT GGC A-3'

* Identical to ABO-3, ABO-8 reported by Ogasawara et al, 1996

다. 중합효소연쇄반응

ABO 유전자 exon 6의 PCR을 위한 혼합물은 2 μ l의 주형 DNA, 15mM Tris-HCl (pH 8.3), 75mM KCl, 2.25mM MgCl₂, 각각 0.2 μ M의 ABO6-1, ABO6-2 primer, 200 μ M의 dNTP, 그리고 1U의 AmpliTaq Gold DNA Polymerase (Applied Biosystems, CA, USA)를 포함하여 최종 부피는 25 μ l가 되도록 하였다. 모든 PCR은 첫 온도순환에 앞서 95°C에서 10분간 가열한 후 95°C에서 20초, 60°C에서 20초, 72°C에서 30초로 이루어진 총 35회의 온도순환 후 72°C에서 7분간 반응시켰다.

Exon 7의 PCR 혼합물은 2 μ l의 주형 DNA, 10mM Tris-HCl (pH 8.3), 50mM KCl, 1.5mM MgCl₂, 각각 0.2 μ M의 ABO7-1, ABO7-2 primer, 200 μ M의 dNTP, 6% dimethyl sulfoxide (Sigma, St. Louis, USA), 그리고 1U의 AmpliTaq Gold DNA Polymerase를 포함하여 최종 부피는 25 μ l가 되도록 하였다. 모든 PCR은 첫 온도순환에 앞서 95°C에서 10분간 가열한 후 95°C에서 20초, 63°C에서 20초, 72°C에서 60초로 이루어진 총 35회의 온도순환 후 72°C에서 7분간 반응시켰다.

한편, exon 6와 exon 7의 PCR 증폭시에 negative control도 매번 동시에 증폭하여 오염여부를 추적하였으며, 모든 PCR은 GeneAmp PCR System 9600 (Applied Biosystems, CA, USA)에서 수행하였다

라. 염기서열결정

각각의 PCR 산물을 1% agarose gel 상에서 전기영동하여 증폭여부를 확인한 후 QIAquick PCR Purification Kit (QIAGEN, Hilden, Germany)을 이용하여 정제하여 최종 부피는 50ul가 되도록 하였다. 정제된 DNA를 주형으로 하여 PCR 증폭에 사용된 편측 프라이머와 BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit V3.0 (Applied Biosystems, CA, USA)으로 염기서열결정반응을 수행하였다. 염기서열결정반응 혼합물은 2ul Terminator Ready Reaction Mix, 1ul primer (3,2pmole), 2 ~ 5ul 주형 DNA를 포함하여 최종 부피는 10ul가 되도록 하였으며, 염기서열결정반응을 위한 PCR은 GeneAmp PCR System 9600에서 96°C에서 10초, 50°C에서 5초, 60°C에서 2분으로 이루어진 총 30회의 온도순환으로 수행하였다.

반응산물은 에탄올 침전법으로 정제하여 20ul deionized formamide (Amresco, Ohio, USA)와 혼합한 후 95°C에서 3분간 가열하고 얼음에서 급냉하여 DNA를 denaturation시켜 ABI Prism 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, CA, USA) 자동염기서열 분석기를 이용하여 전기영동하였다. 전기영동 중에 발생하는 정보는 ABI Prism 310 Data Collection Software 1.2 (Applied Biosystems, CA, USA)에 실시간으로 입력되었으며, Sequencing Analysis Software 3.4 (Applied Biosystems, CA, USA)을 이용하여 염기서열을 결정하였다.

마. 유전자형의 명명

각각의 염기서열은 Sequence Navigator Software 1.0 (Applied Biosystems, CA, USA)를 이용하여 ABO 대립유전자 A101의 염기서열과 비교하였다. 염기서열분석에서 이형접합성 (heterozygosity)이 나타난 염기서열은 IBU Code에 따라 명명하였으며, 대립유전자는 Yamamoto (2000)가 제시한 표에 따라 분류하였다.

바. 통계적 분석

대립유전자 빈도 (allele frequency)는 ABO 유전자에서 발현되는 유전자형으로부터 대립유전자를 확인하고 관찰된 각 대립유전자의 수를 총 대립유전자 수로 나누어 계산하였으며, 특정 유전자에 대한 모집단의 유전적 다양성 정도의 지표를 나타내는 이형접합도 (heterozygosity)는 Nei의 공식 (Nei, and Roychoudhury 1974)에 의해 계산하였다.

한편, ABO 유전자가 개체식별에 유용한 유전자표식자인지를 확인하기 위하여 다형정보력 (polymorphism information content: PIC) (Botstein et al 1980), 개체식별력 (power of discrimination: PD) (Jones 1972), 평균부권배재력 (mean exclusion chance: MEC) (Kruger et al 1968)를 산출하였다.

사. 친자확인 검사에 적용

연세대학교 의과대학 법의학과에서 시행한 친자확인 검사에서 가족관계로 밝혀진 한 가족을 대상으로 본 연구에서 확립된 ABO 유전자의 염기서열분석 방법을 적용하여 보았다.

III. 결 과

1. ABO 유전자의 PCR 증폭

연구대상 100명으로부터 추출된 DNA를 주형으로 한 PCR 증폭은 모두 성공적으로 수행되었으며, PCR 증폭산물의 크기는 각각 exon 6이 193 base pairs (bp), exon 7이 737bp였다 (그림 1).

