

예열지문 : PCR

[14~17] 다음 글을 읽고 물음에 답하시오.

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 주형①DNA, 프라이머②, DNA 중합 효소③, 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 PCR**라는 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 표지 탐침'이 이에 이용된다./① **이중 가닥 DNA 특이 염료**는 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.

/② **형광 표지 탐침**은 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 표지 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 표지 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, **[A] 표적 DNA를 검출했다고 판단하는 발색도에 도달하는 데 소요된 사이클을 Ct값이라 한다.** /표적 DNA의 농도를 알지 못하는 미지 시료의 Ct값과 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.

1문단 PCR

- 목적: 염기서열을 아는 DNA가 한분자라도 있으면 다량으로 증폭가능
- 수단

- ① 주형 DNA : 증폭의 바탕이 되는 DNA
**표적 DNA : 증폭하려는 주형 DNA 부위
- ② 프라이머 : 표적 DNA일부분과 동일함, 표적 DNA 양끝에 붙음 (아마도 두 종류)
- ③ DNA 중합 효소 : (표적?) DNA를 복제함
- ④ 4종의 뉴클레오타이드 :
단일가닥 DNA를 순서대로 결합시켜서 이중가닥으로

2문단 (전통적인) PCR과정

- ① 열을 가해서 DNA이중가닥을 단일가닥으로 -> 단일가닥에 프라이머 붙고 -> 중합효소로 복제 -> 이중가닥 DNA 두 개 됨 [(복제)한 사이클]
- ② **표적 DNA가 두 배씩 증가하다가 어느순간에는 DNA양이 늘어나지 않음
- ③ 마지막에 형광물질로 표적 DNA가 제대로 증폭되어 있는지 확인함

3문단 실시간 PCR: 싸이클마다 발색반응이 일어남(발색을 누적시킴)

**두 종류의 발색 물질: 이중가닥 DNA 특이염료, 형광표시탐침
- 이중가닥 DNA 특이염료를 설명하고 있다.
**이합체 = 프라이머+프라이머

4문단 형광표시탐침을 설명하고 있다.

- ① (프라이머가 복제니까) 프라이머와 결합하지 않는 부분에 결합되도록 설계
- ② DNA가 단일 가닥일때 표적DNA에 결합
- ③ 중합효소에 의해 이중가닥DNA가 생성되는 동안 표적DNA와 결합이 끊어짐
- ④ **이후 분해되면서 형광물질과 소광물질의 분리가 일어나고 발색 발생함

구분기준 \ 형광물질 종류	이중가닥 DNA 특이염료	형광 표지 탐침
발색원리	이중가닥 DNA와 '결합'하여 발색함	형광물질과 소광물질이 '분리'되면서 발색함
장점	(상대적으로 싸다)	특이적으로 (원하는 표적 DNA에?) 결합함
단점	이합체와의 결합으로 의도치 않은 발색이 일어남	상대적으로 비싸다

5문단 실시간 PCR 발색도 : 증폭된 이중가닥 표적 DNA의 양에 비례함

- '일정 수준의' 발색도에 '도달하는 데 걸리는 사이클'(시간!)
: 표적 DNA의 양에 따라 달라짐
- '표적DNA를 검출했다고' 판단되는 발색도에 도달하는 데 걸리는 싸이클
: 표준시료의 싸이클과 미지시료의 싸이클 비교를 통해 표적DNA농도계산 가능
예측하고 이해하면 좋을 것 같아요. 이게 글을 읽으면서 전통적인 PCR과 실시간 PCR의 차이점을 생각하게 되요. 그리고 실시간 PCR에는 더이상 복제되지 않는 시간까지 기다리는 과정이 없습니다. 물론 전통적인 경우 충분히 복제 되었겠지만, 실시간 PCR에서는 얼마나 복제되었는지 확인할 방법이 없죠, 그래서 발색되는 정도를 고려할 수밖에 없고요. 그리고 충분히 발색되었다는 기준이라는 것도 필요하겠죠. 복제에 대한 기준이 없으면 실험을 할 수 없으니깐요.

6문단

- PCR의 일반적인 용도 (장범)
- 실시간 PCR의 장점

예열지문 : PCR

14. 윗글에서 알 수 있는 내용으로 적절하지 않은 것은?

