

## 쥐 난소에서 난포 발달에 따른 Id3 mRNA의 발현

황성수<sup>1,†</sup> · 고응규<sup>1</sup> · 임현주<sup>1</sup> · 성환후<sup>1</sup> · 윤종택<sup>2</sup> · 민관식<sup>3</sup>

<sup>1</sup>농촌진흥청 축산과학원 응용생명공학부, <sup>2</sup>한경대학교 동물자원과학과, <sup>3</sup>한경대학교 생물환경·정보통신전문대학원

## Id3 mRNA Expression on Folliculogenesis in Rat Ovary

Seongsoo Hwang<sup>1,†</sup>, Yeoung-Gyu Ko<sup>1</sup>, Hyunjoo Lim<sup>1</sup>, Hwan-Hoo Seong<sup>1</sup>,  
Jong-Taek Yoon<sup>2</sup> and Kwan-Sik Min<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Animal Biotechnology Division, National Institute of Animal Science, RDA, Suwon 441-706, Korea

<sup>2</sup>Department of Animal Life & Resources and <sup>3</sup>Graduate School of Bio- & Information Technology, Hankyong University, Anseong 456-749, Korea

### ABSTRACT

Inhibitor of DNA binding protein or inhibitor of differentiation(Id) is largely considered as positive and/or negative regulators of proliferation, differentiation, angiogenesis, and apoptosis. The four Id genes(Id1, Id2, Id3, and Id4) were known in mammals. However, little is known about the expression and function of these genes in reproductive physiology. Among them, this study was conducted to analyze the expression pattern of Id3 mRNA on folliculogenesis in rat ovary. After PMSG administration, the ovaries were obtained at 3, 6, 12, 24, 36, and 48 hrs, fixed, dehydrated, and paraffin embedded. For *in situ* hybridization, anti-sense and sense Id3 cRNA probes were prepared and applied to the ovarian section. The ovarian sections were coated with NTB-2 emulsion. After that, the slides were developed and counterstained with hematoxylin and eosin staining. The hybridization signal was estimated on a scale of 1+ to 4+. In oocyte, the intensity of Id3 mRNA in primordial and primary follicles was scored at  $\geq 2+$ , but the intensity was less than 1+ in secondary, dominant, and preovulatory follicles. In granulosa cells, the Id3 mRNA was strongly expressed(3+ or 4+) in dominant and preovulatory follicles. Taken together, Id3 mRNA was expressed specifically at follicle stages and follicular tissue and might be closely related with follicle development.

(Key words : Id3, Ovary, Folliculogenesis, Rat, *In situ* hybridization)

### 요 약

DNA 결합 단백질 억제(Inhibitor of DNA binding protein) 또는 분화억제(Inhibitor of differentiation) 인자인 Id는 네 종류(Id1-4)가 있으며, 세포의 증식과 분화, 혈관 형성 및 세포자가사멸 등에 정 또는 부의 조절인자로서 널리 알려져 있다. 하지만 아직까지 번식생리 분야에서 이들 유전자들의 발현이나 기능에 대해 알려진 것은 거의 없다. 따라서 본 연구에서는 쥐 난소에서 난포의 발달에 따른 Id3 mRNA의 발현 양상을 살펴보고자 실시하였다. 쥐에게 PMSG 주사 후, 3, 6, 12, 24, 36 및 48시간째에 난소를 회수하여 고정, 탈수 및 파라핀 포매를 실시하였다. *In situ* hybridization 실험을 위하여 anti-sense와 sense Id3 cRNA 탐침자를 제작한 다음 난소 절편에 반응시켰다. 반응이 끝난 난소 절편은 NTB-2 유광제에 노출시킨 후 현상액에 반응시켰다. 모든 처리가 끝난 슬라이드는 H&E 염색을 실시한 다음 현미경하에서 hybridization 감도를 1+에서 4+로 구분하여 평가하였다. 난자에서는 Id3 mRNA 감도가 원시와 제1차 난포에서  $\geq 2+$ 으로 확인되었으나, 제2차, 우성 및 배란전 난포에서는 1+ 이하로 관찰되었다. 한편, 과립막세포에서는 우성과 배란 전 난포에서 Id3 mRNA가 3+ 또는 4+로 강하게 발현되는 것을 확인하였다. 이상의 결과를 종합하여 보면, Id3 mRNA는 난포의 발달 단계 또는 난포세포에 따라 특이적으로 발현하는 것으로 보아 난포의 발달과 밀접한 연관이 있을 것으로 사료된다.