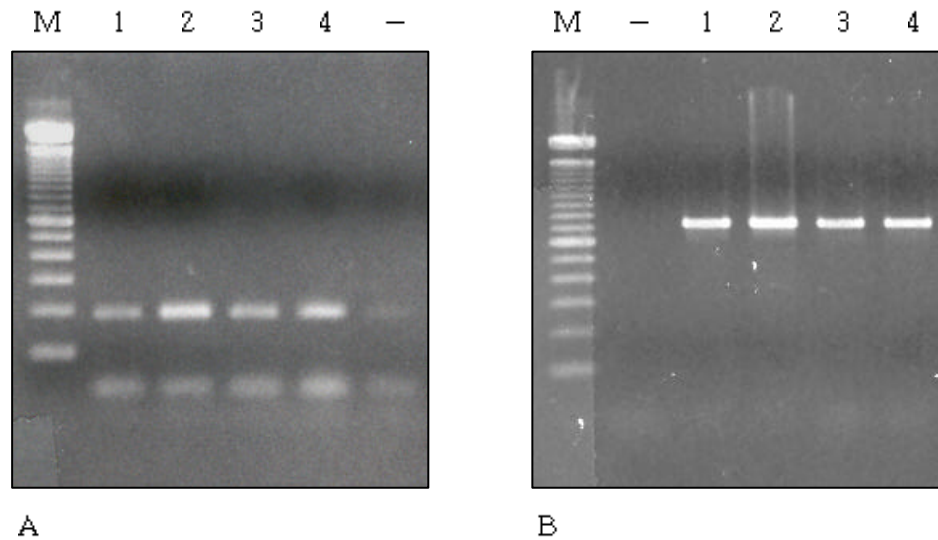


Fig. 1. Electrophoretic patterns of PCR amplification products of ABO gene

A. PCR products of ABO exon 6 (193bp)

B. PCR products of ABO exon 7 (737bp)

Amplified products were separated in 1% agarose gel and direct visualization with ethidium bromide under UV light.

M : 100bp ladder: - : Negative control: 1, 2, 3, 4 : Samples

2. ABO 유전자형

ABO 유전자의 exon 6와 exon 7 부위의 염기서열 분석에서 나타난 동형접합체 (homozygote)와 이형접합체 (heterozygote)는 다음과 같이 구분하였다.

예를 들어 exon 6의 nucleotide 261의 염기는 AA, AB, BB 유전자형인 경우에는 guanine이며 (그림 2A, 위), OO 유전자형에서는 guanine이 삭제되어 adenine이 되고 (그림 2A, 아래), AO, BO 유전자형인 경우에는 guanine과 adenine이 동시에 존재한다 (그림 2A, 가운데). 즉 nucleotide 261의 염기는 O형 대립유전자가 두 상동염색체에 존재하지 않는 경우, 두 상동염색체 중 하나에만 있는 경우, 두 상동염색체 모두에 존재하는 경우에 각각 guanine, guanine / adenine, adenine이 되어 그림 2A의 위, 가운데, 아래와 같이 나타나게 된다.

A형 또는 O형 대립유전자에서는 exon 7의 nucleotide 528의 염기는 cytosine (그림 2B, 위)이고, B형 대립유전자의 경우에는 guanine (그림 2B, 아래)이므로 AB 유전자형에서는 cytosine과 guanine이 함께 나타난다 (그림 2B, 가운데). 다시 말해서 nucleotide 528의 염기는 B형 대립유전자가 두 상동염색체에 모두 존재하지 않는 경우, 두 상동염색체 중 하나에만 존재하는 경우, 두 상동염색체 모두에 존재하는 경우에 각각 cytosine, cytosine / guanine, guanine이 되어 그림 2B의 위, 가운데, 아래와 같이 나타나게 된다.

100명의 한국인을 대상으로 ABO 유전자 exon 6의 nucleotide 240 ~ 374 부위 (135bp)와 exon 7의 nucleotide 375 ~ 1065 부위 (691bp)에 대한 염기서열을 분석해 본 결과 exon 6에서는 nucleotide 261, 297 등 2부위, exon 7에서는 nucleotide 467, 528, 579, 646, 657, 681, 703, 771, 796, 803, 829, 930 등 12부위에서 염기다형성이 관찰되었다. 또한 5개의 동형접합체 (A101/A101, A102/A102, B101/B101, O01/O01, O02/O02)와 13개의 이형접합체를 포함하여 총 18개의 ABO 유전자형이 나타났으며 이들의 염기서열은 표 3과 같다.

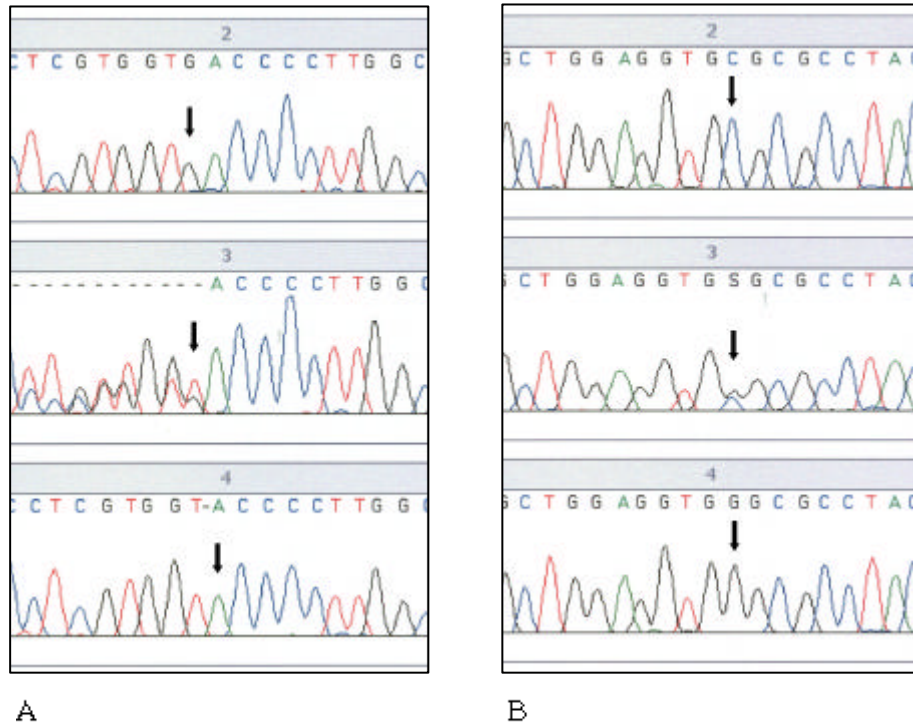


Fig. 2. Sequence analysis of the 261st (A) and the 526th (B) nucleotide

A. In AA, AB and BB genotypes, the 261st nucleotide was guanine (top), and in OO genotypes (bottom), the nucleotide was adenine because of the single-base deletion and in AO, BO genotypes, the nucleotide was guanine / adenine (middle).

B. In A (or O) and B allele, the 526th nucleotide was cytosine (top) and guanine, respectively (bottom). In AB, the nucleotide was cytosine / guanine (middle).

