

Studies on Cell Cycle Genes Involved in Male Germ Cell Development

서울대학교 분자생물학과

이 건 수

I. 유핵세포의 세포주기 조절

다세포 생물의 발생과정에서 세포주기 (cell cycle)는 세포 분화와 맞물려 정교하게 조절된다. 만일 발생 과정 중 세포주기가 정확히 조절되어지지 않으면 정상적인 배 발생이 이루어지지 않고, 결국은 배 사망 (embryonic lethal) 및 기형 (deformed)이 유발된다는 사실이 최근의 유전자 표적 (gene targeting) 방법을 포함한 여러 실험들로 증명되었다. 또한 암을 비롯한 여러 질병들이 세포 분열 조절 기작의 이상에 기인됨도 잘 알려져 있다.

모든 유핵세포의 세포주기는 근본적으로 동일한 기작에 의해 조절되어진다. 즉, 단세포인 효모 (yeast)로부터 포유동물 세포에 이르기까지 모든 유핵세포의 세포주기는 checkpoint라는 특정 시기에서만 조절이 일어나며, 이 checkpoint를 통과하려면 cyclin-dependent kinase (Cdk)라는 인산화효소 (protein kinase)의 활성도가 요구된다. Cdk 효소 활성도가 유도되면 세포는 checkpoint를 통과할 수 있고, 결국 세포주기가 진행된다.

비록 세포주기 조절 기작이 근본적으로 유사하다고는 하나, 포유동물에서의 조절 기작은 단세포 생물인 효모 (yeast)에서의 경우와 차이를 보이는데, 그중 하나가 Cdk 유전자의 다양성이다. 즉, 효모에서는 오직 한 종류의 Cdk가 발견되며, 이 Cdk가 세포주기 상의 모든 checkpoint 조절에 관여하는 반면에, 포유동물에는 여러 종류의 Cdk가 존재함이 잘 알려져 있다. 각 Cdk들은 포유동물 세포주기의 일부 checkpoint의 통과에만 관여하여 한다. 예를 들어 MPF (M-phase promoting factor)의 구성인자인 Cdc2는 G2/M기 전환에만 관여한다. 또한 Cdk4의 경우는 G1기의 진행에만 결정적인 역할을 담당한다.

II. 여성 생식세포 발생 과정에서 세포주기 유전자의 발현

대부분의 포유동물의 여성 생식세포는 사춘기에 이른 후에야 본격적인 발생이 시작된다. 포유동물의 생식세포는 정소의 기본구조인 세정관 (seminiferous tubule)의 내부에서 발생한다. 줄기세포 (stem cell)에 해당하는 정원세포 (spermatogonium)는 세정관 벽 쪽에 위치하여 체세포분열을 통하여 자가증식을 하고, 또한 일부의 세포는 정모세포 (spermatocyte)로 분화되어진다. 세포주기 상으로는 감수분열 전기 (meiotic prophase)에 해당되는 정모세포 (spermatocyte)는 감수분열 후 반수체인 정세포 (spermatid)가 된다. 처음에는 원형이었던 정세포 (spermatid)는 이후 급격한 형태학적 변화를 거쳐 기다란 정세포 (elongated spermatid)로 변형되고, 결국 정자 (spermatozoa)로 분화되어 tubule 중앙의 통로 (lumen)를 통하여 정소 (testis)를 빠져나가게 된다.

여성 생식세포의 발생단계에서 Cdk의 발현을 조사해 본 결과 (Rhee and Wolgemuth, 1995),

*Cdc2*와 *Cdk2*는 정모세포에서 가장 강력하게 발현되다가 일단 감수분열이 일어나서 반수체가 된 정세포에는 그 발현이 급격히 감소하였다. 이는 *Cdc2*와 *Cdk2*가 감수분열에 중요한 역할을 한다는 예측과 일치하는 결과이다. *Cdk4*의 경우에는 정원세포에서만 발현이 관찰되었다. 실제로 웅성 생식세포 가운데 정원세포만이 체세포분열을 하므로, 세포주기의 G1에 그의 기능이 있다는 *Cdk4*가 정원세포에 발현됨이 관찰됨은 지금까지 알려진 기능과 일치하는 결과이다. 이에 반해 *Cdk family* 유전자인 *Pctaire1*과 *Pctaire3*는 감수분열 결과로 반수체가 된 정세포에서 가장 강력하게 발현됨이 관찰되었다. 이는 *Cdk family* 유전자들 가운데도 세포주기의 조절 이외의 조절 기작에 참여하는 유전자도 있음을 시사하는 결과이며, *Pctaire1* 유전자의 기능에 대한 지속적인 연구를 진행시키고 있다 (Besset *et al.*, 1999).

