

## 임신 중인 생쥐 자궁에 있어서 아라키돈산에 특이적인 Acyl-CoA Synthetase 4의 발현

이상미 · 박효영 · 정영희 · 문승주 · 강만중<sup>†</sup>

전남대학교 농업생명과학대학, 농업과학기술연구소, 동물자원학부

### 초 록

본 연구는 생쥐 자궁에 있어서 아라키돈산으로부터 prostaglandin의 생성에 관여하는 것으로 추측되는 acyl-CoA synthetase 4 유전자의 임신단계별 발현을 확인하고자 실시하였다. Acyl-CoA synthetase 4 유전자는 착상 전에는 발현이 증가하는 경향을 나타내었으며 착상 후에는 감소하였다. 이러한 발현의 양상은 세포막의 인지질로부터 아라키돈산을 유리시키는 cPLA2의 발현과 유리된 아라키돈산으로부터 prostaglandin의 생성에 관여하는 COX1과 COX2의 발현 양상과 일치하였다. 이러한 결과는 세포막에서 유리된 아라키돈산이 무한적으로 COX1과 COX2에 의하여 prostaglandin의 생성에 이용되는 것이 아니라 acyl-CoA synthetase 4에 의하여 세포막의 인지질로 되돌려져 prostaglandin의 생성을 조절하는 기능을 세포가 수행하고 있는 것으로 추정된다.

(주제어 : Acyl-CoA synthetase, cPLA2, COX1, COX2, Prostaglandins, Mouse uterus)

### 서 론

Acyl-CoA synthetase(ACS)은 ATP존재 하에 지방산과 코엔자임 A(CoA)를 결합시켜 아실-CoA를 합성하는 효소이다. 본 효소에 의하여 생산된 아실-CoA는 미토콘드리아와 퍼옥시솜에서는 β-산화에 의하여 분해되어 에너지를 생산하고, 소포체에서는 트리글리세롤, 인지질과 콜레스테롤 에스터 등의 지질 합성, 지방산 생합성의 피드백 저해 등의 정보전달 등 광범위하게 이용되는 중요한 대사 중간체이다 (Butron 등, 1968; Kumar, 1975).

1990년 본 효소의 유전자가 처음으로 동정된 후 현재까지 조직 특이성과 기질 특이성이 다른 5종류의 유전자(ACS1~5)가 보고되고 있다. 이 유전자들은 구조와 기질 특이성에 의하여 2가지 유형으로 분류된다. ACS1 (Suzki 등, 1990), ACS2 (Fujino 등, 1992), ACS5 (Oikawa 등, 1998)는 팔미트산 등 광범위한 포화, 불포화지방산을 기질로 이용하고 아미노산 서열은 서로간에 약 65%의 상동성을 나타내고 있다. ACS1은 주로 간장, 심장, 지방조직에서, ACS2는 뇌에서, ACS5는 소장에서 높게 발현한다. ACS3 (Fujino 등, 1996)와 ACS4 (Kang 등, 1997)는 생리활성물질의 전구체인 아라키돈산과 아이코사펜타에노산을 기질로 이용하고, ACS3는 주로 뇌에서, ACS4는 부신, 뇌, 간장, 정소 등 광범위한 조직에서 발현하고 있으며, 특히 스테로이드 생산조직에서 높게 발현하고 있다. ACS3와 ACS4의 아미노산 서열은 약 68%의 상동성을 나타내고 있으며, ACS1, ACS2, ACS5와는 약 30%의 상동성을 나타내고 있다.

