

돼지 체외 수정란 생산 효율 제고를 위한 레티놀 첨가 효과

김연수 · 송상현¹ · 조성근¹ · 광대오² · 김철욱 · 박충생¹ · 정기화[†]
진주산업대학교 동물소재공학과

Retinol Supplemented to a Maturation Medium Stimulated *In Vitro* Development of Porcine Oocytes after *In Vitro* Fertilization

Y. S. Kim, S. H. Song¹, S. K. Cho¹, D. O. Kwack², C. W. Kim, C. S. Park¹
and K. H. Chung[†]

Department of Animal Resources Technology, Jinju National University

SUMMARY

The objective of this study was to investigate the effects of retinol supplement to IVM and/or IVC medium on maturation, fertilization and development of pig oocytes. North Carolina State University (NCSU) 23 medium containing porcine follicular fluid (pFF) was used as base medium. Each 1 uM, 5 uM and 10 uM concentration of retinol was supplemented to IVM and/or IVC medium.

When the retinol was supplemented to maturation medium, the maturation rates were not different ($p>0.05$) among treatment groups (66.7±6.0~69.2±5.3%), but the developmental rate to blastocyst stage was higher ($p<0.05$) in 5 μ M group (20.4±2.6%) than in 0 uM (13.6±2.1%) and 10 uM groups (9.7±1.7%). Moreover, total cell number was significantly greater ($p<0.05$) in the 5 uM group (37.0±1.6) than in the other groups (29.8±1.0~33.2±1.0). Retinol supplement to maturation medium did not significantly affect the rates of fertilization and polyspermy ($p>0.05$).

When the retinol was supplemented to culture medium or both maturation and culture medium, the rates of cleavage, and develop to morula and blastocyst stage were not affected, while those of 10 uM group were significantly decreased ($p<0.05$).

These results indicate that 5 uM retinol supplement in maturation medium significantly stimulates embryo development, also improves the total cell number of blastocyst stage in pig.

(Key words : pig embryo, retinol, blastocyst, cell number)

서 론

형질 전환 돼지의 생산 효율을 증진하기 위하여

우선 수정란의 체외 배양이 안정적으로 이루어져야
하지만 해결해야 할 연구 과제는 아직 많은 실정이
다. 돼지 수정란은 체외 성숙 시 충분한 성숙이 이

* 이 논문은 2005년도 기성회 연구비 지원에 의하여 연구되었음.

¹ 경상대학교 동물자원과학대학(Department of Animal Science, Gyeongsang University)

² 경상대학교 과학교육과(Department of Science Education, Gyeongsang University)

[†] Correspondence : E-mail: kchung@jinju.ac.kr

루어지지 않고, 다정자 침입, 체외 발달을 저조 및 체외 배양 후 배반포의 질이 낮다는 단점이 있는데, 이러한 단점을 극복하기 위하여 배양액과 배양 조건의 최적화를 위한 많은 연구가 이루어지고 있다. 체외 수정란 생산성 향상을 위한 최적 조건의 배양액을 생산하기 위하여 다양한 첨가제가 개발, 이용되고 있는데, 포유류 수정란의 배양액에 레티놀을 첨가하면 발달이 향상되는 것으로 알려져 있다.

소 난자의 체외 배양 시 *retinol*을 첨가하면 감수분열의 억제 현상을 방지할 수 있다고 하였다(Duque 등, 2002). Vitamin A는 척추 동물의 생리에 필수적인 역할을 수행하고 포유 동물의 임신 유지에 필수적인데(Duque 등, 2002), *retinol*은 vitamin A의 전구 물질로서 수정란의 초기 발달에 영향을 미친다고 알려져 있다(Livingston 등, 2004). 임신초기에 vitamin A의 결핍은 태아의 선천적 이상을 초래할 가능성이 높다(Zile, 2001). 소의 난포액 중의 *retinol* 농도를 조사한 결과 건강한 난포는 농도가 높은 반면 낮은 농도의 난포는 폐쇄되었으며 *estradiol*의 농도와도 관계가 있었다고 하였다(Brown 등, 2003).