Table 3. ABO genotypes observed in 100 Koreans

No.	Genotype	Exon 6					Exon 7								
		2	2	4	5	5	6	6	6	7	7	7	8	8	9
		6	9	6	2	7	4	5	8	0	7	9	0	2	3
		1	7	7	6	9	6	7	1	3	1	6	3	9	0
1	A101/A101	G	A	C	C	T	T	C	G	G	C	C	G	G	G
2	A102/A102	G	A	T	C	T	T	C	G	G	C	C	G	G	G
3	A101/A102	G	A	C/T	C	T	T	C	G	G	C	C	G	G	G
4	A101/O01	G-	A	C	C	T	T	C	G	G	C	C	G	G	G
5	A101/O02	G-	A/G	C	C	T	T/A	C	G/A	G	C/T	C	G	G/A	G
6	A102/O01	G-	A	C/T	C	T	T	C	G	G	C	C	G	G	G
7	A102/O02	G-	A/G	C/T	C	T	T/A	C	G/A	G	C/T	C	G	G/A	G
8	B101/B101	G	G	C	G	T	T	T	G	A	C	A	C	G	A
9	B101/B102	G	G	C	G	T	T	T	G	A	C	A	C	G	G/A
10	B101/O01	G-	A/G	C	C/G	T	T	C/T	G	G/A	C	C/A	C/G	G	G/A
11	B101/O02	G-	G	C	C/G	T	T/A	C/T	G/A	G/A	C/T	C/A	C/G	G/A	G/A
12	A101/B101	G	A/G	C	C/G	T	T	C/T	G	G/A	C	C/A	C/G	G	G/A
13	A102/B101	G	A/G	C/T	C/G	T	T	C/T	G	G/A	C	C/A	C/G	G	G/A
14	O01/O01	-	A	C	C	T	T	C	G	G	C	C	G	G	G
15	O02/O02	-	G	C	C	T	A	C	A	G	T	C	G	A	G
16	O01/O02	-	A/G	C	C	T	T/A	C	G/A	G	C/T	C	G	G/A	G
17	O01/O04	-	A	C	C	T/C	T	C	G	G	C	C	G	G	G
18	O02/O04	-	A/G	C	C	T/C	T/A	C	G/A	G	C/T	C	G	G/A	G

- : indicate deletion of a nucleotide at the position

한국인 100명에서 관찰된 유전자형은 A형이 7가지, B형이 4가지, AB형이 2가지, O형이 5가지였으며, A형은 3가지의 AA형과 4가지의 AO형으로, B형은 2가지의 BB형과 2가지의 BO형으로 더 세분화되었다 (표 4).

ABO 유전자형 중에서 OO형, AO형, BO형이 각각 30%, 23%, 16%의 빈도 순으로 관찰되었으며, BB형이 9%로 가장 낮은 빈도로 나타났다. 유전자형 세분화연 살펴보면, O01/O02형이 13%로 가장 높은 빈도로 관찰되었으며, 다음으로는 A102/O01형, B101/O01형, A101/B101형이 각각 10%씩 나타났고, A101/A102형, B101/B102형, A101/B101형, O01/O04형, O02/O04형은 각각 1%의 낮은 빈도로 나타났다 (표 4).

Table 4. Genotypes frequencies of ABO gene

Genotype		Frequency (%)		Blood Type
<i>AA</i>	A101/A101	3	11	A
	A102/A102	7		
	A101/A102	1		
<i>AO</i>	A101/O01	2	23	
	A101/O02	2		
	A102/O01	10		
	A102/O02	9		
<i>BB</i>	B101/B01	8	9	B
	B101/B102	1		
<i>BO</i>	B101/O01	10	16	
	B101/O02	5		
<i>AB</i>	A101/B101	1	11	AB
	A102/B101	10		
<i>OO</i>	O01/O01	9	30	O
	O02/O02	6		
	O01/O02	13		
	O01/O04	1		
	O02/O04	1		
Sum		100	100	

3. ABO 대립유전자

100명의 한국인에서 관찰된 ABO 유전자의 대립유전자는 7가지로, A형 대립유전자는 A101형과 A102형으로, B형 대립유전자는 B101형과 B102으로, O형 대립유전자는 O01형, O02형, O04형으로 구분되었으며 그 염기서열과 발현빈도는 각각 표 5, 표 6과 같다.

Table 5. ABO alleles observed in 100 Koreans

No.	Allele	Exon 6					Exon 7								
		2	2	4	5	5	6	6	6	7	7	7	8	8	9
		6	9	6	2	7	4	5	8	0	7	9	0	2	3
		1	7	7	6	9	6	7	1	3	1	6	3	9	0
1	A101	G	A	C	C	T	T	C	G	G	C	C	G	G	G
2	A102	G	A	T	C	T	T	C	G	G	C	C	G	G	G
3	B101	G	G	C	G	T	T	T	G	A	C	A	C	G	A
4	B102	G	G	C	G	T	T	T	G	A	C	A	C	G	G
5	O01	-	A	C	C	T	T	C	G	G	C	C	G	G	G
6	O02	-	G	C	C	T	A	C	A	G	T	C	G	A	G
7	O04	-	A	C	C	C	T	C	G	G	C	C	G	G	G

- : indicate deletion of a nucleotide at the position

한국인에 있어서 ABO 대립유전자는 O01형 대립유전자가 27.6%로 가장 높은 빈도로 나타났으며, 다음으로 A102형과 B101형, O02형 대립유전자가 각각 22.0%, 22.0, 21.0%로 비슷한 빈도로 관찰되었다. 한편 O04형 대립유전자는 1.0%, B102형 대립유전자는 0.5%로 낮은 발현 빈도로 나타났다 (표 6).

A형 대립유전자 A101형과 A102형은 각각 21.4%, 78.6%의 빈도로 나타났으며, B101형 97.8%로 B형 대립유전자의 대부분을 차지하였고, O형 대립유전자는 O01형과 O02형이 각각 55.6%, 42.4%로 비슷한 빈도로 나타났다.

Table 6. Allele frequencies of ABO gene in Korean

Allele	Number	Population within each group (%)	Frequency (%)
A101	12	21.4	6.0
A102	44	78.6	22.0
Total	56	100.0	28.0
B101	44	97.8	22.0
B102	1	2.2	0.5
Total	45	100.0	22.5
O01	55	55.6	27.5
O02	42	42.4	21.0
O04	2	2.0	1.0
Total	99	100.0	49.5

4. ABO 유전자의 개인식별 정보력

ABO 유전자형과 대립유전자의 빈도로부터 산출된 관측이형접합도는 0.670, 기대이형접합도는 0.784이며 다형정보력은 0.744이었다. 한편 개체식별력은 0.924이며 평균부권배재력은 0.576이었다 (표 7).

