

P0431

## Proteomics 기법을 이용한 복제태반 분석

김홍래, 이해란, 강재구, 윤종택<sup>1</sup>, 성한우<sup>2</sup>, 정진관<sup>2</sup>, 조민래<sup>3</sup>, 박창식, 진동일

충남대학교 동물자원학부, 형질전환복제돼지연구센터,

<sup>1</sup>한경대학교 유전공학연구소, <sup>2</sup>농업진흥청 축산기술연구소, <sup>3</sup>주)프로테오믹

세포 내에서 발현되고 있는 protein들의 양상을 분석하기 위한 기법으로 최근 proteomics에 기초하여 2차 전기영동과 MALDI-TOF MS에 의한 protein 분석방법이 개발되었는데, 특정 조직에 또는 특정 발생시기에 특이적으로 발현되는 protein의 발현양과 발현양상을 비교분석하는데 매우 효과적으로 이용될 수 있다. 최근 체세포 핵이식 기술을 이용하여 동물의 복제가 성공하고 있지만, 임신 중이나 분만시 유사산이 많이 나타나 전반적인 효율이 크게 낮아 실용화에 지장을 초래하고 있다. 체세포 핵이식에 의한 동물복제시 분화된 체세포핵이 수핵란의 세포질에서 후생적인 유전현상인 재프로그래밍(reprogramming)이 불완전하게 이루어지기 때문인 것으로 추측되고 있는데, 이러한 불완전한 재프로그래밍에 의해 체세포 핵이식 후 태아사망을 일으키고 태반의 비정상적인 발달과 기능 이상의 직간접적 원인인 것으로 추정하고 있다. 본 연구에서는 소의 체세포 복제시 사산된 태반의 protein 분석을 통하여 발현이상 유전자를 규명하고자, 체세포 복제 후 임신 말기에 태아가 사망한 한우 태반조직 3개와 IVF 수정란 이식 후 동일한 시기에 제왕절개술을 실시한 태반조직 3개를 이용하여 2차 전기영동과 MALDI-TOF MS 기술을 이용하여 비교분석 실험을 실시하였다. 태반 protein을 IFC-system을 이용하여 pH 4~7, pH 6~9에서 1차 전기영동을 한 후, 8~16%의 SDS-PAGE gel에 2차 전기영동을 실시하였고 G-250 Coomassie로 염색하였다. protein gel의 이미지는 Malanie III program을 이용하여 분석하였으며 정량적으로 차이 나는 71개 spot 중 복제한우 태반에서 증가되는 protein spot 40개와 감소하는 protein spot 31개를 골라 protein identification한 결과 TIMP-2, TIM, SHMT 등과 같은 protein이 복제태반에서 발현이 증가되었고, vimentin, aldose reductase, hemoglobin 등은 발현이 감소되었다. 복제소 태반에서 증가된 protein중 TIMP-2은 extracellular matrix와 remodeling에 관계있는 protein으로 Western blotting에 의해 복제소 태반에서 증가되는 양상이 확인되었다. 본 실험의 결과는 복제태아의 사망원인 중에 태반의 기능에 영향을 미치는 protein들의 비정상적인 발현이 태아사망의 원인이 될 수 있음을 나타낸다.

Key words: 체세포핵이식, 태반, 2D- elec trophoresis, MALDI-TOF-MS