### 서 론

난포 또는 황체의 발달 등 난소 내 조직들의 메커니즘을 이해하는 것은 자축의 번식 분야 연구에서 매우 중요

<sup>†</sup> Corresponding author : Phone: +82-31-290-1761, E-mail: hwangss@rda.go.kr

하다고 할 수 있다. 특히, 이들 조직들의 발달 및 사멸 등에 관한 메커니즘은 유전자들의 적절한 발현과 퇴화(degradation) 등과 밀접한 연관이 있다고 알려져 있다. 최근 western blotting 또는 연쇄 중합 반응(polymerase chain reaction) 기법을 응용한 다양한 분자생물학 기법의 발달로 인하여 조직 내의 유전자 발현을 관찰하는데 많은 기여를 하고 있다. 하지만 이들 기법들은 다른 조직들의 오염 없이 특정 조직만의 결과를 얻기는 어려운 것이 사실이다.

최근 laser captured microdissection(LCM) 기법의 개발로 인하여 동결 또는 파라핀 조직 절편으로부터 원하는 세포군만을 선택적으로 회수하여 유전자 발현 양상의 측정이 가능하였다(Luo 등, 1999; Simone 등, 2000). 하지만 이 기법은 고가의 장비를 구비하여야 한다는 점 때문에 보편적으로 사용되지는 못하고 있는 실정이다.

*In situ* hybridization(ISH) 기법은 세포 특이적 mRNA의 발현을 조직 내에서 측정할 수 있는 강력한 기법이라 할 수 있다(Matsui 등, 2004; Shimasaki 등, 2004). 게다가 mRNA의 ISH 기법은 다양한 발달, 생리적 또는 진단적 상태에서 유전자 발현의 변화 양상을 알 수 있도록 해준다.

DNA 결합 단백질 억제(inhibitor of DNA binding protein: Id) 또는 분화 억제(inhibitor of differentiation: Id) 인자로 알려진 Id는 현재 포유동물에서 Id1, Id2, Id3 및 Id4 등 4종류로 밝혀져 있으며, helix-loop-helix(HLH) 전사 조절 집단에 속하는 것으로 보고되었다(Howe 등, 2001). 이들 유전자들은 목표 유전자의 프로모터 내에서 E-box DNA sequence에 결합하는 것을 억제하는 basic HLH에 길항 기능이 있는 것으로 알려져 있다(Massari와 Murre, 2000; Norton, 2000). 비록 Id 유전자가 세포 분화에 역의 조절 기능이 있는 것으로 알려져 있으나, 최근에는 세포 증식이나 종양과도 밀접한 연관이 있다고 밝혀지고 있다(Springhorn 등, 1994; Norton, 2000; Lasorella 등, 2001). 한편, Id 유전자가 수컷의 고환 내 세르톨리(Sertoli) 세포에서 발현되는 것으로 알려져, 이들 유전자가 수컷의 생식 과정 즉, 정자 발생 과정(spermatogenesis) 등에 관여하는 것으로 보고되었다(Sablitzky 등, 1998; Chaudhary 등, 2001).

하지만 아직까지 난포 발달 과정에서 Id 유전자들의 역할과 관련하여 발표된 논문은 거의 없다고 해도 과언이 아니다. 따라서 본 연구에서는 쥐에서 생리 주기에 따른 난포의 발달 과정에서 Id3 mRNA의 발현 양상에 대하여 살펴보고자 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 파라핀 블록 제작

생후 27일된 암컷 쥐(SD)에 10 IU의 PMSG(Sigma, St. Louis, MO, USA)을 주사한 다음 3, 6, 12, 24, 36 및 48 시간째에 CO<sub>2</sub> 가스를 이용하여 희생시킨 후 난소를 적출하였다. 적출된 난소는 10% formalin(Neutral buffered, Sigma)에서 고정 후, PBS 세척, 탈수 및 파라핀 포매 과정을 거쳐 파라핀 블록으로 제작하였다. 하나의 파라핀

블록에는 최소 3개 이상의 각기 다른 개체의 난소를 함께 공시하였다. 27일령 쥐 난소를 0시간으로 간주하였다.