또한, 아실-CoA 합성효소는 아라키돈산 대사에 있어서

중요한 역할을 수행하고 있다. 아라키돈산과 아이코사펜타에노산은 프로스타글란딘과 류코트리엔 등의 생리활성을 가진 아이코사노이드의 전구체이며, 세포막의 인지질로부터 phospholipases A2에 의하여 유리된다. 유리된 아라키돈산의 일부분은 생리활성이 높은 프로스타글란딘과 류코트리엔으로 변환되어 염증반응, 혈소판응집, 혈관신생, 분만, 세포사 등 다양한 반응에 이용된다(Bonvebtre, 1992; Abrahamssohn과 Zorn, 1993; Bonventre와 Koroshetz, 1993). 그러나 유리된 대부분의 아라키돈산은 아실-CoA 합성에 의하여 아라키도닐-CoA로 변환되고 다시 인지질로 재에스터화된다. 이러한 기능에 의하여 세포내 아이코사노이드의 농도가 조절되는 것으로 보고되고 있다(Majerus 등, 1983; Lin 등, 1992; Lin 등 1993). 이와 같이 아라키돈산은 생체에 있어서 중요한 지방산이며 아실-CoA 합성효소 4(ACS4)는 아라키돈산에 대하여 매우 특이적인 친화성을 나타내는 것으로 보고되어 있다(Kang 등, 1997). ACS4는 여러 조직에서 발현하지만 특히 부신, 난소, 고환의 steroidogenic cell에 존재하면서 HDL-콜레스테롤 에스테르를 CoA thioester로 재에스터화하는 것으로 보고하고 있다(Kang 등, 1997). Cho 등(2001)은 ACS4 유전자 한쪽의 발현이 제거된 heterozygous 생쥐에서는 불안정한 임신 유지로 인해 유산과 사산되는 태아가 증가한다고 보고하고 있다. 그리고 발달 단계별 자궁의 조직은 생후 6주령부터 자궁 내강이 확대되고 12주령에서는 자궁의 전체 크기의 증가와 많은 낭종(cysts)이 형성되어 있음을 보고하고 있다. 12주령의 생쥐자궁에 있어서 PGE2, 6-keto PGF1a, PGF2a의 양을 측정할 결과 정상생쥐보다 2배 이상 높은 농도를 나타내어 프로스타글란딘 생산에 관여하고 있을 뿐만 아니

\* 본 연구는 한국과학재단 우수연구센터 (R11-2002-100-00000-0) 지원으로 수행되었음.

<sup>†</sup> Corresponding author : Department of Animal Science, Insti. of Ag. Sci. and Tech., College of Agriculture & Life Science, Chonnam National University, E-mail: mj kang@chonnam.ac.kr

라 임신 유지에도 ACS4가 관여하는 것으로 추측되어지고 있다.

그러므로 본 연구에서는 프로스타글란딘 생성에 관여하는 cytosolic phospholipase A2 (cPLA2), cyclooxygenase 1(COX1), cyclooxygenase 2(COX2) 유전자 발현의 확인과 생쥐 임신과정 중에 있어서 ACS4 유전자의 관여 여부를 확인하고자 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 실험동물 및 시료채취

실험에 사용한 동물은 BDF1 생쥐(대한실험동물센터)로서 일반적인 사양조건 12시간 점등과 12시간 소등의 조건 하에서 사육하였으며 물과 일반사료(삼양사, 쥐사료)를 무제한 급식하였다. 임신을 위해서는 수컷 생쥐와 1:1로 자연 교미를 유도하였으며 교미 확인은 질전의 유무를 확인하여 실험에 사용하였다. 자궁채취는 임신 0, 1.5, 3.5, 4.5, 5.5, 7.5, 9.5, 11.5, 13.5, 15.5, 17.5일, 분만직후 오전 10시에 생쥐를 경추탈골법으로 도살한 후 채취하여 바로 액체질소에 보관하였으며 임신 5.5일부터는 태아와 태반을 제거하였다. 임신일은 질전이 확인된 아침을 0.5일로 계산하였다.

### RNA 제조와 RT-PCR

Total RNA는 0.2g의 조직을 1 ml의 Trizol Reagent (Gibco BRL)에 넣고 균질화한 후 에탄올 침전을 수행하여 회수하였으며 RNase-free water에 녹여 사용전까지 -70°C에 보존하였다.

Total RNA를 사용하여 Superscript II RNaseH-reverse transcriptase(Invitrogen)와 random primer를 이용하여 아래와 같이 first strand cDNA를 합성하였다. 먼저 total RNA 5 µg, Random primer 240 ng을 12 µl가 되도록 한 후 70°C에서 10분간 처리한 다음 4 µl의 5× first strand buffer, 2 µl 0.1 M DTT와 1 µl 10 mM dNTP를 첨가한 다음 25°C에서 10분간 처리하였다. 10분 처리 후 1 µl(200 unit)의 superscript II를 첨가한 다음 42°C에서 50분, 55°C에서 30분 동안 연속하여 보온하였다. RT-PCR 산물은 사용전까지 -20°C에 보존하였다.