Cdk 이외에도 세포주기의 조절에 관여한다고 알려진 유전자들의 발현을 웅성 생식세포에서 조사하여 보았다 (Wolgemuth *et al.*, 1998). 이 결과를 종합하여 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다. 첫째, 많은 세포주기 유전자들은 기대되는 기능과 부합되는 세포에 발현되었다. 예를 들어, 감수분열의 G2/M 기 전환에 중요하다고 알려진 MPF (M-phase promoting factor)의 구성성분인 *Cdc2*와 *cyclin B*는 감수분열 직전에 있는 정모세포에 강력하게 발현되었다. 두 번째, 일부의 유전자들은 기대되는 기능과 연결시키기 어려운 세포군에서 발현되었다. 예를 들면, *cyclin D3*는 세포주기의 G1 기에 기능이 있다고 알려졌으나, 의외로 반수체인 정세포에서 강력하게 발현되었다. 이로 보아 이들 유전자의 기능이 기존에 알려졌던 것보다 더욱 다양함을 짐작할 수 있었다. 마지막으로, *cyclin A1*과 같은 일부 유전자들은 웅성 생식세포에서만 특이하게 발현되었다. 이들 유전자들은 웅성 생식세포에서만 특이하게 관찰되는 세포주기 현상을 진행시키고 조절하는 기작에 필요할 것으로 기대된다.

III. 새로운 유전자의 동정

웅성 생식세포의 발생에는 체세포분열과 감수분열이 동시에 관찰된다. 지금까지의 연구에 의하면 감수분열의 조절도 기본적으로 체세포분열과 유사한 방법으로 조절됨이 알려져 있다. 하지만 감수분열에서만 특이하게 관찰되는 현상들, 즉 상동염색체의 접합 및 재조합, DNA 합성 없이 두 번 연속분열 등이 일어나려면 감수분열은 체세포분열에서 찾아볼 수 없는 조절 기작이 존재할 것이라고 유추할 수 있다.

위의 가정을 검증하기 위하여 웅성 생식세포에서 발현되는 *Cdk* 유전자들을 PCR 방법과 cDNA library screening 방법 등으로 동정하였고, 그 결과 몇몇 흥미 있는 유전자들을 발견할 수 있었다. 그중 하나인 *Pftaire1*은 지금까지 알려지지 않은 새로운 *Cdk* 계 유전자로서, 구조적으로는 *Cdk5* 및 *Pctaire1*과 유사하다. *Pftaire1*은 신경세포와 웅성 생식세포에서 특이적으로 발현되는데, 특히 감수분열 직전의 정모세포에서만 특이적으로 발현되는 것으로 보아 *Pftaire1*이 감수분열에 기능이 있으리라는 유추를 가능케 한다 (Besset *et al.*, 1998).

본인들이 동정했던 유전자중 하나인 *Nek2*는 구조적으로 *Aspergillus nidulans*의 유전자인 *nimA*와 유사성을 보인다 (Rhee and Wolgemuth, 1997). 최근의 여러 연구들의 결과에 의하면 *Cdk* 이외의 다른 단백질 인산화 효소들도 세포주기 조절에 관련하여 중요한 역할을 담당한다고 밝혀졌다 (Gallant *et al.*, 1995). *nimA*도 *Aspergillus* 세포주기의 G2/M 간기 전환 (G2/M phase transition)에 결정적으로 필요함이 유전학적인 연구에 의하여 밝혀졌다. 즉, NIMA활성도가 없는 *nimA^Δ* 돌연변이 *Aspergillus* 세포주에서는 비록 *Cdk*의 활성이 정상적으로 증가되어도 그의 세포주기는 G2 간기에서 억제됨이 관찰되었다 (Osmani *et al.*, 1991). 또한 *Cdk*의 활성이 억제되어 세포주기가 G2 간기에서 정지되는 돌연변이체에서의 NIMA의

활성도는 정상적으로 증가되는 것이 관찰되었다. 이런 결과로 미루어보아, NIMA는 Cdk와는 독립적으로 G2/M 간기전환에 필요한 효소라고 믿어진다 (Osmani *et al.*, 1991).

