

mitochondria, which forms some cluster around the nucleus and differentiated cells have numerous mature mitochondria. Real-time PCR for mitochondrial DNA showed that the mitochondrial DNA copies were increased more than 30% compared to undifferentiated hES cells. Intracellular ATP content increased about 4 fold and ROS amount also increased about 3 fold after differentiation. Glutathione peroxidase 1 expression were increased in the differentiated ES cells compared to undifferentiated cells.

**Conclusions:** In summary, undifferentiated hES cells have few mitochondria and lower intracellular ATP content. However, the mitochondrial content dramatically increases in the early differentiation stage followed by the increase of the intracellular ATP content. ROS, by-product of oxidative respiration, were also increased and antioxidant system was activated to reduce oxidative stress.

## 0-17(기초) 생쥐 초기 배아와 배아줄기세포에서 Amino Acid Transporter 및 mTOR Pathway 관련 유전자의 발현과 조절

최혜원 · 이형송 · 신미라 · 임천규 · 전진현

성균관대학교 의과대학 삼성제일병원 생식생물학 및 불임연구소

**Background & Objectives:** 아미노산은 세포의 가장 기본적인 대사물질로서 이들의 공급과 결핍이 세포의 생리화적인 기능과 관련된 유전자의 발현에 영향을 미치는 것으로 보고되고 있다. 본 연구에서는 초기 배아 및 배아줄기세포 배양액에 첨가한 아미노산이 그들의 수송에 관여하는 amino acid transporter (AAT) 유전자와 세포의 증식과 관련이 있는 mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway 와 어떠한 관련성이 있는지 살펴보고자 하였다.

**Method:** 생쥐 초기 배아는 일차적으로 대조군인 *in vivo* 배아와 아미노산이 첨가되어 있는 G1/G2 배양액에서 2-세포기에서 포배기까지 체외배양하면서 각각의 발생 단계에 따라 배아를 수확하여 AAT 유전자 발현 양상을 분석하였다. 이차적으로 아미노산이 들어있지 않은 T6 배양액에서 체외배양한 배아에서의 AAT와 mTOR 유전자의 발현 양상을 G1/G2에서 배양한 배아와 비교하였다. 배아줄기세포는 계대배양과정에서 지지세포 (feeder cell)을 제거한 후 아미노산이 첨가된 DMEM/F-12와 아미노산을 첨가하지 않은 T6 배양액에서 24시간 동안 배양한 후 시료를 수확하였다. 이러한 시료들에서 RNA를 추출하여 4종류의 AAT (mATB, mASCT2, mLAT1, my + LAT2)와 mTOR pathway에 관여하는 유전자 mTOR, mS6K1, mS6K2, melf4e 대한 정량적인 real time RT-PCR을 수행하였다.

**Results:** 생쥐 초기 배아의 발생 단계별 AAT 유전자 발현 양상에서는 대조군인 *in vivo*에 비해 G1/G2 배양액에서 체외배양한 배아에서의 유전자 발현 양이 통계적으로 유의하게 낮게 나타났다 ( $p < 0.05$ ). 그리고 아미노산이 첨가된 G1/G2 배양액에서 배양한 배아들에서 아미노산이 포함되지 않은 T6 배양액에 배양한 배아에 비해 AAT와 mTOR pathway 관련 유전자의 발현 양이 통계적으로 유의하게 높게 관찰되었다 ( $p < 0.01$ ). 또한, 배아줄기세포에서도 아미노산이 첨가된 DMEM/F-12 배양액에서 AAT와 mTOR pathway 관련 유전자의 발현 양이 T6 배양액에 비해 통계적으로 유의하게 높게 발현되었다 ( $p < 0.01$ ).

**Conclusions:** 결론적으로 생쥐 초기 배아와 배아줄기세포의 체외배양액에 첨가된 아미노산에 의해

AAT 유전자와 mTOR pathway 관련 유전자들의 발현이 조절되며, 체외배양과정의 적절하지 못한 배양 조건에 의해 이러한 유전자들의 발현 양상이 변화됨을 알 수 있었다. 따라서 체외배양 조건의 최적화와 특정 배양액의 개발에 있어 관련 유전자의 발현 양상 변화에 대한 연구가 유용할 것으로 생각된다.

## O-18(기초) Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-g (PPAR-g) Inhibits TGF-b Induced Decidualization in Human Endometrial Stromal Cells

Chang HJ<sup>1</sup>, Lee JH<sup>1</sup>, Kim MR<sup>1</sup>, Park DW<sup>2</sup>, Hwang KJ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, Ajou University School of Medicine,

<sup>2</sup>Department of Biology, College of Natural Science, Ajou University

**Background & Objectives:** It is well recognized that the endometrial decidualization is crucial for implantation and maintenance of pregnancy. TGF-b plays an important role in endometrial stromal cell in decidualization. PPARs are members of the nuclear receptor superfamily, regulates gene expression in a variety of cells. Recently PPAR-g is accepted by the one of the novel receptor that is associated with implantation and menstrual physiology. We investigated the effect of PPAR-g agonist on TGF-b induced decidualization.

**Method:** The endometrium was obtained from mid to late proliferative phase women who had no gynecologic diseases by curettage. Then, the endometrial stromal cells cultured for 48 hours under the following hormonal conditions (100 nM P4 and 1 nM E2). TGF-β1 (2.5 ng/ml) or PPAR-g agonist (Rosiglitazone<sup>®</sup>; 50 nM) were added when necessary. We evaluated the TGF-β1 signaling pathway- ERK, COX-2, PGE2, and ERK inhibitor (PD98059) were added. Western blotting, ELISA were utilized to detect the proteins quantitatively.

**Results:** TGF-b induced the endometrial decidualization with increasing expression of the p-ERK, COX-2 and prolactin, PGE2, but led to down-regulation of PPAR-g expression. The PPAR-g agonists down-regulated the p-ERK, COX-2 and prolactin expression and PGE2 releasing in cultured endometrial stromal cells. When endometrial stromal cells treated with ERK inhibitor (PD98059), stromal cell decidualization was decreased with down-regulation of COX-2, PGE2.

**Conclusions:** TGF-b lead to endometrial stromal cells decidualization through ERK pathway. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-g (PPAR-g) inhibit TGF-b induced decidualization by ERK pathway down-regulation in human endometrial stromal cells.