

Soo Kyung Choi, Young Mi Kim, Ju Tae Seo¹, So Yeon Park¹, Jin Woo Kim, You Sik Lee¹, In Gul Moon², Hyun Mee Ryu³, Inn Soo Kang³

김학순, Irina V. Klimanskaya, Roger A. Pedersen

We report 3 individuals with 46,XX sex reversed male. They had normal external genitalia and azoospermia. We studied them under clinical, cytogenetic and molecular aspects to find out the origin of sex reversal. Patients had markedly elevated level of serum FSH, elevated LH and decreased or normal range of serum testosterone. The volume of testes were small (3-8ml). Testicle biopsy revealed Leydig cell hyperplasia in two patients. We obtained the result of normal 46,XX with cytogenetic analysis and XY dual FISH which could rule out the presence of Y chromosome mosaicism. By using PCR, we amplified centromere, heterochromatin and the SRY, ZFY and DYS14 loci region on the short arm of the Y chromosome. We were unable to find the centromere and heterochromatin region sequences. SRY gene was detected in all the three patients. ZFY and DYS14, which are adjacent to SRY, amplification patterns were different in these patients: One had three amplified loci (SRY+ ZFY+ DYS14+), another had two loci (SRY+ ZFY+ DYS14-) and the third had SRY locus only (SRY+ ZFY-DYS14-). We suggest that the testis development was due to translocated SRY gene. We have found that each patient's translocation elements had different breakpoints at downstream of the SRY gene region.

세포외기질(extracellular matrix) 수용체로서의 integrin receptor 군은 세포의 유착(cell adhesion)과 이주(migration)를 증대하며, 복잡한 세포의 환경으로부터 기계적이고 정보가 될만한 신호들을 변환하여 형태발생과 유전자발현에 매우 중요한 역할을 한다. $\beta 1$ -integrin 유전자의 제2 exon부위가 neomycin 유전자로 표적 돌연변이된 이형접합성(heterozygous) 생쥐간의 교배로 나온 배자의 약 25%가 착상 초기단계에서 실패하는데 이는 동형접합성의(homozygous) $\beta 1$ -null 돌연변이 배자로 추정되며, 이 $\beta 1$ -null 배자의 특성을 연구하고자 착상전 유전진단을 하고자 하였다.

첫째, 6~10-세포기 배자의 할구를 각각 분리하여 single cell multiplex PCR로 각 allele의 돌연변이 유무를 검색하니 wild 및 mutant allele의 amplification efficiency(AE)는 각각 0.90/0.92, contamination probability(CP)는 0.04, 시료의 성공적인 transfer rate(TR)는 0.96이었다. 둘째, 8-세포기 배자에서 한 개의 할구만 미세조작술로 생검하여 동일한 single cell PCR을 하고, 나머지 7-세포 배자는 trophoblast outgrowth가 될 때까지 5-8일간 체외배양을하고 성장양상을 관찰한 다음에 세포들을 끊어서 시료로 삼아 다른 시찰체로 multicell PCR을 하여 서로 비교하였다. wild 및 mutant allele의 AE는 각각 0.81/0.83, CP는 0.11, TR은 0.97이었다. 셋째, 8-세포기 배자에서 두 개의 할구를 생검하여 single cell PCR을 하고 나머지 6-세포 배자는 배양후 multicell PCR을 하여 비교하니 AE는 각각 0.86/0.94, CP는 0.05, TR은 0.97이었다.

이상의 결과에서 한 개의 할구를 검사하여 $\beta 1$ -null 배자만을 선택할 때 selection error(SE)는 16%/26%(첫째/둘째 실험결과를 기준으로 계산한 것임)였으며 wild 와 heterozygous 배자만을 선택할 때 SE는 단지 2%/4%가 된다. 만약 2개의 할구를 생검하여 중복검사를 한다면 SE는 각각 2%/6%와 0.1%/0.6%가 될 것이다. 이상의 연구는 돌연변이 배자의 우/열성 allele에 관계없이 single cell PCR기법을 이용한 착상전 유전진단의 신뢰도에 관한 모델이 될 수 있을 것으로 생각된다.

- 24 -

Preimplantation Genetic Diagnosis of $\beta 1$ -integrin Gene-targeted Mutation in Mouse Embryos

충북의대 산부인과, University of California, San Francisco