

을 확인하였으며, 배아체 형성 후 삼배엽성 표지인자의 발현을 RT-PCR 방법으로 확인하였다.

Results: LIF 첨가에 따른 배반포기의 내세포괴 수는 증가하지 않은 반면, 영양배엽의 세포수가 증가하는 경향을 보였으며, LIF 첨가에 따른 포배기 배아를 이용한 생쥐 배아줄기세포주 확립 효율은 control, LIF 1000 U, LIF 2500 U, LIF 5000 U 첨가 시 각각 3/30 (10%), 2/30 (6.7%), 11/30 (36.7%), 7/30 (23.3%)로 나타나 생쥐 초기 배아의 배양 시 2500 U의 LIF를 첨가해 주는 것이 효율적인 것으로 나타났다. 또한, 2-세포기 단일 할구 유래의 배아줄기 세포주 확립 효율은 7개의 배아를 이용하여 획득한 14개의 할구 중 3개의 배아줄기세포주를 확립하여 3/14 (21.4%)의 효율을 보여주었다. 그리고 5개의 4-세포기 배아를 이용하여 획득한 20개의 할구 중 1개의 4-세포기 단일 할구 유래의 배아줄기세포주가 확립되어 1/20 (5.0%)의 효율을 나타내었다. 확립된 할구 유래의 배아줄기세포주는 표지인자인 Oct-4, alkaline phosphatase의 발현을 확인하였으며, 배아체 형성을 유도한 후 RT-PCR 방법으로 삼배엽성 표지인자들의 유전자 발현을 관찰할 수 있었다.

Conclusion: 결론적으로 LIF와 ACTH가 첨가된 배양액을 사용하여 포배기 배아와 분리한 할구에서의 배아줄기세포확립 효율성을 향상시킬 수 있었다. 그러나 4-세포기 배아에서 분리한 단일 할구 유래 배아줄기세포주 확립 효율은 다소 저조하여 이를 개선하기 위한 지속적인 연구가 필요할 것으로 생각된다. 향후 효율적으로 개선된 방법을 인간의 체외수정 및 배아이식술과 접목하면, 면역 거부반응이 없는 자가 유래의 배아줄기세포를 확립할 수 있는 기술로 발전될 수 있다.

P-12 Expression of Ectodermal Neural Cortex 1 and its Interaction with Actin During the Ovulatory Process in the Rat

So Yun Choi¹, Sun Gyun Kim¹, Soo Jeong Jang², Sang Young Chun¹

¹School of Science & Biotechnology and Hormone Research Center,

²JB Stem Cell Institute, Chosun University College of Medicine

Objectives: The present study was designed to examine the gonadotropin regulation and action of ENC1 during the ovulatory process in immature rats.

Methods: Ovaries were also collected from immature (26-day-old) rats at various times after treatment with 10 IU PMSG for Northern blot, Western blot, and in situ hybridization analyses. Granulosa cells of preovulatory follicles were also collected by the method of follicular puncture using 23-gauge needles at different time intervals. Coimmunoprecipitation was utilized to confirm interaction of ENC1 with actin. G/F-actin in vivo assay kit was utilized to detect actin polymerization in granulosa cells of preovulatory follicles.

Results: ENC1 expression was stimulated by LH/hCG with 3 hr in preovulatory granulosa cells both in vivo and in vitro. LH-induced ENC1 expression was suppressed by high dose of protein kinase C (PKC) inhibitor RO 31-8220 (10 μ M), but not by low doses RO 31-8220 (0.1~1.0 μ M), suggesting the involvement of atypical PKCs. ENC1 was mainly localized to the nucleus of preovulatory granulosa cells before LH/hCG treatment. Interestingly, however, ENC1 was detected in both nucleus and cytoplasm after LH/hCG treatment. Coimmunoprecipitation assay demonstrated that ENC-1 physically interacted with actin. Lastly, LH/hCG treatment increased actin polymerization of granulosa cell, implying the possible involvement of ENC1 in this process.

Conclusion: In conclusion, expression of ENC1 stimulated by LH/hCG interacts with actin and thus may play a role in cytoskeletal reorganization during the ovulatory process.