

춘기를 지나면서부터 primary follicles (1차 난포)에서 성장이 개시되는 과정을 진행한다. 그런데 이 과정을 조절하는 요인과 기전에 대해서는 아직까지 확실히 알려져 있지 않다. 본 연구진은 선행 연구에서 suppression subtractive hybridization 방법을 이용하여 lats2 유전자가 1차 난포에 비하여 원시난포에서 더 높게 발현하고 있음을 보고한 바 있다 (박 등, 2004). 이에 본 연구에서는 lats2 및 이와 연관된 lats1, cyclin A1, cyclin A2 유전자에 대한 난소내 mRNA 발현양상 및 lats1과 cyclin A1의 단백질 발현에 관한 localization을 규명하고자 실시하였다.

Method: 원시난포와 1차 난포에서 mRNA양의 차이를 확인하기 위하여 laser captured microdissection system을 이용해 각 발달단계의 난포를 포획한 후, real-time PCR을 이용하여 정량적 비교분석을 수행하였다. 또한 난포발달단계별 각 유전자의 mRNA의 발현 위치를 알아보기 위해 in situ hybridization (lats2, lats1, cyclin A1, cyclin A2)을 시행하였고 단백질의 발현위치를 알아보기 위해서는 immunohistochemistry (lats1, cyclin A1)을 수행하였다.

Results: Real-time PCR 결과, 네 가지 유전자 모두 1차 난포에 비하여 원시난포에서 더 높게 발현함을 확인하였다. 그리고 in situ hybridization 결과, lats1과 cyclin A2는 원시난포에서는 난자의 핵에 풍부하게 존재하다가 난포가 발달할수록 점점 사라지는 것 관찰할 수 있었으며, 한편 과립세포에서는 난포가 발달할수록 세포질에 풍부하게 존재하는 것을 관찰할 수 있었다. 그리고 lats2와 cyclin A1은 원시난포의 난자에서는 세포질에 풍부하게 존재하다가 난포가 발달할수록 핵에 존재하는 것을 관찰할 수 있었다. 과립세포에서는 모든 시기의 세포질에 풍부하게 존재하는 것을 관찰하였다. 또한 lats1 단백질도 원시난포의 난자 핵에 풍부하게 존재하다가 난포가 발달할수록 난자에서는 점점 사라지는 결과를 보았고, cyclin A1은 원시난포의 난자 세포질에 풍부하게 존재하다가 발달할수록 핵에 존재하는 것을 관찰하였다.

Conclusions: 저자들이 아는 바, lats1, lats2, cyclin A1, cyclin A2 유전자의 mRNA 및 단백질에 대한 난소내 난포발달에 따른 발현양상, 특히 early folliculogenesis에 관한 연구는 최초의 보고로써 그 의미가 매우 크다고 사료된다. 또한 난포발달과 각각의 유전자 발현의 관계를 밝히는 결과로써도 매우 의미가 있지만, lats system이 cdc2의 up-level 조절자로서 작용한다는 이전의 보고에 비추어볼 때, 난포 발달 단계에 따른 난포내 난자, 과립세포 및 협막세포에서의 발달양상을 연구함으로써 난포발달 및 난자성숙 조절에 관여하는 또 다른 한 영역을 밝힐 수 있을 것으로 기대한다.

본 연구는 한국과학재단 특정기초연구 (R01-2003-000-10174-0) 지원으로 수행되었음.

P-31 Localization of SPRR2a Protein in Mouse Uterus

Hong SH^{1,2}, Nah HY², Lee YJ^{1,2}, Lee JW², Kang BM², Kim CH²,
Kim SH², Chae HD², Kim MK¹

¹Department of Life Science, Hanyang University, Seoul, Korea,

²Department of OBGY, Ulsan University, Asan Medical Center, Seoul, Korea

Background & Objectives: We previously reported that showed the highest level of up-regulation by estrogen (E2) in the OVX/estrogen treatment/12-h protocol using cDNA microarray and also demonstrated

that SPRR2a mRNA expression was predominantly up-regulated in luminal epithelial cells of E2-induced uterus using laser capture microdissection (LCM). In this study, we localized the SPRR2a protein by immunohistochemical analysis in OVX mice uterus and during the estrous cycle or early pregnancy period.

Method: Uterine cryosections (thickness, 6 μ m) were mounted on poly-L-lysine coated slides, fixed in 4% paraformaldehyde, and incubated in 0.3% H₂O₂ methanol for 30 min. The sections were then blocked in normal goat serum for 1 h, followed by incubation for overnight 4 °C in humidified chamber with rabbit peptide antibody against SPRR2a. The sections were incubated for 1 h at room temperature in a biotinylated goat anti-rabbit secondary antibody. The slides were covered with avidin-biotin-complex for 1 h and washed again three times for 5 min in PBS. After oxidation with DAB for 2 min and brief washing in tap water, counterstaining was performed with Mayer's hematoxylin.

Results: Immunohistochemical localization of SPRR2a protein showed that intense immunoreactivity was detected in uterine sections of OVX mice collected after 6 and 12 h following E2 treatment, mice collected from pregnancy day 1, and mice collected from proestrus to estrus stage. In addition, E2-induced immunoreactivity of SPRR2a protein was strongly blocked by pure anti-estrogen ICI 182,780 pretreatment. These localizations of SPRR2a were dominantly restricted to luminal epithelial cells and glandular epithelial cells but no immunoreactivity was present in stromal cells.

Conclusions: SPRR2 family gene are known to serve as precursor proteins for stratified squamous epithelia to construct the cornified cell envelope, a unique protective shield of squamous epithelia that acts against environmental factors such as trauma, wear-and-tear and UV. Another known function of SPRR2 is loss of body water. Interestingly, the SPRR2a protein signal was mainly localized at outer cell apical region in both luminal epithelial cells and glandular epithelial cells at proestrus and estrus stage or on pregnancy day 1. Main uterine morphological aspect of these periods is the swelling of uterus caused by water imbibition and this mechanism is mediated by aquaporin family gene. Therefore, it is possible for SPRR2a gene to regulate the water transport or loss of uterine fluid during the estrus cycle and early pregnancy period. These results may enable better understanding of SPRR2 gene functions underlying the morphological changes of uterus during the estrous cycle and early pregnancy period.

P-32 Cell Cycle에 관여하는 유전자의 난소에서 특이적 발현에 관한 연구

윤세진¹ · 김경화^{1,2} · 이우식^{1,2} · 윤태기¹ · 차광렬^{1,2} · 이경아^{1,2}

차병원 여성의학연구소¹, 포천중문의대 생명과학전문대학원²

Background & Objectives: 본 연구진은 이전의 연구결과 ACP (Annealing Control Primer; Seegene, Inc., Seoul, Korea) System을 이용하여 생쥐의 GV 난자와 MII 난자에서 차이 나게 발현하는 유전자의 목록을 얻은 바 있다 (Yoon 등, 2004). 이들 유전자 중에서 세포주기 및 apoptosis에 관여하는 세 가지 유전자, mMcm2, Gas-6, Diva의 발현양상을 생쥐 난소에서 규명하고자 본 연구를 실시하였다.

Method: 난자가 아닌 다른 세포에서 세포주기 및 apoptosis에 관여한다고 알려져 있는 mMcm2,