

흰쥐의 간세포에서 호르몬에 의한 Acetyl-CoA Carboxylase Promoter I Activity 조절에 대한 연구*

이막순 · 양정례** · 김윤정** · 김영화** · 김양하[§]

창원대학교 식품영양학과, 창원대학교 생활과학연구소**

Hormonal Regulation of Acetyl-CoA Carboxylase Promoter I Activity in Rat Primary Hepatocytes*

Lee, Mak Soon · Yang, Jeong-Lye** · Kim, Youn Jung** · Kim, Young Hwa** · Kim, Yang Ha[§]

Department of Food and Nutrition, Changwon University, Changwon 641-773, Korea
Research Institute of Human Ecology,** Changwon University, Changwon, 641-773, Korea

ABSTRACT

Acetyl-CoA carboxylase (ACC) is the enzyme that controls *no devo* fatty acid biosynthesis, and this enzyme catalyzes the carboxylation pathway of acetyl-CoA to malonyl-CoA. Acetyl-CoA carboxylase gene expression was regulated by nutritional and hormonal status. The present study was performed to identify the regulation mechanism of ACC gene promoter I. The fragments of ACC promoter I -1.2-kb region were recombined to pGL3-Basic vector with luciferase as a reporter gene. The primary hepatocytes from the rat were used to investigate the hormonal regulation of ACC promoter I activity. ACC PI (-1.2)/Luc plasmid was trransferred into primary hepatocytes using lipofectin. Activity of luciferase was increased two-fold by 10-9M, three-fold by 10-8M, 10-6M, 3.5-fold by 10-6M, and 4.5-fold by 10-7M insulin treatment, respectively. In the presence of dexamethasone (1 μM), the effects of insulin increased about 1.5-fold, showing the additional effects of dexamethasone. Moreover, the activity of luciferase increased with insulin+dexamethasone, insulin+T3, dexamethasone+ T3, and dexamethasone+insulin+T3 treatment approximately 6-, 4-, 6.5-, and 10-fold, respectively. Therefore it can be postulated that 1) these hormones coordinately regulate acetyl-CoA carboxylase gene expression via regulation of promoter activity, 2) the -1.2-kb region of ACC promoter I may have the response element sequences for insulin, dexamethasone, and T3. (*Korean J Nutrition* 35(2): 207~212, 2002)

KEY WORDS: acetyl-CoA carboxylase, gene expression, promoter activity, insulin, dexamethasone, thyroid hormone.

서 론

Acetyl-CoA carboxylase (ACC) 효소는 acetyl-CoA 에서 malonyl-CoA로의 carboxylation을 촉진하는 효소로서 지방산 생합성 과정에서 지방산 합성 속도를 조절해주는 rate-limiting 효소중의 하나이다. 지방산 합성에 관여하는 여러 가지 효소들 중에 지방 생합성율을 조절해주는 주요 rate-limiting 효소로는 ACC, FAS (fatty acid

synthase) 그리고 elongation 과정에서 필요한 NADPH를 생성해 주는 malic enzyme (ME)등이 있다.¹⁻⁹⁾

Acetyl-CoA carboxylase는 α, β 2개의 형태가 있는데 ACC-α는 지방합성이 활발한 간이나 지방조직에서는 그 양이 많은 반면에 심장, 근육 같은 조직들에서는 그 농도가 낮다. ACC-β에 대해서는 알려진 바가 거의 없으나 심장, 근육 같은 지방합성이 활발하지 않는 조직들에 분포하며,^{3,4,10,11)} 심장과 골격근 등에서 지방산의 β-산화율을 조절하는 것으로 추측되어지고 있다.^{3,4,10-12)} ACC-α 활성은 covalent modification과 allosteric regulation을 통한 short-term으로 조절되어지기도 하며,¹³⁻¹⁶⁾ 또한 영양이나 호르몬 상태에 의해서 ACC-α 유전자의 발현 조절을 통한 long-term 과정으로 조절되어지기도 한다.^{5,12,17)}

보통의 유전자들과는 달리 ACC-α 유전자의 경우는 pro-

접수일 : 2001년 8월 20일

채택일 : 2002년 1월 15일

*This work was supported by grant No. (2001-22000-010-1) from the Basic Research Program of the Korea Science & Engineering Foundation.

