

한우 PPAR γ 유전자의 동정과 mRNA의 발현

정영희* · 이상미* · 박효영* · 윤두학** · 최재관*** · 문승주* · 강만중*

전남대학교 농업생명과학대학, 농업과학기술연구소, 동물자원학부*,
축산연구소**, 축산연구소 대관령지소***

Molecular Cloning and mRNA Expression of the Bovine Peroxisome Proliferator Receptor Gamma(PPAR γ)

Y. H. Jeoung*, S. M. Lee*, H. Y. Park*, D. H. Yoon**, J. G. Choi***, S. J. Moon*
and M. J. Kang*

Department of Animal Science, Insti. of Ag. Sci. and Tech., College of Agriculture & Life Science,
Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea*,

National Livestock Research Institute, RDA**, Daekwanryeong Branch***

ABSTRACT

The peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ), a member of the steroid/thyroid nuclear hormone receptor superfamily of ligand-activated transcription factor, is an important regulator of adipocyte gene expression and differentiation. In this studies, we report the identification, characterization, and expression of a Hanwoo PPAR γ gene. The PPAR γ cDNA sequence of the Hanwoo show strong conservation with the corresponding sequences reported in other species except of three amino acid sequences. The distribution of PPAR γ mRNA in various tissues of Korean cattle aged 12 months were investigated using Northern Blot analysis. The highest expression was detected in adipose tissue, more lower expression was detected in colon, small intestine, kidney, lung, while expression was not detected in brain, heart. PPAR γ expression was higher in adipose tissue of Korean cattle when aged 30 months than aged 12 months. These results indicated PPAR γ , regulator adipocyte gene expression and differentiation, related on adipose differentiation in Korean native cattle(HANWOO).

(Key words : Adipocyte differentiation, PPAR γ , Hanwoo)

I. 서 론

Peroxisome proliferator-activated receptor(PPAR)은 지질 대사에 관련된 유전자의 전사를 조절하는 전사인자로서 핵내 호르몬 수용체로 분류되어 있다. PPAR은 retinoid X 수용체(RXR)와 heterodimer을 형성하여 유전자의 promoter에 존재하는 peroxisome proliferator responsive element에 결합하여 전사활성을 조절한다 (Forman 등, 1995; Kliewer 등, 1992; Perlman

과 Jansson, 1995). 이러한 PPAR은 척추동물에는 α , β , γ 세 종류의 subtype이 존재하는 것으로 보고되고 있으며 각각의 subtype은 다른 유전자에 의하여 코드되고 라이간드 특이성을 나타내고 있다. PPAR에 대한 라이간드는 antidiabetic thiazolidinediones와 prostaglandin 유도체인 것으로 보고되고 있으며 이러한 라이간드의 작용에 의하여 PPAR은 혈중 triglyceride의 운반, 지방산의 세포내 도입, 퍼옥시솜과 미토콘드리아에 있어서 β -산화, 지방세포

Corresponding author : Man-Jong Kang, 300 Yongbong-Dong, Puk-Gu, Gwangju 500-757, Korea, Tel : 062-530-2113, E-mail : mj kang@chonnam.ac.kr

의 분화 등에 관련된 유전자의 전사를 조절하는 것으로 보고되어 있다(Grimaldi, 2001; Gottlicher 등, 1992; Kliewer 등 1995). PPAR β 는 광범위한 조직에서 발현을 하고 있으며 PPAR α 는 간장, 심장, 갈색지방, 신장에서 높게 발현하고 있는 것으로 보고되고 있다. 이들 유전자 중 PPAR γ 는 한 유전자의 alternative splicing에 의하여 두 종류의 단백질을 생산하고 있으며 각각 PPAR γ 1, 2로 분류되고 있다. 사람과 생쥐에 있어서 PPAR γ 1은 간장, 신장, 심장에서 높은 발현을 보이고 지방조직에서는 발현하고 있지 않은 것으로 보고되고 있다. 그러나 PPAR γ 2는 백색 지방조직에서 가장 많은 발현을 보이고 있는 것으로 보고되고 있다(Chawla 등, 1994; Tontonoz 등, 1994; Zhu 등, 1993). 특히 PPAR γ 2는 지방세포가 분화를 시작하는데 관련된 adipocyte P2 유전자와 간장과 신장에 있어서 포도당 신합성과 지방세포에 있어서 글리세라이드 신합성에 관계하는 phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK)와 같은 유전자의 발현을 조절하는 것으로 보고되고 있다(Schoonjans 등, 1996).

