

【 O2-3 】

**cDNA 마이크로어레이와 생물정보학 기법을 이용한
아스코르브산이 배아줄기세포에서 신경세포로의 분화에 미치는
영향 연구**

신동미, 이용성, 이연숙*

한양대 의대 생화학교실, 서울대 식품영양학과*

**A Study on the ascorbic acid responsive genes during neuronal differentiation
from embryonic stem cells through cDNA microarray and bioinformatic tools**

Shin Dong Mi, Lee Yong Sung, Lee Yeon Sook*

*Department of biochemistry College of medicine Hanyang University, Department of food and nutrition
Seoul national university**

아스코르브산은 배아 줄기 세포로부터 신경세포로의 분화를 촉진한다고 알려졌으나, 어떠한 기전으로 아스코르브산이 분화를 촉진시키는가에 관한 연구는 거의 없다. 본 연구에서는 lineage selection을 통해 마우스 배아 줄기 세포로부터 신경세포로의 분화를 유도, 이때 아스코르브산이 어떤 효과를 보이는지를 검증하기 위해, immunostaining, cDNA microarray, RT-PCR을 수행하였다. 또한 transcriptional regulatory network을 밝히기 위해 transcription factor를 찾기 위한 분석을 실시하였다. Immunostaining 결과, 총 세포 수에 대한 신경세포의 비율이 대조군에서는 45%에 그쳤던 것에 비해, 아스코르브산처리된 신경세포로의 분화를 71%까지 촉진시켰다. 10,368개의 유전자가 집적된 cDNA microarray를 이용하여, 대규모 유전자 발현 분석을 실시한 결과 149개의 유전자가 아스코르브산에 의해 발현이 유의하게 변화하였다. 이들 유전자 중에는 neurogenesis, neuronal maturation, neurotransmission에 관련된 유전자가 다수 포함되어 있어, immunostaining에서 보인 결과와 일치하였다. 한편, functional categorization과 Fisher's exact test를 통하여, 신경세포로의 분화 유도 시 아스코르브산처리된 다른 어떤 category 보다 cell adhesion category와 development category에 속한 유전자들의 발현에 변화를 유발한다는 것을 밝혔다. Microarray에서 얻어진 데이터를 알려진 pathway에 적용 결과, 아스코르브산은 대부분의 metabolic pathway에 영향을 미치지 않거나 억제하는 방향으로 조절하였다. 반면 apoptosis와 Ca²⁺ signaling에 속한 유전자들의 변화를 통해 신경세포의 survival을 증진시키는 쪽으로, TGF beta signaling의 변화를 통해 분화를 촉진시키는 방향으로 signaling을 조절하는 것으로 나타났다. 아스코르브산에 의해 발현 패턴을 같이 하는 유전자들의 promoter 서열과 TRANSFAC 데이터 베이스를 이용하여 transcription factor를 분석한 결과, pax5, hmx3 등과 같은 neuronal development에 관련된 transcription factor들이 제안되었다. 유전체학 및 생물정보학 기법을 활용한 이번 연구 결과는 신경세포 분화 시 아스코르브산의 역할에 대한 기본적인 체계적인 정보를 제공할 것으로 사료된다.