### ACS4, cPLA2, COX1, COX2, β-actin 유전자의 PCR

ACS4의 발현을 확인하기 위하여 RT-PCR산물 1 µl, 10×PCR buffer 5 µl, 2.5 mM dNTP 4 µl, sense primer 1 µl(20 pmole), anti-sense primer 1 µl(20 pmole), super Taq DNA polymerase 0.5 µl(2.5 unit, Super Bio 사), 멸균 증류수 33.5 µl을 이용하여 전체 50 µl의 반응계에서 PCR을 수행하였다. PCR은 94°C 30초, 53°C 30초, 72°C 40초 조건에서 28cycle 반응을 수행한 후 72°C 15분 반응시켰다. PCR 산물의 확인은 반응종료 후 20 µl를 2% agarose gel에서 전기영동하여 확인하였다.

cPLA2, COX1, β-actin의 발현은 ACS4와 동일한 반응계에서 PCR 조건만 달리하여 실시하였다. cPLA2는 94°C 30초, 60°C 30초, 72°C 40초 조건에서 28cycle 반응을 수행하였으며, COX1은 94°C 30초, 60°C 40초, 72°C 1분 30초 조건에서 28cycle 반응을 수행하였고, β-actin은 94°C 30초, 53°C

40초, 72°C 40초 조건에서 24cycle 반응을 수행하였다. 모든 PCR산물 20 µl를 2% agarose gel에서 전기영동하여 발현을 확인하였다.

COX2의 발현 확인하기 위하여 RT-PCR산물 1 µl, 10×PCR buffer 2 µl, 2.5 mM dNTP 2 µl, sense primer 0.5 µl(10pmole), anti-sense primer 0.5 µl(10pmole), i-Star Taq DNA polymerase 0.5 µl(2.5 unit, iNtRON Biotechnology 사), 멸균 증류수 9.5 µl을 이용하여 전체 20 µl의 반응계에서 PCR을 수행하였다. PCR은 94°C 20초, 55°C 10초, 72°C 30초 조건에서 35cycle 반응을 수행한 후 72°C 5분 반응시켰다. PCR 산물의 확인은 반응종료 후 10 µl를 2% agarose gel에서 전기영동하여 확인하였다.

발현의 확인은 전기영동 후 Gel image analysis system에서 사진 촬영한 다음 Gel-Pro analyzer 3.1 program으로 분석하였다. 분석시 발현양은 β-actin 유전자의 발현양을 이용하여 보정하였다.

## 결과 및 고찰

Cytosolic phospholipase A2 (cPLA2)는 세포막 인지질의 sn-2 위치를 절단하여 아라키돈산을 세포질로 유리시키는 효소로서 prostaglandins, thromboxanes, leukotrienes과 같은 eicosanoids를 합성하는 첫 번째 단계에 관여하는 효소이다(Dennis 등, 1991). 본 연구에서 생쥐 임신단계별 cPLA2의 발현을 RT-PCR로 분석한 결과 교미후 1.5일에서 교미전보다 16.8배 발현의 급격한 증가를 보였으며 생쥐 수정란의 착상전일인 3.5일까지 발현(18배)이 유지되다가 착상후 5.5일에 급격하게 발현이 감소하는 경향을 보였다. 감소된 발현은 분만 전까지 약간의 차이는 있었으나 유지되었으며 11.5일, 13.5일과 17.5일에 약간 증가하는 현상을 나타냈다(Fig. 1).

세포막의 인지질로부터 유리된 아라키돈산으로부터 prostaglandins, thromboxanes, leukotrienes과 같은 eicosanoids를 합성하는 cyclooxygenase 유전자는 두 가지 유형 cyclooxygenase 1과 2(COX1과 COX2)가 존재하며 임신과정 중에 자궁에 있어서 서로 다르게 조절되는 것으로 보고되고 있다(Lau 등, 1973; Kennedy, 1985; Johnson와 Dey,