특히 PPAR γ 는 Nuclear receptor super-family에 속하며 N-Terminal domain, DNA binding domain, Ligand binding domain을 갖고 있다고 보고되어지고 있다(Brun과 Spiegelman, 1997; Forman 등, 1995; Kliewer 등, 1992; Perlman과 Jansson, 1995). Ligand-binding domain에 ligand가 binding한 PPAR γ 는 9-cis-retinoic acid receptor인 RXR과 이량체를 형성하여 지방분화관련 유전자의 cis-acting element 영역의 peroxisome proliferator response elements(PPRE)에 결합하여 지방분화를 조절하는 것으로 보고되고 있다.

대가축인 소에 있어서 PPAR γ 는 Norwegian Cattle에서 그 유전자가 보고되어 있으며 (Sundvold 등, 1997) 사람과 생쥐에서와 같이 지방조직에서 제일 높은 발현을 하고 있는 것으로 보고되었으나 한우에 있어서 PPAR 유전자는 보고된 바가 없다. 그러므로 본 연구는 한우에서 PPAR γ 유전자를 동정하여 그 염기서열을 결정하고 한우 조직에서 유전자의 발현을 확인하고자 실시하였다.

II. 재료 및 방법

기본적인 분자생물학적 방법은 Sambrook와 Russell(2001)의 Molecular cloning을 참고하였다.

1. Total RNA 정제

Total RNA는 수컷 한우 12개월령 또는 30개월령의 뇌, 심장, 간, 대장, 폐, 소장, 갈비, 등심, 신장지방, 장내지방의 각 장기를 사용하여 제조하였다. 먼저 1ml의 Trizol Reagent(Gibco BRL)에 0.2g의 조직을 넣고 Homogenizer한 후 에탄올 침전을 수행하여 Total RNA를 회수한 후 RNase-free water에 녹여 사용전까지 -70 $^{\circ}$ C에 보존하였다.

2. RT-PCR에 의한 PPAR γ cDNA cloning과 염기배열 결정

지방조직 Total RNA 5 μ g을 사용하여 Superscript II RNaseH-reverse transcriptase(Invitrogen)와 random primer를 이용하여 first strand cDNA를 합성하였다. PCR은 1 μ l first strand cDNA를 사용하여 NCBI에 보고된 bovine PPAR γ 유전자(accession No. 018971)에 상응하는 20 pmole sense(AATCCCTGT TCCGTGCTGTGAT GGGTGAAA)와 antisense(GAACTCGGACTTCT CTGCTAATACAAGTCC) primer를 이용하여 1 \times PCR-buffer, 0.5U ExTaq-polymerase(TaKaRa), 각 200 μ M dNTP 조성으로 denaturation 94 $^{\circ}$ C 30초, annealing 68 $^{\circ}$ C 30초, extension 72 $^{\circ}$ C 2분, 33cycle의 반응조건으로 PCR을 수행하였다. PCR 산물은 0.8% agarose gel에서 전기영동하여 확인하였으며 염기서열 결정을 위하여 T-vector (Promega)에 subcloning 하였다. 염기서열 결정은 ABI PRISM 377 sequencer(Applied Biosystems)을 사용하여 결정하였다. 결정된 염기서열의 분석은 Genetyx-win(version 4.0)을 이용하여 분석하였다.

3. Northern blotting에 의한 발현 분석

Northern blotting을 위하여 15 μ g의 Total RNA를 glyoxal에 의하여 변성시키고 1.5% 아가로스 젤에서 전기영동한 다음 zeta-probe membrane (Bio-Rad 사)에 전이시켰다. membrane은 5 \times SSPE, 5 \times Denhardt's, 1% SDS(w/v), 50% fromamide(w/v)을 포함하는 용액에서 42 $^{\circ}$ C, 15시간 hybridization을 실시하였다. probe는 cloning된 PPAR γ 1,515bp의 DNA 단편을 random labelling kit(Amersham 사)와 [α - 32 P]dCTP(110TBq/mmol, Amersham 사)를 이용하여 제조하였다. membrane은 hybridization 후 0.2%SSC, 0.1%SDS (w/v)에서 68 $^{\circ}$ C, 30분, 3회 세척한 다음 autoradiography를 실시하였다.