### Plasmid 제작과 Riboprobes 합성

*In situ* hybridization을 실시하기 위한 탐침자(probe)는 RT-PCR을 이용하여 제작하였다. 쥐 난소에서 total RNA를 추출한 다음 cDNA를 합성하였다. Id3 유전자를 위한 primer는 #1 ~ #20와 #494 ~ #513(513bp, GenBank NM\_013058) 영역을 선택하였다(Matsumura 등, 2001). 모든 PCR 생산물은 pGEM-T Easy Vector(Promega Corp. Madison, WI, USA)를 이용하여 클로닝하였다.

### *In Situ* Hybridization

파라핀 조직 절편은 xylene에 5분씩 3회 처리하여 탈파라핀을 실시하였고, 수분 재흡수를 위하여 100% 에탄올에 5분간 3회, 95% 에탄올에 5분간 2회, 70% 에탄올에 5분간 1회 및 50% 에탄올에 5분간 1회 처리하였다. 0.1% diethyl ester pyrocarbonic acid(DEPC) 처리된 증류수로 세정 후, proteinase K 처리를 하였다. Anti-sense and sense cRNA 탐침자는 Sp6 or T7 RNA polymerase를 이용하여 체외전사(*in vitro* transcription)를 실시하여 제작하였다. Hybridization은 <sup>35</sup>S 처리된 RNA 탐침자(1×10<sup>7</sup> cpm/ml)가 함유된 용액에 50%(v/v) deionized formamide, 0.3 M NaCl, 10 mM Tris(pH 8.2), 1 mM EDTA, 0.05% yeast tRNA, 10 mM dithiothreitol, 1×Denhardt's solution 및 10% dextran sulfate 등을 첨가하여 제작하였다. Hybridization 용액(75 μl/slide)을 각 조직에 도포한 후 커버 슬라이드를 덮고 liquid DPX로 밀봉하였다. 조직은 18시간 동안 60°C로 조절된 습윤 배양기에서 반응을 유도하였다. Hybridization 처리가 끝난 조직은 세정 후 ribonuclease A로 37°C에서 30분간 처리한 다음, 탈염 과정(2× SSC, 1× SSC 및 0.5× SSC, 각 5분씩)을 실시하였다. 마지막으로 0.1× SSC 용액에서 75°C에서 30분 동안 추가적인 탈염을 실시한 다음, 50% 에탄올 1회, 70% 에탄올 1회, 95% 에탄올 2회 및 100% 에탄올 3회씩(각각 5분간 처리) 단계적 탈수를 실시하였다. 탈수가 끝난 슬라이드를 1시간 동안 건조시킨 다음 Hyperfilm-β max(Amersham Pharmacia Biotech, Arlington Heights, IL, USA)에 3일 동안 노출시켰다. 방사선 사진(autoradiograph)은 난소 조직을 탈지방(defat), 탈수(dehydration) 및 NTB-2 emulsion(Kodak Co., Rochester, NY, USA) 침지를 실시한 후 4°C에서 3주 동안 노출을 시켰다. 노출이 끝난 슬라이드는 현상액(Kodak D19)과 고정액에 침지시켜 유광 처리를 중단하고, 45분 동안 증류수로 세정한 다음 hematoxylin과 eosin(H&E) 염색을 실시하였다.

### Hybridization 감도 분석

처리가 끝난 조직은 광학현미경 하에서 분석하였다. 모든 실험은 최소 3회 이상 반복적으로 실시하였다. Hybridization 처리에 따른 감도는 Erickson 등(1992 a,b; 1993)의 방법에 준하여 기록하였다. 난포의 종류는 원시(primordial), 제1차(primary; Fig. 1-A), 제2차(secondary; Fig. 1-B), 우성(dominant; Fig. 1-C), 퇴행(atresia; Fig. 1-D) 및 배란 전(preovulatory; Fig. 1-E) 난포로 구분하였다. Hybridization 신호는 감도에 따라 1+부터 4+까지의

