

P-23

Expressed Sequence Tags를 이용한 마우스 난소에서 난자 특이적으로 발현하는 유전자의 동정 및 발현에 관한 연구

박창은, 황상준, 이경아

CHA Research Institute, 포천중문의대 생명과학전문대학원

서론

포유동물의 난소에서 난포발달 과정 중 휴면상태인 원시난포에서 1차 난포로 발달을 재개하는 기전은 밝혀져 있지 않다. 본 저자들은 이전 연구에서 초기 난포 발달에 관여하는 유전자들을 동정하고 특성을 규명하고자 suppression subtractive hybridization 방법으로 생후 1일자와 5일자 난소에서 차이 나게 발현하는 유전자 목록을 얻게 되었고, 그 중에 1일자 난소에 비해 5일자 난소에서 높게 발현하는 15개의 EST(Expressed Sequence Tag)가 동정되었다(Park et al, 2005 Fertil&Steril). 본 연구는 EST clustering 방법으로 이중 하나의 clone(RIKEN cDNA E330009P21)으로부터 novel EST의 long cDNA를 동정하고 이 유전자의 마우스 난소내 발현 양상을 규명하였다.

재료 및 방법

EST clustering 방법은 NCBI EST database(<http://ncbi.nlm.nih.gov/dbest>)를 이용하여 단편의 염기서열들이 겹치는 것을 확인하여 연장하였으며, long cDNA를 RT-PCR로 clone하고 sequencing하여 확인하였다. 또한 유전자의 마우스 genome상의 구조와 위치를 분석하고(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/seq/MmBlast.html>), 아미노산 서열이 종간에 보존되어 있는지를 분석하였다(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/gorf.html>, blastX). 그리고 마우스의 생후 발달 단계별 난소에서(1, 5, 14, 21, 28일자) mRNA의 발현을 real-time PCR을 통해 확인하였고, Northern blotting과 Western blotting을 통해 여러 조직에서 transcript 및 단백질의 발현을 확인하였다. 뿐만 아니라 마우스 난소 조직에서 유전자의 transcript와 단백질의 발현위치를 알아보기 위해 *in situ* hybridization과 immuno-histochemistry를 수행하였다. 또한, 생후 14일자 난소를 해부현미경하에서 난자와 과립세포를 분리하여 세포 특이적인 발현양상을 재확인하였다.



결과 및 고찰

RIKEN cDNA E330009P21은 polyA 부분을 포함하고 있어 5'쪽으로 마우스 EST인 CF913566, CO0812977, BB559416, CO815121, BM227309를 연장하여 long cDNA를 동정하였다. 이렇게 동정된 유전자는 NCBI genebank에서 similar F-box and WD40 containing protein(NM_001008428, sFBWD40) 유전자로 확인되었다. 또한 동정된 유전자는 10개 exon을 가지고 9qF2에 존재하며, 468개 아미노산으로 중간에는 생쥐-흰쥐 64%, 생쥐-사람 41%의 상동성이 있음을 밝혔다. 동정된 유전자는 난소에서만 발현하는 것으로 나타났고, 생후 발달단계별 난소의 발현양상에서는 5일자와 14일자에서 높게 발현하다가 점차적으로 이후에 사라지는 것으로 나타났다. 그리고 난소 조직에서 발현의 위치를 보면, transcript는 난자의 핵과 세포질에서 발현하였으며, 단백질은 난자의 세포질에서만 발현하는 것으로 나타났다. 또한 난자와 과립세포간의 발현을 재확인한 결과 난자에서만 발현하는 것을 재차 확인하였다.

결론적으로 본 연구는 처음으로 FBWD40과 유사한 유전자를 생물정보학적 방법으로 동정하는데 성공하였으며, 난소 및 난자에서만 특이적으로 발현하는 유전자임을 밝혀냈다. 또한 이 유전자가 초기 난포 발달 과정 동안 난포 및 난자의 성장 및 발달에 관여할 것으로 사료되며 이 유전자의 기능에 대한 연구를 진행중에 있다. "이 논문은 2004년도 한국 학술진흥재단의 지원을 받아 수행된 연구임" (KRF-2004-041-E00189).