[§]To whom correspondence should be addressed.

promoter 1 (PI)과 promoter 2 (PII)의 2개의 promoter가 있는데 promoter 1 (PI)에 의하여 발현된 ACC- α mRNA의 양은 영양 상태나 호르몬 상태에 따라 변화하나 promoter 2에 의하여 발현된 ACC- α mRNA의 양은 변화가 없다는 것이 보고되어, 영양이나 호르몬 상태에 따른 ACC- α 유전자의 발현을 조절하는데 ACC- α 유전자 promoter 1 (PI)이 관여함을 추측케 해준다.^{4,6,18)}

본 연구는 지방 합성율을 조절하는데 중요한 역할을 하는 acetyl-CoA carboxylase 합성이 어떠한 기전에 의하여 조절되는지 알아보고자 수행되었다. Insulin, thyroid hormone, dexamethasone 등의 호르몬 상태에 따른 acetyl-CoA carboxylase 유전자의 promoter I의 활성도를 측정함으로써 ACC 유전자 발현 조절기전을 이해하고자 하였다. Acetyl-CoA carboxylase 효소는 지방의 생합성을 조절하는 주요 효소임에도 불구하고 복잡한 promoter 구조 때문에 그 합성 조절 기전이 자세히 밝혀지지 않았으나 본 연구를 통하여 호르몬에 의한 ACC 유전자 발현의 조절 기전을 알 수 있을 것으로 기대된다.

재료 및 방법

1. 유전자 재조합

Acetyl-CoA carboxylase (ACC)유전자 exon 1의 5'-말단으로부터 약 7 kb upstream과 3 kb downstream (약 10 kb)을 pBluescript (Clontech) vector와 재조합한 ACC PI/pBluescript plasmid는 Dr. Hedley Freake (미국 Connecticut 주립대학)으로부터 제공받았다. ACC promoter I의 조절기능을 알아보기 위하여 ACC PI/pBluescript plasmid로부터 ACC 유전자 exon 1의 5'-말단으로부터 약 -1.2kb promoter I region을 제한효소 Xho I (Takara Co. Japan)과 Sac I (Takara Co. Japan)을 이용하여 잘라내었다. Reporter 유전자로서 luciferase를 갖고 있는 pGL3-Basic vector (Promega)를 같은 제한효소 Xho I과 Sac I을 이용하여 linearized 하였다. Linearized pGL3-Basic vector에 ACC promoter 1.2-kb DNA를 삽입하여 ACC PI (-1.2)/Luc plasmid를 재조합하였다 (Fig. 1).

2. 간세포 배양

Primary 간세포는 몸무게가 약 200~250 g Sprague Dawley 수컷 흰쥐의 간 조직으로부터 collagenase-perfusion method^{19,20)}를 이용하여 primary 간세포를 분리하였다. 간세포 생존율은 5% trypan blue를 이용하여 산출

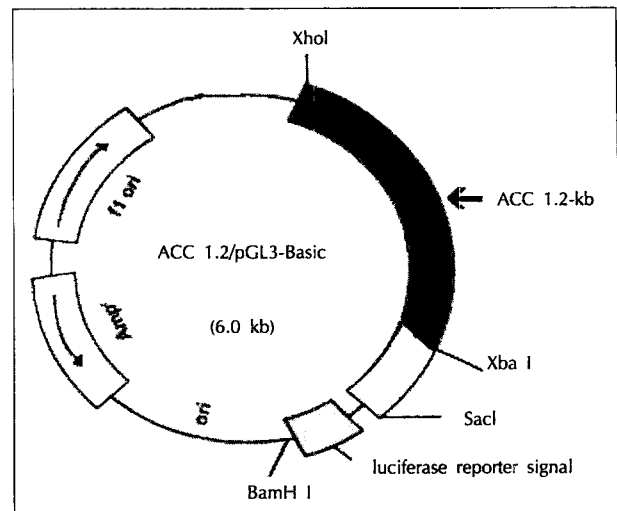


Fig. 1. Structure of ACC PI (-1.2)/Luc construct. ACC PI (-1.2)/Luc was constructed by ligating a Xho I and Sac I restriction fragment, containing ACC promoter I from -1200 to +100, into same cloning site upstream of the luciferase coding sequence in plasmid pGL3-Basic vector.