III. 결과 및 고찰

1. RT-PCR에 의한 한우 PPAR γ 유전자의 cloning

지방분화에 관련이 있는 것으로 보고되고 있는 한우 PPAR γ 유전자를 동정하기 위하여 12개월령 한우 수컷 지방세포로부터 추출한 Total RNA를 이용하여 RT-PCR를 수행하고 전기영동을 수행한 결과 Fig. 1에 나타낸 바와 같이 1.55kb의 밴드를 검출할 수 있었다. 이러한 결과는 Sundvold 등(1997)에 의하여 보고되어 있는 Norwegian cattle PPAR γ (NCBI Accession No. O18971)로부터 제작한 PPAR γ sense(AATCCCTGTTCCGTGCTGTGATGGGTGAAA) primer와 antisense(GAACTCGGACTTCTCTGCTAATACAAGTCC) primer를 이용하여 RT-PCR을 수행한 결과 증폭될 수 있는 DNA 크기와 일치하였으며 이를 T-vector에 subcloning하여 sequencing 하였다.

본 연구에서 cloning한 한우 PPAR γ 유전자를 sequencing한 결과 PPAR γ 유전자는 1515bp 염기서열, 505 아미노산으로 구성되어 있었다(Fig. 2). 그리고 PPAR γ 유전자는 2종류의 isotype을 갖고 있는데 이 둘의 차이점은 γ 2가 γ 1에 비해

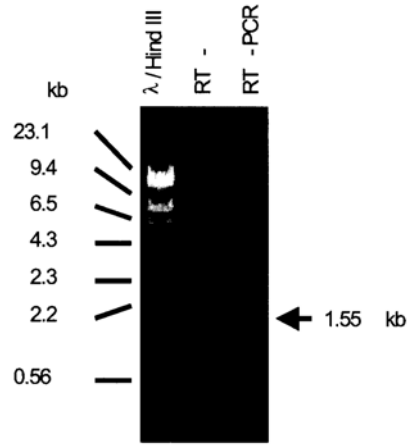


Fig. 1. RT-PCR of Hanwoo PPAR γ gene.

Total RNA from Hanwoo fat aged 12 months was isolated using TRIzol Reagent. Synthesis of first strand cDNA was performed using Superscript II Rnase H-reverse transcriptase (Invitrogen) with random primer and 5 μ g of total RNA as template. PCR-amplification was carried out in 50 μ l containing standard 1 \times PCR-buffer, 0.5 U Ex Taq-polymerase (Takara), 200 μ M of each dNTP, 20 pmole of sense(AATCCCTGT TCCGTGCTGTGATGGGTGAAA) and antisense(GAACTCGGACTTCTCTGCTAATACAAGTCC) primer and 1 μ l of the first strand cDNA-mix. The template was denatured for 1 min at 94 $^{\circ}$ C, followed by 35 cycles of amplification at 94 $^{\circ}$ C for 30 sec., 68 $^{\circ}$ C for 30 sec., 72 $^{\circ}$ C for 2 min., and terminated with 15 minutes at 72 $^{\circ}$ C. To ensure that PCR signals were not the result of contaminating genomic DNA, control samples(RT-) containing RNA, in which the reverse transcriptase was omitted from the step of cDNA synthesis, were run in parallel.

