

우 미흡한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 난소 조직에서 일주기성 변화와 연관된 유전자들의 발현 양상을 관찰하고, 빛의 유무가 이들의 발현양상에 어떠한 영향을 미치는지를 알아보려고 하였다.

Method: 생쥐의 난소에서 일주기성 변화와 연관된 유전자 (Period1 (Per1), Period2 (Per2), Period (Per3), Cryptochrome1 (Cry1), Cryptochrome2 (Cry2), Clock, Bmal1과 Timeless (Tim))와 시교차상핵의 output molecule인 Prokineticin (Prok2)에 대한 수용체들 (Prok1r와 Prok2r), PER1 단백질의 발현양상을 1) 발달 단계에 따라 (post partum; 1 day, 7 day, 10 day, 21 day, 35 day) 2) 일주기성 시간 (Circadian time (CT) 2, 6, 10, 14, 18, 22: constant dark (D/D)와 light dark (L/D))에 따라 확인하고, 2주간 빛의 노출 시기 조절에 따른 난자의 배란 및 성숙률을 조사하였다.

Results: 일주기성을 나타내는 주요 유전자들은 난소 내에서 간과 같은 조직과는 다른 양상으로 시간에 따른 일주기성을 갖고 발현됨을 확인할 수 있었다. 또한 빛의 유무에 따른 일주기성 유전자들의 발현양상은 Bmal1과 Tim 유전자와 같이 빛의 유무에 따라 많은 차이를 보이지 않는 것과 Per1, Per2, Per3, Cry1, Cry2 및 Clock 유전자와 같이 빛에 의해 생체 내 발현양상이 달라지는 유전자들이 있음을 확인할 수 있었다. 또한 생후 발달단계에 따라 일주기성 유전자들은 각각 서로 다른 발현을 보였으며, 많은 난포가 성장을 시작하는 시기인 생후 7일과 10일을 전후하여 발현량이 변화하는 것을 볼 수 있었으며, Prok2에 대한 수용체가 주요 주기성 유전자들의 발현시기와 거의 동시에 발현되는 것을 확인할 수 있었다. 또한 PER1에 발현양상을 면역조직화학적 방법으로 비교한 결과, 발달 단계 및 시간에 따른 결과에서 과립막세포와 난자에서 높게 발현 되는 것을 알 수 있었고, 뚜렷한 일주기성은 확인할 수 없었으나 Per1의 발현과 같이 발달단계에 따른 차이점을 나타냄을 확인할 수 있었다. 빛의 노출 시기에 따른 배란 난자의 조사 결과 빛에 노출시키지 않는 암컷 생쥐의 경우에는 배란된 난자의 수와 질이 정상적인 환경에서 키운 경우에 비해 크게 저하되었고, 노출 시기에 따른 각각의 차이점이 확인되었다.

Conclusions: 이상의 연구들을 종합한 결과, 난소 내에 일주기성 유전자들은 기존의 시교차 상핵이나 간 등에 비해 뚜렷한 시간에 따른 주기성을 보이지는 않았으나, 서로 다른 주기성을 가지고 발현함을 알 수 있었고, 발생단계 별로는 다양한 발현 양상의 차이를 보이며, 빛에 의해서도 다양하게 발현양상이 달라짐을 확인함에 따라 일주기성 유전자의 발현은 난소에서 난자의 발달에 밀접한 연관성을 추론할 수 있었다.

Supported by: Korea Health 21 R&D Project, Ministry of Health & Welfare (01-PJ10-PG6-01GN13-0002).

P-39 Effect of Steroid Hormones on Aquaporin 4, 5, and 8 Expression and Localization in the Ovariectomized Mouse Uterus

SM Kang, MC Gye, HS Shin, JW Lee, SE Lee, HS Kang, MK Kim

Department of Life Science, College of Natural Sciences, Hanyang University

Background & Objectives: The aquaporins (AQPs) represent a family of transmembrane water channel proteins that are widely distributed in various tissues throughout the body and play a major role in trans-

cellular and transepithelial water movement. The luminal fluid microenvironment of the uterus is important for sperm capacitation and preimplantation embryo development. Steroids regulate water imbibition in the uterine endometrium. The aim of this study was to determine the expression of AQP's mRNA gene and localization of protein regulated by estrogen and progesterone in mouse uterus.

Method: Ovariectomized (OVX) ICR mice were treated with injection of 17 β -estradiol (E2, 0.3 μ g/mouse) and progesterone (P4, 1 μ g/mouse). Mice were killed 6, 12, and 24hr after 17 β -estradiol or progesterone injection by cervical dislocation. Another group of mice was given progesterone following 17 β -estradiol treatment for 24 hr, and was killed 6, 12, and 24 hr after progesterone injection. The levels of AQP's mRNA were examined by RT-PCR, and laser capture microdissection (LCM). To determine whether these mRNAs were translated, cellular distribution of these proteins were investigated by immunohistochemistry.

Results: AQP 4, 5, and 8 were highly expressed in E2 or E2 + P4 treated group than P4 treated group. Immunohistochemical results showed that AQP 4, 5 and 8 protein were expressed in the myometrium, luminal and grandular epithelial cell. AQP 4, 5, and 8 protein were highly expressed in the luminal epithelial cell in E2 or E2 + P4 treated group than P4 treated group.

Conclusions: These results suggest that the expression of AQP 4, 5, and 8 is up-regulated by estrogen. Thus AQP 4, 5, and 8 may regulate water imbibition and luminal fluid production in the mouse uterus by estrogen-dependent manner.

P-40 Effects on in vitro Development of Mouse Preimplantation Embryos by Co-culture System with vero Cells Monolayer in Media with Different Composition of Glucose and Pyruvate

JH Kim¹, C Won², HB Song³, JG Rhee¹, KH Jung¹, BH Kang¹, KC Kang¹, KH Lee¹

*Department of Obstetrics & Gynecology, Chungnam National University Hospital¹,
Moa Obstetrics & Gynecology Clinic², Department of Life Resources, Taegu University³*

Background & Objective: The purpose of this study was conducted to examine the effects on in vitro development of early preimplantation mouse embryos by co-culture system with vero cells monolayer in culture media with different composition of glucose and pyruvate.

Methods: Two-cell embryos were collected from 4~5 weeks old ICR mice. A total 382 embryos were co-cultured with vero cells monolayer in four different media that were manufactured by mixture ratio using DMEM with (DMEM-GGP) or without (DMEM-G) glucose and pyruvate. In control group, DMEM-G medium which is currently using for human embryo culture in our infertility clinic was used. Group I was cultured in medium which was mixed three volume of DMEM-G and one volume of DMEM-GGP, and group II was cultured in medium which was mixed same volume of DMEM-G and DMEM-GGP, and group III was cultured in DMEM-GGP. All media were supplemented with 20% hFF. Results between different groups were analyzed using a Chi-square test, and considered statistically significant when p value