하였으며 세포 생존율이 85% 이상일 때 실험에 사용하였다.²¹⁾ 간세포 배양은 3 ml의 Williams' medium E (Gibco-BRL) 배양액 (10% FBS, 23 mM HEPES, 26 mM NaHCO₃, 10 nM dexamethasone, 0.1 U/ml insulin, 1 IU/ml streptomycin-penicillin)에서 약 1.2×10^6 세포수로 Primaria 6-well plate (Falcon Labware)에 현탁하여 37°C, 5% CO₂ 조건의 배양기에서 6시간 동안 배양하였다. Transfection을 위하여 간세포가 60% 이상 plate 바닥에 붙어 잘 자랐을 때 실험에 사용하였다.

3. Transient transfection

6시간 동안 배양한 간세포가 60% 이상 바닥에 붙어 잘 자라게 되면 Towle 등^{19,20)}의 방법을 이용하여 transfection을 유도하였다. Transfection 효율을 검정하기 위해 pCMV- β gal vector (Clontech)를 Sane 등²⁰⁾의 방법을 변형하여 β -galactosidase 발현을 측정하였다. 재조합된 DNA (ACC PI (-1.2)/Luc) 2 μ g과 lipofectin (Gibco-BRL) 13 μ l을 포함하는 serum free medium에서 14시간 동안 배양하였다. 재조합 DNA에 transfection된 간세포는 서로 다른 농도의 호르몬 (insulin, thyroid hormone, dexamethasone)을 처리하여 serum free medium에서 48시간 동안 배양하였다.

4. Luciferase activity 측정 및 protein 정량

Luciferase activity는 luminometer TD20/20 (Promega)를 사용하여 O'Callaghan 등²²⁾의 방법을 일부 변형하여 측정하였다. Insulin에 의한 acetyl-CoA carboxylase

promoter I의 활성도 조절을 보기 위해서 다양한 농도의 insulin (10^9 , 10^8 , 10^7 , 10^6 , 10^5 M)을 ACC PI (-1.2)/Luc plasmid를 삽입시킨 간세포 배양액에 처리하여 48시간 동안 배양하였다. 또한 thyroid hormone (T3)과 dexamethasone의 경우는 각각 5 μ M와 1 μ M를 간세포 배양액에 처리하여 48시간 동안 배양하였다. Fukuda 등²⁹⁾은 여러 호르몬들에 의한 ACC mRNA 발현을 보았는데, insulin의 경우 본 실험 결과 (0.1 μ M)와 일치했으므로 dexamethasone과 T3의 농도를 Fukuda 등²⁹⁾과 같이 1 μ M과 5 μ M로 각각 사용하였다. 배양한 간세포는 250 μ l의 lysis buffer (1% triton X-100 (v/v), 15 mM MgSO₄, 25 mM glycylglycine pH 7.8, 1 mM DTT)를 첨가하여 얼음에서 10분 동안 incubation한 다음 harvest하였다. Harvest한 간세포는 4°C 12000 rpm에서 1분 동안 원심 분리한 후 50 μ l의 상등액에 180 μ l의 reaction buffer (25 mM glycylglycine pH 7.8, 4 mM EGTA, 15 mM potassium phosphate pH 7.8, 2 mM ATP, 15 mM MgSO₄, 1 mM DTT)를 첨가하여 실온에서 20분 동안 incubation한 다음 100 μ l의 luciferin reagent (200 μ M luciferin, 25 mM glycylglycine pH 7.8, 15 mM MgSO₄, 4 mM EGTA, 2 mM DTT)를 첨가하여 luciferase activity를 측정하였다. Luciferase activity는 단백질 mg당 light unit에 비례하여 나타낸 값으로 표시하였다. 간세포의 단백질 농도는 Bradford²⁹⁾의 방법을 이용하여 측정하였으며 실험의 결과는 세 번의 실험을 통해 얻은 값에서 대표적인 값으로 정하였다.

5. 통계분석

본 실험의 결과는 평균과 표준편차 (Means \pm SD)로 표시하였고 실험군의 평균값들 간의 유의성은 $\beta = 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test로 검증하였다.

