

Effects of Protein Kinase Inhibitors on the Transition of Female Chromatin in Parthenogenetically Activated Mouse Oocytes

파엘산부인과, 한양대학교 생물학과*

최규완 · 심효남 · 김수경 · 전한식
양현원 · 차영범 · 이승재 · 박종민
계명찬 · 김문규

포유 동물의 난자는 수정에 의해 활성화되고, 이후 감수분열의 재개, 피질과립 및 제 2극체의 방출, 난자 세포질내 정자핵과 난자핵의 탈응축 및 전핵 형성등의 초기 수정현상이 진행된다. 이 과정은 다양한 신호 전달체계(signal transduction)에 의해 조절되며, 특히 정자핵의 remodelling과 수정난의 세포 주기의 진행은 단백질의 합성 및 인산화 기작에 의해 조절된다. 따라서 본 연구는 생쥐의 난자에서 활성화 전후에 단백질 인산화 억제제들(1 mM 6-DMAP, 100 μM genistein)을 처리한 후 활성화 및 활성화 이후 감수분열 증기 염색체에서 시상전핵으로의 전이 양상을 관찰하여 그 시기에 활성화된 단백질이 이에 미치는 영향을 조사하였다.

8주된 ICR계 생쥐에서 과배란 유도하여 얻은 난자에 0.1% hyaluronidase를 처리하여 난

구세포를 제거하였다. 8% ethanol로 활성화시키기 전후에 억제제를 처리한 실험군과 억제제 처리없이 활성화시킨 난자를 대조군으로 하여 제 2극체 방출, 전핵형성 및 전핵내 인의 수를 관찰하였다.

제 2극체 또는 전핵의 유무로 판단한 난자의 활성화는 억제제 전처리군(+/-)이 대조군 및 다른 실험군보다 낮았으나 후처리(+/-)에 의해 증가되었다(Table 1).

DMAP 전처리시(+/-) 전핵형성이 억제되었으나 후처리시(+/+) 다시 증가되었으며, Genistein 전처리(+/-, +/+)는 전핵형성을 증가시켰으며, 활성화된 난자에 처리시(-/+) 억제 효과를 나타내었다(Table 1).

DMAP 처리시 제 2극체의 방출은 억제되고 활성화된 난자의 56.9%(29/51)에서 2개의 전핵을 형성한 반면에 genistein 처리시 69.8%(30/43)에서 제 2극체와 한개의 전핵을 형성하였다.

전핵안의 인(nucleolus)의 평균 수는 대조군이 1.7개, DMAP군이 3.5개였고, genistein군이 1.2개로 대부분의 전핵에서 1개의 인만이 관찰되었다(Table 1).

이상에서 난자의 활성화 전후 난자내의 다양한 protein kinase들에 의해 서로 다른 단백질들이 활성화되며, 이를 단백질(효소)의 활성화는 난자핵의 선이(transition) 즉 감수분열 재개, 제 2극체의 방출, 전핵 형성 및 전핵에서의 선사활성을 각기 다른 방법으로 조절하는 것으로 사료된다.

Table 1. Transition of female chromatin in parthenogenetically activated mouse oocytes*

Inhibitors	Total No. of Oocytes	# Activated Oocytes (%)	% Pronuclear Formation			# Nucleoli per PN
			1PN	2PN	# Total PN	
Control(-/-)	27	17(65.4)	41.2	11.8	52.9	1.7
DMAP(-/+)	27	24(88.9)	37.5	62.5	100.0	2.8
DMAP(+/-)	34	7(21.9)	42.9	14.3	57.1	6.4
DMAP(+/+)	32	22(68.8)	40.9	59.1	100.0	3.8
Genin(-/+)	37	27(75.0)	58.9	0.0	37.0	1.2
Genin(+/-)	22	12(54.5)	83.3	0.0	83.3	1.5
Genin(+/+)	22	14(63.6)	71.4	0.0	71.4	1.0

* Oocytes were treated with 6-DMAP or genistein before and/or after aetivation by 8% ethanol.