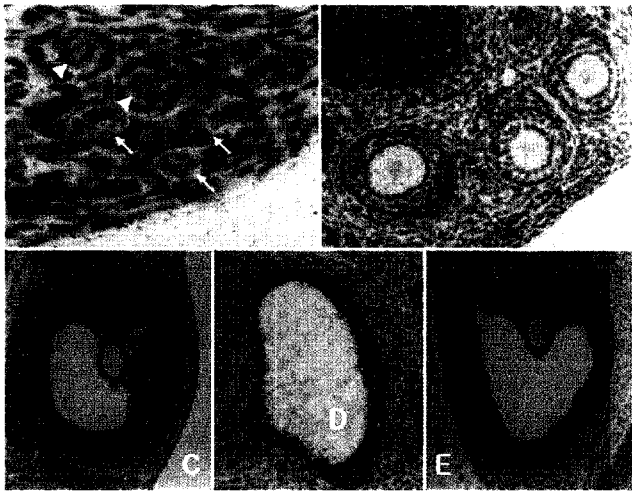


Fig. 1. Classification of rat ovarian follicles. A: primordial (arrow) and primary (arrow head) follicles; B: secondary follicles; C: dominant follicles; D: atretic follicle; E: preovulatory follicle

범위로 구분하여 기록하였다. 간단히 요약하면: +, silver 표지가 약하게 분포한 상태; ++, silver 표지가 다소 발현 하지만 전체적으로 발광하지 않은 상태; +++, silver 표지가 강하지만 겹쳐지지 않은 상태; +++, silver 표지가 매우 강하고 주변 세포들과 겹쳐진 상태; +/-, 일부 표지가 보이나 주변과 차이가 없는 상태; -, hybridization 표지가 없는 상태로 구분하여 기록하였다. 슬라이드는 두 명의 연구자가 각각 분석한 다음 그 결과를 서로 비교 분석 하였다. 모든 실험에서 sense 탐침자를 역의 대조군(negative control)으로 하여 실시하였다.

결 과

27일령 암컷 쥐로부터 PMSG를 주사하여 3, 6, 12, 24,

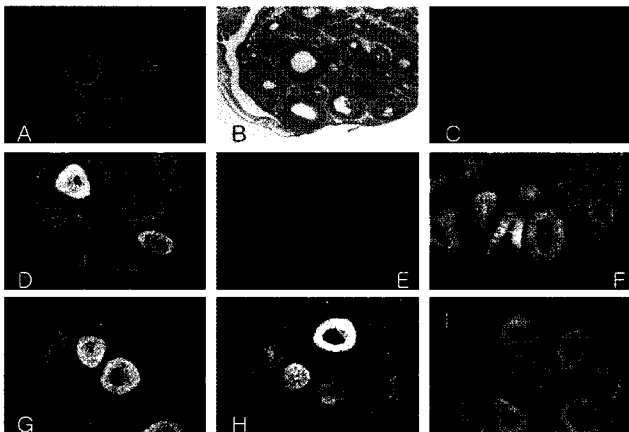


Fig. 2. The hybridization signals of Id3 mRNA in rat ovaries during estrus cycle. The signals were estimated by microscope with dark field. A: 27 day of ovary (anti-sense); B: 27 day of ovary [H&E stain, bright field (BF)]; C: 27 day of ovary (sense); D: 3 hr; E: 6 hr; F: 12 hr; G: 24 hr; H: 36 hr; I: 48 hr after PMSG injection

36 및 48 시간째에 회수한 쥐 난소에서 *in situ* hybridization 기법을 이용하여 Id3 mRNA의 hybridization 감도를 확인한 결과는 다음과 같다. Fig. 2-A는 27일령 쥐 난소에 Id3 anti-sense 탐침자, 2-B는 H&E 염색 그리고 Fig. 2-C는 sense 탐침자를 반응시킨 결과를 보여주고 있다. Anti-sense를 반응시킨 난소에서 여러 종류의 난포들에서 강하게 발현되는 것을 확인할 수 있었다. 하지만 sense 탐침자를 반응시킨 실험에서는 전혀 감도가 나타나지 않는 것을 확인할 수 있었다. 이상의 결과를 볼 때, 본 연구에 사용된 Id3 anti-sense 탐침자는 hybridization 실험에 적합하게 제조되었다는 것을 알 수 있었다. 이러한 탐침자로 생리주기에 따른 난포의 발달과 Id3 유전자의 발현을 확인한 결과는 시간대에 따라 약간의 감도 차이가 나타나기는 하지만 유사한 양상을 보여줌을 알 수 있었다(Fig. 2, D~I).

