

포유동물 난자-난구 복합체의 Metabolic Cooperativity에 관한 연구

고선근 · 나철호 · 권혁방

전남대학교 자연과학대학 생물학과

생쥐 혹은 돼지의 난자-난구 복합체를 인공배양하면서 뇌하수체호르몬 혹은 세포내 cAMP의 농도를 높이는 시약을 사용하여 난자의 성숙과 난구세포의 분산을 조절하고 이 때 두 세포들 사이에 상호협력 (metabolic cooperativity) 관계가 어떻게 변하는지를 조사하여 보았다. 생쥐와 돼지의 난구세포들은 뇌하수체호르몬이나 cAMP의 증가에 의해 분산이 유도됨과 동시에 배양액 내에 있는 uridine의 흡수가 크게 촉진되었다 (대조군의 약 4배). 그러나 난구세포에 흡수된 uridine이 난자로 전달되는 물질이동율 (transfer ratio)은 대조군과 같이 시간이 지남에 따라 감소하였으며 cAMP의 영향도 거의 받지 않았다. 또한 물질이동율의 감소는 난구세포의 분산 여부나 난자의 성숙(핵붕괴) 여부에 크게 영향을 받지 않았다. 단지 생쥐의 경우 호르몬에 의해 물질이동율의 감소가 더욱 두드러지게 나타나는 경우를 볼 수 있었다. 따라서 물질이동율의 변화가 난구세포의 분산이나 난자의 성숙과 직접 관련이 없는 것으로 보여지며 두 세포들 사이의 metabolic cooperativity가 난자의 성숙조절에 중요한 요인이 되지 않는다는 것을 알았다.

KEY WORDS: Metabolic cooperativity, Oocyte-cumulus complex

포유동물의 여포난자는 여러 층의 난구세포에 의해 둘러싸여져 있으며 난자와 난구세포 사이는 gap junction으로 연결되어 있다 (Anderson and Albertini, 1976). 여포난자가 성장을 할 때에는 이 경로를 통하여 metabolic cooperativity가 일어나서 난구세포로부터 영양 물질을 공급받는 것으로 알려져 있다 (Biggers, *et al.*, 1967; Heller *et al.*, 1981). 그러나 성장이 끝난 여포난자가 뇌하수체호르몬에 의해 성숙 재개와 배란을 일으킬 때 난자-난구세포 사이의 metabolic cooperativity가 어떤 역할을 하는지에 대해서는 아직도 논란의 대상이 되고 있다. 일부의 학자들은 난구세포에서 생성되는 cAMP가 gap junction을 통하여 난자 내로 전달되어 난자의 감수분열을 억제하고 있다. 뇌하수체호르몬 (leuteinizing hormone)의 자극에 의해 난구세포의 분산이 일어나면 동시에 gap junction이 파괴되어 두 세포 사이에 연결 (coupling)이 끊어져서 분열이 재개된다고 보고

있다 (Dekel and Beers, 1978; Gilula *et al.*, 1978; Dekel *et al.*, 1981). 실제 난구세포의 분산이 일어나면 gap junction의 소실과 함께 난자와 난구세포 사이의 연결(coupling)이 감소된다는 것이 쥐 (Gilula *et al.*, 1978), 생쥐 (Heller and Schultz, 1980), 양 (Moor *et al.*, 1980) 등에서 보고된 바 있다. 그러나 생쥐나 양에서 보면 난구세포의 분산이 뚜렷해지거나 연결이 끊어지기 (uncoupling)에 앞서서 감수분열(핵붕괴)이 이미 시작된다는 것이 알려져 있고 (Eppig, 1982; Moor *et al.*, 1980), 생쥐에서는 난자의 성숙 재개가 일어나야 난자-난구세포 사이의 완전한 격리(uncoupling)가 일어난다는 보고도 있으므로 (Eppig and Ward-Bailey, 1982), 난자의 상태(성숙여부), 난구세포의 분산 및 난자-난구세포 사이의 연결에 어떤 관계가 있는지는 아직 불확실한 실정이다.