결과 및 고찰

1. Insulin 농도에 따른 luciferase reporter gene activity

Insulin 농도에 의해 유도된 luciferase의 activity는 10^9 M, 10^8 M insulin 첨가시 각각 2배와 3배 증가하였고 10^7 M insulin 첨가시 luciferase activity가 가장 크게 증가하여 약 4.5배 증가하였다. 이 보다 더 높은 농도의 insulin 첨가시 luciferase activity가 오히려 감소되어 10^6 M, 10^5 M insulin 첨가시 각각 3.5배와 3배 증가하였다. 이와 같은 결과는 흰쥐의 primary hepatocytes에서 10^9 M~ 10^5 M insulin 농도 첨가시 acetyl-CoA carboxylase mRNA 양

이 약 4배 증가한 Fukuda 등²⁹⁾의 연구 결과와 비교할 때 insulin에 의한 mRNA 양의 증가와 ACC promoter activity의 증가 비율은 다소 다르나 insulin에 의한 acetyl-CoA carboxylase mRNA 양의 증가는 ACC promoter I의 활성화에 따른 transcription activation에 의한 기전에 의한 것임을 추측케 해준다. 최근에 ACC promoter I 중 -126/-102 영역이 glucose-regulated element (GRE)로 밝혀졌으며 이 서열이 l-type pyruvate kinase, S (14) 및 fatty acid synthase 유전자들의 GRE와 유사함이 보고되었다.²⁹⁾ 따라서 이미 밝혀진 lipogenic 효소들의 insulin response element (IRE)와 ACC promoter I의 염기 서열을 비교하여 ACC promoter I의 IRE와 transcription factors들을 연구함으로써 insulin에 의한 acetyl-CoA carboxylase 유전자 발현 조절 기전을 밝힐 수 있을 것으로 기대된다.

2. Insulin에 의한 ACC promoter I activity 조절시 dexamethasone 첨가 효과

Dexamethasone은 primary hepatocytes에서 acetyl-CoA carboxylase mRNA 양을 증가시키는 insulin의 효과를 증폭시키는 것으로 보고되었다.²⁰⁾ 본 연구에서 insulin에 의한 ACC promoter I activity 조절시 dexamethasone의 첨가 효과를 알아보기 위해 ACC PI (-1.2)/Luc plasmid를 삽입시킨 간세포 배양액에 1 μ M의 dexamethasone을 처리하여 48시간 동안 배양하였다. Insulin을 단독으로 처리했을 때 보다 1 μ M의 dexamethasone을 첨

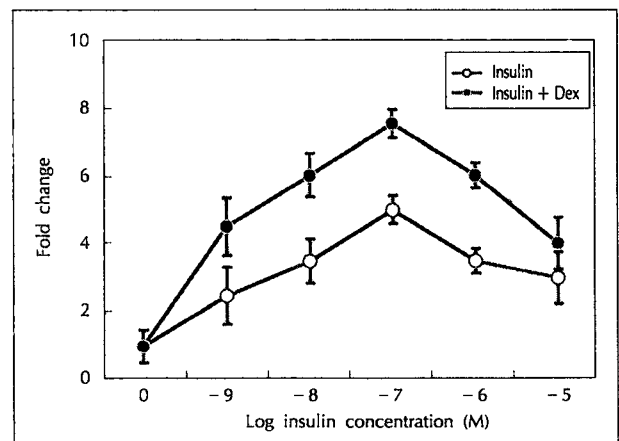


Fig. 2. Dose-dependent effect of insulin on acetyl-CoA carboxylase promoter I activity. Primary hepatocytes were incubated for 48 hours with each concentrations of insulin in the presence (●) or absence (○) of 1 μ M dexamethasone after transfection with ACC PI (-1.2)/Luc. Hepatocytes were lysed and assayed for luciferase activity and protein concentration. Values are expressed relative to the luciferase activity/mg protein in hepatocytes cultured without hormones. Means \pm SD.

