

당뇨병, 비만 관련 연구에!!

Rat 백색지방전구세포	TaKaRa Code MK428	1 vial(>1.8×10 ⁶ cells/vial)
Rat 갈색/백색지방세포 전용 배지 세트	TaKaRa Code MK423	1 Set
Rat 백색지방세포 배양 Kit	TaKaRa Code MK427(MK428+MK423)	1 Kit

지방세포는 당뇨병, 비만 등의 연구에서 자주 사용되고 있으며, 백색지방세포와 갈색지방세포가 있다.

백색지방세포는 피하나 내장 주위 등 몸 전체에 폭넓게 분포하며 몸 세포의 1%를 차지하고 있다. 이 백색지방세포의 수는 한 번 증가하면 거의 감소하지 않고 에너지의 과잉섭취에 따라 세포 내에 축적되어 비대해진다.

반면 갈색지방세포는 목 주위, 겨드랑이 밑, 견갑골 주위, 심장, 신장에 존재하며 많은 양의 미토콘드리아를 함유하고 있어 갈색을 띤다. 미토콘드리아에 존재하는 UCP(열생성 단백질)에 의해 남은 에너지가 열로 변환되어 방출된다. 이와 같이 갈색지방세포에서는 백색지방세포와는 반대로 지방의 연소 작용이 일어 나는 곳이다.

최근, 백색지방세포가 갈색지방세포를 활성화하고, 백색지방세포에도 UCP가 발현되는 것이 확인되어 백색지방세포에서의 UCP 발현 활성화 가능성이 보고되고 있어, 갈색지방세포뿐 아니라 백색지방세포도 주목을 끌고 있다.

금번 발매하는 rat 백색지방세포 배양 kit는 이미 발매중인 rat 갈색지방세포 배양 kit(TaKaRa Code MK422)와 함께 항 비만물질의 screening 연구 등에 유용하다.

본 고에서는 이 두 개의 kit를 사용하여 백색 및 갈색지방세포를 배양하고, 그 분화에 따른 UCP 유전자 등 비만관련 유전자 발현을 실시간 RT-PCR로 해석한 실험 예를 소개하고자 한다.

실험 예: Rat 백색지방세포(조직) 및 rat 갈색지방세포(조직)에 있어서 비만관련 유전자의 발현 해석

두 가지 kit를 사용하여 쥐의 백색지방전구세포(WAC), 갈색지방전구세포(BAC)를 배양한 후 각종 분화 단계에서 세포내 비만관련 유전자의 발현을 Real time RT-PCR로 해석하였다. 또한 대조군으로 rat에서 추출한 백색지방조직(WAT)과 갈색지방조직(BAT)에 대해서도 동일한 해석을 하였다.

【방법】

(1) WAC 및 BAC의 배양과 total RNA의 조제

Kit 내의 전구세포를 용해한 후 증식배지 속에서 WAC와 BAC를 각각 2×10⁴ 개/ml 농도로 배양을 시작하였다. 세포 밀도가 약 90% 정도 되면 분화배지로 교환하여 배양을 계속하고 48시간 후에 배지를 교환하여 배양을 계속하였다. 유지배지로 교환한 후 5 일째에 norepinephrine(NE: 최종 농도 1 μM)과 troglitazone(Tro: 최종농도 10 μM)을 첨가하였다. 일시적으로 세포를 회수하여 total RNA를 추출하였다.

(2) Rat에서의 WAT 및 BAT의 적출과 total RNA의 추출

3주된 SD rat(수컷)에서 WAT와 BAT를 추출한 후 액체질소로 급속 동결하여 total RNA를 추출하였다.

(3) Real time RT-PCR에 의한 유전자 발현 해석

Perfect Real Time 지원 시스템으로 설계한 primer 및 SYBR[®]RT-PCR Kit(Perfect Real Time)(TaKaRa Code RR045A)를 사용하여 각 세포 또는 조직에서 추출한 total RNA를 주형으로 하여 real time RT-PCR을 하였다. Total RNA 1 pg~100 ng를 주형으로 하여 각 유전자에 대한 검량선을 작성하고 용해곡선을 분석하여 목적 서열의 특이적인 증폭을 확인하였다.