Table 7. Statistical parameter for ABO gene

Parameter	Value
Observed Heterozygosity	0.670
Expected Heterozygosity	0.784
Polymorphism information content (PIC)	0.744
Power of discrimination (PD)	0.924
Mean exclusion chance (MEC)	0.576

5. 친자확인 검사에 적용 예

가족관계가 확인된 한 가족을 대상으로 ABO 유전자의 염기서열 분석 결과 아버지는 A102/O02형, 어머니는 B101/O01형, 자식은 O01/O02형으로 나타났으며, 자식은 아버지의 O02형과 어머니의 O01형의 ABO 유전자를 물려받은 것으로 나타났다 (표 8).

Table 8. Application of ABO genotyping to paternity test

Nucleotide	AF	C	M
<i>Exon 6</i>			
261	G/-	-/-	G/-
297	A/G	A/G	G/A
<i>Exon 7</i>			
467	T/C	C/C	C/C
526	C/C	C/C	G/C
579	T/T	T/T	T/T
646	T/A	T/A	T/T
657	C/C	C/C	T/C
681	G/A	G/A	G/G
703	G/G	G/G	A/G
771	C/T	C/T	C/C
796	C/C	C/C	A/C
803	G/G	G/G	C/G
829	G/A	G/A	G/G
930	G/G	G/G	A/G
Genotype	A102/O02	O01/O02	B101/O01

AF : Alleged Father, C : Child, M : Mother

- : Indicate deletion of a nucleotide at the position

IV. 고 찰

ABO 혈액형 체계는 적혈구에 있는 A, B 항원과 이 항원에 대하여 자연적으로 혈청속에 존재하는 항체로 구성되어 있다. 즉 적혈구에 A항원만이 존재하는 경우는 A형, B형 항원만이 존재하는 경우는 B형, 둘다 존재하는 경우는 AB형, 둘다 존재하지 않는 경우는 O형이 된다. 혈액속에는 자신이 갖고 있지 않는 항원에 대한 항체를 갖고 있는데 A형인 사람은 항B항체를, B형은 항A항체, O형은 항A항체와 항B항체 모두를 가지며, AB형은 항체를 갖고 있지 않다. 이런 사실에 기초하여 사람의 적혈구를 검사하는 혈구 혈액형 검사와 환자의 혈청을 검사하는 혈청 혈액형 검사를 동시에 시행하여 사람의 ABO 혈액형을 검사한다. 또한 각각의 혈액형 항원이 발현되는 양상에 따라 A형과 B형은 각각 여러 개의 아형으로 (예를 들면 A1, Aint, A2, A3, Am, Ax, Ael 등) 구분되기도 한다. 한편, 한국인의 혈액형의 빈도는 A형이 34%로 가장 많고, O형 28%, B형 27%, AB형 11%이지만, 미국 백인의 경우 O형이 45%로 가장 많고, A형이 42%, B형이 10%, AB형이 3%이며, 남아메리카 인디언의 경우는 O형이 100%, 오스트레일리아 원주민은 A형과 O형이 각각 56%, 44%로 인종마다 약간씩 혈액형의 빈도가 차이가 난다 (대한적십자사 혈액수혈연구원, 2000).

Yamamoto 등 (1990a, b)에 의해 ABO 유전좌위에 있는 3가지의 주요 대립인자에 대한 분자유전학적 기초가 밝혀졌으며 그후 ABO 유전자와 이 유전좌위에 존재하는 기능적 대립인자의 다양성에 의해 결정되는 A, B glycosyltransferase에 대한 이해의 정도가 높아졌다. ABO식 혈액형을 결정하는 유전자는 9번 염색체 (9q34)에 위치하며 그 크기가 약 18 ~ 20 kilobase pairs (kbp)이며 7개의 exon으로 이루어진 단좌위 유전자로 밝혀졌다 (Bennett et al 1995, Yamamoto, McNeill, and Hakomori 1995). ABO 유전자에서는 7개의 exon에서 발현되는 염기서열이 조금씩 다른 여러 종류의 대립유전자들이

발견되었고, 이들은 Mendel의 법칙에 따라 유전됨이 밝혀졌다. 이 중 exon 6와 exon 7이 가장 긴 두 개의 exon으로 coding region의 78%를 차지함 (Bennett et al 1995, Yamamoto 1995)에 따라 ABO 혈액형에 대한 대부분의 연구는 exon 6와 exon 7을 대상으로 하고 있다.

A, B 항원의 표현은 ABO 유전좌위에 있는 A, B 대립유전자의 기능에 의해 결정되는데, A, B의 면역학적 우성구조와 H항원과 관련된 O형의 구조가 Yamamoto와 Hakomori (1990)에 의해 밝혀졌는데, 각각의 항원은 A, B, H 각각 GalNAc alpha 1→3 (Fuc alpha 1→2) Gal-, Gal alpha 1→3 (Fuc alpha 1→2) Gal-, Fuc alpha 1→2 Gal-로 표현되는 탄수화물의 구조를 가지고 있다. ABO 유전좌의 유전자와 항원 생합성의 관계에 대한 가설에 따르면 A 유전자는 alpha 1-3 N-acetyl-D-galactosaminyl transferase (A transferase)를 발현하여 N-acetyl-D-galactosamine (GalNAc) residue를 UDP-GalNAc nucleotide-sugar로부터 수용 기질인 H항원으로 옮겨준다. 유사하게 B 유전자는 alpha 1-3 galactosyltransferase (B transferase)를 만들어 galactose residue를 UDP-galactose에서 동일한 H항원으로 옮겨준다. O 유전자는 기능을 하지 않아 H항원이 변형되지 않고 남게된다. 후에 ABO 표현형과 glycosyltransferase의 활성도의 존재여부에 대한 관계는 실험으로 증명되었다 (Watkins, 1980).

