

도 유의성 있는 결과를 보였다(0.25-1.5 colonies/genital ridges). 그러나 3회 이상 계대배양을 할 경우, 원시생식세포의 colony 형성은 급격히 감소되었다. 원시생식세포 colony의 세포화학적 염색을 위해, alkaline phosphatase(AP) 염색법을 이용하였으며, 이를 위해 colony를 4% paraformaldehyde로 20분간 고정한 후, tris-maleate buffer(pH 9.0)로 10분간 3회 세정하였다. Fast Red로 염색을 실시한 결과, 대부분의 colony가 염색반응을 보여 다능성을 갖는 원시생식세포의 colony임이 입증되었다. 그러나 대부분의 colony가 3회 이상의 계대배양시 생존율이 급격히 떨어지는 것을 감안하면, 또다른 미지의 성장인자나 보다 적절한 배양조건이 요구된다고 생각된다.

-18-

### 소 초기배 발생 중 배양액내 energy source의 조절 효과

고려대학교 자연자원대학 응용동물과학과

이홍준 · 김승범 · 김선욱

최승철 · 이상호

본 연구는 체외수정을 실시한 소 초기배의 체외배양시 사용되는 배양액 내의 에너지물질 첨가에 따른 발생효과를 연구하기 위하여 실시되었다. 도살장에서 채취한 난소로부터 직경이 4-7mm 정도의 난포에서만 난포란을 회수하여, TCM199+20% FCS+10IU/ml hCG+10IU/ml PMS 배양액으로 24-26시간 체외배양 한 후, 동결정액을 용해하여 45 및 90%의 two-step percoll gradient법을 이용하여 운동성이 활발한 정자만을 회수하여 준비된 성숙난자와 체외수정을 실시하였다. 수정된 난자를 CZB+15% FCS 배양액 하에서 소 과립막세포(GCM), 소 난관상피세포(BOEC) 및 마우스 태아성 섬유아세포(EMFC)와 공배양하였다. 여러 농도로 조정된 pyruvate, glutamine를 CZB 배양액에 에너지원으로 첨가하여 초기배 발생율의 향상을 유도하고자 하였다. Pyruvate와 glutamine의 농도는 본 실험실의 CZB 배양액 조성표에 의해 계산 첨가되었다. 체외발생율은 체외수정후 48시간째의 난할율과 148시간째의 배 발달율을 확인하여 계산

되었다. 총 646개의 난포란을 사용한 결과, 수정 후 48시간째 난할율은 BOEC, GCM, MEFC에서 각각 41.5, 48.1, 40%를 보였으며, 148시간째 상실기 및 배반포기는 각각 16.3, 0.0, 15.0%가 관찰되었다. 수정후 48시간째 관찰한 난할율의 경우, Na-pyruvate를 0.2, 0.50, 1.00mM 첨가한 구에서 각각 33.3, 57.7, 54.2%를 보였으며, D-glucose를 5.55, 11.1 mM 첨가한 경우, 첨가하지 않은 대조구의 23.1%의 난할율에 비해 높은 33.4 및 40.0%를 각각 보였다. 즉, 전체적인 난할율은 D-glucose 첨가구에 비해 Na-pyruvate 첨가구에서 더 높았지만, 같은 시기의 4-세포기까지의 난할율만을 비교할 경우, D-glucose 첨가구가 1.5배 정도 더 높은 결과를 보였다.

-19-

### Estrogen Increases the Expression of bFGF mRNA in Cultured Human Endometrial Stromal Cells

Young-Min Choi, Seok-Hyun Kim, Chang-Jae Shin, Jung-Gu Kim, Shin-Yong Moon, Jin-Yong Lee, Yoon-Seok Chang and John Yeh\*

*Department of Obstetrics and Gynecology, Seoul National University School of Medicine, Seoul, Korea\*, Department of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Biology, Harvard Medical School, Boston, Massachusetts, U.S.A.*

It is well known that estrogen regulates the growth and proliferation of the endometrium. However, the specific mechanisms of estrogen action are not well defined.

Recently it has been suggested that estrogen exerts its effects via increase in some growth factors and/or growth factor receptor in estrogen responsive organs. The purpose of this study was to evaluate the influence of estrogen on the expression of bFGF mRNA in cultured human endometrial stromal cells.

Endometrial stromal cells were grown in serum-containing media(DMEM). And the media was replaced with serum-free media containing varying concentrations of  $17\beta$ -estradiol dissolved in ethanol, and cultured for 6 hours. RNA was extracted from the cultured cells. Ribonuclease protein assay was used to quantify the level of bFGF mRNA.

Estrogen increased the level of bFGF mRNA expression in cultured stromal cells. The increase in bFGF mRNA in each group compared to control group were 114% in the concentration fo  $10^{-8}$ M  $17\beta$ -estradiol, 204% in  $10^{-7}$ M, 120%  $10^{-6}$ M, and 102% in  $10^{-5}$ M, respectively.

Our study suggests that estrogen exerts its effect, in part, through the effect on the level of bFGF in the human endometrium.

- 20 -

## Polymerase Chain Reaction을 이용한 성의 감별

서병희 산부인과의원 불임연구실

손성수 · 강남이 · 김재명  
고영호 · 서병희

### Sex Determination by Polymerase Chain Reaction

Seong Soo Sohn, Nam I Kang,  
Jae Myung Kim, Young Ho Koh  
and Byung Hee Suh

*Infertility Research Laboratory,  
Suh Women's Clinic*

Sex determination in genomic DNA from human blood leukocytes was performed by amplication of human Y chromosome-specific DNA sequences using PCR technique. A clear DNA fragment(154 nucleotides long) was appeared only in the male genomic DNA, but no specific band was

observed in the case of female genomic DNA and negative control.

To know the sensitivity of this method, the amplication reaction was performed in genomic DNA diluted to 2pg equivalent to the amount present in the single human cell, and clear band also observed.

The PCR amplification was so successfully performed in the single leukocyte separated from human blood using micro-manipulator that this technique is assumed to be applied to single blastomere before embryo transfer.

- 21 -

## 습관성 유산환자에서 조직적합성 항원 측정의 의의

제일병원 산부인과, 유전학 연구실\*

김의숙 · 최범채 · 황정혜 · 오정미  
전종영 · 박소연\* · 최수경\*

반복적 태아의 손실과 HLA항원에 의한 농 종면역간의 관계는 연구지마다 이견이 많으며, 국내에서는 이에 관한 연구가 극히 드문 실정이다. 본 연구는 임신 20주 이전에 연속 2회 이상 자연유산을 경험하였거나, 3회 이상 자연유산을 경험한 습관성유산 환자 중 원인 불명으로 분류된 46 부부와 자연유산의 경험이 없으며 임신 28주이상의 출산을 2회 이상 경험한 18 부부에 대하여 Terasaki HLA typing tray를 이용한 혈청학적인 방법으로 HLA 항원을 분석하였고, 환자군의 차단항체유무를 알기 위하여 Mixed leukooyto culture를 실시하여 Blocking effect index(BET)를 구하였다. HLA 항원의 발현빈도, 공유빈도, 항원의 공유와 차단항체 지수와의 관계를 분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 반복적 태아손실이 있는 환자군에서는 Cw7 18.9%(대조군 6.52%), DR8 12.0%(2.82%)의 발현빈도가 대조군에 비해 유의있게 높게 나타났으며( $p < 0.05$ ), A33 11.5%(대조군 22.2%)은 대조군에 비해 유의있게 낮게 나타났다( $p < 0.05$ ).

2. 환자군과 대조군간의 고유된 HLA 항원