

Mouse Embryo and Their Expression in the Mouse Oviduct

Department of Animal Sciences,
Kon-Kuk University

M.H. Kim, N.H. Kim, J.H. Kim, H.T.
Lee and K.S. Chung

The objectives of this study were to determine effects of three different types of SOD (Cu/Zn-SOD, Mn-SOD and Fe-SOD), which appeared to be the potent scavengers of superoxide anion, on the *in vitro* development of the mouse embryo and to assay these antioxidant enzymes in the mouse oviduct by western blotting method. Mouse zygotes were cultured in CZB medium containing different types of SOD at 37°C under atmosphere of 5% CO₂ in air. Mouse oviductal fluid and tissues at all stages (from ovulation time to the blastocysts) were collected from the mouse oviducts and at -70°C for the western blotting assay. Addition Cu/Zn-SOD to the culture medium significantly ($P < 0.05$) increased the incidence of blastocyst formation of mouse zygote developing *in vitro*. In contrast, neither Mn- nor Fe-SOD did not enhance *in vitro* development of mouse zygotes. Western blotting analysis revealed both Cu/Zn type and Mn type SOD in the all stage of oviductal fluids and tissues. In the oviductal tissue, Mn-SOD particularly displayed the pattern of expression of two subunits at 40 and 96 kD. These results suggest that Cu/Zn-SOD is probably associated with the two-cell block phenomenon in the mouse embryos during *in vitro* culture, and that SOD in the both oviductal fluid and tissue may play an important role in the protection of embryos against reactive oxygen radicals.

- 4 -

Effect of Human Cord Serum

on the Hormone Production by Mouse Oocyte Cumulus Complexes *In Vitro*

전남대학교 의과대학 산부인과학교실

이여일, 박현정, 권영숙

In our previous study, it was shown that human cord serum stimulated cumulus expansion *in vitro* by cumuli oophori isolated from mice primed with pregnant mare serum gonadotropin (PMSG), and suggested that there were some gonadotropin-like components stimulating cumulus expansion in human cord serum. In this paper we assess whether there are gonadotropin stimulating cumulus expansion in human cord serum and sex steroid hormone production from oocyte cumulus complexes (OCCs). The contents of follicle stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone (LH) were measured in human cord serum; follicle stimulating hormone level was basal, but luteinizing hormone was as high as 142.4mIU/ml even in inactivated serum. After short term culture (4hr), with or without OCCs, medium containing 0.4% bovine serum albumin (BSA) as control or 10% human cord serum (HCS) was collected and analyzed for its content of estradiol, progesterone, and testosterone. Little or no sex steroid contents were detected in any control media with or without OCCs. In contrast, a moderate or small amount of sex steroid contents was detected in culture medium containing cord serum. OCCs secreted minute but not significant amounts of estradiol, progesterone, and testosterone when cultured in media containing cord serum. After 4, 8, and 22hr culture with OCCs, similar patterns of cumulus expansion were observed in media containing cord serum, human chorionic gonadotropin (HCG) instead of luteinizing hormone (LH), and HCS plus HCG. However, no cumulus expansion was observed in any control media.

It is suggested that luteinizing hormone in

human cord serum induces cumulus expansion and affects the secretion of sex steroid hormones by OCCs during culture.

- 5 -

한약탕제의 투여가 생쥐의 배란율에 미치는 영향

차병원 여성의학연구소, 한의학연구센터
경희대학교 한의과대학¹

이경설¹, 정형민, 이창훈¹, 송병기¹,
고정재, 차광열

본 연구는 불임환자의 치료를 위해 사용하는 한약제제를 이용하여 생쥐의 배란에 미치는 영향을 알아보기 위하여 실시하였다. 연구에 사용된 약제는 현재 차병원 한의학연구센터에 내원하는 불임환자의 치료를 위해 사용중인 보옥탕, 온포산 및 온토육린탕을 택하였다. 각각의 한약제에 물 1,200 ml를 넣고 약탕기에서 2시간동안 끓여 전탕액을 준비하였다. 제작된 전탕액을 멸균 거어즈로 여과한 다음 4 °C에서 냉장시킨 후 상층액 500ml를 취하여 실험에 사용하였다. 4주령 B6 F1 hybrid 자성생쥐를 보정한 다음 경구투여용 catheter를 사용하여 준비된 전탕액을 1회 투여시 두당 0.3 ml씩 투여하였다. 전탕액의 투여는 1일 1회 2일간 투여한 군 (Group I), 1일 1회 4일간 투여한 군 (Group II) 및 2일간격으로 1회 6일간 총 3회 투여한 군 (Group III)으로 나누었으며 대조군은 동일한 방법으로 물을 투여한 군으로 하였다. 실험전탕액의 투여가 완료된 생쥐는 투여종료 4일 후 PMSG와 hCG를 이용하여 배란을 유도하였으며 hCG 투여 15시간째에 도살하여 배란된 난자의 총수와 정상적인 형태를 보이는 난자의 수를 비교하였다. 그 결과 Group I의 경우 3종류의 한약탕제가 투여된 생쥐의 배란난자수 및 정상난자의 수 모두 대조군의 그것에 비해 유의적으로 높게 나타났으며 특히 온토육린탕의 경우 두당 총 배란난자수가 32.0개 그리고 정상 난자수가 28.5개로서 대조군의 그것 (18.0개, 16.0개)에 비해 유의적으로 높게 나타났다. Group II의 경우 보옥탕을 제외한 다른 두가지 탕제의 경우 배란된 난자의 수와 정상난자의 수에

있어서 차이가 없었으며 보옥탕의 경우 배란된 난자의 수 및 정상 난자수에 있어 유의하게 낮은 결과를 나타내었다. 한편 Group III의 경우 전실험군에서 배란된 난자의 총수 및 정상난자의 수에 있어서 차이를 나타내지 않았으나 Group I 및 Group II의 결과와 비교해 볼 때 현저히 낮은 배란수와 정상난자수를 나타내었다. 이상의 결과를 미루어 볼 때 본 연구에 사용된 한약탕제는 단기간 투약시 배란율의 증가효과를 나타냈으나 이들 한약탕제의 투약기간을 4일 이상연장하거나 혹은 비정기적으로 투약시에는 배란율의 증가효과는 나타나지 않은 것으로 나타났다.

- 6 -

Effects of Vitamins and Amino Acids on the *In Vitro* Development of Rat Oocyte Following Round Spermatid Injection.

Department of Animal Sciences, Kon-Kuk University

S.M. Lee, J.W. Lee, J.H. Kim, N.H. Kim,
H.T. Lee and K.S. Chung

The objective of this study was to determine effects of vitamins and amino acids on the rat oocytes following round spermatid injection (ROSI) on the in vitro development. Rat one cell embryos fertilized by ROSI were cultured in rat one cell embryo culture medium (RECM) under following different culture conditions : RECM, 2) RECM + MEM essential amino acids (EAA), RECM + EAA + MEM vitamins (Vt). Approximately 70% of oocytes were survived after ROSI. About 84% of oocytes following injection developed to the two-cell stages. The percentage of one cells that developed into blastocyst stage at RECM + EAA + Vt (13.4%) and RECM + EAA (5.2%) were significantly higher than those in RECM (1.3%). Few hatching blastocysts (1.7%) were observed at