

freezing and thawing induced damage.

Conclusions: Granulosa cell damage induced by the freezing and thawing process is mediated, at least in part, by the apoptotic process. Our preliminary results suggest that VEGF treatment before cryopreservation decreases the granulosa cell damage in rats, which is mediated by the antiapoptotic effect of VEGF.

P-29 인간 배아줄기세포의 분화과정에서 미토콘드리아의 변화에 대한 연구

신현상¹ · 한상철¹ · 조재원¹ · 임천규¹ · 이정은² · 윤현수² · 궁미경¹ · 전진현¹

성균관 의과대학 삼성제일병원 생식생물학 및 불임연구실¹,
한양대학교 의과대학 해부세포생물학 연구실²

Background & Objectives: 미토콘드리아는 ATP를 생성하는 세포내 소기관으로 생리학적 기능과 특성에 따라 다양한 형태학적인 변화를 나타낸다. 본 연구에서는 인간 배아줄기세포에서의 분화과정에서 관찰되는 미토콘드리아 미세구조의 변화를 투과전자현미경을 이용하여 관찰하였으며, 미토콘드리아의 증식 및 분화와 관련이 있는 mitochondrial transcription factor A (mTFA)의 발현양상을 real time RT-PCR 방법으로 분석하였다.

Method: 미토콘드리아의 미세구조관찰을 위해 미분화 및 분화과정의 배아줄기세포를 glutaraldehyde로 전고정한 후 osmium tetroxide로 후고정하여 Epon으로 포매하였다. 초박편절단기로 thin section한 후 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색한 후 관찰하였다. mTFA의 발현양상을 살펴보기 위해 인간 배아줄기세포주를 MEF feeder layer와 공배양하여 미분화 colony, 8일간 부유배양한 배아체, DMEM/F12 + 10% FBS에서 분화시킨 세포로부터 RNA를 추출하여 RT-PCR으로 cDNA를 합성한 후 real-time PCR을 수행하였다.

Results: 미분화 상태의 배아줄기세포는 그 크기가 작고 구형이며 cristae와 matrix가 발달하지 않은 원시형태의 미토콘드리아를 가지고 있음이 관찰되었다. 그러나 분화과정에서 미토콘드리아는 그 길이가 길어지고 cristae가 발달되었으며 matrix에서도 전자밀도가 높아짐을 관찰할 수 있었다. 또한 분화가 진행됨에 따라 mTFA의 발현양이 미분화 줄기세포에 비해 통계적으로 유의하게 증가하는 것을 확인할 수 있었다 ($p < 0.05$).

Conclusions: 인간 배아줄기세포의 분화과정에서 미토콘드리아의 분화와 증식이 수반되며, 이들의 변화가 특정 세포로의 유도분화 과정에서 중요한 역할을 수행하는 것으로 생각된다.