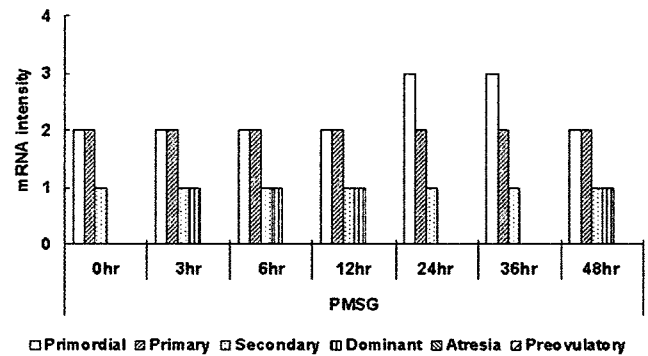


Fig. 3. Numerical values of the Id3 mRNA intensity in follicular oocyte. The hybridization signal was estimated on a scale of 1+ to 4+: +, silver grains sparse, but positive hybridization; ++, silver grains are numerous but do not cover the cell type in question; +++, silver grains are very numerous and begin to merge in some places; +++, silver grains are very dense and form a near uniform mass above the cell type in question.

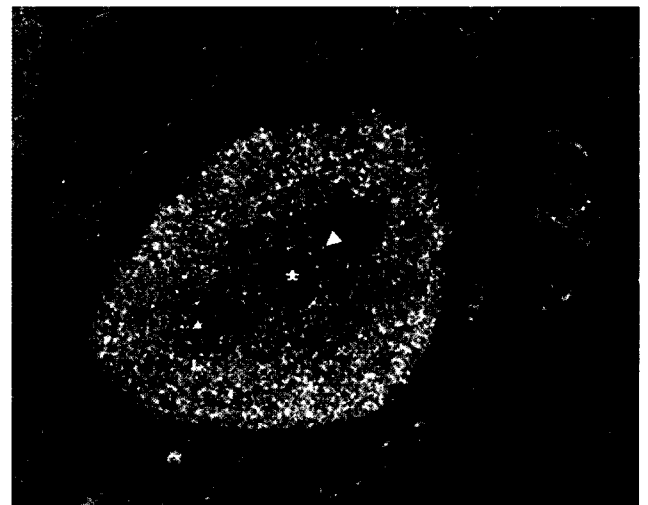


Fig. 4. The hybridization signals of Id3 mRNA in dominant follicles. The signals were observed strongly in granulosa cells (arrow) and granulosa cumulus cells (arrowhead), but not detected in oocyte (asterisk).

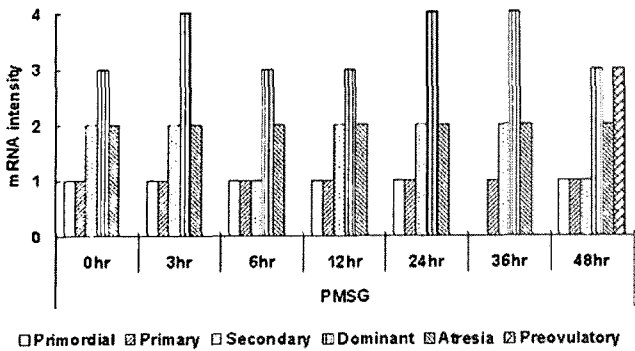


Fig. 5. Numerical values of the Id3 mRNA intensity in granulosa cells. The hybridization signal was estimated on a scale of 1+ to 4+: +, silver grains sparse, but positive hybridization; ++, silver grains are numerous but do not cover the cell type in question; +++, silver grains are very numerous and begin to merge in some places; +++++, silver grains are very dense and form a near uniform mass above the cell type in question.