N-terminal 쪽에 약 90bp 정도의 염기서열이 더 존재하며 나머지 염기서열은 동일하다는 것이다. 본 연구에서 cloning된 PPAR γ 유전자는 γ 2 isotype으로 γ 1을 포함하고 있었으며 아미노산

```

ATGCGTGTGTCGCTGTCG
1 ATGGTGAACCGTGGGAGATGCTCTATTGACCCAGAGAGTGGCCCTTCGCTGTACA
MGETLGDALIDPESEFFAVT 20
61 GTGTCTCCAGGACTCCACAGAAATACCATGTTGACACAGAGATGCCGTTTTCGGCC
VSARTSQEITMVVDTEMPFWP 40
121 ACCACTTTCGGATCAGCTCCGTCGGACCTTCTATGATGGATGACCCCTCCGATGCTTT
TNFGISSVDLSMMDHSHAF 60
181 GACATACGCCCTTCCACCCCTTCGCTCTCCAGCATTTCCCTCCGACCTATGAGGC
DIKPFTTVDFSSISTPHYED 80
241 ACTCCGTTCCAGAGCTGACCCGATGTTGGAGATTATAGATGACCTGAGCTGACGAA
TPFPRADPMVADYKYDLKLQ 100
301 GAGTACCAAGTGGATCAGAGTGGCCCTGATCCGACCTTATATATCTGAAAGACT
EYQSAIKVEPVSPYYSEKT 120
361 CAGCTGTACAGTAGCCTCATGAGAGCCCTCCACTCCGCTCCGCTATATCTGAAAGACT
QLYSKPHEEPSNSLMAJECW 140
421 GTCTGTGGGATTAAGGTCAGGCTTCCCTATGAGATTCATCTGTGGGATGACGCT
VCGDKASGFHYGVHACGGCK 160
481 GGTTCCTCCGAGCATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATG
GFFERRTIRLKLIIYDRCDLNC 180
541 GGCATCCAGAGAAAGTACAGATATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATG
RIHKKSRNKCQYCRFQKCLA 200
601 GTGGGATGCTCATATGCTCCGCTTTCGCTCCGCTCCGCTCCGCTCCGCTCCGCTCCG
VGMSSHNAIRFGRMPQAEKEK 220
661 CTTGATGGGATTCGCGGATATCGCGGATGATCGCGGATGATCGCGGATGATCGCGGAT
LLAEISSDIDQLNPESADLR 240
721 GCGCTGGAGGATTTGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATG
ALAKHLYDSYIKSFPLTKAK 260
781 GCGAGGGGATCTTGGCGGAGAGCGAGGAGATCGCGGATGATGATGATGATGATGATG
ARAILTGKTTDKSPFVIYDM 280
841 ACTGCTTAATGATGGAGAGATAAATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATG
NSLMMGEDKIKFKHISPLQE 300
901 CCGAGAGAGGCTCCGCTCCGCTCCGCTCCGCTCCGCTCCGCTCCGCTCCGCTCCG
PSKEVAIRIFGQCQFRSVEA 320
961 GTCCGAGGATCAGGATCCGCTCCGCTCCGCTCCGCTCCGCTCCGCTCCGCTCCGCTCC
VQEITEYAKNIPGFVNLDLN 340
1021 GACAGGATGCTCTCAAAATACCGGCTCCGCGAGATGATGATGATGATGATGATGATG
DQVTLTKYGVHELLIYTMLAS 360
1081 TTGATGATAGGATGCGCTCCGCTCCGCTCCGCTCCGCTCCGCTCCGCTCCGCTCCG
LMNKDGVLLISEGQGFMTREF 380
1141 CTAAAGGCTCCGAGGCTTTCGCTCTTATGAGGCTCCGCTCCGCTCCGCTCCGCTCCG
LKSLRKPFPGDFMEPKFEFAV 400
1201 AGTTTACCGCTGGATTGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATG
KFNALELEDDSDLAIFIAVII 420
1261 CTGCTGAGGAGCCGCTTTCGCTCCGCTCCGCTCCGCTCCGCTCCGCTCCGCTCCGCT
LSGDRPGLLNVPKPIEDIQDN 440
1321 CTCTGAGGCTTTCGCTCCGCTCCGCTCCGCTCCGCTCCGCTCCGCTCCGCTCCGCT
LLQALELELQLKLNHPESQLF 460
1381 GCGAGCTCCGAGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATG
AKLLQKMTDLRQIVTEHVQL 480
1441 TTGAGGATTAAGAGAACGAGAGCGGCTGATGATGATGATGATGATGATGATGATGAT
LQVIKITETDMSLHPLLQEI 500
1501 TACAGGACTTGTATTACGAGAGAGTCCGAGTTC
YKDLY* 505

```

Fig. 2. Nucleotide and deduced amino acid sequences of Hanwoo PPAR γ . Nucleotide residues are numbered on the left; amino acids are numbered on the right. Nuclotide 1 is the A of the initiator AUG codon of PPAR γ 2 and Nuclotide 91 is the A of the initiator AUG codon of PPAR γ 1. The in-frame translation termination codon at 1516 is indicated by asterisk. DNA binding domain is one underlined and ligand binding domain is a dotted line. The Hanwoo PPAR γ cDNA includes a 1515-bp open reading frame encoding a protein of 505 amino acids.