가했을 때 luciferase activity가 전체적으로 약 1.5배 증가하여 insulin에 의한 ACC promoter I activity 상승작용을 dexamethasone이 증폭시키는 것을 알 수 있었다 (Fig. 2). Dexamethasone이 첨가되었을 때 luciferase activity가 10^{-9} M insulin에서 약 4배, 10^{-8} M insulin은 약 5.5배, 10^{-7} M insulin은 약 6배, 10^{-6} M insulin은 약 5.5배, 10^{-5} M insulin은 약 3.5배 증가시켜 dexamethasone이 없을 때와 마찬가지로 10^{-7} M insulin 첨가시 luciferase activity가 가장 많이 상승되었다 (Fig. 2). 이와 같은 결과는 acetyl-CoA carboxylase mRNA에 미치는 insulin의 효과를 dexamethasone이 증폭시킴을 보고했던 Fukuda 등²⁵⁾의 보고와 비슷한 결과를 보여주고 있다.

Insulin을 처리하지 않은 대조군에 비하여 insulin 처리시 간세포의 luciferase 활성도의 변화를 Fig. 2에서 보여주고 있다. ACC와 유사한 대사 반응을 하는 것으로 알려진 지방 합성 효소인 fatty acid synthase promoter 연구에서 dexamethasone이 insulin의 효과를 증폭시킨다는 연구 결과가 있었다.²⁵⁾ 본 연구에서는 이와 같은 dexamethasone의 효과가 ACC promoter activity에서도 유사하게 나타나는가를 보고자 하였고 예상대로 dexamethasone이 insulin의 효과를 약 1.5배 증폭시켜 주는 것으로 나타났다. Dexamethasone이 target 유전자의 전사를 증가시키는 기전에 대한 연구에서 fatty acid synthase 유전자의 발현에 대한 dexamethasone의 효과는 fatty acid synthase 유전자 promoter의 특정 염기서열이 관여하고 있음이 보고되었다.²⁶⁾ 따라서 acetyl-CoA carboxylase 발현에 미치는 dexamethasone의 작용도 ACC 유전자 promoter I의 특정 염기서열이 관여하여 promoter의 activity를 증가시킴으로써 효과를 나타낼 수 있을 것으로 추측된다. 양의 지방조직에서도 dexamethasone이 acetyl-CoA carboxylase promoter I activity에 미치는 insulin의 효과를 증가시켜 ACC mRNA의 양이 insulin에 의해서 약 2배 증가하였으며 insulin에 dexamethasone을 추가하였을 때는 약 4.5배 증가되었다고 보고하였다.²⁵⁾ 따라서 ACC promoter 염기 서열에 대한 연구를 통하여 보다 자세한 dexamethasone의 조절 기전을 밝힐 수 있을 것으로 기대된다.

3. ACC promoter I activity에 미치는 호르몬들의 효과

ACC promoter I activity에 대한 서로 다른 호르몬간의 상호작용을 알아보기 위해서 ACC PI (-1.2)/Luc plasmid를 삽입시킨 간세포 배양액에 0.1 μ M의 insulin, 1 μ M의 dexamethasone 및 5 μ M의 triiodothyronine을 하나씩

Table 1. Effects of hormones on luciferase activity in primary rat hepatocytes. Hepatocytes were incubated for 48 hours in serum free medium with or without various hormones at the concentrations given in parentheses after transfection with ACC PI (-1.2)/Luc or pGL3-Basic vector. Hepatocytes were lysed and assayed for luciferase activity and protein concentration. Values are expressed as luciferase activity/mg protein in hepatocytes. Means \pm SD. Means with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$.

| Treatment plasmid | Luciferase activity/mg protein (fold) | |
|-------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------|
| | ACC PI (-1.2)/Luc ³⁾ | pGL3-Basic |
| Control | 1.0 \pm 0.48 ^a | 1.0 \pm 0.31 ^{ab} |
| Insulin (0.1 μ M) | 4.5 \pm 0.42 ^c | 1.9 \pm 0.64 ^{bc} |
| Dex ¹⁾ (1 μ M) | 4.3 \pm 0.42 ^c | 0.4 \pm 0.00 ^a |
| T3 ²⁾ (5 μ M) | 2.7 \pm 0.28 ^b | 1.4 \pm 0.87 ^{abc} |
| Insulin + Dex | 5.8 \pm 0.35 ^d | 1.1 \pm 0.64 ^{bc} |
| Insulin + T3 | 3.7 \pm 0.07 ^c | 1.5 \pm 0.38 ^{abc} |
| Dex + T3 | 6.4 \pm 0.63 ^d | 1.6 \pm 0.76 ^{bc} |
| Insulin + Dex + T3 | 9.9 \pm 0.98 ^e | 2.0 \pm 0.59 ^c |