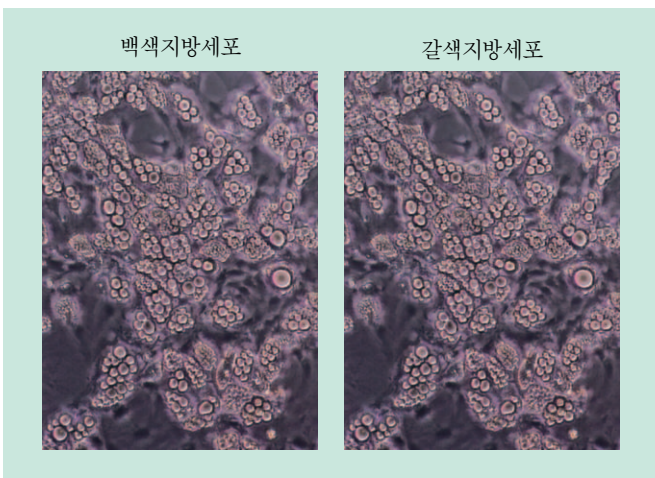
【해석대상 유전자】

비만과 관련된 다음 유전자에 대하여 발현 해석을 하였다.

UCP1, UCP2, UCP3

Leptin(Lep)

β3-AR(Adrb3: β3-아드레날린 수용체)



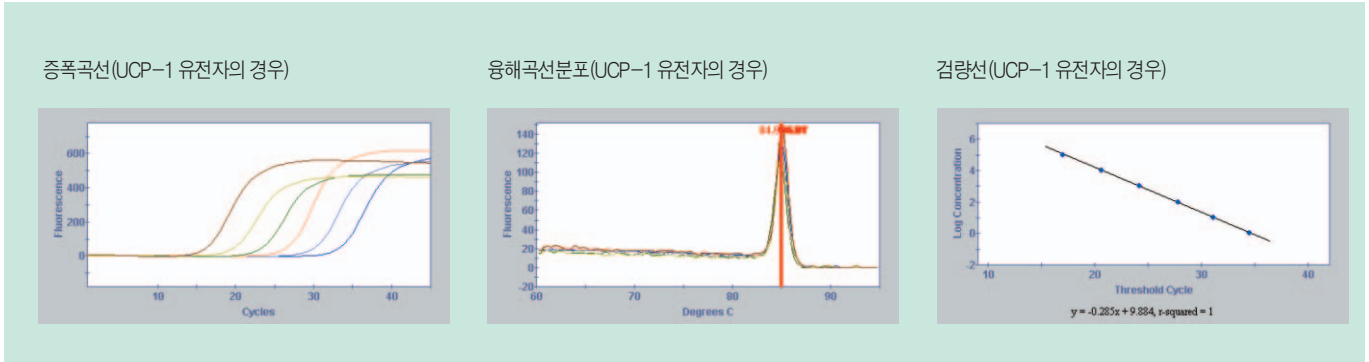


그림 1 증폭곡선, 용해곡선 분석 및 검량선 예(UCP1 유전자)

[측정치 보정]

Housekeeping 유전자인 GAPDH와 β -actin(Actb)의 mRNA 발현량을 구한 후, 그 평균값을 이용하여 시료간의 RNA양을 보정하고 해석대상 유전자의 상대 발현량을 구하였다.

[결과]

대조군으로서 사용한 백색지방조직(WAT)과 갈색지방조직(BAT)에서의 UCP 유전자 발현을 비교하였을 경우, UCP1은 BAT에서 많이 발현하고 UCP2와 UCP3은 양쪽 조직에서 동일한 정도로 발현하고 있는 것이 확인되었다.

배양세포의 경우에는 지방전구세포에서 지방세포로 분화, 성숙해 가는 과정에서 대상 유전자의 발현 변화를 포착할 수 있었다.

UCP1은 과잉 에너지를 열로 변환하는 갈색지방세포(BAC)에서만 발현하는 것으로 되어 있지만 백색지방세포(WAC)에서도 발현이 확인되었다. 또한 교감신경에서 분비되는 norepinephrine(NE)과 PPAR γ ligand인 troglitazone(Tro)의 약물 자극에 의한 작은 발현 변동도 검출되었다.