혈청에 의한 적혈구의 응집반응과 이에 따른 ABO식 혈액형의 발견은 안전한 수혈의 과학적 기초가 되었다. 여러 종류의 혈액형이 발견되었지만 수혈에서는 ABO식 혈액형이 여전히 가장 중요한 체계가 되었으며 친자확인 검사, 범죄와 연관된 개인식별, 인류유전학 영역에서 유용하게 사용되고 있다. 그러나 혈액형을 분석함에 있어 기존의 혈청학적인 방법에 의한 검사는 비분비형 검체, 혼합검체 그리고 보존상태가 좋지 않은 검체에서는 혈액형 추정의 어려움이 있는 바 PCR에 의한 ABO 유전자형 검사는 전통적인 혈액형 결정방법에서 나타나는 결점을 극복할 수 있는 좋은 방법이 되겠다. 특히 ABO 혈액형

의 결정만으로 관심의 대상이 되고 있는 어떤 개체를 배제할 수 있는 경우에는 시간과 비용이 많이 드는 다른 유전자검사를 시행하지 않아도 되기 때문에 PCR에 의한 ABO 유전자형 검사는 개인식별의 배제검사로의 가치가 매우 크다고 할 수 있겠다.

ABO 유전자형의 결정은 법의학적 목적에 사용될 때 여러 가지 면에서 유용하다. DNA는 매우 열악한 외부 환경에서도 단백질에 비해 매우 안정적이며 PCR은 매우 소량의 시료를 가지고도 수행될 수 있기 때문에 증거 보존력이 높다. 또한 한가지 protocol로서 여러 종류의 시료에 공통적으로 적용할 수 있고, 혈액형이 이형접합체인지 동형접합체인지 여부를 구분할 수 있으며 나아가 세부 유전자형까지 구분할 수 있다. 또한 O형 대립유전자를 직접 검색할 수 있고 조직이나 뼈, 머리카락으로부터 유전자를 증폭할 수 있다.

Yamamoto 등 (1990a, b)이 ABO 유전자의 다형성을 보고한 후, 이를 이용하여 Lee와 Chang (1992)은 간단하게 ABO 유전자형 결정하는 방법을 제시하였다. 이들은 exon 6와 exon 7을 각각 특정 프라이머를 이용하여 PCR 증폭을 시행한 후 제한효소 Kpn I 과 Alu I 를 처리하여 nucleotide 261과 703 부위의 염기차이에 따른 절단단편의 길이 차이를 이용하여 염기를 구분하고 이들의 조합으로 ABO 유전자형을 결정하였다. 그 후 ABO 유전자의 다양한 변종을 구분하기 위하여 여러 형태의 변형된 PCR-RFLP 방법 (O'Keefe, and Dobrovic 1993, Grunnet et al 1994, Olsson, and Chester 1995, Crouse, and Vincsek 1995, Fukumori et al 1995, Stroncsk et al 1995, Villa et al 1996)이 제시되었지만 제한효소의 처리의 번거로움과 ABO 유전자에 나타나는 변이를 모두 검색할 수 없는 한계가 있다.

그 후 allele specific primer를 이용한 PCR 방법 (Ugozzoli, and Wallace 1992, Gassner et al 1996, Procter et al 1997, Pearson, and Hessner 1998)으로도 유전자형을 검색할 수 있으나 복잡하고 조금은 까다로운 실험조건의 확립이 문제되었고, PCD-DGGE (Johnson, and Hopkinson 1992, Yip, Yow, and

Lewis 1996), PCR-SSCP (Ogasawara et al. 1996, Tsai et al. 2000, Yip 2000) 와 같은 방법을 이용하기도 하였으나 어떤 대립유전자와 그 조합에 의하여 나타날 수 있는 전기영동 양상을 미리 준비하여 비교하여야 함으로 어려운 점이 있다 하겠다. 본 연구에서 사용한 PCR-direct sequencing에 의한 ABO 유전자형의 결정은 PCR-RFLP나 ASP-PCR, PCD-DGGE, PCR-SSCP 분석에 비해 고가의 장비를 사용하여야 하고 시간과 비용이 많이 드는 단점이 있으나, 염기의 치환이나 삭제를 직접 확인하는데 적절한 방법이며 다른 기법에서 나타날 수 있는 오류를 막을 수 있다.

본 연구에서는 exon 7의 PCR 증폭은 Ogasawara 등 (1996)이 제시한 프라이머를 그대로 이용하였으나, Lee와 Chang (1992)이 제시한 exon 6의 증폭을 위한 프라이머로는 제대로 PCR을 수행할 수는 없었다. Exon 6의 PCR 증폭을 위한 프라이머는 Primer Express software 1.0을 이용하여 설계하여 사용하였으며, 일반적인 PCR에서 보다 1.5배 높은 농도의 완충용액을 사용하여야 염기서열을 분석할 수 있을 정도의 PCR 증폭산물을 얻을 수 있었다. 고농도의 PCR 완충용액을 사용함으로써 짧은 DNA 단편 (본 연구의 exon 6는 193bp 임)의 PCR시에 denaturation 후 renaturation을 서서히 일어나게 하여 PCR 증폭율을 높일 수 있다 (Sambrook, and Russell 2001). Exon 7의 PCR은 그 증폭산물의 GC의 구성비가 66%에 이르러 일반적인 PCR로는 잘 증폭되지 않아 프라이머와 DNA의 주형의 혼성시에 T_m값을 변화시켜주는 PCR enhancer 중의 하나인 dimethyl sulfoxide를 6% 첨가하여 좋은 PCR 결과를 얻을 수 있었다 (Sambrook, and Russell 2001).

염기서열의 분석은 이형접합성을 분석하는데 유용하다고 알려진 BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit V3.0을 사용하였는데 이형접합성의 구별에는 큰 어려움이 없었다. 종종 모호한 경우가 나타났지만 재 실험으로 큰 어려움 없이 염기서열을 결정할 수 있었다. Exon 6의 염기서열 분석함에 있어 O형 대립유전자가 있을 경우에 nucleotide 261 부위의 guanine의 삭제가 있고

이형접합체인 때는 그 뒷부분에서는 염기서열은 읽을 수 없게 된다. 이러한 문제점을 해결하기 위하여 ABC6-2 프라이머를 이용하면 한번의 염기서열 분석으로 nucleotide 261, 297 부위의 염기를 동시에 결정할 수 있다. Exon 7의 염기서열 분석은 ABC7-1과 ABC7-2를 모두 사용하여 염기서열의 결정이 애매한 부위가 최소화 되도록 하였다.