1) Dex: dexamethasone

2) T3: triiodothyronine

3) ACC PI (-1.2)/Luc: ACC -1.2 kb/pGL3-Basic plasmid

은 두개 이상 첨가한 후 배양하였다. 또한 promoter가 없는 pGL3-Basic vector를 삽입시킨 간세포 배양액에 같은 호르몬을 처리하여 배양하였다. 호르몬에 의한 ACC promoter I 1.2-kb와 pGL3-Basic vector의 promoter activity는 Table 1에서 보여주고 있다. Promoter가 없는 pGL3-Basic vector를 삽입시킨 간세포에서는 여러 호르몬들에 의한 luciferase activity의 차이가 거의 없어 약 1.0~2.0배의 차이를 나타내었다 (Table 1). 그러나 ACC PI (-1.2)/Luc DNA fragment를 삽입시킨 간세포에서는 호르몬에 의한 luciferase activity가 매우 크게 차이가 남을 알 수 있었다. 호르몬을 처리하지 않은 대조군에 비해 insulin을 처리하였을 때 약 4.5배, T3가 약 2.5배 luciferase activity가 증가하였다. 호르몬의 상호작용에 의한 luciferase activity는 대조군에 비해서 인슐린과 dexamethasone 처리시 약 6배, insulin과 T3 처리시 약 4배, T3와 dexamethasone 처리시 약 6.5배, insulin과 dexamethasone, T3 모두를 처리했을 때 약 10배 증가하여 ACC promoter I activity가 3개의 호르몬을 모두 처리하였을 때 가장 많이 증가하고 있음을 보여주고 있었다. Fukuda 등²⁵⁾은 간세포에서 호르몬에 의해 유도된 ACC 유전자 발현을 연구하였는데 ACC mRNA 농도가 insulin 처리시 약 5.5배, insulin과 dexamethasone 처리시 약 8.5배, T3와 dexamethasone 처리시 약 6배, insulin, dexamethasone 및 T3 모두를 처리했을 때 약 10배 증가되었다고 보고하였다. 이 연구에서 나타난 호르몬에 의한 ACC 유전자의 발현을 증가와 본 연구에서 나타난 ACC

promoter I 활성도 증가가 거의 일치하고 있음을 알 수 있다. Travers²⁴⁾와 Fukuda²⁵⁾ 등의 연구 결과들과 본 연구의 결과로부터 insulin, dexamethasone 및 T3가 ACC promoter I의 activirt 증가에 서로 additional effect가 있는 것으로 나타났으며, ACC promoter I upstream 1.2-kb region에 insulin, dexamethasone 및 T3의 response element 염기서열이 있음을 추측케 한다.

한편으로 Hillgartner 등¹⁶⁾은 ACC 유전자의 발현을 chick embryo hepatocytes에서 호르몬에 의해 유도하였는데 ACC mRNA의 양이 insulin 첨가에 의해 약 1.5배 증가하였고 T3에 의해 약 4배, insulin과 T3 모두 첨가한 경우는 약 4배 증가되었다고 보고하여 insulin과 T3에 의한 synergistic effect가 없음을 시사하였다. 본 연구 결과에서도 insulin과 T3 첨가시 synergistic effect가 나타나지 않았다. 그러나 Hillgartner 등¹⁶⁾의 연구결과에서는 insulin 효과 보다 T3의 효과가 더 크게 나타나서 본 연구결과와는 일치하지 않았다. Zhang 등⁴⁾은 chick embryo hepatocytes에서 ACC 유전자의 전사가 T3에 의해서 7배 증가되었다고 보고하였는데 이 때 사용한 ACC promoter는 PI이 아닌 PII promoter였다. 따라서 현재 영양이나 호르몬 상태에 따라 변화가 없는 것으로 알려진 PII promoter activity가 T3에 의하여 전사단계에서 조절된다는 것을 밝혔는데 이와 같은 결과는 조류와 포유류의 간세포에서 호르몬에 의한 ACC 유전자의 발현 조절이 다른 기전에 의해서 이루어짐을 추측케 해준다.