Id3 유전자의 발현 양상을 조직 별로 구분하여 살펴본 결과는 다음과 같다. 먼저 난자의 경우, 원시 난포와 제1차 난포의 경우 생리주기 전반에 걸쳐 2+의 이상의 감도로 발현되는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 3). 특이한 것은 발달 단계가 진행된 난포의 난자에서는 Id3 유전자의 발현이 낮게 또는 나타나지 않는다는 것이다. 이러한 현상은 우성 난포, 퇴행 난포 및 배란전 난포에서 비슷한 양상을 나타내었다(Fig. 4).

과립막 세포들에서 Id3 유전자의 발현 양상은 그림 5에서 나타난 바와 같다. 전체 생리주기에서 원시와 제1차 난포에서 과립막세포에서는 Id3 mRNA가 거의 발현이 되지 않았으나, 2차 난포부터는 점차 발현 강도가 강해지기 시작하여 우성난포에서 가장 강하게 발현하는 것을 확인할 수 있었다. 특히 24시간째와 36시간째에 우성 난포의 과립막 세포에서 4+ 감도의 강한 발현을 보였다. 또한, 48시간째에는 배란 전 난포에서도 과립막 세포에서 Id3 mRNA가 3+의 감도로 강하게 발현되는 것을 확인하였다.

## 고 찰

본 연구에서는 쥐에서 생리주기에 따른 난포의 발달 과정에서 Id3 mRNA의 발현 양상에 대하여 살펴보고자 실시하였다. 연구 결과 원시 난포와 제1차 난포의 난자에서 Id3 유전자의 발현이 강하게 나타나지만, 이후 난포의 발달 단계에 따라 난자에서의 Id3 mRNA가 거의 발현이 되지 않는다고는 것을 확인하였다. 한편, 과립막세포에서의 Id3 mRNA 발현 양상은 난자에서 Id3 mRNA의 발현과는 반대로 나타났다. 즉, 원시와 제1차 난포에서 과립막 세포에서는 Id3 mRNA가 거의 발현이 되지 않았으나, 점차 발현 강도가 강해지기 시작하여 우성 난포에서 가장 강하게 발현하는 것을 확인할 수 있었다.

전사 조절체로서의 Id 유전자는 조류의 난자 발생(avian embryogenesis; Kee와 Bronner-Fraser, 2001a;b;c), 신

경세포 분화(Nagata와 Todokoro, 1994) 및 vascular smooth muscle cell 증식(Matsumura 등, 2002)과 등과 밀접한 연관이 있다고 보고되었다. 또한, 최근에 Coppe 등(2004)이 Id 1&2 유전자가 암세포에 대한 biomarker로서 사용될 수 있다고 보고하였다.

이렇듯 Id 유전자는 여러 조직 형태에서 다양한 기능이 있는 것으로 보고되고 있으나, 아직까지 포유류의 번식관련 기관이나 생식세포 등에서의 연구는 많이 부족한 것이 사실이다. 최근 배아의 착상시기에 착상부위에서 Id1 유전자의 발현이 차이를 보이고(Reese 등, 2001), 자궁에서 에스트로겐에 의해서 Id2 유전자의 발현이 감소된다고 보고하였다(Watanabe 등, 2002; Nah 등, 2003).

생식선에서의 Id 유전자의 발현은 Sablitzky 등(1998)이 분화와 분열이 끝난 세르톨리 세포에서 Id 유전자가 발현된다고 보고하여 생식세포의 발달에도 이 유전자가 직접적으로 관여하고 있음이 알려졌다. 이후 Chaudhary 등(2001)은 세르톨리 세포에서 Id 1~4 유전자가 각기 달리 조절이 되며, 또한 각자 다른 기능이 있는 것으로 보고하였다. 즉, Id1 유전자는 세르톨리 세포의 성장을 유지하는 기능이 있지만, Id2와 Id4는 세르톨리 세포의 분화와 호르몬 조절에 관여하는 것으로 보고하였다. 반면 상대적으로 발현이 약한 Id3 유전자는 transferrin 프로모터 활성화에 직접적으로 영향을 미치는 것이 아니라 전사 조절에 관여하는 것으로 보고하였다.