- ① 2종의 프라이머 각각의 염기 서열과 정확히 일치하는 염기 서열을 주형 DNA에서 찾을 수 없다.
- ② PCR에서 표적 DNA 양이 초기 양을 기준으로 처음의 2배가 되는 시간과 4배에서 8배가 되는 시간은 같다.
- ③ 전통적인 PCR는 표적 DNA 농도를 아는 표준 시료가 있어도 미지 시료의 표적 DNA 농도를 PCR 과정 중에 알 수 없다.
- ④ 실시간 PCR는 가열 과정을 거쳐야 시료에 포함된 표적 DNA의 양을 증폭할 수 있다.
- ⑤ 실시간 PCR를 실시할 때에 표적 DNA의 증폭이 일어나려면 DNA 중합 효소와 프라이머가 필요하다.

15. ㉠과 ㉡에 대한 설명으로 가장 적절한 것은?

- ① ㉠은 ㉡과 달리 프라이머와 결합하여 이합체를 이룬다.
- ② ㉠은 ㉡과 달리 표적 DNA에 붙은 채 발색 반응이 일어난다.
- ③ ㉡은 ㉠과 달리 형광 물질과 결합하여 이합체를 이룬다.
- ④ ㉡은 ㉠과 달리 한 사이클의 시작 시점에 발색 반응이 일어난다.
- ⑤ ㉠과 ㉡은 모두 이중 가닥 표적 DNA에 결합하는 물질이다.

16. 어느 바이러스 감염증의 진단 검사에 PCR를 이용하려고 한다. 윗글을 읽고 이해한 반응으로 가장 적절한 것은?

- ① 전통적인 PCR로 진단 검사를 할 때, 시료에 바이러스의 양이 적은 감염 초기에는 감염 여부를 진단할 수 없겠군.
- ② 전통적인 PCR로 진단 검사를 할 때, DNA 증폭 여부 확인에 발색 물질이 필요 없으니 비용이 상대적으로 싸겠군.
- ③ 전통적인 PCR로 진단 검사를 할 때, 실시간 증폭 여부를 확인할 필요가 없어 진단에 걸리는 시간을 줄일 수 있겠군.
- ④ 실시간 PCR로 진단 검사를 할 때, 표적 DNA의 염기 서열이 알려져 있어야 감염 여부를 분석할 수 있겠군.
- ⑤ 실시간 PCR로 진단 검사를 할 때, 감염 여부는 PCR가 끝난 후에야 알 수 있지만 실시간 증폭은 확인할 수 있겠군.

- ① - 1문단 끝에서 두 번째 문장(수식어에서 문제 출제)
- ② - 2문단 마지막에서 세 번째 문장
- ③ - 실시간 PCR이 아니기 때문에 맞는 말이죠.
- ④ - 2문단 첫 번째 문장
- ⑤ - 실시간PCR은 PCR에 포함됩니다.

구분기준 \ 형광물질 종류	이중가닥 DNA 특이염료	형광 표시 탐침
발색원리	이중가닥 DNA와 '결합'하여 발색함	형광물질과 소광물질이 '분리'되면서 발색함
장점	(상대적으로 싸다)	특이적으로 (원하는 표적 DNA에?) 결합함
단점	이합체와의 결합으로 의도치 않은 발색이 일어남	상대적으로 비싸다

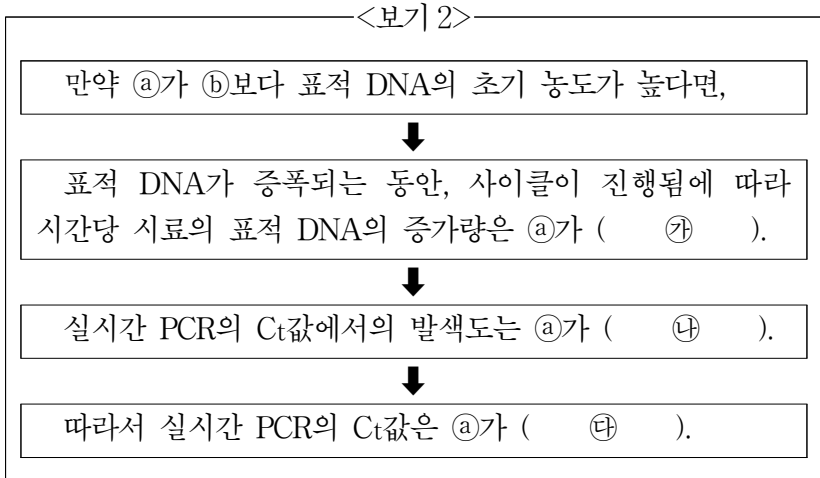
- ① - 이합체 = 프라이머 + 프라이머
- ② - 발색원리의 과정을 확인하면 됨
- ③ - ㉡과 ㉠의 위치가 바뀌어야겠죠.
- ④ - ㉠, ㉡ 모두 실시간 발색이며, 계속 발색이 일어납니다.
- ⑤ - ㉡은 단일가닥 DNA가 되었을 때 결합합니다.