본 실험은 복합체를 인공 배양하면서 호르몬 혹은 세포내 cAMP를 간접적으로 조절하여, 1) 난자의 성숙을 일으키면서 난구세포의 분산이 일어나지 않도록 한 경우, 2) 난자의 성숙과 난구세포

본 연구는 1986년도 문교부 학술연구조성비에 의해 수행된 연구의 일부임.

의 분산을 동시에 일으킨 경우, 3) 난자의 성숙을 억제하면서 난구세포의 분산을 일으킨 경우, 등의 세가지를 만들어서 이 때 난자-난구세포 사이의 물질의 이동 (coupling의 정도)을 조사하여 봄으로써 metabolic cooperativity의 의의를 찾고자 시도하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 배양: 본 과에서 사육중인 생후 3-4주 된 ICR 생쥐와 광주 근교 도살장 (삼호축산)에서 공급받은 돼지의 난소를 사용했다. 생쥐는 사용하기 2일전에 pregnant mare's serum gonadotrophin (PMSG)을 3 IU씩 주사하여 여포의 성장을 촉진 시킨 후 난자-난구 복합체를 골라내어 Brinster (1963)의 방법으로 배양하였으며 돼지는 중간 크기의 여포 (직경 약 3 mm)에서 19 Gauge 주사바늘이 달린 주사기로 복합체들을 흡입해 내어 microwell plate에서 배양하였다 (Kwon *et al.*, 1987). 기본배양액으로 TC 199 (Gibco)에 10% fetal bovine serum (Gibco)을 첨가한 것을 사용하였고, forskolin (Sigma)은 순수한 에탄올에 녹여 1 mM stock solution으로 제조하고, follicle stimulating hormone (FSH, Sigma), 3-isobutyl-1-methylxanthine (IBMX, Sigma), human chorionic gonadotrophin (HCG, Sigma) 등은 기본배양액에 직접 녹여 각각 0.1 IU, 1 mM, 10 IU의 stock solution으로 제조하여 사용하였다.

난자의 성숙과 난구세포의 분산조절: 복합체의 상태를 다음과 같은 방법을 사용하여 조절하였다. 첫째, 난자의 성숙을 일으키면서 난구세포의 분산이 일어나지 않도록 하기 위하여 어떤 호르몬이나 촉진제도 첨가하지 않았으며 이들을 대조군으로 삼았다. 둘째, 난자의 성숙과 난구세포의 분산을 동시에 일으키기 위하여 생쥐에서는 HCG (10 IU) 혹은 IBMX (10 μ M)를 배양액에 첨가하였으며 돼지에서는 FSH (0.1 IU)를 사용하였다. 셋째, 난자의 성숙을 억제하면서 난구세포의 분산을 유도하기 위하여 생쥐에서는 IBMX (100 μ M)를,

돼지에서는 forskolin (10 μ M)을 배양액에 첨가하였다. 이들 시약의 첨가는 전보 (Kwon *et al.*, 1987; Kwon *et al.*, 1987)에서 보고한 바와 같이 실험계획대로 난자의 성숙과 난구세포의 분산을 조절할 수 있었다.

물질 이동율 (transfer ratio)의 측정: 실험계획에 따라 일정시간 복합체들을 배양한 다음 난구세포의 분산여부를 도립현미경으로 확인한 후 방사성 uridine의 표지(labeling) 과정으로 들어갔다. 복합체들을 ^3H -uridine (10 μ Ci/ml, Amersham)이 첨가된 배양액에서 한 시간 표지를 시킨 후 이들을 기본배양액에 옮겨 난자와 난구세포를 분리시켰다. 분리된 난자의 성숙 상태를 생쥐에서는 해부현미경 하에서 핵의 유무를 직접 관찰하여 판정하였고 돼지에서는 일부의 난자를 고정, 염색하여 위상차현미경으로 관찰하였다. 분리된 난자와 난구세포 덩어리들을 20개씩 취하여 scintillation vial에 넣고 protosol (10 μ l, NEN)로 용해를 시킨 다음 aquasol (5 ml, NEN)을 cocktail로 사용하여 liquid scintillation counter (Packard)로 방사선량을 측정하였다. 각 시간별로 난자와 난구세포들에 흡수된 uridine양을 기준으로 난자에 흡수된 양을 복합체 전체에 흡수된 양으로 나누어 이들의 물질이동율 (transfer ratio)을 구하였으며 이 이동율을 metabolic cooperativity의 판정기준으로 삼았다 (Eppig, 1982; Racowsky, 1985). 실험결과 는 Student t-test 의해 이들의 유의성 ($P < 0.05$)을 검정하였다 (Snedecor and Cochran, 1967).

