

D113 Expression of Neurotrophins and Their Receptors, TRK Family
in Germ cell of Mouse

Chan Park* and Yun Hee Kim
Department of Biology , Kyunghee University

Neurotrophins and their receptors, TRK family, are growth regulatory molecules in the nervous system. TRK receptors contain transmembrane tyrosin kinase domains which transduce signals intracellularly by protein phosphorylation. Since development of germ cell requires interaction with the supporting cells just as the development of nervous systems, we investigated whether neurotrophins and the receptors are expressed during spermatogenesis. We found the expression of *trkB* and *trkC* mRNA and the corresponding proteins in mouse testis. gp145 TRKB protein is localized in Spermatogonia A and Leydig cell by Immunohistochemical analysis. Tyrosine Kinase domain of *trkB* mRNA was also detected by RT-PCR analysis. *In situ* hybridization using *trkB* extracellular domain probe showed the *trkB* mRNA is localized in Peritubular myoid cell and Leydig cell. Blotting-analysis of RNA prepared from postnatal day 6, 12, 18, 22, 25, and adult (stage mouse testis RNA) detected expression of many alternatively spliced *trkB* mRNA. Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF), the ligand for TRKB, was found in all stages but the neuron specific exon 1 and 2 are expressed more in 22d, 25d, and adult stages and exon 3 and 4 are only in 6d. We also found that gp140 TRKC is localized in elongated spermatid. 1.1kb and 0.7kb *trkC* mRNAs are expressed only after 25d and adult stages, consistent with immunostaining data. These data demonstrate that functional TRKB receptor is expressed in spermatogonia and the supporting endocrine Leydig cells whereas functional TRKC receptor is in elongated spermatid. We suggest that the neurotrophin receptors, TRKB and TRKC have differential role in germ cell development and are involved in signal transduction between germ cells and the supporting cells to control the germ cell differentiation.

D114 생쥐 초기배아 발생에 미치는 DNA와 RNA Methylation 억제제의 영향

김 종 월*, 강 승 호, 홍 석 호, 전 일 경, 한 성 원, 김 문 규
한양대학교 자연과학대학 생물학과

생쥐 초기배아에서 DNA와 RNA methylation이 난할, compaction, 그리고 포배강형성에 미치는 영향을 알아보고자 시행하였다. 이 실험에서는 실험군으로 DNA와 RNA methylation 억제 물질인 5-azacytidine (5-azaC)과 5-2'-deoxyazacytidine(5-2'-deoxyazaC)을, 그리고 대조군으로 6-azacytidine(6-azaC)을 처리하였으며, 그리고 이러한 물질처리로 유발된 DNA 혹은 RNA methylation 상태 변화가 유전자 발현과정 중 RNA 전사 혹은 전사 후 수준에서 작용하는지를 확인하기 위하여 DNA synthesis 억제제인 aphidicolin, RNA transcription 억제제인 *a*-amanitin을 DNA methylation 억제제와 복합 처리하였으며, 그 결과 발현된 mRNA의 양상을 RT-PCR 방법으로 조사하였다.

전핵시기, 2-, 4-, 8-세포기 그리고 상실기 배아에 5-azaC, 5-2'-deoxyazaC 그리고 6-azaC를 처리한 결과 5-azaC과 5-2'-deoxyazaC 처리군은 유의하게 발생이 억제되었다. 모든 시기의 처리군에서 첫 번째 난할 시간(timing)과 난할율은 대조군과 별다른 차이를 보이지 않지만, 이후의 발생에서 난할이 지연되었으며 포배로의 발생율이 농도의존적으로 유의하게($p < 0.05$) 낮아졌다. 후기 2- 및 전기 4-세포기에 aphidicolin 처리군에서는 compaction이 억제되지 않았으나 *a*-amanitin 처리군은 억제되었다. 또한, 상실기 배아에 aphidicolin 처리 결과는 포배강을 형성하는 반면, *a*-amanitin, 5-azaC 그리고 5-2'-deoxyazaC 처리군은 포배강형성을 유의하게 억제하였다($p < 0.001$). 그러나, 5-azaC를 처리한 배아에서 *c-myc*, DCMT, HPRT, IGF-1 receptor, 및 SOD의 mRNA를 조사한 결과는 정상군과 별 다른 차이를 보이지 않았다. 위의 결과들로 보아 DNA와 RNA methylation 모두 생쥐 초기배아의 난할, 밀집 그리고 포배강형성에 밀접하게 관여하며 적절하게 조절된 DNA와 RNA methylation이 정상 발생에 필수적임을 암시한다.