P-38 단위생식적으로 활성화된 생쥐난자에서 Voltage-dependent Ca^{2+}-channel의 동정

성신여자대학교 자연과학대학 생물학과

장 연 수 · 배 인 하

(1) 연구 목적

난자의 활성화는 정자의 관입없이도 여러 가지 화학 물질을 처리하여 유도할 수 있다. 이러한 단위생식이 난자를 활성화시키는 기작은 아직 명확히 밝혀져 있지는 않으나 Ca^{2+}도 factor 중의 하나이며, 세포질내의 Ca^{2+} 농도를 높이는 agent를 처리할 경우 활성화가 일어나며, 세포분열이 일어나려면 세포내 Ca^{2+} 농도가 먼저 높아진다는 보고도 있다.

따라서 본 실험에서는 voltage-dependent Ca^{2+}-channel antibodies (anti-α_{1A}, anti-α_{1B}, anti-α_{1C}, anti-α_{1D})를 이용한 immunocytochemistry 방법으로 배란된 생쥐난자를 각각 활성화 속도가 다른 6% ethanol로 6분, 10 mM $SrCl_2$로 2시간 처리하여 단위생식적으로 활성화시킨 후 24시간 후 2세포기 배를 수집하여 Ca^{2+}-channel을 동정하였다.

(2) 재료 및 방법

MII 시기의 난자를 모아 M16 (기본배양액)에 6% ethanol을 6분, 10 mM $SrCl_2$에 2시간 노출시켜 단위생식적으로 활성화시킨 후 기본배양액에 넣어 배양하였다. 배양 24시간 후, 2세포기 배를 모아 Immunocytochemistry 방법 (① PFA (parafomaldehyde) 4% 20 min. 고정 ② Normal serum 60 min. 처리 ③ Primary antibody 4℃ 16시간 처리 ④ Secondary antibody 1 h 처리 ⑤ ABC (avidin biotin peroxidase complex) 1 h 처리 ⑥ DAB (diaminobenzidine tetrahydrochloride)의 발색반응)으로 Ca^{2+}-channel의 양상을 비교하였다.

(3) 결 과

Primary antibody를 처리하지 않은 대조군의 경우 ethanol, $SrCl_2$로 단위생식을 유도한 것 모두에서 전혀 specific staining을 보이지 않았다. P/Q type antibody인 anti-α_{1A}의 경우 두 처리군 모두에서 localized staining을 보였으며 ethanol이 $SrCl_2$로 단위생식을 유도한 것보다 staining이 명확하게 보였다. N type인 anti-α_{1B}의 경우는 대조군과 마찬가지로 전혀 specific staining을 보이지 않았다. L type인 anti-α_{1C}의 경우는 모두에서 아주 선명한 localized staining을 보였다. L type인 anti-α_{1D}의 경우는 모두에서 아주 선명한 localized staining을 보였다.

(4) 결 론

본 실험에 의하면 배란된 생쥐난자를 ethanol과 $SrCl_2$로 단위생식적으로 활성화시킨 뒤 24시간 후 2세포기 배를 모아 immunocytochemistry 방법으로 Ca^{2+}-channel을 동정한 결과 P/Q type, L type 두 종류의 Ca^{2+}-channel이 존재함을 알 수 있었다. 이는 체내에서 수정된 후 2세포기의 배에는 P/Q type, N type, L type의 세 종류의 Ca^{2+}-channel이 존재하는 것과는 분명한 차이가 있었다. 또한 단위생식 유도 시 ethanol은 $SrCl_2$와는 달리 그 활성속도가 매우 빨랐는데 이 실험에 의하면 P/Q type에서 ethanol은 87.7%의 staining을 보인 반면 $SrCl_2$는 54.1%의 staining을 보였고 그 staining의 강도에도 차이가 있었다.

이상의 실험을 종합해 볼 때 단위생식 유도 시 그 유도물질에 따라 Ca^{2+}-channel의 양상이 달라졌으며, 단위생식적으로 활성화된 후의 2세포기 배와 체내 수정된 후의 2세포기 배

의 Ca^{2+}-channel의 양상에 차이가 있음을 알 수 있었다.

P-39 The Effect of a Baseline Ovarian Cyst on the Outcome of in vitro Fertilization-embryo Transfer

J.E. Chung, S.W. Bai, J.Y. Kim, J.M. Yoon, K.J. Lee, B.S. Lee, K.H. Park, D.J. Cho and C.H. Song

Department of Obstetrics and Gynecology, Yonsei University College of Medicine

Introduction: How and in what degree the baseline ovarian cyst affects the in vitro fertilization-embryo transfer (IVF-ET) has been in question for the practitioners. In this study, the effect of baseline ovarian cyst in ovulation induction and in the IVF-ET outcome of GnRH agonist treated patients are investigated.

Materials and Methods: The 101 IVF-ET cases due to tubal factors, recruited from January 1996 to December 1998, were included in the study population. Thirty-one cases had ovarian cyst greater or equal to 1 cm, and 70 cases were without it. The long protocol was applied using Decapeptyl, and ovulation induction was done using the human menopausal gonadotropin (hMG). Transvaginal ultrasonography was used for the measurement of ovarian cysts. The patients age, ampules of hMG used, endometrial thickness and the level of E2 on the day of human chorionic gonadotropin administration were compared in the two groups. The outcome variables included the size of follicles, number of oocytes retrieved, mature oocytes, immature oocytes, postmature oocytes, embryos transferred, and clinical pregnancies. Fishers exact test was used for the comparison, and $p<0.05$ was considered as statistically significant.

Results: The patients age, ampules of hMG used, and the endometrial thickness on the day of hCG administration were not different in the two groups. The peak E2 level significantly higher in the group without a baseline ovarian cyst ($p<0.05$). The number of oocytes retreved, the number of mature oocytes, the and the number of clinical pregnancies were significantly higher in the patients without a baseline ovarian cyst ($p<0.05$).

Conclusion: A baseline ovarian cyst can negatively affect the outcome of IVF-ET. The increased dimension of ovarian cyst may entangle the development of oocytes and locally affect the angiogenesis. Based on this study results, the ovulation induction and IVF-ET schedule should be postponed in the presence of a baseline ovarian cyst to maximize the outcome. Further studies on the effect of cyst aspiration in the outcome of IVF-ET are warranted.