결 과

생쥐의 난자-난구 복합체

생쥐 난자-난구 복합체의 배양기간은 생쥐에서 핵붕괴를 일으키기에 충분한 6시간과 난구세포의 분산을 일으키는 데 충분한 20시간으로 하고 0시간은 대조군의 일부로 사용하였다. Fig. 1에서 보는 바와 같이 복합체들을 6시간 배양했을 때 난구세포의 분산은 아직 일어나지 않았으나 난자의 핵붕괴는 IBMX, 100 μ M을 포함한 구간을 제외하고는 대부분 다 일어난 것을 알 수 있었다. 이 복

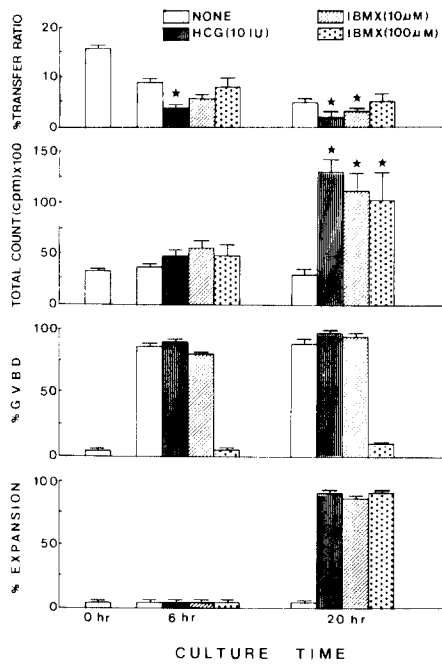


Fig. 1. The relationship between cumulus expansion, oocyte maturation and transfer ratio of uridine in the mouse oocyte cumulus complexes *in vitro*. The complexes isolated from the ovarian follicles were cultured in the presence or absence of HCG (10 IU), 10 μ M of IBMX or 100 μ M of IBMX for 0, 6 or 24 hours. After each culture period, the complexes were checked for their cumulus expansion and transferred to medium containing radioactive uridine (10 μ Ci/ml). The complexes were labelled with the isotope for one hour and oocytes were separated from the cumulus mass and checked for their GVBD. Oocytes and cumulus cells from 20 complexes were used for each counting. Percent transfer ratio was obtained as described in Materials and Methods. Each bar in the figure represents mean \pm SEM of at least three experiments (20 complexes per each experiment). * $p < 0.05$, when compared to control of each time point.

합체들을 1시간 uridine으로 표지시켰을 때 전체 흡수량은 모든 구간에서 거의 비슷하였다. 난구 세포에서 난자로의 물질이동율 (transfer ratio)은 배양을 안한 복합체들에서 약 16%이었으나 6시간 배양 후에는 대조군에서도 약 9%로 감소하였다. 난자의 핵붕괴가 억제되어 있는 실험군 (IBMX, 100 μ M)에서도 이동율이 약 8%로 감소하였으므로 핵붕괴 여부가 물질의 이동율에 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다. 다만 HCG 처리