구성을 위한 PPAR γ 2의 메치오닌 위치는 Fig. 2에 나타난 바와 같이 첫 번째 ATG였으며 PPAR γ 1의 메치오닌 위치는 91번째에 존재하는 ATG로부터 시작되었다. 또한 한우 PPAR γ 유전자는 사람과 설치류에서 이미 보고되었던 바와 같이 DNA binding domain(Zinc-finger)과 Ligand binding domain이 존재하였다. DNA binding domain(Zinc-finger)은 PPAR γ 에 의하여 전사조절을 받는 유전자의 cis-element 영역에 결합하는 부위로서 한우에서는 137번째 아미노산인 이소루신부터 211번째의 글리신까지가 다른 동물에서와 같이 잘 보존되어 있었다. 그리고 Ligand binding domain은 PPAR γ 에 결합하는 ligand가 결합하는 부위로서 한우에서는 321번째의 발린으로부터 474번째 아미노산인 발린까지 154개의 아미노산으로 구성되어 있었다.

Cloning된 한우 PPAR γ 의 아미노산 서열을 Norwegian cattle과 다른 동물에서의 PPAR γ 의 아미노산 서열과 비교분석하여 유전정보의 보존여부를 확인하였다. cloning한 한우 PPAR γ 유전자를 NCBI에 등록된 Norwegian cattle PPAR γ (NCBI Accession No. O18971) 아미노산 서열과 비교한 결과 99.2%의 상동성을 나타내었으며 아미노산 서열중 81번째 이소루신, 140번째 아르기닌, 157번째 글루탐산, 486번째 리신이 각각 트레오닌, 트립토판, 글리신, 이소루신으로 치환된 상태의 아미노산 서열을 나타내었다. 또한 한우 PPAR γ 유전자의 아미노산 서열과 NCBI에 등록된 사람(NCBI Accession NO. U63415), 쥐(NCBI Accession NO. NM_013124), 생쥐(NCBI Accession NO. BC021798), 돼지(NCBI Accession NO. AF103946)의 PPAR γ 아미노산 서열과 비교한 결과 한우 PPAR γ 의 아미노산 서열과 나머지 4종의 PPAR γ 의 아미노산 서열은 모두 90% 이상의 상동성을 나타냈으며 각각 사람과는 92%, 쥐와는 91%, 생쥐와는 91%, 돼지와는 93%의 상동성을 나타내었다. 특히 N-terminal쪽 보다는 C-terminal쪽의 상동성이 더 높았다. 이와 같이 각 종간에 매우

