

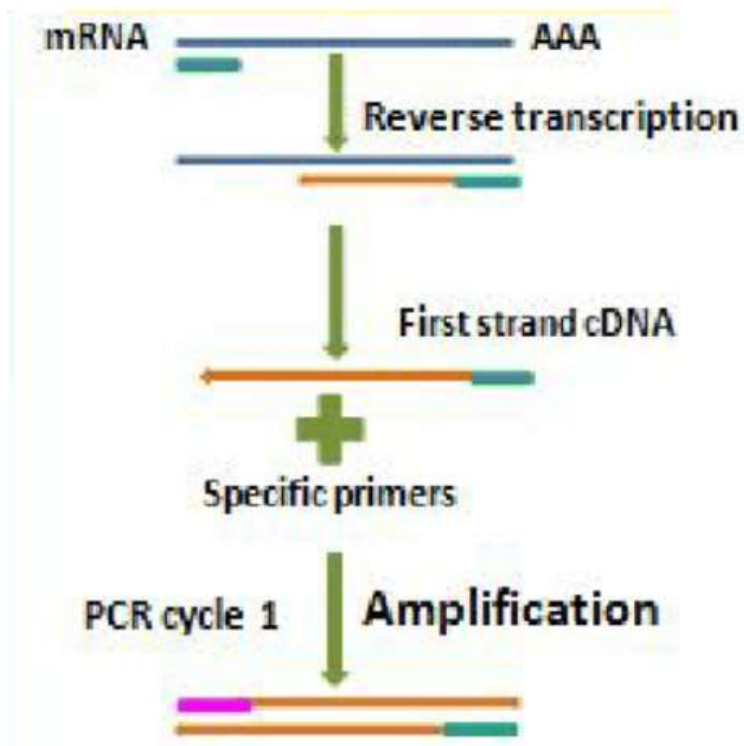
코로나19 감염여부 진단방법 - Real-time Reverse Transcription PCR, rRT-PCR, RT-qPCR,

qRT-PCR 기술내용 개요



코로나 바이러스는 RNA 바이러스이고, PCR은 DNA 증폭기술이기 때문에, RNA로부터 DNA를 만드는 역전사(reverse transcription) 단계를 추가한 reverse transcription PCR (RT-PCR)이 사용됩니다.

RT-PCR (reverse transcription-polymerase chain reaction)

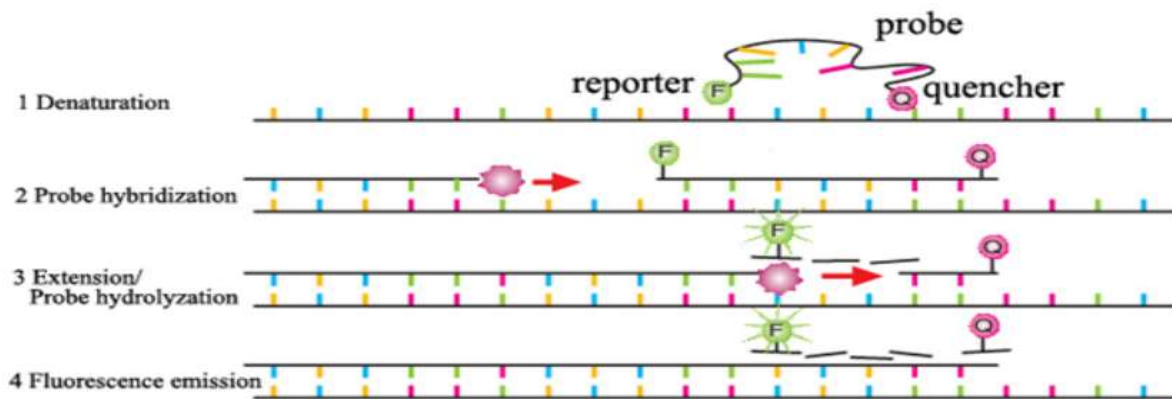


<그림 4 RT-PCR 의 단계>

Real-time PCR, Quantitative PCR (qPCR)

진단에 사용되는 qPCR(quantitative PCR 또는 real time PCR)은 실시간으로 DNA 가 증폭하는 양을 확인할 수 있는 기술입니다. Real-time PCR 은 PCR 반응을 위한 thermal cycle 과 반응물의 detection 을 위한 Fluorometer 를 결합한 기술이라고 할 수 있는데, SNP typing, 유전자 조작 식품의 검사, 바이러스나 병원균의 검출, 도입 유전자의 copy 수 해석 등 다양한 용도에 적용됩니다.

Real-time PCR 은 형광물질로 표지한 PCR 산물의 증폭량을 실시간으로 신속하게 확인하면서 해석하는 방법으로 전기영동에 의한 PCR 산물의 확인이 필요없이 핵산의 초기량을 정확하게 정량 해낼 수 있는 방법입니다.