Table 1. Primers for RT-PCR

Target gene		Primers	Product size
ACS 4	Forward	ATTCATGAATGCTCTGCTTGCTGCTGC	431 bp
	Reverse	GACAATTCCTCAGTGCAGCTTCTAC	
cPLA2	Forward	TATAGTGGAAACACCAGTACTCCCAT	378 bp
	Reverse	AGAGACATTTCAGAAATCATTTTCAG	
COX1	Forward	TGAATGIGGCTGTGGATGTCATCAA	449 bp
	Reverse	CACTAAGACAGACCCGTCATCTCCA	
COX2	Forward	GAGTGGGGTGATGAGCAACTATTCC	862 bp
	Reverse	CTGTAGGGTTAATGTCATCTAGTCT	
β-actin	Forward	TGCGTGACATCAAAGAGAAG	244 bp
	Reverse	CGGATGTCAACGTCACACTT	

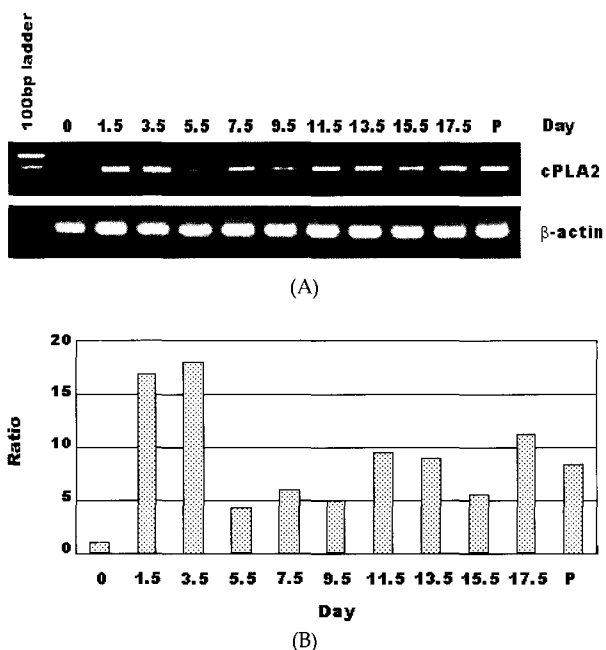


Fig. 1. Expression of cytosolic phospholipase A2(cPLA2) gene in the mouse uterus during pregnancy. A) RT-PCR analysis, B) Abundance of mRNAs was determined using Gel-Pro analyzer 3.1 program.

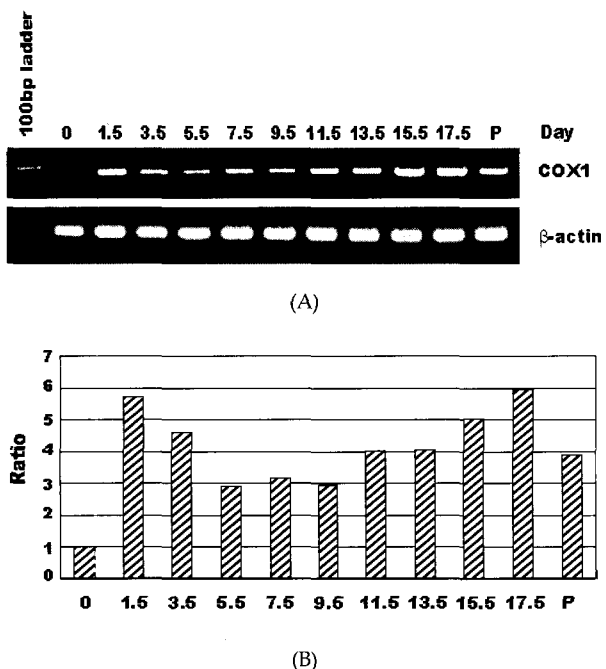


Fig. 2. Expression of cyclooxygenase 1(COX1) gene in the mouse uterus during pregnancy. A) RT-PCR analysis, B) Abundance of mRNAs was determined using Gel-Pro analyzer 3.1 program.

1980; Tawfik 등, 1987; Gupta 등, 1989). 본 연구에서 이들 유전자의 발현을 임신단계별 자궁에 있어서 확인한 결과 COX1은 교미 후 1.5일부터 정상생쥐의 5.76배, 3.5일에