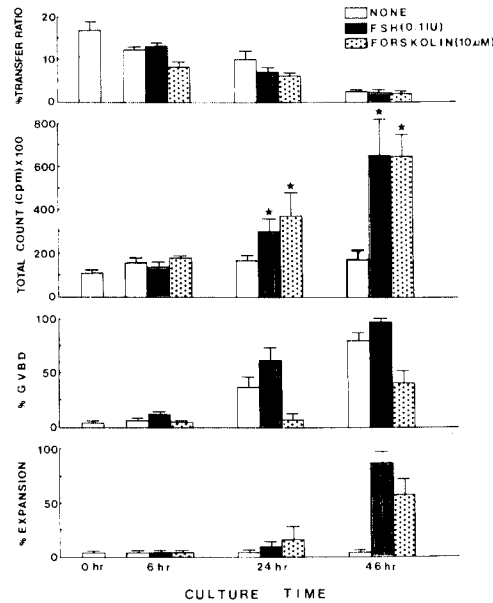


Fig. 2. The relationship between cumulus expansion, oocyte maturation and transfer ratio of uridine in the pig oocyte cumulus complexes *in vitro*. The complexes isolated from medium sized pig follicles (3 mm) were cultured in the presence or absence of FSH (0.1 IU) or forskolin (10 μ M) for 0,6,24 or 46 hours. After each culture period, the complexes were checked for their expansion and transferred to medium containing radioactive uridine (10 μ Ci/ml). The complexes were labelled with the isotope for one hour and oocytes were separated from the cumulus mass. Oocytes and cumulus cells from 20 complexes were used for each counting. GVBD data of oocytes were obtained by another series of experiment as pig GV are not visible without staining. Percent transfer ratio was obtained as described in Materials and Methods. Each bar in the figure represents mean \pm SEM of at least three experiments (20 complexes per each experiment). * $p < 0.05$, when compared to control of each time point.

구간에서 대조군(약 9%)에 비해 유의하게 이동율(3.7%)이 감소하고 IBMX, 10 μ M 구간도 같은 경향을 보여주고 있으므로 6시간 사이에 위의 처리에 의해 영향을 받았다는 것을 알 수 있었다. 복합체를 20시간 배양했을 때를 보면 아무것도 처리하지 않은 대조군 이외에 모두 난구세포의 분산이 일어난 것을 알 수 있었고 핵붕괴는 IBMX, 100 μ 의 실험군 이외에 대부분 다 일어난 것을

볼 수 있었다. 이 때 uridine의 전체 흡수량은 실험군에서 모두 대조군에 대해 급격히 증가한 것을 볼 수 있었다 (Fig. 1). 그러나 역시 uridine의 이동율은 계속 감소하여 대조군과 IBMX (100 μ M) 실험군에서 5%로 감소하였다. 이는 역시 핵붕괴 여부가 물질의 이동율에 영향을 미치지 않은 것으로 해석되었으며 난구세포의 분산 여부와도 관계가 없는 것으로 해석되었다. HCG와 IBMX, 10 μ M 처리구간에서는 핵붕괴도 일어나고 분산도 일으키었는데 물질의 이동율이 대조군(5%)에 비해 유의하게 감소한 것 (2%, 3.4%)을 볼 수 있었다.

돼지의 복합체

돼지의 복합체를 일정 시간 배양하여 난자의 성숙과 난구세포의 분산을 적절히 조절한 후 물질의 이동율을 조사하여 보았다. 배양기간은 복합체를 적출해낸 직후의 것 (0시간), 6시간, 부분적인 성숙과 분산을 일으키는 24시간, 성숙과 분산을 완전히 일으키는 46시간으로 정하였다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 배양 후 6시간에는 난자의 성숙도 거의 일어나지 않았고 난구세포의 분산도 나타나지 않았다. 그럼에도 불구하고 물질의 이동율은 배양을 하지 않은 복합체보다 (약 17%) 모든 실험군에서 낮아지는 경향을 보여주고 있었다 (8-13%). 배양 후 24시간이 지난 복합체들은 FSH와 forskolin의 처리구간에서 극히 일부의 난구세포들이 분산을 일으키기 시작하였으나 (FSH, 8.6%; forskolin, 14.6%), 난자의 성숙(핵붕괴)은 상당히 진행되어 대조군에서 약 36%, FSH 처리구간에서 약 61%의 난자들이 핵붕괴를 일으키었다. 그러나 forskolin 구간에서는 거의 일어나지 않았다 (4%). 복합체의 전체 uridine의 흡수능은 대조군에 비해 FSH나 forskolin을 첨가한 데서 유의하게 증가하기 시작하였다. 그럼에도 불구하고 uridine의 난자로의 이동율은 6시간 구간에 비하여 더욱 감소되는 경향을 보여주고 있으며 실험군 사이에 유의한 변화가 없었다. 복합체들을 46시간 배양하여 난자의 성숙이나 난구세포의 분산을 충분히 일으킨 경우에도 물질의 이동율은 계속 감소하였다 (약 2%). 이동율의 감소는 핵붕괴의 여부나

난구세포의 분산 여부 (대조군 대 forskolin 처리군)에 전혀 관계가 없었다. 특히 분산을 일으킨 복합체들이 (FSH와 forskolin 처리군) uridine의 흡수가 대조군에 비해 현저히 늘어났음에도 불구하고 (약 4배) 난자로의 이동율이 대조군과 같이 2% 수준으로 감소한 것은 분산 여부가 uridine의 이동에 전혀 영향을 미치지 않았다는 것을 분명히 보여주는 것으로 해석되었다.

