

【P1-5】**흰 쥐의 Primary hepatocyte에서 호르몬, 포도당 및 다가 불포화 지방산에 의한 Acetyl-CoA Carboxylase gene promoter I 의 조절 연구**

김윤정*, 진현화, 김양하
 창원대학교 식품영양학과

Acetyl-CoA carboxylase (ACC) 효소는 체내에서의 지방산 생합성에 관계하는 효소로서 acetyl-CoA의 malonyl-CoA로의 carboxylation 과정을 촉진시킨다. Acetyl-CoA carboxylase 유전자의 발현은 영양이나 호르몬 상태에 따라 전사단계에서 조절되어진다고 보고되었다. 본 연구에서는 지방 합성에 관여하는 호르몬들에 의하여 ACC 유전자의 Promoter I의 발현 조절을 보고자 하였다. ACC 유전자의 5'-말단으로부터 약 7 kb upstream과 3 kb downstream (약 10 kb)을 pBluescript (약 3 kb) vector에 재조합된 ACC-pBluescript plasmid (13-kb)로부터 제한 효소 Xho I과 BamH I을 사용하여 ACC promoter (220-bp) 부위를 잘라내었다. Reporter 유전자로서 luciferase를 갖고 있는 modified pGL3-Basic vector를 같은 제한효소 Xho I과 BamH I을 이용하여 자른 후 ACC promoter I의 발현 및 조절 기능을 검증하기 위하여 ACC promoter (220-bp)를 modified pGL3-Basic vector에 결합시킨 ACC (220-bp)/pGL3-Basic plasmid를 재조합하였다. 호르몬에 의한 ACC promoter (220-bp)의 조절은 쥐의 primary 간세포를 사용하여 실험하였다. Primary 간세포를 분리한 6 시간 후에 ACC promoter (220-bp) plasmid를 lipofectin을 이용하여 삽입 (transfection)하였다. Transfection 후에 세포 배양액에 insulin (0.1 μ M), dexamethasone (1 μ M), triiodothyronine (5 μ M)등을 처리하여 48 시간 배양한 후에 간세포를 harvest 한 후에 luciferase 활성을 측정하였다. Insulin에 의해 유도된 ACC 유전자의 발현은 대조군에 비해 약 3배 증가하였고 triiodothyronine에 의해서는 약 1.5배, dexamethasone에 의해서는 약 2배 증가하였다. Insulin에 dexamethasone을 첨가하였을 때는 ACC 발현율이 4배, Insulin에 triiodothyronine을 처리하였을 때 약 2 배, Insulin에 dexamethasone과 triiodothyronine을 처리하였을 경우 약 5배 증가하여 -220bp 사이에 insulin, dexamethasone과 triiodothyronine의 reponse element가 있을 것으로 사료된다.