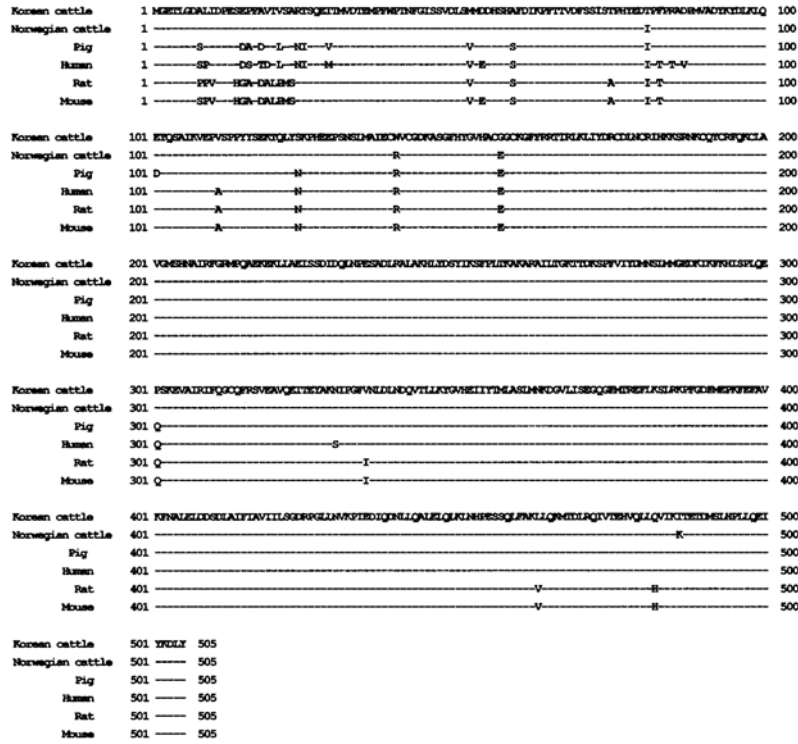


Fig. 3. The deduced amino acid sequence of Hanwoo PPAR γ was compared four mammalian species: human(NCBI Acession NO. U63415), Rat(NCBI Acession NO. NM_013124), Mouse(NCBI Acession NO. BC021798), Pig(NCBI Acession NO. AF103946) and Norwegian cattle PPAR γ (NCBI Acession No. O18971). Identical amino acid residues are indicated by dashes.

높은 상동성을 나타내는 것은 PPAR γ 유전자가 동물에 있어서 매우 중요한 기능을 수행하고 있는 것으로 생각되며 진화에 따라 매우 잘 보존되어 있음을 알 수 있었다.

특히 nuclear hormone receptor의 DNA binding domain 영역에 포함되는 140번째 아르기닌, 157번째 글루탐산이 각각 트립토판과 글리신으로 치환되어 있는 부위는 Norwegian cattle과 다른 동물인 돼지, 사람, 쥐, 생쥐와 차이를 보이고 있는 부분으로 한우 특이적이라고 할 수 있으며 이러한 아미노산의 치환은 앞으로 한

우 PPAR γ 유전자가 조절하는 다른 유전자와의 관계를 밝히는데 매우 중요한 점이 될 것으로 사료되어진다. 또한 이러한 염기배열의 차이가 한우 내에서도 polymorphism의 차이를 보일 가능성이 있으며 이러한 문제는 앞으로 연구가 진행되어야 할 부분이다. 그리고 polymorphism의 차이가 나타난다면 한우의 기능과 polymorphism에 의한 genotype과의 관계가 분자 유전학적으로 해석되어야 할 것으로 사료된다.

2. 한우 PPAR γ 유전자의 발현양상 분석

사람과 생쥐에 있어서 PPAR γ 1은 간장, 신장, 심장에서 높은 발현을 보이고 지방조직에서는 발현하고 있지 않은 것으로 보고되고 있다(Chawala과 Lazar, 1994; Tontonoz 등, 1994; Zhu 등, 1993). 그러나 PPAR γ 2는 백색 지방조직에서 가장 많은 발현을 보이고 있는 것으로 보고하고 있으며 지방합성 관련 유전자의 발현을 유도하는 것으로 알려져 있다. 그러므로 한우 PPAR γ 의 발현 양상을 지방 축적이 시작되는 12개월령 비거세우에서 확인하였다.

Trizol-reagent 방법으로 추출한 20 μ g Total RNA를 Glyoxal을 이용하여 변성한 후 1.2% agarose gel에 전기영동한 다음 Zeta probe membrane에 transfer한 후 PPAR γ 유전자 1.55Kb를 probe로 하여 Hybridization을 실시하였으며 wash후 X-ray film에 8일동안 노출하여

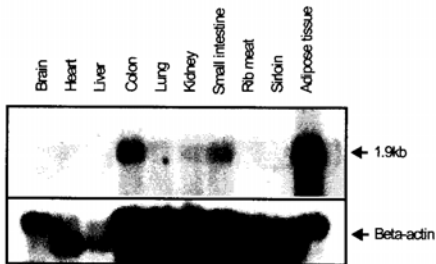


Fig. 4. Northern blot analysis of Hanwoo PPAR γ mRNA in various Hanwoo tissues.

