

androgenism, which affects 5~10% of women of reproductive age.

Method: Ovary and follicular fluids from normal and PCOS patients were examined for quantitative differences in protein expression using two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE). Spot detection was accompanied by using ImageMaster™ 2D Platinum software. More than 30 candidate proteins were identified using matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight-mass spectrometry (MALD-TOF-MS) or peptide sequencing. The expression levels of the individual proteins were examined by Western blotting with the respective antibody to assess the protein values in the samples.

Results: About 20 protein spots were identified as being significantly overexpressed in ovary tissues and follicular fluids from patients with PCOS. The expression of these proteins was increased from 1.4- to 9.5-fold as compared with normal ovary tissues. The expression of the individual protein was confirmed with Western blot analysis.

Conclusions: Two-dimensional PAGE and mass spectrometry can identify proteins showing increased expression in PCOS. The association of these proteins with clinical variables and understanding the regulation of their expression will aid in determination of their potential use as biomarkers in this syndrome.

P-19

Therapeutic Cloning in Mice

주진영^{1,2} · 박천영¹ · 백은찬¹ · 엄상준² · 지희준³
류재웅⁴ · 조윤희⁵ · 정길생² · 이훈택²

분당제일산부인과¹, 건국대학교 축산학과², 미즈메디병원³,
경북대학교 생물공학부⁴, 한양대학교 의과대학⁵

Background & Objectives: 본 실험에서는 핵치환 기술을 적용하여, mouse에서 치료목적의 배아줄기 세포주를 확립하기 위한 조건 및 특징을 연구하였다.

Method: 6~8주령의 F1 hybrid (C57BL/6 × 129P3/J)를 과배란 유도한 후 Piezo drill manipulator를 이용하여 제핵과정을 실시하였으며, 공여세포로는 난구세포를 사용하였다. 난활성유도와 제 2극체 방출을 억제하기 위하여 SrCl과 cytochalasin B를 처리하였으며, M16배양액에서 배반포까지 발달을 유도하였다. 이를 통해 획득된 배반포의 투명대를 제거한 후 비활성화된 STO feeder layer가 부착된 배양접시에서 KO-DMEM을 사용하여 배양하였고, ES-like cell colony가 형성된 균을 계속 계대하여 전능성을 알아보기 위해 Alkaline phosphatase 염색과 Oct-4발현여부, DNA typing 및 염색체분석을 실시하였다.

Results: 총 123개의 공시난자에서 제핵율 88.6%, 핵치환 후 생존율은 67.9%이었으며, 재구축된 배아율은 78.4%를 나타내었다. 재구축된 난자에서 2세포기까지의 발달율은 60.3%, 4세포기의 발달율은 29.3%로써 다소 저조하였으나, 4세포기 이후에서 상실배-배반포까지의 발달율 (19%)은 전반적으로 좋은 양상을 보였다. 또한 ntES 세포주가 DNA typing과 염색체 분석을 통해 정상임을 확인하였으며, ntES 세포주의 전능성을 AP staining, SSEA-1, Oct-4의 발현을 확인하였다.

Conclusions: 본 실험의 결과, Mouse에서 체세포의 난구세포가 핵치환 후 배반포로 발달이 가능하며, ntES 세포주로 확립됨을 알 수 있었다. 또한 이렇게 확립된 ntES 세포주가 전능성을 가지고 있어, 치료목적의 복제에 광범위하게 응용될 수 있다고 사료된다.