

Epidermal Growth Factor(EGF)와 Transforming Growth Factor- α (TGF- α)가 돼지 난포란의 체외성숙에 미치는 영향

임정훈 · 박병권 · 이규승
충남대학교 동물자원학부

Effect of Epidermal Growth Factor and Transforming Growth Factor- α on *In Vitro* Maturation of Porcine Oocytes

Lim, J. H., B. K. Park and K. S. Lee

Division of Animal Science and Resources, Chungnam National University

SUMMARY

The present study examined the effects of epidermal growth factor(EGF) and transforming growth factor- α (TGF- α) on *in vitro* maturation of porcine follicular oocytes. Basic medium used TCM-HEPES, and oocytes cultured for 42 hours *in vitro*. The results obtained are as follows:

1. The nuclear maturation rates of EGF-treated groups(10ng/ml, 75.9% ; 30ng/ml, 69.2% ; 50ng/ml, 67.2% ; 100ng/ml, 71.0%) on the porcine oocytes cultured in medium without pFF *in vitro* were significantly($P < 0.01$) higher than those of non-treated group(57.1%). When the oocytes were cultured in media with 10%(v/v) pFF, the nuclear maturation rates of 30ng EGF/ml(77.1%) treated group were significantly($P < 0.01$) higher than those of non-(59.2%) and EGF-treated groups(10ng/ml, 65.4% ; 50ng/ml, 65.5% ; 100ng/ml, 70.4%).
2. The nuclear maturation rates of 30ng TGF- α /ml treated group(71.9%) in media without pFF *in vitro* were significantly($P < 0.01$) higher than those of non-(57.1%) and TGF- α treated groups(10ng/ml, 60.4% ; 50ng/ml, 65.4% ; 100ng/ml, 60.0%). When the oocytes were cultured in media with 10%(v/v) pFF, the nuclear maturation rates of 30 and 50ng TGF- α /ml(77.4% and 79.6%) treated group were significantly($P < 0.01$) higher than those of non-(59.2%) and TGF- α treated groups(10ng/ml, 64.2% ; 100ng/ml, 61.6%).
3. On the effect of EGF(30ng/ml) and/or TGF- α (30ng/ml) treated groups in medium without pFF *in vitro*, the nuclear maturation rates indicated 57.3, 60.4, 75.9 and 79.7% in media with no EGF & TGF- α , TGF- α only, EGF only and EGF+TGF- α treated groups, respectively. The nuclear maturation rates in medium with EGF only or EGF+TGF- α were significantly ($P < 0.01$) higher than those non- and TGF- α treated groups. When the oocytes were cultured in media with 10%(v/v) pFF, the nuclear maturation rates of EGF+TGF- α treated group(75.9%) were significantly($P < 0.01$) higher than those of non-(59.2%), TGF- α only (64.2%) and EGF only(69.4%) treated groups.

(Key words : Porcine oocyte, *In vitro* maturation, Growth factor, EGF, TGF- α)

I. 서 론

생물체에 항상 존재하는 성분은 아니면서 필요에 따라 신생되어 세포의 성장·증식을 촉진하는 물질을 성장인자라고 한다. 성장인자의 화학적 본태는 주로 펩티드로서(Yoshida 등, 1992), 이는 자가분비기전 및 국소분비기전으로 생리작용을 발현하는데(Hammond 등, 1988; Carson 등, 1989), 일반적으로 세포막의 표면에 있는 성장인자의 수용체(receptor)와 결합하여 단백질부활효소(protein kinase), 환상 AMP(cyclic AMP), Ca^{2+} 등과 같은 2차전달계를 거쳐 세포의 성장·증식을 촉진한다.

한편, 난소에서도 많은 종류의 성장인자가 분비되는데 이러한 성장인자는 난포란의 성숙과정에서 핵성숙 뿐만 아니라 세포질의 성숙에도 영향을 미친다(Motlik 등, 1986). 각종 성장인자에 관한 연구로는 Gospodarowicz 등(1977)이 소 과립막세포의 체외배양실험에서 EGF(epidermal growth factor) 및 FGF(fibroblast growth factor)가 세포의 증식에 효과적으로 영향을 미쳤다고 보고한 이래, May 등(1988)이 EGF가 세포내의 DNA합성을 자극한다고 하였고, 체외배양시 EGF가 rat(Dekel과 Sherizly, 1985), 소(Harper와 Brackett, 1993), 돼지(Ding과 Foxcroft, 1994) 등과 같은 포유동물 난포란의 핵성숙을 자극하는 것으로 각각 보고되었다. 또한, Yoshida 등(1992)은 난포액내에 존재하는 성장인자들은 비동화처리(50°C, 30분)에 의하여 자극효과가 상실되었음을 보고하였다.

본 실험은 체외배양시 돼지 난포란의 핵성숙에 EGF와 TGF- α 가 미치는 영향을 구명하기 위하여 수행하였다.

II. 재료 및 방법

1. 공시 난포란의 준비

실험에 공시한 난포란은 도축 직후의 암돼지(체중 100kg 내외)로부터 채취하였다. 즉, 도살직후 적출한 난소를 100 IU/ml의 penicillin G와 100 μ g/ml의 streptomycin sulfate가 첨가된 30~36°C의 멸균 생리식염수로 1~2회 세척한 다음, 동일 생리식염수에

침지하여 30분 이내에 실험실로 운반한 후, 실온(25~30°C)에서 난소의 표면을 생리식염수로 2~3회 세척한 다음, 온수조에서 39°C를 유지하면서 실험에 공시하였다.