Kang 등 (1997)이 한국인을 대상으로 하여 ABO 유전자의 exon 6와 exon 7의 nucleotide 261, 467, 526, 646, 703, 796, 803 등 7부위에서의 제한효소에 의한 절단여부로 염기치환을 관찰하여 15종류의 유전자형을 관찰하였으며 5개 대립유전자에 대한 빈도를 보고하였다. 그러나 Kang 등이 사용한 PCR-RFLP으로는 261, 467, 526, 646, 703, 796, 803 부위 외 다른 곳에서 염기치환이 있는 대립유전자는 구분할 수 없다. 예를 들면 본 연구에서 나타난 B101, B102 대립유전자는 nucleotide 903 부위를 제외하고는 다른 부위의 염기서열은 모두 같아 Kang 등의 방법으로는 구분할 수 없다. O01, O04 대립유전자도 nucleotide 579 부위에서만 다르기 때문에 마찬가지로이다. 따라서 본 연구는 같은 한국인을 대상으로 한 연구이지만 2개의 대립유전자와 3개의 유전자형을 더 검색하여 7개의 대립유전자와 이들의 조합으로 이루어진 18개의 유전자형을 ABO 유전자의 염기서열 분석에 의하여 확인할 수 있었다.

특정 집단에서의 ABO 유전자 발현에 대한 여러 연구를 살펴보면, 각각의 연구에서 ABO 유전자형의 결정방법과 대립유전자의 분류가 조금씩 달라 자료를 직접 비교하기는 어렵지만 표 9와 같이 대립유전자를 5 종류로 나누어 분석해 보면 집단간에서 나타나는 특징을 비교해 볼 수 있었다. 중국인과 일본인, 한국인을 대상으로 한 연구에서는 A101 대립유전자가 A101이 아닌 대립유전자에 비해 훨씬 적으나, 독일인, 영국인의 경우에는 그 반대로 나타났다. 5개의 집단에서 B형 대립유전자는 독일인에서 상대적으로 매우 낮은 빈도로 나타났으며, 다음으로 영국인, 중국인, 한국인, 일본인의 순으로 발현 빈도가 높았다. 또한 독일인, 영국인, 중국인, 한국인 집단에서는 O01형이 O01이 아닌

대립유전자에 비해 많이 나타나나 일본인의 경우에는 반대로 나타났으며, 특히 독일인, 영국인, 중국인에서는 O01 대립유전자가 상대적으로 훨씬 많이 발현되었다.

Table 9. Major allele frequencies of ABO gene in 5 population

Allele	German ^a	UK ^b	China ^c	Japan ^d	Korea
A101	0,213	0,138	0,012	0,044	0,060
non-A101	0,077	0,076	0,180	0,240	0,220
B	0,047	0,128	0,168	0,271	0,225
O01	0,426	0,408	0,384	0,191	0,275
non-O01	0,237	0,250	0,256	0,254	0,220

a : Nishimukai et al 1996

b : Yip 2000

c : Yip, Yow, and Lewis 1996

d : Ogasawara et al 1996

ABO 유전자형과 대립유전자의 빈도로부터 산출된 ABO 유전자의 관측이형 접합도는 0.744로 다형성이 높았으며, 개체식별력은 0.924로서 변별력이 좋았고, 평균부권배제력은 0.576으로 나타났다. 이러한 ABO 유전자의 개인식별 정보력은 개인식별과 친자검사에 많이 사용되는 9개의 short tandem repeat (STR) 유전자에 대한 연구 (한길로 등 1999)와 비교해 보면 큰 차이가 없다. 즉, ABO 유전자형은 일반적인 STR과 대등한 정도의 개인식별 정보력을 가지고 있으므로 실제 개인식별 감정이나 친자 확인검사에 이용할 때 일반적인 STR에 준해서 이용할 수 있을 것으로 본다. 그러나, STR에 대한 정보는 생전에 친자확인 검사와 같은 유전자검사를 시행 받지 않는 한 각 개인은 자신의 STR형을 알 수 없지만, ABO 혈액형에 대한 정보는 가족 또는 주변 사람들과

의 일상생활 속에서 보통 알려지며, 학생부, 의무기록, 병적기록과 같은 문서에도 기록되어 있는 경우가 많으므로 개인식별에 있어서 사전자료를 획득할 수 없는 경우에도 혈액형은 유용하게 이용될 수 있다.

최근에 수행되고 있는 친자확인 검사는 STR 유전좌의 다형성을 주로 분석하기 때문에 그 결과는 검사대상자의 STR 유전자형을 나열하여 상관관계를 보여주는 것이 일반적이다. 따라서 유전자검사에 익숙하지 못한 일반인들에게는 그 결과를 해석하는 과정에서 의미가 잘 전달되지 않는 경우도 종종 있는데, 이러한 경우에 본 연구에서의 예 (표 8)와 같이 일반인들이 잘 이해하고 있는 ABO 유전자형을 검사하여 설명한다면 유전자검사에 대한 신뢰도를 증가시킬 수 있겠다.

ABO 유전자형의 결정을 위해 본 연구에서 사용한 PCR-direct sequencing은 유전자에 존재하는 모든 염기치환을 검색할 수 있는 장점은 있지만 비용과 시간이 많이 요구되는 방법이다. 향후 단염기다형성을 직접검사하는 기법을 이용하여 적은 비용으로 짧은 시간에 ABO 유전자형을 결정 할 수 있는 방법을 고안하여야 할 것 같다.

본 연구를 통하여 얻어진 한국인에서의 ABO 유전자형과 그 대립유전자의 빈도 및 이들로부터 산출된 ABO 유전자의 개인식별 정보력은 범죄와 관련된 개인식별, 친자확인 검사, 가족관계의 확인 등 법의학적 개인식별 실무에 적용함에 있어서 기초자료로서 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