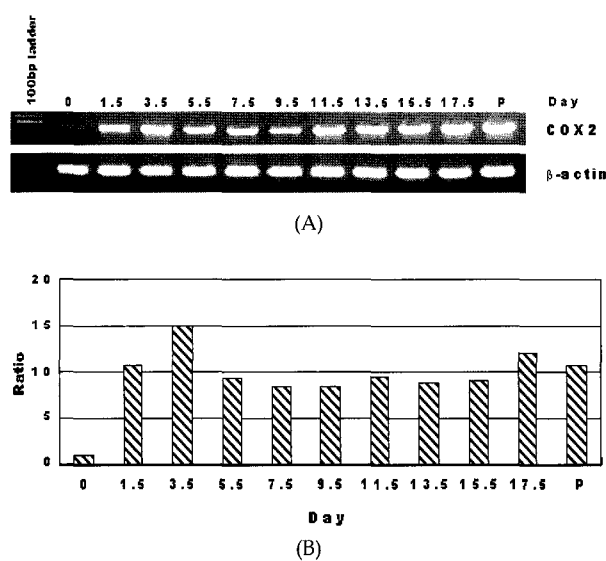


Fig. 3. Expression of cyclooxygenase 2(COX2) gene in the mouse uterus during pregnancy. A) RT-PCR analysis, B) Abundance of mRNAs was determined using Gel-Pro analyzer 3.1 program.

4.59배 증가하는 경향을 보였다. 증가된 발현은 착상 후 5.5일에 약 반으로 감소하였으며 임신 후반기에 접어드는 11.5일부터 다시 증가하여 17.5일에는 정상생쥐의 6배까지 증가하였다(Fig. 2). 한편 COX2는 임신 초기에는 COX1과 같이 1.5일에 정상생쥐의 10.7배, 3.5일에 14.9배의 발현 증가를 보였으며 착상 후 5.5일부터는 약간 감소하여 정상생쥐의 9.2배의 발현을 나타내었고 분만까지 유지되었다(Fig. 3).

Acyl-CoA synthetase 4는 cPLA2에 의하여 인지질로부터 유리된 아라키돈산을 세포막의 인지질로 재에스테르화하여 아라키돈산으로부터 합성되는 prostaglandins, thromboxanes, leukotrienes과 같은 eicosanoids의 양을 조절하는 것으로 추측되고 있다. Fig. 4에 나타난 바와 같이 ACS4의 발현은 교미 후 1.5일에 정상생쥐의 1.52배, 3.5일에 1.71배의 발현 증가를 보였으며 착상이 일어난 후인 5.5일부터는 정상생쥐와 유사한 발현량을 나타내었다.

설치류에서 배반포기 수정란이 착상할 위치의 자궁에는 혈관의 확장이 일어나며 이러한 과정은 일반화된 자궁부종, 내강의 폐쇄와 상피세포와 영양배엽의 최초 접촉반응이 동시에 일어나고 prostaglandin이 직접적으로 관여하는 것으로 보고되고 있다(Lau 등, 1973; Kennedy, 1985; Johnson와 Dey, 1980; Tawfik 등, 1987; Gupta 등, 1989). Prostaglandins의 생성은 먼저 세포막에 존재하는 수용체에 호르몬과 성장인자와 같은 신호전달 물질이 결합하면 cytosolic phospholipase A2가 활성화되어 인지질의 sn-2 위치를 절단하여 아라키돈산을 세포질로 유리시켜야 한다. 유리된 아라키돈산은 세포내에서 cyclooxygenase 1과 2에 의하여 prostaglandins, thromboxanes, leukotrienes과 같은 eicosanoids를 합성한다. 그러나 이러한 반응은 염증반응(Bonventre, 1992), 번식(Abrahamsohn와 Zorn, 1993), 신경독성(Bonventre와 Koroshetz, 1993) 등에도 일어나는 것으로 보고되고 있으며 세포내 생리활성물질인 eicosanoids 합성조절은 매우 정교하게 조절되는 것으로 생각