고 찰

Dekel과 Beers (1978)가 처음으로 난구세포의 cAMP가 난자로 gap junction을 통하여 이동할 수 있다는 것을 밝힌 이래 수많은 학자들이 난구세포가 난자의 성숙조절에 어떤 역할을 할 것인가에 대해 많은 연구를 해왔다 (reviewed by Eppig, 1985). 그러나 포유동물의 종에 따라 혹은 사용한 배양제에 따라 그 결과가 제각기 달라서 어떤 정립된 설이 나오지 않고 있다 (Racowsky, 1984; Racowsky and Satterlie, 1985).

본 실험의 결과들은 인공배양 중인 생쥐나 돼지의 복합체에서 난구세포와 난자사이의 물질이동율(transfer ratio)의 변화가 난구세포의 분산여부나 난자의 성숙여부에 관계없이 배양기간이 길어짐에 따라 거의 일률적으로 감소한다는 것을 보여주고 있다. 물질이동율의 감소는 두 세포들 사이의 물리적 연결(coupling)이 끊어지는 것을 의미하므로 두 세포 사이의 metabolic cooperativity가 일어날 가능성이 그만큼 적다는 것을 또한 의미한다. 따라서 난구세포들이 난자와의 metabolic cooperativity를 통하여 난자의 성숙분열조절(감수분열제거)에 중요한 역할을 할 가능성이 매우 희박하다고 보겠다.

생쥐의 결과 (Fig. 1)에서 보면 난자의 성숙(핵붕괴)이 난구세포의 분산보다 먼저 일어난다는 것이 확인되었고 물질의 이동율이 intact한 복합체에서 약 16%, 호르몬 처리를 하지 않고 20시간 배양한 대조군에서 8% 정도를 보인 것 등은 유사한 모델을 사용한 Eppig (1982)의 보고와 거의 일치하는 것을 볼 수 있었다. 그러나

생쥐의 복합체에서 20시간 배양하는 동안 HCG 이나 IBMX (10 μ M)에 의해 uridine의 흡수가 급격히 증가한 것은 다른 학자들에 의해 보고된 바 없으며 이 결과는 세포내 cAMP의 증가가 세포막의 uridine 흡수능을 촉진시킨 것으로 해석되었다 (Fig. 1). 생쥐에서 HCG 처리군에서 배양 6시간 후에 물질이동율이 유의하게 감소가 되고, 20시간 후에는 HCG와 IBMX (10 μ M) 처리군에서 역시 이동율의 감소가 일어난 것은 매우 흥미로운 결과이었다. 이러한 현상은 Eppig와 Ward-Bailey (1982)의 보고에서도 나타나는 것으로 그들은 생쥐복합체에 FSH를 처리했을 때 난구세포의 분산과 관계없이 이동율이 감소하는 것을 발견하고 난자-난구세포 사이의 연결(coupling)이 완전히 끊어지려면 난자의 핵붕괴와 호르몬의 도움이 필요하다고 주장하였다. 그러나 본 실험에서 난자의 핵붕괴 여부와 격리(uncoupling)와는 상관이 없는 것으로 나타났으므로 (대조군과 IBMX, 100 μ M 구간을 비교하여), 생쥐의 경우 난자와 난구세포사이의 물리적격리(uncoupling)에는 뇌하수체호르몬의 도움이 필요하다는 것을 보여주는 것 같았다.