V. 결 론

한국인에서 발현되는 ABO 혈액형 유전자의 유전자형과 대립유전자의 빈도를 알아보고, ABO 유전자의 개인식별 정보력을 산출하여 ABO 유전자의 법의학 적 유용성을 평가해 보고자 서로 혈연관계가 없는 한국인 100명을 무작위로 선택하여 유전자를 추출하고, ABO 유전자의 exon 6와 exon 7에 대한 염기서열을 분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 한국인에서 ABO 유전자의 염기다형성은 exon 6의 nucleotide 261, 297 등 2부위와 exon 7의 nucleotide 487, 528, 579, 646, 657, 681, 703, 771, 796, 803, 829, 930 등 12부위에서 나타났다.
2. 한국인 집단에서 18개의 ABO 유전자형과 7개의 대립유전자를 관찰할 수 있었으며, O01형 대립유전자가 가장 높은 빈도 (27.6%)로 나타났으며, 다음으로 A102형 (22.0%)과 B101형 (22.0%), O02 (21.0%)의 순으로 관찰되었다.
3. A형 대립유전자는 A101형이 21.4%, A102형이 78.6%로 나타났으며, B형 대립유전자는 B101형이 97.7%으로 대부분을 차지하였고, O형 대립유전자는 O01형과 O02형, O04형이 각각 56.0%와 42.0%, 2.0%로 나타났다.
4. ABO 유전자형과 대립유전자의 빈도로부터 산출된 관측이형접합도, 기대이형접합도, 다형정보력은 각각 0.670, 0.784, 0.744였으며, 개체식별력은 0.924, 평균부권배재력은 0.576이었다.

이상의 결과에 나타난 ABO 유전자의 유전적 다형성을 종합해 볼 때, 엄기서열 분석에 의한 ABO 유전자형의 결정은 범죄와 관련된 개인식별, 친자확인 검사, 가족관계의 확인 등 법의학적 개인식별에 유용하게 적용될 수 있을 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- 김영구, 신금백, 고명연, 고기석, 한경수, 최재갑. 1998. **법치의학**. 서울: (주)신흥인터내셔널.
- 대한적십자사 혈액수혈연구원. 2000. "적혈구 항원". <<http://www.blood.re.kr/hematology/components/RBCAg.htm>>.
- 문국진. 1998. **최신법의학**. 서울: 일조각.
- 한길로, 이용욱, 이혜린, 김성민, 구태완, 강일호, 이혜승, 황적준. 1999. "한국인에서 9개 STR (FGA, vWA, D3S1358, D18S51, D21S11, D8S1179, D7S820, D13S317, D5S818) 유전좌의 대립유전자빈도 및 유전적 특성에 관한 연구". **대한법의학회지**, 23: 51-61.
- 山本勝一. 1995. **법의치과학**. 김종열, 윤창록 역. 서울: 이우문화사.
- Bennett, E.P., Steffensen, R., Clausen, H., Weghuis, D.O., and van Kessel, A.G. 1995. "Genomic cloning of the human histo-blood group ABO locus". *Biochem Biophys Res Commun*, 206: 318-325.
- Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M., and Davis, R. W. 1980. "Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms". *Am J Hum Genet*, 32: 314-331.

- Crouse, C., and Vincek, V. 1995. "Identification of ABO alleles on forensic-type specimens using rapid-ABO genotyping". *BioTechniques*, 18: 478-483.
- Fukumori, Y., Ohnoki, S., Shibata, H., and Nishimukai, H. 1996. "Suballeles of the ABO blood group system in a Japanese population". *Hum Hered*, 46: 85-91.
- Fukumori, Y., Ohnoki, S., Shibata, H., Yamaguchi, H., and Nishimukai, H. 1995. "Genotyping of ABO blood groups by PCR and RFLP analysis of 5 nucleotide positions". *Int J Legal Med*, 107: 179-182.
- Gaensslen, R. E. 1983. *Sourcebook in forensic serology: immunology and biochemistry*. Washington DC: U.S. Government Printing Office.
- Gaensslen, R. E., and Lee, H. C. 1990. "Genetic markers in human bone tissue". *Forensic Science Review*, 2: 125-145.
- Gassner, C., Schmarda, A., Nussbaumer, W., and Schonitzer, D. 1996. "ABO glycosyltransferase genotyping by polymerase chain reaction using sequence-specific primers". *Blood*, 88: 1852-1856.
- Grunnet, N., Steffensen, R., Bennett, E.P., and Clausen, H. 1994. "Evaluation of histo-blood group ABO genotyping in a Danish population: frequency of a novel O allele defined as O₂". *Vox Sanguinis*, 67: 210-215.

- Issitt, P. D. 1989. *Applied blood group serology*. 3rd ed. Florida: Montgomery scientific publications.
- Johnson, P. H., and Hopkinson, D. A. 1992. "Detection of ABO blood group polymorphism by denaturing gradient gel electrophoresis". *Hum Mol Genet* 1: 341-344.
- Jones, D. A. 1972. "Blood Samples: Probability of Discrimination". *J Forens Sci Soc* 12: 355-359.
- Kang, S. H., Fukumori, Y., Ohnoki, S., Shibata, H., Han, K. S., Nishimukai, H., and Okubo, Y. 1997. "Distribution of ABO genotypes and allele frequencies in Korean population". *Jpn J Hum Genet*, 42: 331-335.
- Kruger, J., Fuhrman, W., Lichte K. H., and Steffens, C. 1968. "Zur verwendung des polymorphismus der sauren erythrocytenphosphatase bei der vaterschaftsbegutachtung". *Dtsch Z Gerichtl Med*, 64: 127-146.
- Landsteiner, K. 1901. "Ueber agglutinationserscheinungen normalen menschlichen blutes". *Wien Klin Wschr*, 14: 1132-1134.
- Lee, H. C. 1988. "Identification and grouping of bloodstains". In *Forensic science handbook*, Vol 2, edited by R. Saferstain, New Jersey: Prentice-Hall.

- Lee, J. C., and Chang, J. G., 1992, "ABO genotyping by polymerase chain reaction", *J Forensic Sci* 37: 1269-1275.
- Melvin, J. R., Katsley, J. R., Oaks, M. K., Simon, L. R., and Maldonado, W. E., 1988, "Paternity testing". In *Forensic science handbook*, Vol. 2, edited by R. Saferstain, New Jersey: Prentice-Hall.
- Nata, M., Kanetake, J., Adachi, N., Hashiyada, M., Aoki, Y., and Sagisaka, K., 1997, "ABO genotyping by PCR-direct sequencing". *Jpn J Leg Med* 51: 1-5.
- Nei, M., and Roychoudhury, A. K., 1974, "Sampling variance of heterozygosity and genetic distance". *Genetics*, 76: 379-390.
- Nishimukai, H., Fukumuri, Y., Okiura, T., Yuasa, I., Shinomiya, T., Ohnoki, S., Shibata, H., and Vogt, U., 1996, "Genotyping of the blood group system: analysis of nucleotide position 802 by PCR-RFLP and the ditribution of ABO genotypes in a German poppulation". *Int J Legal Med* 109: 90-93.
- O'Keefe, D.S. and Dobrovic, A., 1993, "A rapid and reliable PCR method for genotyping the ABO blood group". *Human Mutation*, 2: 67-70.