Total RNA(20 μ g) prepared from the indicated Hanwoo tissues was subjected to electrophoresis on a 1.5% agarose gel, blotted onto a zeta-probe membrane, and then hybridized with the ³²P-labeled 1.55kb fragment of Hanwoo PPAR γ . The filter was washed in 0.1 \times SSC containing 0.1%(W/V) SDS at 68 $^{\circ}$ C for 30 min and then exposed to Kodak XAR-5 film with an intensifying screen at -80 $^{\circ}$ C for 78 h. Control hybridization with a bovine beta-actin probe is shown in the lower portion.

현상하였다. 그 결과 Fig. 4에 나타난 바와 같이 PPAR γ 는 특히 지방조직에서 높은 발현을 보였으며 대장과 소장, 신장, 폐 조직에서도 발현을 보였다. 반면에 뇌, 심장조직에서는 거의 발현되지 않았다. 이러한 결과는 Sundvold 등(1997)이 Norwegian cattle에서 보고한 발현양상과 매우 유사하였다. 또한 지방 조직 발달에 PPAR γ 가 관여하는 지를 검토하기 위하여 지방침착이 시작되는 12개월령과 지방발달이 성숙되어 있는 30개월령 수컷 한우의 지방조직에서 PPAR γ 유전자의 발현을 Northern blotting에 의하여 확인하였다. Fig. 5에 나타난 바와 같이 PPAR γ 의 발현은 12개월령 지방조직보다 30개월령 지방조직에서 약 6배정도 높은 발현을 나타내었다. 이와 같

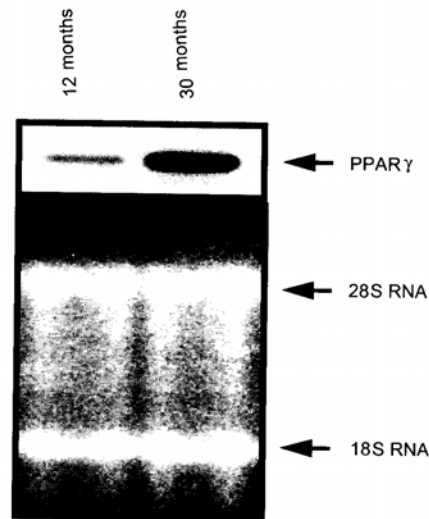


Fig. 5. Expression of PPAR γ transcripts at 12 months and 30 months aged of Hanwoo fat tissues.

Total RNA(10 μ g) was analysis by Northern Blotting with the Hanwoo PPAR γ probe as described Fig. 4, followed by exposure to Kodak XAR-5 film with an intensifying screen at -80 $^{\circ}$ C for 48 h. RNA loading was consistent among the lanes, as judged on ethidium bromide staining.

은 결과로 한우에서도 지방세포의 분화가 진행됨에 따라 생체내 PPAR γ 의 발현이 증가한다는 것을 알 수 있었다.

IV. 요약

지방세포분화 과정에서 중추적인 역할을 한다고 보고되어지고 있는 PPAR γ 유전자를 cloning 하기 위하여 한우 12개월 지방조직을 이용하여 Total RNA를 추출하고 RT-PCR을 수행하여 1515bp, 505 아미노산 서열을 가진 PPAR γ 유전자를 cloning 하였다. bovine을 제외한 4종의 다른 동물과의 아미노산 서열을 비교한 결과 모두 90% 이상의 상동성을 나타내었다. 특히 NCBI에 보고된 Norwegian cattle PPAR γ (NCBI Accession No. O18971)의 아미노산 서열과 비교한 결과 99.2%의 상동성을 나타내었으며 아미노산 서열중 81번째 이소루신, 140번째 아르기닌, 157번째 글루탐산, 486번째 리신이 각각 트레오닌, 트립토판, 글리신, 이소루신으로 치환된 상태의 아미노산 서열을 나타내었다. 특히 nuclear hormone receptor의 DNA binding domain 영역에 포함되는 140번째, 157번째 아미노산의 치환은 앞으로 한우 PPAR γ 유전자가 조절하는 다른 유전자와의 관계를 밝히는데 매우 중요한 점이 될 것으로 사료되어진다. 한우 PPAR γ 의 발현은 지방조직에서 매우 높은 발현을 보였으며, 한우 12개월령과 30개월령 지방조직에서의 PPAR γ 발현을 비교 분석하였을 때 12개월령에서보다 30개월령 지방조직에서 PPAR γ 발현이 약 6배정도 높았다. 이와 같은 결과는 한우 PPAR γ 유전자도 사람과 생쥐에서와 같이 지방분화에 관여하고 있다는 보고와 일치하는 결과라고 사료된다.

