

부터 claudin-11의 발현을 조사하였다.

Results: Occludin은 GD18 정소에서 발현되었으며 신생기에 발현이 증가하기 시작하여 12일에 정점에 달한 후 감소하였다. Claudin-1은 GD18에 다량 발현되었으며 출생 후 계속 증가하여 12일령에 정점에 달한 후 점차 감소하였다. 반면 claudin-11은 GD18에 거의 발현되지 않았으며 출생 후에 미량이 발현되다가 서서히 증가하여 생 후 20일령에 이르러 정점을 보이고 이후 서서히 감소하였다. 공배양 상태의 Sertoli cell의 delta TER값이 유의하게 높았으며 이때 claudin-11의 발현 또한 높았다.

Conclusions: 이들 유전자의 발현이 출생 후 증가하다가 성체에서 감소하므로 전체적인 발현정도는 정소 내 Sertoli cell의 증식에 비례함을 알 수 있었으나 TJ 유전자들의 시간적 발현 양상에는 차이가 있으므로 정소 발달 과정에서 Sertoli cell에서 일어나는 밀착결합 유전자 발현은 차등적으로 조절되며 특히 claudin-11의 발현은 사춘기 직전에 완성되는 기능적 혈액-정소 장벽의 형성에 매우 중요한 요인으로 사료된다. 세정관의 분화 단계에서 interstitium 기원된 확산가능 인자가 Sertoli cell 사이의 paracellular barrier의 기능을 강화하며 혈액-정소 장벽의 구조와 기능조절에 중요한 요인으로 사료된다. Sex steroid 및 정소내 국부조절인자들에 의한 TJ 유전자 발현의 조절에 대한 연구는 혈액-정소 장벽의 발달에 대한 정교한 이해를 가능케 할 것이다.

P-30 생쥐 정소 발달과정에서 Aquaporin9의 발현과 조절

한양대학교 생명과학과

강 희 정 · 계 명 찬

Background & Objectives: Aquaporin (AQP) family protein은 일종의 수분 전달 통로 역할을 하는 단백질로 AQP를 통한 수분의 조절은 삼투압을 통한 물의 이동과 함께 조직 내 정상적인 수분의 상생 유지에 필수적이다. 현재까지 11종의 AQP이 신장, 뇌, 정소, 안구 등에서 발현이 확인되었다. AQP9은 물 뿐 아니라 carbamide, polyol, purine, pyrimidine, urea, glycerol 등의 이동에 관여한다. 본 연구에서는 정자형성 및 steroid 생성 등 정소의 주요 기능에 AQP9의 역할을 규명하기 위한 연구의 일환으로 생쥐에서 출생 후 성체에 이르는 동안 정소 내 AQP9의 발현, Leydig cell의 분화에 따른 AQP9의 발현 및 그 조절을 조사하였다.

Method: 생 후 1, 2, 4, 8주령의 생쥐 정소를 이용하여 발생 시기에 따른 발현의 변동을 분석하였다. AQP9 mRNA 발현량 분석은 optimized semiquantitative RT-PCR 및 realtime PCR로 수행하였다. AQP9 단백질의 분석을 위해 Western blot을 수행하였다. AQP9 단백질의 발현부위는 immunohistochemistry로 분석하였다. 성체 정소로부터 분리한 Leydig cell-enriched culture에 hCG (0.375 IU/ml)를 처리하여 2일간 배양한 후 AQP9 mRNA 발현을 RT-PCR로 분석하였다. 생후 3주령의 생쥐에 hCG (0.2 iu/g b.w.)을 주사한 후 3일 경과한 후 정소 조작으로부터 AQP9 mRNA 발현을 RT-PCR로 분석하였고 단백질 발현부위를 immunohistochemistry로 분석하였다.

