

P-10

## Improved in vitro Development of Somatic Cell Nuclear Transfer Bovine Embryos Treated with Flavonoid

Jin Cheol Tae<sup>1</sup>, Eun Young Kim<sup>1</sup>, Kilsoo Jeon<sup>1</sup>, Keum Sil Lee<sup>1</sup>,  
Chang Hyun Lee<sup>1</sup>, Yeon Ok Kim<sup>1</sup>, Se Pill Park<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Mirae Biotech/Cheju National University Stem Cell Research Center, <sup>2</sup>Cheju National University

**Objectives:** The success of somatic cell cloning gives promise to applications such as species preservation, cell therapy and production of somatic cell nuclear transfer (SCNT) embryonic stem cells. To improve the in vitro developmental capacity of SCNT bovine embryos, flavonoid additive effect as a radical scavenger in culture medium was examined.

**Methods:** To optimize the treatment concentration of flavonoid, parthenogenetic day 2 ( $\geq 2\sim 4$  cell) bovine embryos were treated with various concentrations of flavonoids (3,4-dihydroxyflavone; 1, 10 and 100  $\mu\text{M}$ ) for 6 days. Also, the 10  $\mu\text{M}$  flavonoid addition effect was examined on in vitro development of SCNT day 2 ( $\geq 2\sim 4$  cell) bovine embryos. The treatment effect was assessed by in vitro blastocyst development rate.

**Results:** In comparison with the absence of flavonoid, treatment with flavonoid at a concentration of 10  $\mu\text{M}$  showed a significant increase for the blastocyst formation in the parthenogenetic embryos (control, 27.4%; 1  $\mu\text{M}$  F, 32.7; 10  $\mu\text{M}$  F, 38.9 and 100  $\mu\text{M}$  F, 32.7%;  $p < 0.05$ ). Also, the supplementation of 10  $\mu\text{M}$  flavonoid (30.7%) during in vitro culture gives positive effect on blastocyst formation of SCNT embryos compared to control (26.1%).

**Conclusion:** This result suggests that flavonoid addition in culture medium brings beneficial effects on subsequent embryo development of bovine SCNT embryos.

P-11

## 할구 유래의 생쥐 배아줄기세포주 확립 과정에서 배양액에 첨가된 LIF와 ACTH의 영향

조재원 · 임친규 · 한상철 · 고덕성 · 전진현

관동대학교 의과대학 제일병원 생식생물학 및 불임연구소

**Objectives:** 할구 유래의 배아줄기세포주 확립 방법은 초기 배아의 생명력에 손상을 주지 않으면서 배아 파괴에 따른 윤리적인 문제를 극복할 수 있는 획기적인 방법이다. 그러나 이러한 할구 유래 배아줄기세포주 확립 효율성은 생쥐와 인간에 있어서 각각 4.0% (5/125)와 2.2% (2/91) 정도로 매우 낮은 성공률을 보고하고 있다. 본 연구에서는 생쥐 초기 배아에서 분리한 할구 유래의 배아줄기세포주 확립 과정에서 배양액 첨가물의 영향을 살펴보고자 하였다.

**Methods:** 생쥐 초기 배아의 배양액에 leukaemia inhibitory factor (LIF)를 농도별 (control, 1000 U, 2500 U, 5000 U)로 첨가하여 포배기 배아의 세포수에 미치는 영향을 살펴보기 위해 영양배엽의 세포수와 내세포괴의 세포수를 differential staining을 통해서 관찰하였으며, LIF 농도에 따른 배아줄기세포주 확립 효율을 비교하였다. 또한, 2-세포기와 4-세포기의 생쥐 초기 배아에서 분리한 할구 유래 배아줄기세포주 확립 효율을 비교하였다. 또한, 2-세포기와 4-세포기의 생쥐 초기 배아에서 분리한 할구 유래 배아줄기세포주 확립 효율을 비교하였다. 확립된 배아줄기세포주는 배아줄기세포 특이적인 항체를 이용한 면역세포학적 방법과 RT-PCR 방법을 통해 그들의 특성