요약 및 결론

본 연구에서는 호르몬에 의한 acetyl-CoA carboxylase 유전자 발현 조절 기전을 밝히고자 ACC promoter I (ACC PI (-1.2)/Luc)을 간세포에 삽입 후 여러 종류의 호르몬을 처리하여 promoter activity를 측정하였다. 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

첫째, insulin 농도에 의해 유도된 acetyl-CoA carboxylase promoter I의 activity는 10^{-7} M insulin에서 약 4.5배로 가장 크게 증가하였고 이 보다 더 높은 농도의 insulin 첨가시 acetyl-CoA carboxylase promoter I activity가 오히려 감소되는 것으로 나타났다.

둘째, Dexamethasone 1 μ M 첨가시 acetyl-CoA carboxylase promoter I activity는 insulin을 단독으로 처리했을 때와 마찬가지로 10^{-7} M insulin 처리시 약 6배로 ACC promoter activity가 가장 많이 상승되었다.

셋째, insulin을 단독으로 처리했을 때 보다 1 μ M의

dexamethasone을 첨가했을 때 ACC promoter I activity가 전체적으로 약 1.5배 증가하여 insulin에 의한 ACC promoter I activity 상승작용에 dexamethasone의 additional effect가 있음을 보여주었다.

넷째, 호르몬의 상호작용에 의한 ACC promoter I activity의 조절은 insulin, dexamethasone 및 T3를 처리했을 때 약 10배 증가하여 ACC promoter I activity가 3개의 호르몬을 모두 처리하였을 때 가장 많이 증가하였다.

이상의 연구 결과들을 종합하면 acetyl-CoA carboxylase promoter I 1.2-kb의 activity는 insulin, dexamethasone, T3간의 상호작용에 의해 증가되는 것으로 나타났다. acetyl-CoA carboxylase promoter I의 -1.2-kb region에 insulin, dexamethasone 및 T3의 response element 염기서열이 있음을 시사하고 있다. 따라서 호르몬 상태에 따른 acetyl-CoA carboxylase 유전자 발현 조절 기전을 좀더 자세히 규명하기 위하여 acetyl-CoA carboxylase promoter I의 -1.2 kb upstream region에 있는 insulin, dexamethasone 및 T3의 response element 염기서열에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

Literature cited

- 1) Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Biosynthesis of fatty acids. In *Harper's Biochemistry 23th ed. entice-Hall N J* 216-223, 2000
- 2) McGarry JD, Takagayashi Y, Foster DW. The role of malonyl-CoA in the coordination of fatty acids synthesis and oxidation in isolated rat hepatocytes. *J Biol Chem* 253: 8294-8300, 1978
- 3) Kim KH. Regulation of mammalian acetyl-coenzyme A carboxylase. *Annu Rev Nutr* 17: 77-99, 1997
- 4) Zhang Y, Yin L, Charron T, Hillgartner FB. Thyroid hormone, glucagon, and medium-chain fatty acids regulate transcription initiated from promoter 1 and promoter 2 of the acetyl-CoA carboxylase- α gene in chick embryo hepatocytes. *Biochem Biophys Acta* 1517: 91-99, 2000
- 5) Huang CL, Freake HC. Thyroid hormone regulates acetyl-CoA carboxylase PI promoter. *Biochem Biophys Res Commun* 249: 704-708, 1998
- 6) Kim TS, Leahy P, Freake HC. Promoter usage determines tissue specific responsiveness of the rat acetyl-CoA carboxylase gene. *Biochem Biophys Res Commun* 225: 647-653, 1996
- 7) Kim KH. Regulation of acetyl-CoA carboxylase gene in a transgenic animal model. *Biochem Biophys Res Commun* 227: 547-552, 1996
- 8) Davis MS, Solbiati J, Cronan JE. Overproduction of acetyl-CoA carboxylase activity increases the rate of fatty acid biosynthesis in *Escherichia coli*. *J Biol Chem* 275: 28593-28598, 2000
- 9) Nikoau BJ, Oliver DJ, Schnable PS, Wurtele ES. Molecular biology of acetyl-CoA metabolism. *Biochem Soc trans* 28: 591-593, 2000
- 10) Ruderman NB, Saha AK, Vavvas D, Witters LA. Malonyl-CoA, fuel sensing, and insulin resistance. *Am J Physiol* 276: E1-E18, 1999
- 11) Hillgartner FB, Charron T, Chesnut KA. Alterations in nutri-