*Retinol*은 항산화 물질과 효소를 적절히 조절함으로써 활성 산소에 의한 유해함을 차단한다. 항산화 물질 중 *glutathione*은 매우 강력한 항산화 물질인데, *retinol*이 GSH의 고갈을 방지하는 역할을 한다(Ahlemeyer와 Krieglstein, 2000). Eberhardt 등(1999)은 과배란을 유도한 면양에서 *morular* 상태의 수정란을 회수하여 체외 배양한 실험에서, *retinol*의 첨가는 *blastocyst* 형성률과 부화율을 향상시킨다고 하였다.

본 연구는 돼지 체외 수정란의 체외 성숙 및 체외 배양액에 *retinol*을 첨가하여 수정란의 체외 성숙 및 배 발달을 조사함으로써 체외 수정란 생산 효율을 개선하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 난소 및 난포란의 채취

도축된 암퇘지로부터 난소를 수집하여 항생제가 첨가된 0.9% 생리 식염수에 담아 2~4시간 이내에 실험실로 운반하였다. 운반된 난소는 생리 식염수로 2~3회 세척한 후 18 gauge 주사침이 부착된

10 ml 주사기를 이용하여 직경 2~8mm의 포상 난포로부터 회수하였다. 회수된 난포란은 TL-Hepes-PVA에 washing하여 60×15 mm의 tissue culture dish에 옮긴 후 실체 현미경(20~40×)하에서 난세포질이 균일하고 난구 세포가 잘 발달된 것으로 선별하여 체외 성숙에 이용하였다.

2. 난포란의 체외 성숙

선별된 난포란은 NCSU-23을 기본 배양액으로 하여 10% 돼지 난포액, cysteine(0.1 mg/ml), EGF (10 ng/ml), FSH(0.5 μg/ml), estradiol-17β(0.1 μg/ml)를 첨가하여 만든 체외 성숙용 배지에 세척한 후 같은 배양액에 *retinol*(Sigma, U.S.A) 1 μM, 5 μM, 10 μM을 각각 첨가하여 700 μl씩의 배양액이 담긴 Nunc 4-well dish에 각 well마다 약 100~150개의 난자를 넣었다. 39℃ 온도와 5% CO₂에서 20~22시간 배양하였고 다음 20~22시간은 호르몬이 첨가되지 않은 배지에서 총 40~44시간 동안 배양하였다.

3. 체외 수정

체외 수정용 배양액은 modified Tris-Buffered Medium(mTBM)을 기본 배양액으로 하여 1 mM caffeine과 0.4% BSA가 함유된 mTBM 용액을 사용하였다. 활력이 높은 정자를 선별하기 위하여 Swim up 방법을 이용하여 정자를 회수하였다. 정자의 준비는 액상 정액 보관고에서 꺼낸 정액을 부드럽게 섞어준 다음 15 ml tube에 담아 830×g에서 5분간 원심 분리 하였다. Pellet 부분의 정자를 제외한 상층은 버리고 체외 수정용 용액을 Pellet이 흐트러지지 않도록 조심스럽게 5 ml까지 채운 후 Incubator에 45° 각도로 기울여 약 40분간 swim up을 유도하였다.

난자는 44시간동안 성숙시킨 후 Vortexing하여 난구 세포를 완전히 제거하고 체외 수정용 용액에 3회 세척한 후 50 μl의 체외 수정용 배양액 소독에 난자를 넣어 보관하였다. 체외 수정은 정자의 최종농도가 0.5×10⁶/ml가 되도록 6시간 동안 incubation 시켰다. 수정 완료 후 수정을 실시한 난포란 중 일부는 수정을 조사를 위하여 염색을 실시하였고, 나머지는 모두 체외 배양하였다.

4. 체외 배양

체의 배양은 NCSU-23에 0.4% BSA를 첨가한 배양액을 사용하였다. Retinol 1 M, 5 μ M, 10 μ M 이 첨가된 각각의 배양액 50 μ l에 20개씩의 체외 수정란을 넣어 39°C 온도와 5% CO₂에서 배양하였다.

5. 수정란의 관찰

체의 성숙 40~44h 후 핵의 성숙을 조사하기 위하여 acetic-orcein 염색을 실시하였다. 난구 세포를 깨끗이 제거한 후 72시간 정도 고정액(glacial acetic acid : ethanol=1:3)에 넣어두었다. Cover glass의 네 모서리를 wax로 찍은 다음 난자를 네 모서리의 중간에 놓고 살며시 눌러주었다. 1% acetic-orcein을 cover glass 가장자리에 한 두 방울 떨어뜨리고 반대편에 여과지를 대어서 모세관 현상에 의해서 염색액이 이동하도록 하면서 약 5분 동안 염색하였다. 염색 후 D.W 및 45% acetic acid로 세척하였다. 체외 수정 후 12시간 후에 성숙 난포란의 정자 침투율, 다정자 침투율, 응성 전핵 형성율을 관찰하기 위하여 똑같은 방법으로 염색을 실시하였다. 염색 후에는 위상차 현미경(200~400 \times)에서 관찰하였다.