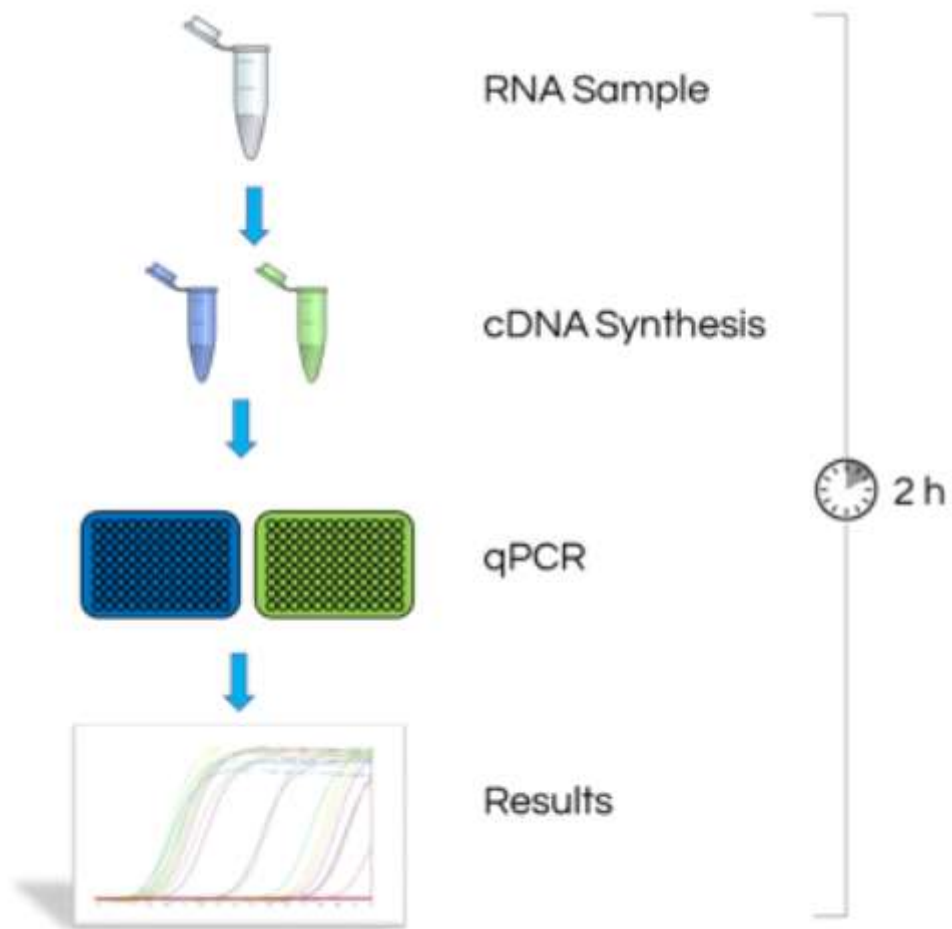
그림에서 보듯, 프라이머에 추가하여 다른 염기 서열인 '프로브'를 붙이는데, 프로브는 염기 서열에 추가로 형광물질 '리포터'와 형광을 흡수하는 '퀀처'가 있습니다. 프로브가 붙었다가 PCR이 진행되면서 DNA 염기를 하나씩 붙이는 DNA Taq Polymerase에 의해 프로브가 분해되면 리포터와 퀀처가 떨어지고, 그 때부터 형광 물질이 빛을 냅니다. 형광 빛의 세기를 측정하여 복제량을 실시간으로 측정하는 방법이 양적(quantitative) PCR, 실시간(real-time) PCR입니다.

Real-time PCR 법에서는 전체 반응을 추적하기 위해 형광표지물질을 사용하며 이러한 형광물질은 증폭의 매 주기마다 산물이 축적됨에 따라 비례하게 된다. 증폭의 초기에는 형광의 증가가 감지되지 않으나 일정 cycle 이 지나면서 축적된 형광량이 기기에 감지되고, 감지되는 시점의 cycle 수를 감지 시작 주기(threshold cycle) 라고 합니다.

주형(template) 초기량의 log 값과 threshold cycle 사이에는 직선적으로 비례하는 관계를 가지기 때문에 초기량을 알고 있는 핵산을 이용하여 초기량의 log 값과 그에 해당하는 threshold cycle 을 이용하여 표준 검량 곡선을 얻을 수 있고, 이 표준 검량곡선을 이용하면 미지 시료에 대한 초기량을 정확하게 계산해낼 수 있습니다.

코로나19 바이러스 검출방법

코로나19 바이러스의 검사는 우선 의심환자에게서 Target 검체를 채취한 뒤 신종 코로나 바이러스에 특이적으로 디자인된 Antisense Primer를 사용하여 RT-PCR의 증폭여부로 환자의 감염 여부를 구분합니다.



사용하는 Antisense Primer는 RdRp(RNA-dependant RNA polymerase) Enzyme 부분과 E gene (Envelop 단백질 유전자) 부분입니다.

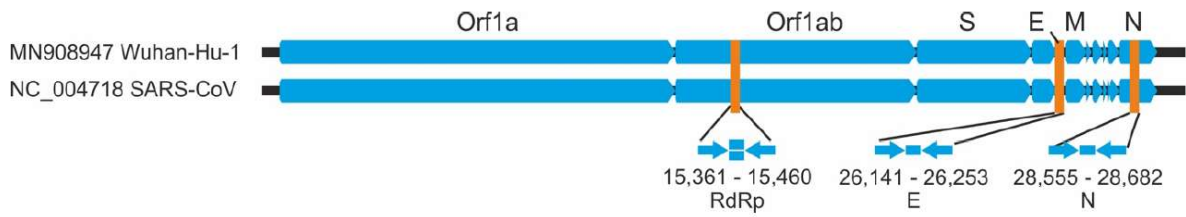


Figure 1 relative positions of amplicon targets on SARS-CoV ad Wuhan-CoV genome. N: nucleocapsid; ORF: open reading frame; RdRp: RNA-dependent RNA polymerase. Numbers below amplicon are genome positions according to SARS-CoV, NC_004718.

약사변호사, 면허대여, 2중개설, 민형사소송, 행정소송, 전략적총괄대응, 실무경력

T. 02-591-0657 E. kkh@kasanlaw.com H. www.kasanlaw.com