돼지의 결과 (Fig. 2)를 보면 이들의 복합체에서도 역시 핵붕괴가 난구세포의 분산보다 먼저 일어난 것을 볼 수 있었고 배양 후 24시간에서부터 FSH(0.1 IU)나 forskolin (10 μ M)에 의해 복합체의 uridine 흡수능이 크게 촉진되는 것을 볼 수 있었다. 그러나 물질이동율은 배양기간이 길어질수록 오히려 감소하였으며 (18%에서 2%로) 난자나 난구세포의 상태에 전혀 영향을 받지 않는 것으로 나타났다. Racowsky (1985)는 돼지복합체에서 forskolin (50 μ M)이 배양 초기 12시간까지는 유의하게 이동율을 증가시키다가 이 후에는 거의 영향을 미치지 않는다고 보고하였는데 그의 결과도 역시 48시간 후에는 intact한 복합체에서보다 반 이하로 떨어진 것으로 나타났다. 돼지난자의 핵붕괴가 배양 후 24시간에서도 부분적으로 밖에 일어나지 않는 것을 고려할 때 배양 초기의 forskolin에 의한 이동율의 증가가 난자의 성숙조절에 어떤 역할을 한다고 보기는 어려울 것으로 판단된다. Motlik (1986) 등은 *in vitro*에서 돼지 복합체의 uridine 이동율

을 조사하여본 결과 시간이 지남에 따라 점차 감소하는 것을 관찰한 바 있다. 따라서 돼지의 경우에도 생쥐와 같이 난자-난구세포사이의 metabolic cooperativity가 난자의 성숙조절에 참여할 가능성이 희박하다고 보겠다. 그러나 본 실험의 모델 (방사성 uridine의 이동측정법)로는 측정이 되지않는 어떤 요인이 gap junction을 통하여 전달이 되어 난자의 성숙을 조절할 가능성을 완전히 배제할 수는 없다고 보겠다.

위의 결과들을 종합해 보면 포유동물에서 난자-난구 복합체들이 *in vitro*에서 배란을 일으킬 때 혹은 *in vitro*에서 자발적 성숙을 일으킬 때 감수분열의 재개, 난구세포의 분산 및 난자와 난구세포 사이의 격리(uncoupling) 등은 거의 동시에 일어나면서도 상호 독립적으로 일어나는 현상이라고 생각된다. 그러나 난자-난구세포 사이의 gap junction을 통한 연결은 여포내에서 난자의 성장이 일어날 때 난자의 감수분열을 억제시키는 기작에는 극히 중요한 역할을 할 것으로 추정되므로 (Eppig and Downs, 1984), 이들 복합체의 생리, 생화학적 연구가 더 진행되어야 명확한 해답을 얻을 수 있을 것으로 사료된다.

인용문헌

- Anderson, E. and D. F. Albertini, 1976. Gap junction between the oocyte and companion follicle cell in the mammalian ovary. *J. Cell Biol.* **71**:680-686.
- Biggers, J. D., D. G. Whittingham, and R. P. Donahue, 1967. The pattern of energy metabolism in mouse oocyte and zygote. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **58**:560-567.
- Brinster, R. L., 1963. A method for *in vitro* cultivation of mouse ova from two-cell to blastocyst. *Exp. Cell Res.* **32**:205-208.
- Dekel, N. and W. B. Beers, 1978. Rat oocyte maturation *in vitro*: Relief of cyclic AMP inhibitor by gonadotrophins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **75**:4369-4373.
- Dekel, N., T. S. Lawrence, N. B. Gilula., and W. Beers, 1981. Modulation of cell to cell communication in the cumulus-oocyte complexes and the regulation of oocyte maturation by LH. *Dev. Biol.* **86**:356-362.
- Eppig, J. J., 1982. The relationship between cumulus cell oocyte coupling, oocyte meiotic maturation and