6. 배반포의 염색

164시간 동안 체외배양한 후 배반포로 발달한 수정란의 세포수를 조사하기 위하여 10 μ g/ml bisbenzimidide(Hoechst 33342, Sigma, U.S.A.) 염색액으로 염색한 다음 현광현미경 하에서 세포수를 관찰하였다.

7. 통계 처리

실험 결과의 통계학적 분석은 SAS package를

이용하여 실시하였으며, GLM(General Linear Model) Procedure를 적용하여 각 요인의 Least square means와 standard error(SE)를 구한 후 요인간의 유의성을 검정하였다.

결 과

1. 레티놀의 첨가가 체외 성숙에 미치는 영향

체의 성숙 배지에 retinol을 첨가하여 40~44h 성숙시킨 후 acetic-orcein 염색을 실시하여 GV~M II 단계까지의 발달율을 조사하였다. Table 1에서 나타난 바와 같이 M II로의 성숙율은 66.7 \pm 6.0~69.2 \pm 5.3으로 각 처리구 간의 유의적인 차이가 없었다.

체의 성숙 배지에 retinol을 첨가하여 발달율을 비교한 결과 Table 2에서 나타난 바와 같이 배반포로의 발달율은 5 μ M 첨가구에서 20.4 \pm 2.6%의 발달율을 나타내어 타 처리구에 비하여 유의적으로 ($p < 0.05$) 높게 나타났으며, 10 μ M의 retinol 첨가구에 있어서는 분할율과 배반포로의 발달율이 타 처리구에 비하여 유의적으로 ($p < 0.05$) 낮게 나타났다. 배반포기에서의 세포수에 있어서는 대조구(29.8 \pm 1.0)에 비해 1 μ M(33.2 \pm 0.9)과 5 μ M(37.0 \pm 1.6) 첨가구에서 유의적으로 ($p < 0.05$) 높았다.

2. 레티놀의 첨가가 수정율에 미치는 영향

체의 성숙 배지에 retinol을 첨가하여 성숙 후 수정하였으며, 수정 후 12시간에 orcein staining을 실시하여 전핵수를 관찰한 결과는 Table 3에서 나타난 바와 같다. 2개의 전핵이 형성된 수정란(2PN)

Table 1. Effect of retinols supplemented with maturation medium on maturation of porcine oocytes *in vitro*

Treatment	No. of oocytes	Nuclear status (no.)			% of maturation (LSMeans \pm S.E)*
		GV	M I ~T I	M II	
0 μ M	63	6	15	42	66.7 \pm 6.0
1 μ M	78	6	18	54	69.2 \pm 5.3
5 μ M	53	5	12	36	67.9 \pm 6.5
10 μ M	73	9	14	50	68.5 \pm 5.5

GV : germinal vesicle stage, M-I: metaphase I, T-I: first telophase M-II: second metaphase.

* Values within columns are not significantly different ($p > 0.05$).

을 정상 수정란, 3개 이상의 전핵이 형성된 수정란 ($\geq 3PN$)을 다정자 침입 수정란으로 판정하였으며, 1개의 전핵(1PN)은 미수정란으로 판정하였다. 정상 수정율은 $59.3 \pm 9.6 \sim 73.0 \pm 7.3\%$ 로 처리구간에 차이가 없었다. 다정자 침입율은 retinol $5 \mu M$ 처리구가 $29.6 \pm 9.0\%$ 로 대조구 $13.5 \pm 5.8\%$ 보다 다소 높았지만 유의차는 인정되지 않았다($p > 0.05$).

