

P-4 생쥐 기관형성시기에 DNA 회복효소인 N-Methylpurine-DNA Glycosylase(MPG) 유전자 발현

김남근, 정형민, 손태종, 이숙환, 차광열¹

포천중문 의과대학교, 차병원 여성의학연구소 유전학연구실¹

서 론

DNA 회복효소중 하나인 N-methylpurine-DNA glycosylase (MPG)는 주로 7-methylguanine과 3-methyladenine을 DNA로부터 제거하는 역할을 한다 (Mitra and Kaina, 1993). 많은 종류의 DNA 회복효소들이 생물계에서 체계적으로 작동하여 손상된 DNA들을 원래상태로 회복시키는 일들을 하고 있다. MPG에 의한 퓨린 (purine)기의 제거후 restriction endonuclease, DNA polymerase와 ligase에 의한 DNA 복구가 뒤따른다. 그러나, 만일 DNA 손상후 이러한 일련의 과정이 방해받으면 DNA 돌연변이, 염색체이상 등의 유전적인 이상을 초래하게 될 것이다. 그러므로, 배 발생과정 (embryogenesis)중 기관형성기 (organogenesis)의 유전자 발현이 어떻게 이루어 지는가를 밝히는 것은 중요한 문제이다. 이 시기의 부적절한 유전자 발현은 완벽한 개체형성에 치명적인 것으로 생각된다. MPG는 계속적인 세포내외의 여러 유해환경에 대응하여 세포주기 및 성장의 어느 시기 혹은 어느 장기를 막론하고 즉각적으로 damaged DNA를 제거하고 원래상태로 복구시켜야만 한다. 또한, 기관형성기 (organogenesis)의 역할은 매우 중요하여 abnormal한 repair는 abnormal한 기관형성으로 이어져 선천성 기형이나 선천성 질환을 유발할 수 있다 (Washington et al., 1989). 그러나, 이 유전자에 대한 배 발생과정 (embryogenesis)에서의 유전자 발현에 대한 연구는 아직 보고된 바 없다 (Roy et al., 1997).

재료 및 방법

Balb/c 생쥐를 교배하여 vaginal plug가 관찰된 날을 임신 1일로 계산하여 fetus를 준비하였다. 각 조직에서 RNA를 분리한 후 이를 이용하여 RT-PCR 방법으로 그 발현도를 측정하였다. 사용된 MPG primer의 염기서열은 다음과 같다. Sense: 5'-CAGAGCAGCAGCAGACCCC-3', antisense: 5'-CCTTGAGGGAACGGCCGACAGTGC-3'. 대조군 (internal control)로는 α -globin 유전자를 사용하였다.

결과 및 논의

착상후 생쥐의 기관형성기 동안의 MPG 유전자의 발현변화를 whole body (fetus), 뇌 (brain), 간

(liver)조직 그리고, 모체의 태반을 대상으로 조사하였다. Whole body (fetus)의 경우 수정후 8일부터 10일, 15일까지 지속적으로 증가하였으며, 18일째에는 약간 감소하였으나 비교적 높게 유지되는 것이 관찰되었다. 간 조직에서는 15일에서의 발현이 18일에서 보다 높게 발현되었으며, 간 조직에서 역시 15일에서의 발현이 18일보다 약간 더 높게 나타났다.

이러한 결과는 whole body (fetus)에서의 발현 양상과도 일치한다. 또한, newborn mice에서도 MPG의 유전자 발현이 출생이후 지속적으로 감소하는 현상이 관찰된바 있는데 본 연구결과에 따르면, 이러한 현상은 수정후 15일째부터 성체시기까지 계속되는 것을 알 수 있다 (Kim et al., 1997, 1998).

그러나, 모체의 태반에서의 발현을 보면 착상 초기인 수정후 8일에 가장 높게 발현되었으며, 10일, 15일, 18일까지 지속적으로 감소하였고, 18일에서의 발현은 매우 약하게 나타났다. 착상후 기관형성 초기에는 대체로 왕성한 발현을 보이다가 기관형성이 마무리되는 시점에서는 발현이 감소되는 현상이 관찰되었다.

그러나, 태반조직의 경우는 8일이후 지속적으로 발현이 감소되는 것이 관찰되었다. 기관형성기의 배 (embryo)와 태반은 서로 상반된 결과를 보였는데 이는 세포가 활발한 성장 (proliferation)을 하는 배 (embryo)와 기능이 점차 쇠약해가는 태반에서의 DNA 회복효소의 역할을 알 수 있다. 이러한 결과로 세포의 성장 시기와 DNA 회복효소인 MPG의 발현시기가 유사함을 알 수 있었다.

요 약

Whole body (fetus)의 경우 수정후 8일부터 10일, 15일까지 계속적으로 증가하였으며, 18일에는 약간 감소하였으나 높게 유지되는 것이 관찰되었다. 간 (liver)에서는 15일에서의 발현이 18일에서 보다 높았으며, 뇌 (brain)조직에서도 역시 15일째의 발현이 약간 높았다. 그런데, 모체의 태반에서의 발현을 보면 착상 초기인 8일에 가장 높았으며, 10일, 15일까지 감소하다가 18일에는 매우 약하게 발현되었다. 즉, fetus에서는 착상후 기관형성기에는 대체로 왕성한 발현을 보이다가 기관형

성이 마무리되는 시점에 발현이 감소하는 현상이 관찰되었다. 그러나, 태반조직의 경우는 8일 이후 계속적으로 발현이 감소되는 것이 관찰되었다. 기관형성기의 배 (embryo)와 태반은 발생시기별 유전자 발현에서 서로 상반된 결과를 보였다.

참고문헌

- Kim NK, Lee SH, Kwak IP, Han SY, Park C, Lee HY, Cha KE, and Cha KY (1997) Differential expression of DNA repair gene, N-methylpurine-DNA glycosylase during the development of Balb/c mice. *Dev Reprod* 1(1): 37-43.
- Kim NK, Lee SH, Ko JJ, Roy R, Lee HK, Kwak IP, and Cha KY (1998) Tissue-specific expression of DNA repair gene, N-methylpurine-DNA glycosylase (MPG) in Balb/c mice without external damage. *J Gene Med* 2(1): 31-34.
- Mitra S and Kaina B (1993) Regulation of repair of alkylation damage in mammalian genomes. *Prog Nucleic Acids Res Mol Biol* 44: 109-142.
- Roy G, Roy R, and Mitra S (1997) Quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction for measuring the N-methylpurine-DNA glycosylase mRNA level in rodent cells. *Anal Biochem* 246: 45-51
- Washington WJ, Foote RS, Dunn WC, Generoso WM, and Mitra S (1989) Age-dependent modulation of tissue-specific repair activity for 3-methyladenine and O⁶-methylguanine in DNA in inbred mice. *Mech Ageing Dev* 48: 43-52.