하지만 난소 내에서 이들 유전자들의 발현, 특히 Id3 mRNA 발현에 대하여는 보고된 바가 거의 없다고 해도 과언이 아니다. 홍 등(2004)은 체외 배양 실험에서 Id3 mRNA가 미성숙(germinal vesicle) 난자와 배란포 단계에서 강하게 발현한다고 보고하였다. 이러한 연구 결과는 배란 전 난포의 난자에서 Id3 mRNA가 발현되지 않았다는 본 연구의 결과와는 다른 양상을 보여주고 있다. 이러한 차이는 연쇄 중합 반응의 경우, 아주 적은 양의 유전자라도 다량으로 증폭시키는 특성의 차이가 아닌가 생각된다. *In situ hybridization* 기법은 조직 또는 세포 내에 존재하는 특정 유전자의 mRNA에 직접적으로 반응을 하기 때문에 연쇄 중합 반응을 통해 증폭된 연구 결과와는 다소 차이가 날 수도 있을 것으로 사료된다.

흥미로운 것은 퇴행 난포에서도 Id3 mRNA의 감도가 감소되기는 하였으나, 지속적으로 발현되는 것을 확인할 수 있었다. 이는 Id3 유전자가 난포의 발달 및 퇴행, 즉, 과립막 세포의 증식, 분화 및 사멸에 모두 관여하고 있다는 가능성을 보여주는 것이라 할 수 있겠다. 따라서 이들 Id 유전자들이 어떤 메커니즘을 통해 난포의 발달 및 퇴행에 관여하는지를 확인하는 것은 난소의 생리를 이해하는데 매우 중요하다 하겠다.

한편, 난포의 발달에 따라 과립막세포나 난구세포 등에서 Id3 mRNA가 강하게 발현하는 것과는 달리 내외 협막세포에서는 발현이 되지 않는 것으로 나타나 Id3 유전자가 과립막 세포 특이적 발현 양상을 나타내는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 현상은 Id3 유전자가 난포의 발생단계별 또는 조직 특이적으로 발현이 조절되고, 발현 시기 및 발현 부위에 따라 그 기능에 차이가 있을 수 있음을 나타낸다고 하겠다.

이상의 결과를 종합하여 보면, Id3 mRNA는 전체 생리주기 기간에 걸쳐 발현이 나타나고, 난포의 발달 단계에 따라 조직특이적 발현 양상을 보여 난포의 발달과 밀접

한 연관이 있음을 알 수 있었다. 추후 knock-down 실험 등 난포의 발달에서 Id3 유전자의 기능을 이해할 수 있는 추가적인 실험이 진행되어야 할 것으로 사료된다.

