

P-17 Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor에 의한 생쥐 초기배아 발생 조절 신호전달

계명찬 · 서혜영

한양대학교 생명과학과

Background & Objectives: Granulocyte macrophage colony stimulating factor (GM-CSF)는 원래 골수조혈 세포의 분열과 분화에 관여하는 활성화된 T-lymphocytes의 생산물로 알려진 사이토카인이다. 다양한 포유동물의 female reproductive tract에 위치하는 epithelial cells은 oestrogen에 의해 자극에 의해 GM-CSF를 분비하며 초기배아는 GM-CSF 수용체를 발현한다. 선행연구들에서 GM-CSF가 배아의 초기발달 촉진 효과가 있는 것으로 보고되었지만 그 효과발현을 위한 신호전달 기작은 규명되지 않았다. 본 연구에서는 GM-CSF에 의한 초기배아의 형태발생, 세포증식, apoptosis 조절효과를 조사하고, 그 기작으로 mitogen activated protein kinase (MAPK, Erk1/2), ribosomal S6 kinase (S6K)의 활성변화를 추적하고 MAPK, PI3 kinase, mTOR의 억제제 (PD98059, wortmannin, rapamycin)의 효과를 검색하였다.

Method: 생쥐 초기배아에 GM-CSF를 농도별로 처리하여 형태발생을 비교하였다. 포배의 할구수를 핵염색을 통해 계수하여 세포증식을 조사하였다. 포배를 TUNEL법으로 염색하여 apoptosis 조절효과를 분석하였다. 신호전달 기작은 mitogen activated protein kinase (MAPK, Erk1/2)항체를 이용하여 배아의 MAPK를 면역침강하고 myelin basic protein을 기질로 in vitro phosphorylation을 측정하였다. Ribosomal S6 kinase (S6K)의 활성변화는 배아의 whole lysate를 S6 peptide in vitro phosphorylation 활성을 측정하였다. 모든 실험에 MAPK, PI3 kinase, mTOR의 억제제 (PD98059, wortmannin, rapamycin)의 효과를 검색하였다.

Results: 실험결과, GM-CSF 단독처리군은 대조군, 저해제와 GM-CSF 공동처리군, 저해제처리군에 비해 발생률 (10~15%)과 부화율 (14~28%)의 유의한 향상을 보였으며, 퇴화율은 저해제처리군이 다른 군에 비해 15~30% 높아 선행연구들과 일치하였다. 포배 내 TUNEL-positive apoptotic nuclei의 비율은 저해제 처리군이 대조군, GM-CSF 단독처리군 및 저해제와 GM-CSF 공동처리군에 비해 유의하게 높았다. 포배 내 세포 수에 있어서도 GM-CSF 단독처리군은 다른 군에 비해 유의하게 많았다. GM-CSF는 포배에서 MAPK 활성화와 S6K 활성을 유의하게 증가시켰으며 이 효과는 PI3K 억제제인 wortmannin 및 MAPK 억제제인 PD98059에 의해 상쇄되었다. Rapamycin 처리시 S6K 활성이 억제되었다.

Conclusions: 생쥐 초기배아에서 GM-CSF에 의한 발생촉진, apoptosis 억제 효과 기작에는 PI3 kinase, MAPK, mTOR를 경유한 신호전달 과정이 관여하며 다른 종류의 세포주에서 관찰되는 신호전달 과정이 보존되어 있는 것으로 사료된다.

P-18 생쥐 정소 및 정자에서 C-terminal Src Kinase (Csk) 발현

계명찬 · 강현희¹ · 김영수²

한양대학교 생명과학과¹, 아주대학교 비뇨기과²

Background & Objectives: Protein tyrosine kinases는 표적단백질의 tyrosine 잔기를 인산화하는 효소