3. 체외 배양액에 레티놀의 첨가가 체외 발달에 미치는 영향

체외 배양액에 retinol의 첨가 효과는 Table 4에서 나타난 바와 같다. Retinol의 첨가는 난할률, 상실배 및 배반포로의 발달율에서 모두 효과를 나타내지 못하였으며, 특히, $10 \mu M$ 의 처리구에서는 대조구를 비롯한 타 처리구들 보다 유의적으로($p <$

Table 2. Effect of retinols supplemented with maturation medium on development of porcine oocytes *in vitro*

Treatment	No. of oocytes	% of developed to			No. of cells
		Cleaved	Morula	Blastocysts	
0 μM	280	77.1 \pm 2.5 ^a	41.4 \pm 2.9 ^{ab}	13.6 \pm 2.1 ^{bc}	29.8 \pm 1.0 ^c
1 μM	260	77.7 \pm 2.3 ^a	44.2 \pm 3.1 ^{ab}	17.7 \pm 2.4 ^{ab}	33.2 \pm 1.0 ^b
5 μM	240	79.6 \pm 2.6 ^a	47.5 \pm 3.2 ^a	20.4 \pm 2.6 ^a	37.0 \pm 1.6 ^a
10 μM	300	68.3 \pm 2.7 ^b	38.0 \pm 2.8 ^b	9.7 \pm 1.7 ^c	32.7 \pm 0.8 ^{bc}

^{a,b} Values within columns with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

Table 3. Effect of retinols supplements with maturation medium on polyspermy of *in vitro* fertilized porcine embryo

Treatment	No. of oocytes	% of oocytes		
		1PN	2PN	$\geq 3PN$
0 μM	37	13.5 \pm 5.8	73.0 \pm 7.3	13.5 \pm 5.8
1 μM	33	9.1 \pm 5.1	66.7 \pm 8.3	24.2 \pm 7.6
5 μM	27	11.1 \pm 6.2	59.3 \pm 9.6	29.6 \pm 9.0
10 μM	53	13.2 \pm 4.7	64.2 \pm 6.7	22.6 \pm 5.8

Values within columns are not significantly different ($p > 0.05$).

Table 4. Effect of retinols supplemented with culture medium on development of porcine embryos produced *in vitro*

Treatment	No. of oocytes	% of developed to			No. of cells
		Cleaved	Morula	Blastocysts	
0 μM	180	78.3 \pm 3.1 ^a	46.7 \pm 3.7 ^a	16.1 \pm 2.7 ^a	36.8 \pm 1.2 ^{ab}
1 μM	180	75.6 \pm 3.2 ^a	43.3 \pm 3.7 ^a	19.4 \pm 3.0 ^a	37.3 \pm 1.5 ^a
5 μM	180	76.1 \pm 3.2 ^a	45.6 \pm 3.7 ^a	19.4 \pm 3.0 ^a	39.9 \pm 2.0 ^a
10 μM	180	66.1 \pm 3.5 ^b	28.3 \pm 3.4 ^b	6.1 \pm 1.8 ^b	33.1 \pm 1.0 ^b

^{a,b} Values within columns with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

Table 5. Effect of retinols supplemented with maturation medium and culture medium on development of porcine embryos produced *in vitro*

Treatment	No. of oocytes	% of developed to			No. of cells
		Cleaved	Morula	Blastocysts	
0 μ M	180	73.9 \pm 3	47.8 \pm 4	21.7 \pm 3	32.9 \pm 1.0
0.5 μ M	140	75.7 \pm 4	47.1 \pm 4	22.9 \pm 4	33.0 \pm 1.2
1 μ M	160	78.8 \pm 3	49.4 \pm 4	24.4 \pm 3	34.1 \pm 0.9
5 μ M	160	71.9 \pm 4	40.0 \pm 4	16.9 \pm 3	31.4 \pm 1.0

Values within columns are not significantly different ($p>0.05$).

0.05) 발달율이 낮게 나타났다. 배반포로 발달한 수정란의 세포수에 있어서도 10 μ M(33.1 \pm 1.0) 첨가구에서는 1 μ M(37.3 \pm 1.5)이나 5 μ M(39.9 \pm 2.0)보다 유의적으로($p<0.05$) 낮은 세포수를 보였다.

4. 체외 성숙 및 체외 배양액에 레티놀의 첨가가 수정란 체외 발달에 미치는 영향

체외 성숙 배지와 체외 배양액 모두 10 μ M retinol을 첨가한 결과 대조구보다 낮은 발달율을 나타내어, 10 μ M 처리구를 제외하고 0.5 μ M 처리구를 추가하여 시험하였다. 배반포로의 발달율과 세포수에 있어서 각 처리구 간의 유의적인 차이는 없었다($p>0.05$).

