

## Malate Dehydrogenase 1 (Mor2) 유전자의 난자성숙에서의 역할 규명에 관한 RNA Interference (RNAi) 연구

윤세진<sup>1</sup> · 김경화<sup>2</sup> · 박정선<sup>3</sup> · 구덕본<sup>3</sup> · 한용만<sup>3</sup>  
윤태기<sup>1</sup> · 차광렬<sup>1,2</sup> · 이경아<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>차병원 여성의학연구소, <sup>2</sup>포천중문의대 생명과학전문대학원, <sup>3</sup>한국생명공학연구원

**Background & Objectives:** 난자는 미성숙의 GV 단계에서 prophase I에 arrest 되어 있다가 핵과 세포질의 성숙을 통해서 수정과 배 발달을 할 수 있는 능력을 갖게 된다. 그런데 이처럼 성숙한 MII 단계가 되는 조절 기작에 대해서는 거의 알려져 있지 않다. 이를 규명하기 위해 본 연구진은 ACP (Annealing Control Primer) System을 이용하여 생쥐의 GV 난자와 MII 난자에서 차이 나게 발현하는 유전자의 목록을 얻은 바 있다 (윤 등, 2004). 이들 유전자 중에서 MII에서 높게 발현하고 있는 Mor2는 에너지대사에 관여하는 유전자이기에 난자성숙 과정에 직접적으로 관여하는지 알아보기 위하여 RNAi를 이용하여 기능연구를 수행하였다.

**Method:** ICR 생쥐의 여러 조직으로부터 RNA를 추출하여 Northern Blotting으로 mRNA 발현을 확인하였고, 특히 난소에서 in situ hybridization을 통해 Mor2 유전자의 발현을 조사하였다. Real-Time PCR을 이용하여 난자와 배아에서의 Mor2 유전자 발현을 비교하고, RNAi를 위해 Mor2 dsRNA를 제작하여 미성숙난자 (GV)에 미세주입하고 난자 성숙률을 조사하였고 RT-PCR로 mRNA의 발현의 변화를 조사하였다.

**Results:** Mor2 유전자는 다른 조직에 비하여 난소에서 높게 발현하였고 난자의 세포질에서 높게 발현함을 확인하였다. Mor2 dsRNA를 주입한 난자는 46.6%가 GV 단계에 arrest되었고 34%만이 MII로 발달하였다. 이는 Injection하지 않고 배양 (MII: 73.4%, GV-arrest: 8.3%)하거나 Buffer만을 주입하여 배양 (MII: 67.5%, GV-arrest: 18.7%)한 대조군에 비해 난자 성숙률이 현저히 감소하는 결과였다. 이렇게 GV 또는 GVBD에 억제된 난자의 경우, Mor2 mRNA 발현이 거의 100% 감소함을 확인하였고, 반면 RNAi 후에도 MII로 발달한 난자에서는 약간량의 Mor2가 발현하고 있음을 관찰하였다. Cytosolic Mor2와 달리 Mitochondria에 존재하면서 같은 역할을 하지만 염기서열이 전혀 다른 Mor1의 발현은 Mor2 Knock-down과는 전혀 상관없이 정상적으로 발현하고 있음을 확인하였다.

**Conclusions:** 본 연구 결과, RNAi를 이용하여 목적하는 Mor2 유전자를 성공적으로 Knock-down 할 수 있었으며 그 결과 Mor2가 난자성숙에 매우 밀접하게 관여하는 유전자임을 알 수 있었다.

**Acknowledgement:** 이 논문은 2003년도 한국학술진흥재단의 지원에 의하여 연구되었음 (KRF-2003-041-E00350).