- ① - 전통적인 아니죠. 실시간 PCR입니다.
- ② - 전통 PCR도 발색을 합니다. (아마도 발색 물질이 상대적으로 싼 게 아닐까요?)
- ③ - 전통적인 아니죠. 실시간 PCR입니다.
- ④ - 1문단 두 번째 문장 (수식어에서 문제를 출제함)
- ⑤ - PCR과정은 더 이상 복제되지 않은 시간까지 기다립니다. 실시간 PCR은 특정 발색도를 만족하는 것만 확인하면 (Ct) 되기 때문에, 굳이 PCR전체과정에 걸리는 시간이 필요하지 않습니다.

예열지문 : PCR

17. [A]를 바탕으로 <보기 1>의 실험 상황을 가정하고 <보기 2>와 같이 예상 결과를 추론하였다. ㉠~㉣에 들어갈 말로 적절한 것은? [3점]

<보기 1>
표적 DNA의 농도를 알지 못하는 ㉠ 미지 시료와, 이와 동일한 표적 DNA를 포함하지만 그 농도를 알고 있는 ㉡ 표준 시료가 있다. 각 시료의 DNA를 주형 DNA로 하여 같은 양의 시료로 동일한 조건에서 실시간 PCR를 실시한다.



- | | ㉠ | ㉡ | ㉢ |
|---|---------|---------|---------|
| ① | ㉡보다 많겠군 | ㉡보다 높겠군 | ㉡보다 크겠군 |
| ② | ㉡보다 많겠군 | ㉡와 같겠군 | ㉡보다 작겠군 |
| ③ | ㉡와 같겠군 | ㉡보다 높겠군 | ㉡보다 작겠군 |
| ④ | ㉡와 같겠군 | ㉡와 같겠군 | ㉡보다 작겠군 |
| ⑤ | ㉡와 같겠군 | ㉡보다 높겠군 | ㉡보다 크겠군 |

㉠

한 사이클이 표적 DNA의 양은 2배 증가하기 때문에 같은 양의 초기농도가 높은 시료의 증가량이 더 많습니다. 예를 들면,
양이 10mL인 두 시료에서
㉠시료의 표적 DNA 농도가 2g/ml
㉡시료의 농도가 1g/ml이면

- ㉠시료의 표적 DNA 양은 2g
㉡시료의 표적 DNA 양은 1g이 되며

첫 사이클이 지날 때에

- ㉠시료의 표적 DNA 증가량은 2g
㉡시료의 표적 DNA 증가량은 1g 입니다.

이 후

- ㉠시료의 표적 DNA 증가량은 4g, 8g, 16g, ...
㉡시료의 표적 DNA 증가량은 2g, 4g, 8g, ...

㉡

Ct에서의 발색도는 최종적으로 목표로 하는 발색도이기 때문에 결국 ㉠시료나 ㉡시료나 동일하게 설정됩니다.

㉢

그리고 목표로 하는 발색도는 정해져 있으며 발색도는 시료의 표적 DNA량에 따라 달라집니다. 초기 DNA의 양도 더 많고 증가하는 DNA의 양도 더 많은 ㉠시료가 ㉡시료보다 더 짧은 시간으로 목표 DNA량에 도달하겠습니다.

한가지 재미 있는 것은 가, 나, 다의 문제 풀이 상황에 어떤 이야기가 존재한다는 점이다.
(엄밀하게는 이야기보다는 논증이 더 맞는 말이지만)
'가'를 통해 증가량과 초기 DNA의 차이를 확인하고
'나'를 통해 목표 발색도에 대한 개념을 정리하고
'가'와 '나'의 전제를 통해 최종 결론에 이르게 한다는 점이다.