

P-34 생쥐 초기 배아의 체외배양에서 배양액에 첨가된 아미노산에 의한 Amino Acid Transporter와 mTOR Pathway 관련 유전자 발현 양상의 변화에 대한 연구

최혜원 · 이형송 · 임천규 · 전진현

성균관대학교 의과대학 삼성제일병원, 생식생물학 및 불임연구소

Background & Objectives: 근래에 체외배양 중인 체세포에서 아미노산의 공급과 결핍에 의한 유전자 발현과 세포대사 과정의 조절에 대한 연구들이 진행되고 있으며, 최근 인간과 생쥐를 포함한 포유류 초기 배아의 체외배양에서 일부 아미노산의 첨가가 배아의 발생률과 임신률을 향상시키는데 효과적인 것으로 보고되고 있다. 본 연구에서는 초기 배아 배양액에 첨가한 아미노산이 그들의 수송에 관여하는 amino acid transport (AAT) 유전자와 포배기 배아의 대사과정에 관련이 있는 mTOR pathway 와 어떠한 관련성이 있는지 살펴보고자 하였다.

Method: 과배란을 유도한 ICR 생쥐에서 각각의 시기에 맞는 시간에 따라 4-cell, 8-cell, morula 그리고 blastocyst stage의 대조군 in vivo 배아를 채취하였다. 실험군인 in vitro 배아로는 2-cell stage의 배아를 아미노산이 포함되어있는 G1/G2 배양액과 아미노산이 들어있지 않는 T6 배양액에서 각각 blastocyst stage까지 배양하면서 각각의 발생 단계에 따라 배아를 수확하였다. 이러한 배아들에서 RNA를 추출하여 7종류의 AAT (mLAT1, mLAT2, mATB, mASCT2, my + LAT2, mCAT1, mCAT2)와 mTOR signaling에 관여하는 유전자 mTOR, mS6K1, mS6K2, meIF4e, mGSK3에 대한 정량적인 real time RT-PCR을 수행하여 발현 양상을 비교하였다.

Results: 대조군인 in vivo와 G1/G2 배양액에서 배양한 배아의 유전자 발현 양상 비교 시 mCAT1, mCAT2을 제외한 모든 AAT들의 발현이 G1/G2 배아보다 in vivo 배아에서 통계적으로 유의하게 높았다 ($p < 0.05$). 그러나 CAT1, CAT2의 발현양은 G1/G2 배양액의 blastocyst stage 배아에서 대조군인 in vivo 배아에 비해 각각 1.5배, 10배 높게 발현되었다. 아미노산이 첨가되지 않은 T6 배양액에서 배양한 배아에서는 AAT와 mTOR pathway에 관련된 유전자들의 발현량이 G1/G2 배양액에서의 배아들에 비해 통계적으로 유의하게 낮았다 ($p < 0.01$).

Conclusions: 결론적으로 생쥐 초기 배아의 체외 배양액에 첨가된 아미노산에 의해 AAT 유전자와 mTOR pathway 관련 유전자들의 발현이 조절되며, 체외배양 과정의 적절하지 못한 배양 조건에 의해 이러한 유전자들의 발현 양상이 변화됨을 알 수 있었다. 나아가서는 체외배양 조건의 최적화와 배양액의 개발에 있어 AAT 유전자와 mTOR pathway 관련 유전자의 발현 양상에 대한 평가가 유용할 것으로 생각된다.