Results: 1, 2, 4, 8주령의 정소로부터 semiquantitative RT-PCR 및 real time PCR법으로 AQP9의 발현을 분석한 결과 1주령에서는 발현되지 않았고 2주령에서는 미량이 발현되기 시작하였고, 4주령에서는 성체의 1/2수준으로 발현량이 급격히 증가하였고 성체에서는 다량으로 발현됨이 확인되었다. Semiquan-

titative RT-PCR법과 real time PCR법을 비교할 때 주령별 발현 양상은 유사하였으나 4주령과 성체에서는 두 시험법 사이에 양적인 차이가 있었다. 정소 내 AQP9의 발현은 adult type Leydig cell의 기능적 marker인 17beta HSD의 발현 양상과 같게 나타났다. 면역조직화학염색 결과 주로 Leydig cell에서 AQP9의 발현이 확인되었으며 미성숙 개체에서 발현보다 강한 신호가 성체의 Leydig cell에서 검출되었다. 성체의 정소 균질액의 Western blot 상에서 분자량 80, 55, 35 및 23 kDa의 항원이 검출되어 dimer, trimer 형태로 존재할 가능성과 번역 후 변형이 있는 것으로 추정된다. 미성숙 개체의 정소에서는 23 kDa form이 확인되는 반면 성체에서는 35 kDa form이 주로 발현되었다. 성체의 정소로부터 분리한 Leydig cell-enriched culture에 hCG를 처리한 결과 배양체의 AQP9의 발현이 소폭 증가 증가하였으며, 3주령 미성숙 개체에 hCG를 주사한 후 3일 경과 시 AQP9 mRNA의 발현이 증가하였다. 이들 정소 조직 절편 상에서 Leydig cell에서 AQP9 신호가 증가하였다.

Conclusions: 출생 후 정소의 발달 과정에서 AQP9의 발현이 증가할 뿐 아니라 AQP9 항원이 Leydig cell에서 주로 확인되므로 정소 내 Leydig cell의 분화와 밀접한 상관성이 있는 것으로 추측된다. 또한 정소에서 발현되는 AQP9의 경우 post-translation 수준에서 변형이 수반되는 것으로 사료되며 AQP9의 기능과의 연관성은 추후 연구되어야 할 것이다. 출생 후 정소 조직의 AQP9 발현 양상의 분석 결과 AQP9은 Leydig cell의 기능적 분화와 밀접히 관련된 것으로 사료되며 LH 수용체 하위 신호전달과정을 통해 Leydig cell의 steroidogenesis 또는 생성된 steroids의 분비에 요구되는 수분 및 중성용질의 이동에 관여하는 것으로 사료된다.

P-31 생쥐 정소에서 Cannabinoid 수용체의 발현 및 조절

한양대학교 생명과학과

강희정 · 강현희 · 계명찬

Background & Objectives: 현대사회에서 다양한 마약의 사용이 팽창하고 있으며 다양한 신체적, 정신적 부작용을 양산하고 있다. 따라서 대마초 등의 마약사용에 따른 생식능력의 변화는 주요한 연구 대상이다. 최근 Cannabinoid 수용체 유전자의 구조 및 신호전달에 대한 이해가 확장되면서 다양한 기관 및 조직에서 천연 및 합성 cannabinoid 및 생체내 cannabinoid인 anandamide에 의한 생식능력의 변화에 대한 분자수준의 연구가 활발하였다. 본 연구는 cannabinoid가 남성생식능력의 변화에 미치는 영향을 분자수준에서 규명하기 위한 연구의 일환으로 정소발달에 따른 수용체 (CB1)의 발현을 조사하였다.

Method: 본 연구에서는 생쥐에서 출생 후 성체에 이르는 동안 정소 내 CB1 발현의 변동을 조사하였다. 1, 2, 4, 8주령의 정소로부터 optimized semiquantitative RT-PCR법 및 real time PCR법으로 CB1 mRNA의 발현을 분석하였고 Western blot을 통해 단백질 수준에서 확인하였다. 면역조직화학염색을 통해 정소조직 내 CB1의 발현부위를 조사하였다. 한편 미성숙 생쥐에 hCG 0.374 iU를 주사하고 3일 경과 후 앞서와 동일한 방법으로 분석하였다. 한편 Leydig cell-enriched culture를 준비하여 RT-PCR법으로 CB1 mRNA의 발현을 분석하였다.

Results: 1, 2, 4, 8주령의 정소로부터 RT-PCR 및 real time PCR법으로 CB1 mRNA의 발현을 분석한