- Ogasawara, K., Bannai, M., Saitou, N., Yabe, R., Nakata, K., Takenaka, M., Fujisawa, K., Uchikawa, M., Ishikawa, Y., Juji, T., and Tokunaga, K. 1996, "Extensive polymorphism of ABO blood group gene: three major lineages of the alleles for the common ABO phenotypes", *Hum Genet*, 97: 777-783.
- Olsson, M.L. and Chester, M.A. 1995, "A rapid and simple ABO genotype screening method using a novel B/O₂ versus A/O₁ discriminating nucleotide substitution at the ABO locus", *Vox Sanguinis*, 69: 242-247.
- Pearson, S.L. and Hessner, M.J. 1998, "A(1,2) BO(1, 2) genotyping by multiplexed allele-specific PCR", *Brit J Haematol*, 100: 229-234.
- Procter, J., Crawford, J., Bunce, M., and Welsh, K.I. 1997, "A rapid molecular method (polymerase chain reaction with sequence-specific primers) to genotype for ABO blood group and secretor status and its potential for organ transplants", *Tissue Antigens*, 50: 475-483.
- Sambrook, J., and Russell, D. W. 2001, *Molecular cloning*, Vol. 2, 3rd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Stroncek, D.F., Konz, R., Clay, M.E., Houchins, J.P., and McCullough, J. 1995, "Determination of ABO glycosyltransferase genotypes by use of polymerase chain reaction and restriction enzymes", *Transfusion*, 35: 231-240.

- Tsai, L. C., Kao, L. G., Chang, J. G., Lee, H. H., Linacre, A., and Lee, J. C. 2000. "Rapid identification of the ABO genotypes by their single-stand conformation polymorphism", *Electrophoresis* 21: 537-540.
- Ugozzoli, L., and Wallace, R. B. 1992. "Application of an allele-specific polymerase chain reaction to the direct determination of ABO blood group genotypes", *Genomics* 12: 670-674.
- Villa, A., Drago, F., Misto, R., Morelati, F., Poli, F., and Sirchia, G. 1996. "ABO genotyping in Italian blood donors", *Haematologica* 81:492-496.
- Watanabe, G., Umetsu, K., Yuasa, I., and Suzuki, T. 1997. "Amplified product length polymorphism (APLP): a novel strategy for genotyping the ABO blood group", *Hum Genet* 99: 34-37.
- Watkins, W.M. 1980. "Biochemistry and genetics of the ABO, Lewis and P blood group systems". In *Advances in Human Genetics* edited by Harris, H. and Hirschhorn, K. New York: Plenum Press.
- Yamamoto, F. 1935. "Molecular Genetics of the ABO histo-blood group systems", *Vox Sang*, 69: 1-7.
- Yamamoto, F. 2000. "Molecular Genetics of ABO", *Vox Sang*, 78: 091-103.

- Yamamoto, F., Clausen, H., White, T., Marken, J., and Hakomori, S. 1990a. "Molecular genetic basis of the histo-blood group ABO system". *Nature* 345: 229-233.
- Yamamoto, F., Marken, J., Tsuji, T., White, T., Clausen, H., and Hakomori, S. 1990b. "Cloning and characterization of DNA complementary to human UDP-GalNAc: Fuc α 1 \rightarrow 2Gal α 1 \rightarrow 3GalNAc transferase (histo-blood group A transferase) mRNA". *J Biol Chem*, 265: 1146-1151.
- Yamamoto, F., McNeill, P.D., and Hakomori, S. 1995. "Genomic organization of human histo-blood group ABO genes". *Glycobiology*, 5: 51-58.
- Yamamoto, F., and Hakomori, S. 1990. "Sugar-nucleotide donor specificity of histo-blood group A and B transferase is based on amino acid substitution". *J Bio Chem*, 265: 257-262.
- Yip, S. P., 2000. "Single-tube multiplex PCR-SSCP analysis distinguishes 7 common ABO alleles and readily identifies new alleles". *Blood* 95: 1487-1492
- Yip, S. P., Yow, C. M., and Lewis, W. H. 1996. "DNA polymorphism at the ABO locus in the Chinese population of Hong Kong". *Hum Hered* 45: 266-271.

- ABSTRACT -

**Sequence Analysis of ABO Gene in Korean
for Individual Identification**

Kyoung-Jin Shin, D.D.S., M.S.D.

Brain Korea 21, Project for Medical Sciences

Department of Dentistry

The Graduate School, Yonsei University

(Directed by **Professor Chong-Youl Kim, D.D.S., M.S.D., Ph.D.**)

This study intends to evaluate usefulness of ABO gene in forensic identification. The genotype and allele frequency of ABO gene was investigated and the power of identification information of ABO gene was calculated. 100 unrelated Korean individuals were selected. DNA was extracted from sample and PCR and sequencing were performed to analyze sequence of exon 6 and exon 7 in ABO gene, the following results were obtained:

1. The polymorphic nucleotide positions of ABO gene are 216, 297 in exon 6 (2 positions) and 467, 526, 579, 646, 657, 681, 703, 771, 796, 803, 829, 930 in exon 7 (12 positions) in Korean.

2. Among Korean population, 18 ABO genotypes and 7 alleles were observed. O01 is most frequent (27.6%) and then A102 (22.0%), B101 (22.0%), O02 (21.0%).
3. In A type allele, the frequencies of A101 and A102 are 21.4%, 78.6% respectively. And in B type, B101 is 97.7%, the most part of them. In O type, O01 is 56.0%, O02 is 42.0% and O04 is 2.0%.
4. The observed heterozygosity and the expected heterozygosity is 0.670, 0.784 each. The polymorphism information content (PIC) is 0.744. The power of discrimination (PD) and the mean exclusion chance (MEC) are calculated to be 0.924 and 0.576.

Based on the results of this study, the determination of ABO genotype by sequencing may be useful in forensic identification including finding an individual in relation to criminal case, paternity test, and confirming possible relationships between family members.

Key Words : ABO, genotype, allele, individual identification, sequencing