

마우스 수정란의 발생단계별 telomeric DNA의 분포양상과 telomerase activity 분석

강민영, 한명숙, 조은정, 이재화, 손시환
진주산업대학교 동물생명과학과·동물생명산업연구센터

Telomere란 진핵세포에 존재하는 DNA-protein 복합체로서 염색체의 말단부에 tandem repeated DNA 서열 (TTAGGG)과 특정 단백질로 구성되어 있으며 세포 분열이 진행함에 따라 이의 길이가 짧아지게 되고 일정 길이 이하가 되면 세포의 사망이 유발된다. 반면 telomerase는 ribonucleoprotein으로서 telomeric DNA의 합성에 관여하는 것으로 염색체의 말단에 telomeric DNA의 소실을 보충하는 역할로 알려져 있다. 최근 암, 노화 등과 관련하여 telomere 및 telomerase의 연구들이 활발히 진행되고 있으며, 다양한 세포들에 있어 이들의 존재와 역할에 대해서도 많은 연구들이 수행되고 있다. 포유동물의 초기 배자에 있어 telomere의 분포 양상과 telomerase의 activity의 분석은 배 발생의 기작과 배자의 세포적 특성을 구명하는데 매우 중요한 과제라 사료된다. 따라서 본 연구에서는 마우스의 초기 배 발생 단계별 수정란의 telomeric DNA의 분포 양상과 각 단계별 배자들의 telomerase activity를 제시하고자 하였다. 시험에 공시된 마우스는 4-6주령된 ICR계통으로 이들을 과배란 처리 후 자연 교배시켜 얻은 2-, 4-, 8-세포기배, 상실배 및 배반포배를 대상으로 하였다. Telomeric DNA의 양적 분석은 각 발생단계별 수정란의 표본을 제작하고 human telomere repeat probe를 이용하여 FISH (fluorescence in situ hybridization)를 시행하였으며, 분리된 할구들을 형광현미경으로 관찰 후 상을 포착하고 image analyser program (MetaMorph, UIC, USA)을 이용하여 한 개의 세포내 telomere의 상대적 함량을 분석 하였다. 발생 단계별 배자의 telomerase activity의 분석은 TRAP (telomeric repeat amplification protocol) assay로 분석한 바 각 발생 단계별 30개의 수정란으로부터 핵 단백질을 추출하여 telomerase를 신장시키고 PCR을 시행한 후 15% PAGE gel loading하여 이의 activity를 확인 하였다. 분석 결과, telomeric DNA의 함유율은 발생단계별 다소의 차이를 나타내었으며 telomerase activity는 모든 발생단계의 수정란에서 확인할 수 있었고, 특히 상실배부터 높게 나타남을 확인하였다.

Key words) *Mouse embryo, Telomere, Telomerase activity, FISH, TRAP*