관련 제품

제품명	TaKaRa Code	포장량
Rat 갈색지방전구세포	MK424	1 vial() 1.8 × 10 ⁶ cells/vial
Rat 갈색지방세포 배양 Kit	MK422(MK424+MK423)	1 Kit

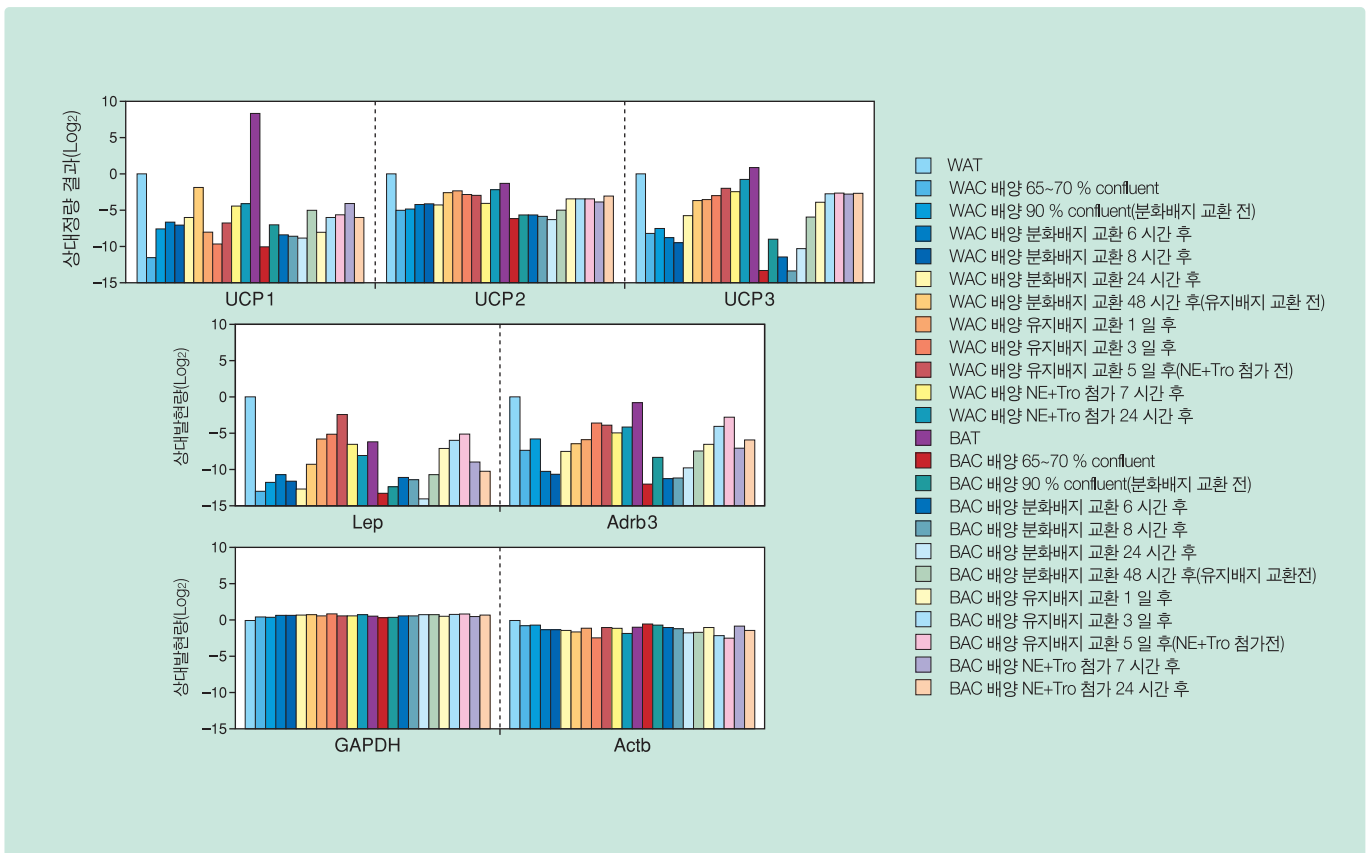


그림 2 지방조직(WAT, BAT) 및 각종 분화 단계의 배양 지방세포(WAC, BAC)에서의 비만관련 유전자의 발현 비교