- tional status regulate acetyl-CoA carboxylase expression in avian liver by a transcriptional mechanism. *J Biochem* 319: 263-268, 1996
- 12) Boone AN, Chan A, Kulpa JX, Brownsey RW. Bimodal activation of acetyl-CoA carboxylase by glutamates. *J Biol Chem* 275: 10819-10825, 2000
 - 13) Wakil SJ, Stoops JK. Fatty acid synthesis and its regulation. *Annu Rev Biochem* 52: 537-579, 1983
 - 14) Munday MR, Campbell DG, Carling D, Hardie PG. Identification by amino acid sequencing of the major regulatory phosphorylation sites on rat acetyl-CoA carboxylase. *Eur J Biochem* 175: 331-338, 1988
 - 15) Geelen MJH, Bijleveld C, Velasco G, Wanders RJA, Guzman M. Studies on the intracellular localization of acetyl-CoA carboxylase. *Biochem Biophys Res Commun* 233: 253-257, 1997
 - 16) Hillgartner FB, Charron T, Chesnut KA. Triiodothyronine stimulates and glucagon inhibits transcription of the acetyl-CoA carboxylase gene in chick embryo hepatocytes: glucose and insulin amplify the effect of triiodothyronine. *Arch Biochem Biophys* 15: 337-340, 1997
 - 17) Lopez-Casillas F, Osborne TF. Steroid regulation of acetyl-CoA carboxylase; mechanism for coordinate control of cellular lipid. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 1049-1053, 1995
 - 18) Abu-Elheiga L, Jayahumar A, Baldini A, Chirala SS, Wakil SJ. Human acetyl-CoA carboxylase, characterization, molecular cloning, and evidence for two isoforms. *Proc Natl Acad Sci USA* 92: 4011-4015, 1995
 - 19) Koo S, Towle HC. Glucose response of mouse S14 gene expression in hepatocytes. *J Biol Chem* 275: 5200-5207, 2000
 - 20) Kaytor EN, Shin HM, Towle HC. Carbohydrate regulation of hepatic gene expression. *J Biol Chem* 272: 7525-7531, 1997
 - 21) Benford DJ, Hubbard SA. Preparation and culture of mammalian cells. *Biochemical toxicology-a practical approach IRL Press Oxford* 57-82, 1987
 - 22) Brasier AR, Tate JE, Habener JF. Optimized use of the firefly luciferase assay as a reporter gene in mammalian cell lines. *Biotechniques* 7(10): 1116-1122, 1989
 - 23) Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72: 248-254, 1976
 - 24) Travers MT, Barber MC. Insulin-glucocorticoid interactions in the regulation of acetyl-CoA carboxylase- α transcript diversity in ovine adipose tissue. *J Molecular Endocrinology* 22: 71-79, 1999
 - 25) Fukuda H, Katsurada A, Iritani N. Nutritional and Hormonal Regulation of mRNA Levels of Lipogenic Enzymes in Primary Cultures of Rat Hepatocytes. *J Biochem* 111: 25-31, 1992
 - 26) Sanes JR, Rubenstein LR, Nicolas JF. Use of recombinant retrovirus to study post-implantation cell lineage in mouse embryos. *EMBO J* 5(12): 3133-3142, 1986
 - 27) O'Callaghan BL, Koo SH, Wu Y, Freake HC, Towle HC. Glucose regulation of the acetyl-CoA carboxylase promoter PI in rat hepatocytes. *J Biol Chem* 276(19): 16033-16039, 2001
 - 28) Lu Z, Gu Y, Rooney SA. Transcriptional regulation of the lung fatty acid synthase gene by glucocorticoid, thyroid hormone and transforming growth factor- β 1. *Biochem Biophys Acta* 29: 1532(3): 213-222, 2001