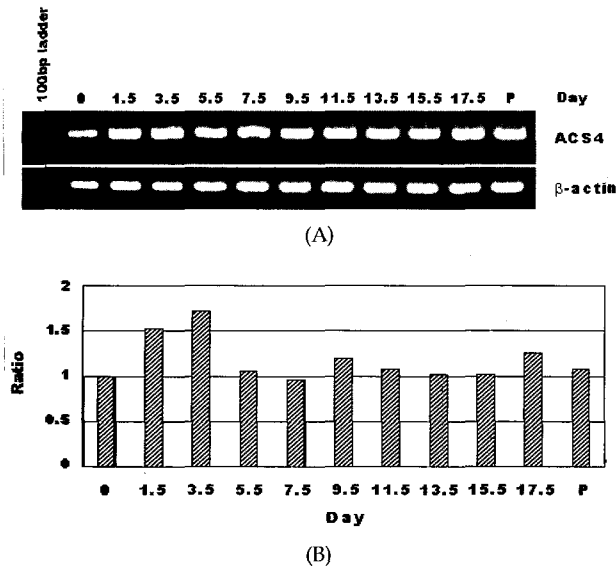


Fig. 4. Expression of acyl-CoA synthetase 4(ACS4) gene in the mouse uterus during pregnancy. A) RT-PCR analysis, B) Abundance of mRNAs was determined using Gel-Pro analyzer 3.1 program.

되어지고 있다.

Acyl-CoA synthetase 4(ACS4)는 세포막으로부터 유리된 아라키돈산에 CoA를 연결하는 효소로 추정되고 있으며 아라키돈산으로부터 eicosanoids 합성을 조절하는 것으로 보고되고 있다(Cho 등, 2001). ACS4 유전자 한쪽의 발현이 제거된 heterozygous 생쥐에서는 생후 6주령부터 자궁 내강이 확대되고 12주령에서는 자궁의 전체 크기의 증가와 많은 낭종(cysts)이 형성되고 12주령의 생쥐자궁에서 PGE<sub>2</sub>, 6-keto PGF<sub>1α</sub>, PGF<sub>2α</sub>의 양을 측정된 결과 정상생쥐보다 2배 이상 높은 농도를 나타냄으로서 프로스타글란딘 생산에 관여한다고 보고하고 있다(Cho 등, 2001). 또한 불안정한 임신 유지로 인해 유산과 사산되는 태아의 증가를 나타내어 ACS4는 임신 유지에도 관여하는 것으로 추측되어지고 있다.

본 연구에서 prostaglandin과 같은 eicosanoid 생성에 관여하는 cPLA<sub>2</sub>, COX1, COX2의 유전자 발현을 RT-PCR로 확인한 결과 세 가지 유전자가 공통적으로 착상전인 3.5일까지는 급격하게 증가하는 경향을 나타내었으며 착상 후인 5.5일에는 발현이 3.5일보다는 감소하였으나 임신하지 않은 정상 생쥐보다는 높은 발현을 나타내었다. 이러한 결과는 착상 전에 자궁 내 환경의 변화에 의한 prostaglandin의 생성이 활발하게 이루어지고 있음을 나타내는 것이다. 특히 COX1은 임신 초기뿐만 아니라 임신 후기인 15.5일과 17.5일에는 증가하는 것으로 나타났다(Fig. 2). 임신 후기에 있어서 COX1은 어떠한 역할을 수행하는 지 정확한 보고가 없으므로 COX1과 임신후기 자궁의 상태에 대해서는 앞으로 연구가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

생쥐에서 착상은 교미 3.5일째 22~23시 사이에 일어나는 것으로 보고되고 있으므로 교미 3.5일, 4.5일, 5.5일에 있어서 cPLA<sub>2</sub>, COX1, COX2와 ACS4의 발현을 RT-PCR로 확인한 결과 Fig. 5에 나타난 바와 같이 모든 유전자의 발현이 착상 후인 4.5일부터 낮아지는 것을 확인할 수 있었

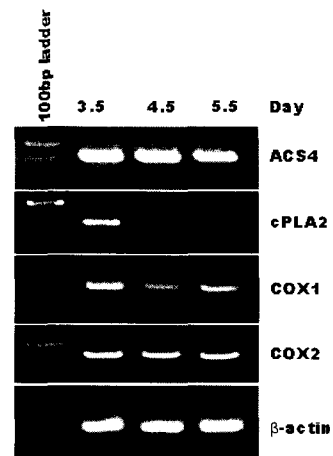


Fig. 5. Expression of cPLA<sub>2</sub>, COX1, COX2, and ACS4 gene in the peri-implantation mouse uterus.

다. 이러한 결과는 착상 이후 prostaglandin의 생성은 매우 정교하게 조절되고 있음을 나타내는 것이다.