*nimA*와 구조적으로 유사한 *Nek2*가 기능적으로도 유사하다는 증거들을 찾아볼 수 있었다. 먼저 *Nek2*는 세포분열이 왕성한 조직에 많이 발현되며, 특히 세포주기상 G2 간기 상태에 해당되는 정모세포에서 더욱 강력히 발현되는 것으로 보아, *Nek2*의 기능이 세포주기와 연관 있음을 시사한다 (Rhee and Wolgemuth, 1997). *Nek2*는 *Aspergillus* NIMA와 동일한 기질 특이성을 나타내어, casein을 생화학적 기질 (in vitro substrate)로 선호한다 (Lu *et al.*, 1994; Fry *et al.*, 1995). 또한, *Nek2*의 발현은 세포주기에 따른 특이성을 보여, G2 간기에서 *Nek2*의 발현이 증가되어 있다가, M 간기를 지나 G1 간기에 이르면 다시 그의 발현이 급속히 감소되어진다. 특히, *Nek2* 단백질이 정모세포 염색체 상에 존재하는 것은 *Nek2*의 기능이 염색체의 응축 및 풀림에 관여할 것이라는 추측을 가능케 한다 (Rhee and Wolgemuth, 1997).

IV. 결 론

지난 십여 년에 걸쳐서 급속도로 얻어진 세포주기에 관한 지식은 웅성 생식세포의 발생을 분자생물학적인 수준에서 이해하는데 크게 기여하였다. 하지만 아직도 기작을 명확히 설명하기에는 지금까지의 연구로는 부족한 현실이다. 앞으로 더 많은 유전자들이 동정되고, 생식세포 발생에서 그들의 기능을 하나하나 이해해 가는 노력이 요구된다.

V. 참 고 문 헌

- Beset V, Rhee K and Wolgemuth DJ: The identification and characterization of expression of *Pftaire-1*, a novel Cdk family member, suggest its function in the mouse testis and nervous system. *Mol Reprod Dev* 1998, 50, 18-29.
- Beset V, Rhee K and Wolgemuth DJ: The cellular distribution and kinase activity of the Cdk family member Pctaire1 in the adult mouse brain and testis suggest functions in differentiation. *Cell Growth Differ* 1999, 10, 173-181.
- Fry AM, Schultz SJ, Bartek J and Nigg EA: Substrate specificity and cell cycle regulation of the *Nek2* protein kinase, a potential human homolog of the mitotic regulator NIMA of *Aspergillus nidulans*. *J Biol Chem* 1995, 270, 12899-12905.
- Gallant P, Fry AM and Nigg EA: Protein kinases in the control of mitosis: focus on nucleocytoplasmic trafficking. *J Cell Sci Suppl* 1995, 19, 21-28.
- Lu KP, Kemp BE and Means AR: Identification of substrate specificity determinants for the cell cycle-regulated NIMA protein kinase. *J Biol Chem* 1994, 269, 6603-6607.
- Osmani AH, McGuire SL and Osmani SA: Parallel activation of the NIMA and p34^{cdc2} cell cycle-regulated protein kinases is required to initiate mitosis in *A. nidulans*. *Cell* 1991, 67, 283-291.
- Rhee K and Wolgemuth DJ: *Cdk* family genes are expressed not only in dividing but also in terminally differentiated mouse germ cells, suggesting their possible function during both cell division and differentiation. *Dev Dyn* 1995, 204, 406-420.
- Rhee K and Wolgemuth DJ: The NIMA-related kinase 2, *Nek2*, is expressed in specific stages of the meiotic cell cycle and associates with meiotic chromosomes. *Development* 1997, 124, 2167-2177.

Wolgemuth DJ, Besset V, Liu D, Zhang Q and Rhee K: Role of cell-cycle genes in the regulation of mammalian meiosis. In *Germ Cell Development, Division, Disruption and Death* Edited by B. R. Zirkin, pp49-60, Springer-Verlag New York,
