

P-22

초기 난포발달과정에 관여하는 Novel 유전자들의
난자 특이적인 발현 양상에 관한 연구

박창은, 황상준, 이경아

CHA Research Institute, 포천중문의대 생명과학전문대학원

서론

여성의 난포는 primordial follicles(원시난포)로 성장이 멈추어 있다가 primary follicles(1차 난포)로 성장이 개시되면서 성장과 발달을 시작한다. 그러나 이 과정을 조절하는 요인과 기전에 대해서는 아직까지 많은 것이 알려져 있지 않다. 본 연구진은 선행 연구에서 생후1일자와 생후5일자 생쥐 난소에서 차이 나게 발현하는 유전자 목록을 suppression subtractive hybridization을 이용하여 얻었고, 이중에 28개의 novel 유전자가 포함되어 있었다(Park et al, 2005 Fertil&Steril). 이들 중에서 마우스 genome상의 한 염색체에만 존재하는 유전자는 1일자에서 9개, 5일자에서 7개로 선별하였다. 그런 후, 16개의 유전자를 다양한 조직과 발달 단계별 난소에서 RT-PCR로 확인한 결과, 9개의 유전자가 난소와 정소에서 발현이 높게 나타나고 발달단계별 난소에서 발현 차이를 보였다. 이렇게 압축된 9개의 유전자를 *in situ* hybridization을 통해 난소내의 발현분포를 확인하여 3개 유전자가 난자 특이적으로 발현하는 것을 확인하였다. 본 연구에서는 마우스 난소에서 난자 특이적으로 발현하는 3종류 novel 유전자의 발현 양상을 규명하고자 수행하였다.

재료 및 방법

염색체상의 위치 분석은 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/seq/MmBlast.html>에서 확인하였고, 유전자 선별을 위해 4주령 마우스의 다양한 조직과 생후 1, 5, 14, 21, 28일자 난소로부터 total RNA를 얻고 이를 이용해 cDNA를 합성하여 RT-PCR을 수행하였다. 또한 마우스 난소 조직에서 transcript의 발현위치를 알아보기 위해 *in situ* hybridization을 수행하였다. 최종적으로 선별된 유전자가 생쥐, 돼지EST, 사람사이에 보존되어 있는지를 분석하였으며(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/gorf.html>), 다양한 조직에서 유전자의 transcript 발현 분포를 확인하기 위해 Northern blotting을 수행하였다. 그리고

Novel 유전자를 난소의 발달 단계(1, 5, 14, 21, 28일자)와 착상전 배아단계에서 발현양상을 real-time PCR로 확인하였다. 또한 14일자 난소를 해부현미경하에서 난자와 과립세포를 분리하여 세포 특이적 발현양상을 재확인하였다.

결과 및 고찰

28개의 novel 유전자를 screening하여 난자 특이적으로 발현하는 3개의 유전자를 선별하였다 (LOC 228358(cytoskeleton associated protein5), LOC232560(C1q), mKIAA0978(additional sex combs like1). 이들 유전자들은 다양한 조직에서 분포하고 있었으며, 특히 brain, testis, ovary, muscle등에서 높게 발현하였다. 또한 세 유전자 모두 1일자 난소에서 높게 발현하다가 그 이후에 시기에 감소하는 발현양상을 보였으며, transcript가 난자의 세포질과 핵에서 관찰되었다. 이들 세 유전자들은 생쥐와 돼지EST 사이에 76-90%, 사람과 돼지EST 사이에 86-94%의 높은 상동성을 보였다. 그리고 이들의 단백질들은 난자의 세포질에서 높게 발현하는 것으로 나타났다. 결론적으로 본 연구는 3종류의 novel 유전자에 대해 처음으로 난소에서의 발현양상을 보았으며 난자에서 특이적으로 발현하는 유전자임을 밝혔다. 이 유전자들은 초기 난포 발달 과정 동안 난포 및 난자의 성장 및 발달에 관여할 것으로 사료되며 현재 기능에 대한 연구를 진행 중에 있다. "이 논문은 2005년도 바이오 장기 생산 연구의 지원을 받아 수행된 연구임"