

Apoptosis Suppressor에 관련된 유전자 스크린 방법과 동정된 유전자 특성 규명

황규찬, 육도원, 권득남, 신혜경, 김진희
경상대학교 대학원 응용생명과학부, 낙농학전공

Apoptosis로 일컬어지는 예정된 세포사멸(programmed cell death)은 개별 세포의 입장에서는 곧바로 사멸을 의미하지만, 정상적인 고등 생물의 입장에서는 개체의 발생과 분화하는데 프로그램된 과정이다. 자발적 세포사멸은 다른 조직에 비해 생식 조직인 난소나 정소에서 복잡한 apoptosis 기작들을 가지리라 사료된다. 본 연구는 Bcl-2 family 중 apoptotic protein인 Bax에 대해 suppression하는 유전자를 yeast system을 활용하여 돼지 정소와 난소로부터 각각 cDNA library를 구축한 후 탐색하였다. 탐색에 활용된 cDNA library는 돼지의 정소와 난소로부터 mRNA를 분리하여 yeast vector인 pAD-GAL4-2.1에 구축하였고, 마우스 bax 유전자는 gal 1 promotor의 조절 하에 glucose 배지에서는 유도되지 않고, galactose 배지에서만 선택적으로 Bax를 발현할 수 있는 효모 vector(pL19-bax)를 구축하였다. Bax에 의한 apoptosis suppressor를 탐색하기 위해 우선 효모 W303에 pL19-bax를 transform하여 glucose 배지에서 Bax의 발현을 억제하였다. pL19-bax를 가진 효모에 정소와 난소로부터 구축된 cDNA library를 transform 시키고, transform된 효모는 각각 Bax에 의한 toxicity를 저해하는 유전자를 찾기 위해 스크린되었다. 이러한 방법으로 정소 cDNA library 탐색에서는 5×10^6 transformant 중 39개, 난소 cDNA library 탐색에서는 2×10^6 transformant 중 26개의 콜로니가 생존하였다. 이를 콜로니로부터 유전자를 분리하여 분석해 본 결과 여러 그룹으로 분류할 수 있었다. 각 그룹의 관련 유전자는 protein synthesis/degradation 12종, oxidation/reductation 5종, detoxin/ cell cycle promotor 3종, signal transduction/growth factor 5종, 그리고 알려지지 않은 유전자 9종이었다. 그 중, bax-toxicity inhibition에 강력한 survival phenotype를 가지는 유전자 (pSEDL)를 동정하였다. 이것은 T3-4-1 콜로니로부터 분리하였는데 140개 아미노산으로 이루어진 인간 SEDL (GenBank, XM_013096) 유전자와 매우 유사한 homology를 가지며, bax와 관련된 기능은 밝혀져 있지 않다. 이외에도 분리된 유전자에는 NADH, thioreduction, 그리고 cytochrome oxidase와 같은 positive 유전자 군이 크로닝되어, Bax를 이용한 효모에서 apoptosis suppressor에 관련된 유전자를 손쉽게 스크린하는 것이 가능하고, 분리된 유전자의 기능을 예측할 수 있어 지금까지 보고된 유전자 크로닝법 보다는 강력한 수단으로 활용될 수 있다는 사실을 시사하였다. 그러나, ORF에 관계없이 Bax 발현에 저항하는 유전자군이 선발된다든지 하는 문제점은 금후 검토가 필요하리라 사료된다.

(Key words) *bax, apoptosis, screening, pSEDL, yeast, pig, testis, ovary*