## 인용문헌

- Chaudhary J, Johnson J, Kim G, Skinner MK (2001): Hormonal regulation and differential actions of the helix-loop-helix transcriptional inhibitors of differentiation (Id1, Id2, Id3 and Id4) in Sertoli cells. *Endocrinology* 142:1727-1736.
- Coppe JP, Itahana Y, Moore DH, Bennington JL, Desprez PY (2004): Id-1 and Id-2 proteins as molecular markers for human prostate cancer progression. *Clinical Cancer Research* 10:2044-2051.
- Erickson GF, Nakatani A, Ling N, Shimasaki S (1992a): Cyclic changes in insulin-like growth factor binding protein-4 (IGFBP-4) mRNA in the rat ovary. *Endocrinology* 130:625-636.
- Erickson GF, Nakatani A, Ling N, Shimasaki S (1992b): Localization of insulin-like growth factor-binding protein-5 messenger ribonucleic acid in rat ovaries during the estrous cycle. *Endocrinology* 130:1867-1878.
- Erickson GF, Nakatani A, Ling N, Shimasaki S (1993): Insulin-like growth factor binding protein-3 gene expression is restricted to involuting corpora lutea in rat ovaries. *Endocrinology* 133:1147-1157.
- Howe HL, Wingo PA, Thun MJ, Ries LA, Rosenberg HM, Feigal EG, Edwards BK (2001): Annual report to the nation on the status of cancer (1973 through 1998), featuring cancers with recent increasing trends. *J Natl Cancer Inst* 93:824-842.
- Kee Y, Bronner-Fraser M (2001a): Id4 expression and its relationship to other Id genes during avian embryonic development. *Mechanisms of Dev* 109:337-340.
- Kee Y, Bronner-Fraser M (2001b): Temporally and spatially restricted expression of the helix-loop-helix transcriptional regulator Id1 during avian embryogenesis. *Mechanisms of Dev* 109:331-335.
- Kee Y, Bronner-Fraser M (2001c): The transcriptional regulator Id3 is expressed in cranial sensory placodes during early avian embryonic development. *Mechanisms of Dev* 109:337-340.
- Lasorella A, Uo T, Iavarone A (2001): Id proteins at the cross-road of development and cancer. *Oncogene* 20:8326-8333.
- Luo L, Salunga RC, Guo H, Bittner A, Joy KC, Galindo JE, Xiao H, Rogers KE, Wan JS, Jackson MR, Erlander MG (1999): Gene expression profiles of laser-captured adjacent neuronal subtypes. *Nat Med* 5:117-122.
- Massari ME, Murre C (2000): Helix-loop-helix proteins: regulators of transcription in eucaryotic organisms. *Mol Cell Biol* 20:429-440.
- Matsui M, Sonntag B, Hwang SS, Byerly T, Hourvitz A, Adashi EY, Shimasaki S, Erickson GF (2004): Pregnancy-associated plasma protein-a production in rat granulosa cells: stimulation by follicle-stimulating hormone and inhibition by the oocyte-derived bone morphogenetic protein-15. *Endocrinology* 145:3686-3695.
- Matsumura ME, Li F, Berthoux L, Wei B, Lobe DR, Jeon C, Hammarskjold ML, McNamara CA (2001): Vascular injury induces posttranscriptional regulation of the Id3 gene: cloning of a novel Id3 isoform expressed during vascular lesion formation in rat and human atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 21:752-758.
- Matsumura ME, Lobe DR, McNamara CA (2002): Contribution of the helix-loop-helix factor Id2 to regulation of vascular smooth muscle cell proliferation. *J Biol Chem* 277:7293-7297.
- Nagata Y, Todokoro K (1994): Activation of helix-loop-helix proteins Id1, Id2, and Id3 during neural differentiation. *Biochem Biophys Res Commun* 199:1355-1362.
- Nah HY, Hong SH, Lee JY, Chae HD, Kang BM, Kim CH (2003): Id-1 expression in the mouse uterus. *Kor J Fertil Steril* 30:171-178.
- Norton JD (2000): ID helix-loop-helix proteins in cell growth, differentiation and tumorigenesis. *J Cell Sci* 113:3897-3905.
- Reese J, Das SK, Paria BC, Lim H, Song H, Matsumoto H, Knudtson KL, DuBois RN, Dey SK (2001): Global gene expression analysis to identify molecular markers of uterine receptivity and embryo implantation. *J Biol Chem* 276:44137-4445.
- Sablitzky F, Moore A, Bromley M, Deed RW, Newton JS, Norton JD (1998): Stage- and subcellular-specific expression of Id proteins in male germ and Sertoli cells implicates distinctive regulatory roles for Id proteins during meiosis, spermatogenesis, and Sertoli cell function. *Cell Growth Differ* 9:1015-1024.
- Shimasaki S, Moore RK, Otsuka F, Erickson GF (2004): The bone morphogenetic protein system in mammalian reproduction. *Endocr Rev* 25:72-101.
- Simone NL, Remaley AT, Charboneau L, Petricoin EF 3rd, Glickman JW, Emmert-Buck MR, Fleisher TA, Liotta LA (2000): Sensitive immunoassay of tissue cell proteins procured by laser capture microdissection. *Am J Pathol* 156:445-452.
- Springhorn JP, Singh K, Kelly RA, Smith TW (1994): Posttranscriptional regulation of Id1 activity in cardiac muscle. Alternative splicing of novel Id1 transcript permits homodimerization. *J Biol Chem* 269:5132-5136.
- Watanabe H, Suzuki A, Mizutani T, Khono S, Lu-

- bahn DB, Handa H, Iguchi T (2002): Genome-wide analysis of changes in early gene expression induced by oestrogen. *Genes Cells* 7:497-507.
25. 홍석호, 나희영, 이영진, 이지원, 손영수, 채희동, 김성  
훈, 강병문, 김정훈 (2004): 착상 전 생쥐배아에서 Id  
유전자의 발현. *대한불임학회지* 31:201-207.  
(접수일자: 2007. 8. 13 / 채택일자: 2007. 9. 12)