V. 사 사

본 연구는 농촌진흥청 바이오그린21사업의 지원에 의해 이루어진 것임.

Data deposition: The sequence reported in this paper has been deposited in the GenBank

database(accession no. AY179866).

VI. 인용 문헌

1. Brun, R. P. and Spiegelman, B. M. 1997. PPAR gamma and the molecular control of adipogenesis. *J Endocrinol* 155:217.
2. Brun, R. P., Tontonoz, P., Forman, B. M., Ellis, R., Chen, J., Evans, R. M. and Spiegelman, B. M. 1996. Differential activation of adipogenesis by multiple PPAR isoforms. *Genes Dev* 10:974.
3. Chawla, A. and Lazar, M. A. 1994. Peroxisome proliferator and retinoid signaling pathways coregulate preadipocyte phenotype and survival. *Proc Natl Acad Sci. U.S.A.* 91:1786.
4. Forman, B. M., Tontonoz, P., Chen, J., Brun, R. P., Spiegelman, B. M. and Evans, R. M. 1995. 15-Deoxy-delta 12, 14-prostaglandin J2 is a ligand for the adipocyte determination factor PPAR gamma. *Cell* 83:803.
5. Gottlicher, M., Widmark, E., Li, Q. and Gustafsson, J. A. 1992. Fatty acids activate a chimera of the clofibrate acid-activated receptor and the glucocorticoid receptor. *Proc Natl Acad Sci. U.S.A.* 89:4653.
6. Grimaldi, P. A. 2001. The role of PPARs in adipocyte differentiation. *Prog. Lipid. Res.* 40:269.
7. Kliewer, S. A., Umehono, K., Mangelsdorf, D. J. and Evans, R. M. 1992. Retinoid X receptor interacts with nuclear receptors in retinoic acid, thyroid hormone and vitamin D3 signalling. *Nature* 355:444.
8. Kliewer, S. A., Lenhard, J. M., Willson, T. M., Patel, I., Morris, D. C. and Lehmann, J. M. 1995. A prostaglandin J2 metabolite binds peroxisome proliferator-activated receptor gamma and promotes adipocyte differentiation. *Cell* 83:813.
9. Perlmann, T. and Jansson, L. 1995. A novel pathway for vitamin A signaling mediated by RXR heterodimerization with NGFI-B and NURR1. *Genes Dev.* 9:769.
10. Sambrook, J. and Russell, D. W. 2001. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY
11. Schoonjans, K., Staels, B. and Auwerx, J. 1996. The peroxisome proliferator activated receptors (PPARs) and their effects on lipid metabolism and adipocyte differentiation. *Biochim Biophys Acta.*

- 1302:93.
12. Sundvold, H., Brzozowska, A. and Lien, S. 1997. Characterisation of bovine peroxisome proliferator-activated receptors gamma 1 and gamma 2: genetic mapping and differential expression of the two isoforms. *Biochem Biophys Res Commun.* 239:857.
 13. Tontonoz, P., Hu, E., Graves, R. A., Budavari, A. I. and Spiegelman, B. M. 1994. mPPAR gamma 2: tissue-specific regulator of an adipocyte enhancer. *Genes Dev.* 8:1224.
 14. Tontonoz, P., Hu, E. and Spiegelman, B. M. 1994. Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPAR gamma 2, a lipid-activated transcription factor. *Cell.* 79:1147.
 15. Zhu, Y., Alvares, K., Huang, Q., Rao, M. S. and Reddy, J. K. 1993. Cloning of a new member of the peroxisome proliferator-activated receptor gene family from mouse liver. *J Biol Chem.* 268:26817.
- (접수일자 : 2003. 11. 7. / 채택일자 : 2004. 1. 30.)