- cumulus expansion. *Dev. Biol.* **39**:268-272.
- Eppig, J. J., 1985. Oocyte-somatic cell interactions during growth and maturation in the mammal. In: *Developmental biology*, Vol. 1. Oogenesis (Browder, L., ed.) Plenum Press, New York and London, pp. 313-343.
- Eppig, J. J. and S. M. Downs, 1984. Chemical signals that regulate mammalian oocyte maturation. *Biol. Reprod.* **30**:1-11.
- Eppig, J. J. and P. F. Ward-Bailey, 1982. The mechanism of cumulus cell-oocyte uncoupling: Evidence for the participation of both cumulus cells and oocytes. *Gamete Res.* **6**:145-154.
- Gilula, N. B., M. L. Epstein, W. H. Beers, 1978. Cell-to-cell communication and ovulation. a study of the cumulus-oocyte complexes. *J. Cell Biol.* **78**:58-75.
- Heller, D. T., D. M. Chill, and R. M. Schultz, 1981. Biochemical studies of mammalian oogenesis: Metabolic cooperativity between granulosa cells and growing mouse oocytes. *Dev. Biol.* **84**:455-464.
- Heller, D. T. and R. M. schultz, 1980. Ribonucleoside metabolism by mouse oocytes: Metabolic cooperativity between the fully-grown oocyte and cumulus cells. *J. Exp. Zool.* **214**:355-364.
- Kwon, H. B., S. K. Ko, and W. B. Im, 1987, Studies on the cumulus expansion and oocyte maturation of mouse cumulus-oocyte complexes: Regulation of intracellular cAMP level. *Korean J. Zool.* **30**:1-9.
- Kwon, H. B., W. K. Lee, M. K. Kim, and C. H. Ra, 1987. Regulation of cumulus expansion of porcine cumulus-oocyte complexes *in vitro*: Involvement of cAMP and calcium. *Korean J. Zool.* **30**:107-116.
- Moor, R. M., M. W. Smith, and R. M. C. Dawson, 1980. Measurement of intercellular coupling between oocytes and cumulus cells using intercellular markers. *Exp. Cell Res.* **16**:15-29.
- Motlik, J., J. Fulka, and J-E. Flechon, 1986. Changes in intercellular coupling between pig oocytes and cumulus cells during maturation *in vivo* and *in vitro*. *J. Reprod. Fert.* **76**:31-37.
- Racowsky, C., 1984. Effect of forskolin on the spontaneous maturation and cyclic AMP content of rat oocyte-cumulus complexes. *J. Reprod. Fert.* **72**:107-116.
- Racowsky, C., 1985. Effect of forskolin on maintenance of meiotic arrest and stimulation of cumulus expansion, progesterone and cyclic AMP production by pig oocyte-cumulus complexes. *J. Reprod. Fert.* **74**:9-21.
- Racowsky, C. and R. A. Satterlie, 1985. Metabolic, fluorescent dye and electrical coupling between Hamster oocytes and cumulus cells during meiotic maturation *in vivo* and *in vitro*. *Dev. Biol.* **108**:191-202.
- Snedecor, G. W. and W. G. Cochran, 1967. Statistical methods. The Iowa state Univ. Press, pp. 91-119.

(Accepted March 11, 1988)

Studies on the Metabolic Cooperativity between Oocyte and Cumulus Cells in Mammalian Oocyte Cumulus Complexes *in vitro*

Sun Kun Ko, Chul Ho Ra and Hyuk Bang Kwon (Dept. of Biology, Chönnam National University, Kwangju 500757, Korea)

The relationship between cumulus cell expansion, oocyte maturation and metabolic cooperativity was investigated by using mouse and pig oocyte-cumulus complexes *in vitro*. Oocyte germinal vesicle breakdown (GVBD) and cumulus expansion were manipulated with hormones or reagents which increase intracellular cAMP level. Metabolic cooperativity between oocyte and cumulus cells was assessed by determination of the fraction of radiolabelled uridine marker that was transferred from the cumulus mass to the oocyte. Uptake of uridine marker by mouse and pig cumulus mass was increased by about fourfold of basal level with the stimulation of hormones (human chorionic gonadotrophin, HCG; follicle stimulating hormone, FSH) or cyclic AMP stimulators (3-isobutyl-1-methylxanthine, IBMX; forskolin) during culture. However, the fraction of uridine that was transferred from the cumulus mass to the oocyte (transfer ratio) was gradually decreased during culture, irrespective with the presence of hormones or stimulators. The decrease of the transfer ratio was not correlated with the state of oocyte whether they have GV or not, or with the degree of cumulus expansion. In mouse complexes, HCG induced more significant reduction of transfer ratio than other treatments.

These results do not support the idea that modulations of metabolic cooperativity between cumulus cells and oocytes are important for the regulation of meiotic resumption in mammals.