

P-11

한국인 다낭성 난포증후군 환자에서 SHP 유전자 변이에 관한 연구

차병원 여성의학연구소 유전학연구실¹, 전남대학교 호르몬연구센터²,
분당차병원 포천중문 의과대학교³, 성균관대의대 강북삼성병원⁴

이수만¹ · 한정희¹ · 남보현¹ · 최흥식² · 남운성¹ · 김남근³
이교원⁴ · 이숙환¹ · 전해선³

연구목적: 한국 여성의 다낭성 난포증후군 환자에서 유전자 전사 조절에 관여함으로 발생과 분화에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있는 핵 수용체 (nuclear receptor)의 활성을 조절하는 SHP (Small Heterodimer Partner) 유전자 변이를 탐색하여 이들 변이와 질환과의 관련성 여부를 밝히고자 하였다. SHP 유전자는 비만 및 당뇨병에서 그 유전자의 변이가 기존에 발견되었으며, 현재 다낭성 난포증후군의 병리기작에 관여할 것으로 제안되었다.

연구재료 및 방법: 20명의 다낭성 난포증후군 환자와 대조군으로는 정상 가임여성을 20명을 대상으로 SHP의 exon 1, 2의 변이를 비교하였다. 혈액에서 genomic DNA를 추출하여 PCR로 증폭한 후 RFLP 방법으로 변이를 관찰하였다.

결 과: SHP exon 1의 경우는 *Msp I*, *Pvu II*, *Dde I* 3개의 enzyme을 가지고 총 9개의 부위를, exon 2의 경우는 *Eae I*, *Dde I*을 사용하여 3개 부위의 돌연변이 여부를 관찰한 결과 환자군과 대조군 모두에서 heterozygous 또는 homozygous 한 돌연변이는 관찰되지 않았다.

고 찰: 다낭성 난포증후군 환자에서 핵 수용체 중의 하나인 SHP의 돌연변이를 관찰한 결과 의미 있는 결과가 나타나지는 않았다. 본 실험에서 사용한 PCR-RFLP 방법은 전체 exon 중에 극히 제한된 부위 (68 bp/1,006 bp)에 국한된다는 점을 감안할 때 다른 부위의 변이 존재 가능성을 배제할 수 없을 것으로 사료되며 이에 대한 추가적 연구가 진행되어야 될 것이다.

P-12

한우의 귀세포를 이용한 핵이식에서 전기융합 조건이 배발달에 미치는 영향 및 배양방법에 따른 수태율 비교

한경대학교 유전공학연구소^{1,2}, 한경계농택 (주)²

윤종택¹ · 최은주² · 이호준²

목 적: 본 연구는 한우 귀세포를 공여핵으로 이용한 체세포 복제송아지 생산에 있어서 전기융합 조건이 배발달에 미치는 영향과 배양방법에 따른 체세포 복제란의 이식 후 수태율을 조사하여 복제 송아지의 생산 효율을 제고하고자 실시하였다.

대상 및 방법: 체세포 핵이식이 완료된 수정란을 ① 1.9 kv/cm, 20 μ s 2회, ② 2.0 kv/cm, 20 μ s 2회, ③ 2.2 kv/cm, 10 μ s 2회, 및 ④ 1.9 kv/cm, 30 μ s 2회의 전기자극으로 융합을 실시하여 각 자극 별 융합율과 난자의 lysis율을 비교하고, 배양 후 배반포 발생율을 조사하였고, 핵이식 수정란의 배양은 39°C, 5% CO₂ incubator에서 처리구 I은 CR1aa에서 4일간 배양 후 나머지 3일을 CR1aa + 5% FBS 배지에서 배양,

처리구 II는 CR1aa에 4일간 배양 후 나머지 3일을 CR1aa + 5% FBS 배지에 cumulus cell과 공배양, 처리구 III은 CR1aa + 5% FBS 배지에 cumulus cell과 공배양하였다. 수정란이식은 발정발현 7일째에 비외과적 방법으로 젖소 미경산우에 이식하였으며 이식란수는 2~4개의 핵이식된 수정란을 이식하였다. 임신진단은 45~60일 사이에 직장검사 및 초음파 진단기를 이용하여 실시하였다.

결 과: ①, ②, ③, ④의 전압을 이용하여 공여핵의 체세포와 수핵란 세포질간의 융합을 유도한 결과, 융합율은 각각 50.7%, 48.1%, 65.5%, 및 33.3%였으며, 수핵란자의 세포질 lysis율은 39.1%, 41.7%, 22.6%, 및 52.7%으로 ③ 2.2 kv/cm, 10 μ s 2회의 조건에서 융합율이 유의적으로 높았고, 수핵란자의 세포질 lysis율에 있어서도 다른 groups에 비하여 낮았다. 각 자극별로 융합 후 난할율 및 배반포 발생율은 각각 65.7%, 73.5%, 77.2%, 및 53.3%과 47.8%, 52.0%, 49.7%, 및 21.8%로 나타나 난할율 및 배반포 발생율에 있어서 1.9 kv/cm, 30 μ s 2회의 조건이 다른 조건들에 비하여 유의적으로 낮았다. 각 배양 처리구에 따른 수정란 이식 후 수태율은 처리구 II와 III에서 공히 20%의 수태율을 나타낸 반면 처리구 I에서는 수태가 되지 않았다.

결 론: 체세포와 수핵란 세포질간의 융합시 전압보다는 시간에 더 영향을 받음을 알 수 있었으며, 이와 같은 결과에서 융합시 시간을 오래 주는 것보다 전압을 높이는 것이 수핵란자의 세포질에 상해를 줄이고 이후 배반포 발생에 유리할 것으로 사료되고, 체세포 복제수정란의 이식 후 수태율을 높이기 위한 배양방법은 단순배양보다 공배양이 더 효과적인 것으로 생각되지만 이런 결과가 복제송아지 생산효율에 있어서도 효과적일지는 향후 더 많은 연구가 있어야 할 것으로 생각된다.

P-13 Effect of Fertilization Promoting Peptide (FPP) Treatment on the Intact Acrosome of Cryopreserved Human Sperm

마리아 기초의학연구소/생명공학연구소, ¹마리아 병원

신현아 · 이금실 · 허영태 · 김은영 · 박세영 · 박은미 · 윤지연
조현정 · 길광수 · 박세필 · 임진호¹

Objective: This study was to examine the effect of FPP addition at freezing and thawing solution on the intact acrosome of human sperm.

Materials and Methods: After FPP (50 nM) treatment, the acrosome of sperm was investigated using 0.25% Coomassieblue G-250 staining or 100 ug/ml FITC-PSA staining method.

Results: The freezing process and incubation increased the rate of spontaneous acrosome reaction of frozen-thawed human spermatozoa *in vitro*. At freezing, FPP addition group in freezing solution maintained the highly proportion of intact acrosome sperm than FPP non-treated group. Also, the addition of FPP in thawing solution as well as freezing solution indicated the similar effect compared to non-freezing group.

Conclusions: This result indicates that FPP may play an important role to maintain the acrosome for sperm fertility following the sperm cryopreservation process.