고 찰

Vitamin A는 부족하거나 과도할 경우 수정란 사멸이나 생식기 기형을 가져올 수 있으므로 번식에 있어서 필수 영양소로 알려져 있다(Ward와 Morris, 1997). Retinol은 vitamin A의 전구 물질로서 거의 모든 동물에서 난포의 발달, 난자 성숙 및 수정란의 발달에 관여하며, 체내에서 난자의 발육은 물론(Duque 등, 2002) 포유류 수정란의 배양액에 retinol을 첨가하면 발달율이 향상되는 것으로 알려져 있다(Livingstone 등, 2004).

소에 있어서 retinol은 trophoctoderm 분화와 체외성숙에 영향을 미치고 난자의 발달 능력을 향상시킨다고 하며, retinol를 첨가하여 성숙시킨 난자로부터 생산된 배반포를 이식한 결과 60일령 임신

비율이 높았다고 하였다(Hidalgo 등, 2003). 공란우에 retinol을 투여할 경우 난자 생산이 많아지고(Hidalgo 등, 2002), 미성숙 단계의 난자에서 retinol은 세포질 성숙에 영향을 미쳐 이후의 발달 능력을 향상시킨다(Duque 등, 2002).

본 연구에서 체외 성숙 및 체외 배양 배지에 retinol을 첨가하여 수정란 생산 효율을 높이고자 하였으나 성숙율, 난할율 및 배반포 발달율 모두에서 첨가 효과를 나타내지 못하였다. 돼지(Hattori 등, 2000)와 rat(Minegish 등, 2000)의 granulosa cell을 이용한 실험에서 retinoid acid는 FSH나 LH receptor에 작용하여 난자의 성숙에 영향을 미친 것이라고 하였다. 또한, 성숙전에 retinol의 첨가는 소 난자의 체외 성숙의 세포질 능력을 향상시킨다(Duque 등, 2002)고 하였으나 돼지 난자에서는 이와 같은 결과를 얻을 수 없었다. 반면, 10 μ M retinol을 첨가한 처리구에서는 1 μ M와 5 μ M가 첨가된 처리구에 비하여 유의적으로 낮은 성적을 나타내었다. 이는 소에 있어서 난자 배양액에 높은 농도의 retinol을 첨가할 경우(100 uM) cytotoxic 하여 배반포까지의 발달율을 저해하므로 낮은 농도의 retinol을 권장하고(Livingstone 등, 2004)와 일치하는 경향이였다.

배반포로 발달한 수정란의 세포수에 있어서 체외 성숙 배지에 retinol을 첨가하였을 때 대조구에 비하여 1 μ M과 5 μ M 첨가구에서 유의적으로 높은 발달율을 나타냈다. 이러한 결과는 난자의 성숙시 retinol의 첨가가 수정란 생산 효율을 증진시키는 것으로 사료된다.

본 연구에서는 돼지 체외 수정란 생산에 있어서

retinol의 첨가는 소에 비하여 효과적이지 못하였고, 높은 농도의 retinol 첨가는 유해한 효과를 나타낸다는 것을 확인하였다. Retinol 첨가가 배반포 세포수에 효과적으로 나타난 결과는 추후 수정란 이식시 착상율과 산자 생산에 어떤 영향을 미치는지 지속적인 연구가 필요하다고 사료된다.

적 요

본 연구는 돼지 수정란의 체외 성숙 및 체외 배양액의 retinol 첨가 효과를 규명하기 위하여 체외 성숙 및 체외 배양액에 retinol을 첨가하여 수정란의 체외 발달에 미치는 영향을 구명하고자 수행되었다.