특히 착상 전 자궁에 있어서 아라키돈산에 특이적인 acyl-CoA synthetase 4 유전자의 발현도 1.5~1.7배 증가하는 결과를 나타내었다. 일반적으로 prostaglandin의 생성은 cPLA<sub>2</sub>에 의하여 세포막의 인지질로부터 유리된 아라키돈산으로부터 COX1과 COX2에 의하여 유도되는 것으로 생각되어지고 있다. 그러나 아라키돈산은 acyl-CoA synthetase 4에 의하여 아라키도닐-CoA로 변환되고 다시 인지질로 에스테르화 된다(Majerus 등, 1983; Lin 등, 1992; Lin 등 1993). 이러한 논리에서는 많은 양의 아라키돈산이 임신과정 중 자궁상피의 세포막에서 유리되고 prostaglandin의 생성은 증가되므로 상대적으로 acyl-CoA synthetase 4 유전자의 발현은 낮아질 것으로 추측할 수 있다. 그러나 본 연구에서는 Fig. 4에 나타난 바와 같이 증가되는 경향을 나타내었다. 이러한 결과는 세포막에서 유리된 아라키돈산은 무한적으로 COX1과 COX2에 의하여 prostaglandin의 생성에 이용되는 것이 아니라 acyl-CoA synthetase 4에 의하여 세포막의 인지질로 되돌려져 prostaglandin의 생성을 조절하는 기능이 존재할 가능성을 제시한다. 그러므로 prostaglandin의 생성에 대한 세포레벨에서의 acyl-CoA synthetase 4의 기능을 더 검토할 필요가 있으며 ACS4는 스테로이드 호르몬 생성조직원 부신과 난소에서 발현함으로 임신단계별 자궁과 부신, 난소와의 상호작용에 있어서 acyl-CoA synthetase 4의 기능도 검토되어야 한다고 생각한다. 그러나 착상 이후 acyl-CoA synthetase 4 유전자의 발현 증가가 prostaglandin의 생성에 관련된 유전자의 발현양상과 일치하는 것은 앞으로 임신과정 중 ACS4 유전자의 기능을 연구하는데 있어서 기초 자료가 될 것으로 생각한다.

