

O-3(기초) Survivin Acts as an Anti-apoptotic Factor During the Development of Bovine Preimplantation Embryos

Sae Young Park¹, Xiang Shun Cui², Jeon Kil Soo¹, Jin Cheol Tae¹,
Eun Young Kim¹, Won Don Lee³, Nam Hyung Kim², Se Pill Park¹, Jin Ho Lim³

¹Maria Infertility Hospital Medical Institute/Maria Biotech,

²Department of Animal Sciences Chungbuk National University, ³Maria Infertility Hospital

Background & Objectives: Survivin is a member of inhibitor of apoptotic protein (IAP) containing a single BIR (baculoviral IAP repeat) domain and known as a bifunctional protein that suppresses apoptosis and regulates cell division. We investigated the expression of survivin, and its role in preventing apoptosis and improving development in pre-implantation embryos.

Method: The knocked down survivin in bovine embryo was investigated by double stranded RNA (dsRNA) interference. In vitro fertilized embryos (1-cell) were injected with survivin dsRNA. DNA fragmentation of blastocyst was examined by TUNEL assay. The expression patterns of survivin mRNA were evaluated using real time quantitative RT-PCR. To determine survivin protein expression, we performed immunocytochemistry with rabbit anti-bovine survivin antibody.

Results: In vitro development rate of blastocyst was lower survivin dsRNA injected group (10.0%, dsRNA group) than sham injected group (18.5%, sham group). And, total cell number of blastocyst was decreased in dsRNA group. Expression levels of survivin mRNA and protein, were decreased in dsRNA group compared to sham group. Also, TUNEL assay showed more increase of apoptotic index in dsRNA group than in sham group.

Conclusions: These results indicated that survivin is an important factor of development and total cell number in bovine blastocyst and that could suppress apoptosis of preimplantation embryo.

O-4(기초) 생쥐 난자 및 초기 배아에서 Suppressors of Cytokine Signalling (SOCS)의 발현과 Insulin 및 LIF에 의한 발현 조절

김 다 혜 · 계 명 찬

한양대학교 생명과학과

Background & Objectives: 착상 전 초기 배아는 insulin, IGF, LIF 등 다양한 생물학적 활성 ligand들에 대한 수용체를 발현하며, 이들 ligand에 의해 발생 프로그램의 정교한 조절을 받는다. Suppressors of cytokine signalling (SOCS)은 JAK-STAT pathway를 활성화 시키는 다양한 종류의 cytokines과 growth factors에 의한 신호전달을 억제한다. SOCS는 JAK 또는 ligand receptor와 결합하여 signaling을 억제한다. 본 연구는 생쥐 난자와 초기 배아 발생과정에서 생물학적 활성분자 신호전달의 조절 규명의 일환으로 MII oocyte와 1-, 2-, 4-, 8-cell embryos, morula, compacted morula, early blastocyst, late blastocyst에서

SOCS와 STAT의 발현을 확인하였다. 또한 상실배와 포배에서 insulin과 LIF에 의한 SOCS, STAT 발현 및 insulin과 LIF에 의한 SOCS 발현의 변화를 확인하였다.

Method: 생쥐의 MII oocyte, 1-, 2-, 4-, 8-cell embryos, morula, compacted morula, early blastocyst, late blastocyst로부터 total RNA를 분리하고 최적화된 semiquantitative RT-PCR법으로 rp17을 내부 대조유전자로 하여 SOCS1, SOCS3, STAT3, STAT5b, LIFR, gp130, IR, IRS1, IRS3 mRNA 발현을 분석하였다. 배아 내 SOCS3와 STAT3, phospho-STAT3의 존재 부위를 confocal microscopy로 확인하였다. 한편 insulin과 LIF를 처리한 morula EH는 포배에서 처리 시간에 따른 SOCS 발현의 변화를 RT-PCR를 분석하였다.

Results: SOCS1, STAT3, STAT5b는 oocyte와 초기 embryo의 모든 시기에 발현되며 8-cell까지는 발현이 감소하다가 morula 시기부터 발현이 다시 증가하였다. SOCS3는 난자 내 발현이 비교적 낮고, 2-cell 시기 이후 포배까지 다량 발현되었다. 포배 내 SOCS3는 주로 세포질에서 관찰되었고, STAT3와 phospho-STAT3는 핵과 세포질에서 관찰되었다. Morula에서 insulin 처리 후 1~2시간 이내에 SOCS1, SOCS3 mRNA 발현이 증가한 반면 STAT5b는 감소되었다. Blastocyst에서 LIF 처리 시 SOCS3의 발현이 유의적으로 증가한 반면 SOCS1 및 STAT3의 발현은 유의적 차이를 보이지 않았다.

Conclusions: SOCS1, 3는 생쥐 난자와 초기 배아에서 발현되며, 초기 배아에서 SOCS1의 전사적 활성화는 늦게 개시됨을 알 수 있었다. 상실배와 포배에서 insulin 및 LIF에 의한 SOCS1, 3 발현의 변화는 이들이 발생중인 배아 주변의 생리활성분자에 의한 배아발생 조절 효과의 정교한 조절자로 작동할 가능성을 암시한다.

O-5(기초) 포배기 동결보존배아 이식시 자연주기 이용법과 외인성 호르몬요법의 임상적 유용성에 관한 비교 연구 연구

박혜은¹ · 지병철¹ · 구승엽¹ · 서창석¹ · 김기철² · 이원돈³ · 김석현¹

¹서울대학교 의과대학 산부인과학교실, ²함춘클리닉, ³마리아병원 (SMART Group)

연구목적: 포배기 동결보존배아 이식시 자연주기 이용법과 외인성 호르몬요법의 임신 결과에 대하여 비교 연구하고자 하였다.

연구방법: 포배기 동결보존배아 이식 221주기를 대상으로 임신 결과를 후향적으로 비교 분석하였으며, 난자공여 주기와 자궁유착증이나 배아이식시 초음파상 자궁내막이 8 mm 미만으로 얇은 경우는 제외하였다. 대상주기의 불임원인으로는 난관요인 (43.4%)이 가장 많았으며, 원인불명 (26.7%), 남성인자 (23.1%) 등의 순이었다. 대상환자는 포배기 동결보존배아 이식시 자연주기를 이용한 군 (Group A, n=116)과 외인성 호르몬을 이용한 군 (Group B, n=105)으로 대별되었다. 자연주기를 이용한 군에서는 초음파를 이용하여 난포성장을 추적관찰하여 배란을 확인 후 5일째 최대 3개까지 배아이식을 시행하였다. 외인성 호르몬 사용군은 월경 3일째부터 에스트라디올 (Progynova®, Schering, Germany) 2 mg을 복용하였고 월경 12일부터는 6 mg으로 증량 후 16일째부터 다시 2 mg으로 감량과 함께 프로게스테론 (Progest®, Samil Pharm, Korea) 100 mg을 근주하였으며 이후 월경 20일째 최대 3개까지 배아이식을 시행하였다. 두 군에서 동결보존배아 이식 후 임신율, 착상률 등의 임상적 결과를 비교 분석하였다.

결 과: 동결보존배아의 해동 후 생존율 (Group A: 80.3% vs. Group B: 84.4%), 이식률 (78.7% vs.