체외 성숙 배양액에 retinol을 첨가한 결과 성숙율은 $66.7 \pm 6.0 \sim 69.2 \pm 5.3$ 으로 각 처리구 간의 유의적인 차이가 없었다($p > 0.05$). 체외 수정 후 배반포로의 발달율은 $5 \mu\text{M}$ 첨가구에서 $20.4 \pm 2.6\%$ 의 발달율을 나타내어 타 처리구에 비하여 유의적으로($p < 0.05$) 높게 나타났으며, $10 \mu\text{M}$ 첨가구에 있어서는 분할율과 배반포로의 발달율이 타 처리구에 비하여 유의적으로($p < 0.05$) 낮게 나타났다. 정상 수정율은 $59.3 \pm 9.6 \sim 73.0 \pm 7.3\%$ 로 처리구간에 차이가 없었다. 다전자 침입율은 처리군 간에 유의차는 인정되지 않았다($p > 0.05$). 배반포로의 발달 후 세포수를 비교한 결과 대조구(29.8 ± 1.0)에 비해 $5 \mu\text{M}$ (37.0 ± 1.6) 첨가구에서 유의적으로($p < 0.05$) 많은 세포수를 나타내었다.

체외 배양액에 retinol을 첨가한 후 발달율을 조사한 결과, 난할률, 상실배 및 배반포로의 발달율에서 모두 효과를 나타내지 못하였으며, 특히, $10 \mu\text{M}$ 의 처리구에서는 대조구를 비롯한 타 처리구들보다 유의적으로($p < 0.05$) 발달율이 낮게 나타났다.

체외 성숙 배지와 체외 배양액 모두 retinol을 첨가한 결과 배반포로의 발달율에 있어서 각 처리구 간의 유의적인 차이는 없었다.

이상의 결과를 종합할 때, 돼지 체외 성숙 배양액에 $5 \mu\text{M}$ 의 retinol의 첨가는 발달율과 세포수에 있어서 유의적으로($p < 0.05$) 효과적이었으며 $10 \mu\text{M}$ 에서는 유해한 결과를 나타내었다.

참고문헌

- Ahlemeyer B and Krieglstein J. 2000. Inhibition of glutathione depletion by retinoic acid and tocopherol protects cultured neurons from staurosporine-induced oxidative stress and apoptosis. *Neurochem. Int.*, 36:1-5.
- Brown JA, Eberhardt DM, Schrick FN, Roberts MP and Godkin JD. 2003. Expression of retinol-binding protein and cellular retinol-binding protein in the bovine ovary. *Mol. Reprod. Dev.*, 64:261-269.
- Duque P, Diez C, Royo LJ, Carneiro G, Hidalgo CO, Facal N and Gomez F. 2002. Enhancement of developmental capacity of meiotically inhibited bovine oocytes by retinoic acid. *Hum. Reprod.*, 17:2706-2714.
- Eberhardt DM, Wil WA and Godkin JD. 1999. Retinol administration to superovulated ewes improves *in vitro* embryonic viability. *Biol. Reprod.*, 60:1483-1487.
- Hattori MA, Takesue K, Nishida N, Kato Y and Fujihara N. 2000. Inhibitory effect of retinoic acid on the development of immature porcine granulosa cells to mature cells. *J. Mol. Endocrinol.*, 25:53-61.
- Hidalgo C, Diez C, Duque P, Facal N, Prendes J.M, Fernandez I and Gomez E. 2002. Improved cumulus-oocyte complex yields from heifers treated with retinol. *Theriogenology*, 57:672
- Hidalgo CO, Diez C, Duque P, Facal N and Gomez E. 2003. Pregnancies and improved early embryonic development in bovine oocytes matured *in vitro* with 9-*cis*-retinoic acid. *Reproduction*, 125:409-416.
- Ikeda S, Kitagawa M, Imai H and Yamada M. 2005. The roles of vitamin A for cytoplasmic maturation of bovine oocytes. *J. Reprod. Dev.*, 51:23-35.
- Livingston T, Eberhardt D, Edwards JL and Godkin J. 2004. Retinol improves bovine embryonic development *in vitro*. *Reprod. Biol. Endocrinol.*, 2:83.
- Minegishi T, Hirakawa T, Kishi H, Abe K, Tano

- M, Abe Y and Miyamoto K. 2000. The mechanisms of retinoic acid-induced regulation on the follicle stimulating hormone receptor in rat granulosa cells. *Biochemica et Biophysica Acta*, 1495(3):203-211.
- Ward SJ and Morriss-Kay GM. 1997. The functional basis of tissue-specific retinoic acid signaling in embryos. *Semin. Cell Dev. Biol.*, 8(4): 429-435.
- Zile MH. 2001. Function of vitamin A in vertebrate embryonic development. *J. Nutr.*, 131: 705-708.
-
- (접수일: 2006. 5. 30 / 채택일: 2006. 6. 16)