## 인용문헌

1. Abrahamsohn, P.A. and Zorn, T.M.T. 1993. Implantation and decidualization in rodents. J. Exp. Zool.

- 266:603-628.
2. Burton, D.N., Haavik, A.G. and Porter, J.W. 1968. Comparative studies of the rat and pigeon fatty acid synthetase. *Arch. Biochem. Biophys.* 126: 141-145.
  3. Bonventre, J.V. 1992. Phospholipase A2 and signal transduction. *J. Am. Soc. Nephrol.* 3:128-150.
  4. Bonventre, J.V. and Koroshetz, W.J. 1993. Phospholipase A2 (PLA2) activity in gerbil brain: characterization of cytosolic and membrane-associated forms and effects of ischemia and reperfusion on enzymatic activity. *J. Lipid. Mediat.* 6:457-471.
  5. Cho, Y.Y., Kang, M.J., Sone, H., Suzuki, T., Abe, M., Igarashi, M., Tokunaga, T., Ogawa, S., Takei, Y.A., Miyazawa, T., Sasano, H., Fujino, T. and Yamamoto, T.T. 2001. Abnormal uterus with polycysts, accumulation of uterine prostaglandins, and reduced fertility in mice heterozygous for acyl-CoA synthetase 4 deficiency. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 284:993-997.
  6. Fujino, T. and Yamamoto, T. 1992. Cloning and functional expression of a novel long-chain acyl-CoA synthetase expressed in brain. *J. Biochem.* 111:197-203.
  7. Dennis, E.A., Rhee, S.G., Billah, M.M. and Hannun, Y.A. 1991. Role of phospholipase in generation lipid second messengers in signal transduction. *FASEB J.* 5: 2068-2077.
  8. Fujino, T., Kang, M., Suzuki, H., Iijima, H. and Yamamoto, T. 1996. Molecular characterization and expression of rat acyl-CoA synthetase 3. *J. Biol. Chem.* 271, 16748-16752.
  9. Guputa, A., Huet, Y.M. and Dey, S.K. 1989. Evidence for prostaglandins and leukotrienes as mediators of phase I of estrogen action in implantation in mouse. *Endocrinology* 124:564-569.
  10. Jhnoson, D.C. and Dey, S.K. 1980. Role of histamine in implantation. Dexamethasone inhibits estradiol-induced implantation in the rat. *Biol. Reprod.* 22: 1135-1141.
  11. Kumar, S. 1975. Functional deacylases of pigeon liver fatty acid synthetase complex. *J. Biol. Chem.* 250: 5150-5185.
  12. Kennedy, T.G. 1985. Evidence for the involvement of prostaglandins throughout the decidual cell reaction in the rat. *Biol. Reprod.* 33:140-146.
  13. Kang, M.J., Fujino, T., Sasano, H., Minekura, H., Yabuki, N., Nagura, H., Iijima, H. and Yamamoto, T. 1997. A novel arachidonate-preferring acyl-CoA synthetase is present in steroidogenic cells of the rat adrenal, ovary, and testis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94, 2880-2884.
  14. Lau, I.F., Saksena, S.K. and Chang, M.C. 1987. Pregnancy blockage by indomethacin, an inhibitor of prostaglandin synthesis: its reversal by prostaglandins and progesterone in mice. *Prostaglandins* 4: 795-803.
  15. Lin, L.-L., Lin, A.Y. and Knopf, J.L. 1992. Cytosolic phospholipase A2 is coupled to hormonally regulated release of arachidonic acid. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89, 6147-6151.
  16. Lin, L.L., Wartmann, M, Lin, A.Y., Knopf, J.L, Seth, A, and Davis, R.J. 1993. cPLA2 is phosphorylated and activated by MAP kinase. *Cell* 72(2):269-278.
  17. Majerus, P.W., Prescott, S.M., Hofmann, S.L., Neufeld, E.J. and Wilson, D.B. 1983. Uptake and release of arachidonate by platelets. *Adv. Prostaglandin Thromboxane Leukot. Res.* 11:45-52.
  18. Oikawa, E., Iijima, H., Suzuki, T., Sasano, H., Sato, H., Kamataki, A., Nagura, H., Kang, M.J., Fujino, T., Suzuki, H. and Yamamoto, T.T. 1998. A novel acyl-CoA synthetase, ACS5, expressed in intestinal epithelial cells and proliferating preadipocytes. *J. Biochem.* 124(3):679-685.
  19. Suzuki, H., Kawarabayasi, Y., Kondo, J., Abe, T., NishiKawa, K., Kimura, S., Hashimoto, T. and Yamamoto, T. 1990. Structure and regulation of rat long-chain acyl-CoA synthetase. *J. Biol. Chem.* 265. 8681-8685.
  20. Tawfik, O.W., Sagrillo, C., Johnson, D.C. and Dey, S.K. 1987. Decidualization in the rat: role of leukotrienes and prostaglandins. *Prostaglandins Leukot. Med.* 29: 221-227.

(접수일자: 2004. 4. 5. / 채택일자: 2004. 6. 18.)

## **Expression of Arachidonate-Preferring Acyl-CoA Synthetase 4 in the Mouse Uterus during Pregnancy**

Lee, S. M., H. Y. Park, Y. H. Jeoung, S. J. Moon and M. J. Kang

*Department of Animal Science, Insti. of Ag. Sci. and Tech., College of Agriculture & Life Science, Chonnam National University*

### **ABSTRACT**

This study was conducted to determine expression of acyl-CoA synthetase 4(ACS4), which is involved in converts arachidonic acid to prostaglandins, in the mouse uterus during pregnancy. In arachidonic acid metabolism, acyl-CoA synthetase plays a key role in the esterification of free arachidonic acid into membrane phospholipids. Following its release by the action of calcium dependent phospholipases, free arachidonic acid is believed to be rapidly converted to arachidonoyl-CoA and reesterified into phospholipids in order to prevent excessive synthesis of prostaglandins. Here we demonstrate that ACS4 gene are differentially regulated in the peri-implatation mouse uterus. During the preimplantation period(days 0.5~3.5), the ACS4 gene was expressed in the uterus until day 3.5 after which the expression was downregulated. The expression of cPLA2, COX1, and COX2 gene was similar to that of ACS4 gene in the preimplantation periods. However expression levels of COX1 gene show much variation on the various days of pregnancy examined. These data, suggest that ACS4 expression in preimplantation period is involved in initial attachment reaction with cPLA2, COX1, and COX2 gene.

(Key words : Acyl-CoA synthetase, cPLA2, COX1, COX2, Prostaglandins, Mouse uterus)