난포란의 채취는 18-gauge의 주사침이 장착된 20 ml 주사기로 2~5 mm 직경의 포상난포를 연속적으로 찢러 난포액과 함께 난포란을 흡입하였으며, 이것을 15 ml 원심분리관으로 옮겨, 온수조(39°C)에서 5~10분간 정치시켜 난포란의 침전을 유도한 다음, 침전물만을 취하여 1.5 cm 간격으로 방안을 표시한 87×15 mm 페트리접시에 넣고, 4mg/ml(w/v)의 BSA(bovine serum albumin, Fraction V, Sigma, USA)가 첨가된 PBS(phosphate buffered solution)와 희석하여 실체현미경(20~40×)하에서 난세포질이 균일한 난포란을 난구세포의 부착상태에 따라 선별하여 체외성숙에 공시하였다.

2. 체외성숙배양액

본 실험에서 사용된 체외성숙 배양액은 TCM-HEPES배양액을 pH 7.4, 삼투압 290~300mOsmol로 조정하여 사용하였으며, 사용전에 0.22 μ m millipore filter로 여과·멸균하여 39°C, 5% CO₂, 95% 공기, 100% 습도의 CO₂배양기에서 10~12시간 동안 평형시킨 후 사용하였다.

3. 돼지난포액 및 성장인자의 처리

난포란의 체외성숙 배양액에 첨가하기 위한 돼지난포액(pFF)은 직경 3~6 mm의 포상난포에서 난포액을 흡입한 다음 3,000 rpm에서 30분간 1차 원심분리 후 0.80 μ m millipore filter로 1차 여과 및 0.22 μ m millipore filter로 2차 여과하여 배양액에 각각 10% (v/v) 첨가 또는 무첨가하여 조사하였다.

한편, EGF 및 TGF- α 의 첨가농도 및 병용처리에 따른 영향을 알아보기 위하여 EGF 및 TGF- α 를 배양액 ml당 0, 10, 30, 50 및 100 ng씩 각각 첨가하여 농도에 따른 영향을 조사하였고, 30 ng/ml의 EGF와 TGF- α 를 무첨가, 단독 또는 병용처리하여 난포란의 체외성숙률에 미치는 효과를 조사하였다.

4. 난포란의 체외성숙

회수된 난포란은 각각의 기본배양액에 10%(v/v)

의 FBS, 10%(v/v)의 pFF, 호르몬(1 μ g/ml의 FSH, 2IU/ml의 hCG) 및 100IU/ml의 penicillin G와 100 μ g/ml의 streptomycin sulfate를 첨가하여 4-well plastic dish에 0.5ml씩 분주하고 mineral oil로 피복한 후, 2~3시간 동안 39 $^{\circ}$ C, 5% CO₂, 95% 공기 및 100% 습도로 조절된 CO₂배양기내에서 평형시킨 후, well당 30~35개의 미성숙 난포란을 적하하여 42시간 동안 배양하여 성숙을 유도하였다.

5. 난포란의 성숙단계 판정

각각의 배양조건에서 42시간 동안 성숙배양시킨 난포란을 Byun 등(1991)의 방법에 따라 난자급속염색법으로 염색하여 난포란의 핵성숙단계를 비교·판정하였다. 염색방법은 먼저 150~300IU/ml의 hyaluronidase용액에 성숙배양이 완료된 난포란을 옮겨 1~2분간 처리한 후, 직경이 난포란의 크기와 비슷한 미세피펫으로 pipetting하여 난구세포를 완전히 제거한 다음, 5%(v/v)의 FBS가 함유된 PBS로 2~3회 세척하였다. 멸균 slide glass 위에 난포란 10~20개를 적하한 다음, cover slip으로 덮고, 난포란의 부피로 생긴 cover slip과 slide glass의 틈으로 고정액(glacial acetic acid : absolute ethanol=1 : 3)을 흘리는 방법으로 5~10분간 고정하였다. 고정이 끝난 난포란의 염색은 염색액을 고정액과 같은 방법으로 주입하여 2~3분간 염색을 실시한 후, 탈염제(glacial acetic acid : distilled water : glycerol=1 : 3 : 1)를 흘려 난세포질 이외의 염색액을 제거시킨 다음, 위상차현미경(400~1,000 \times)으로 난포란의 핵성숙

단계를 판정하였다.

6. 통계처리

본 연구에서 얻어진 모든 실험자료의 통계 처리는 χ^2 검정을 실시하였다.

III. 결과 및 고찰

1. EGF의 효과

돼지난포란의 체외성숙에 미치는 EGF의 영향을 구명하기 위하여 복합배양액인 25mM HEPES가 함유된 TCM-H-EPES배양액에 돼지난포액(pFF)을 무첨가 또는 첨가(10%, v/v)한 다음, 각 배양액에 EGF를 농도별로 첨가하여 42시간 배양한 결과는 다음과 같다.

Table 1은 돼지난포액을 첨가하지 않은 체외성숙 배양액에 EGF를 0, 10, 30, 50 및 100ng/ml씩 각각 첨가하여 배양한 결과이다. EGF의 첨가농도에 따른 돼지난포란의 핵성숙률은 10, 30, 50 및 100ng/ml의 EGF를 첨가한 처리구가 각각 75.9, 69.2, 67.2 및 71.0%로서 배양액에 EGF를 첨가하지 않은 대조구의 57.1%에 비하여 유의성(P<0.01)이 인정되는 높은 성숙률을 나타내므로써, 돼지난포란의 핵성숙에 EGF가 효과적으로 작용하는 것으로 조사되었다. 그러나, EGF의 첨가농도에 따른 처리구 상호간에는 유의성이 인정되지 않는 비슷한 성적을 나타냈다. Table 2는 10%(v/v)의 돼지난포액을 첨가한 배양액에 0, 10,

Table 1. Effect of EGF on *in vitro* maturation of porcine follicular oocytes in TCM-HEPES without pFF

Concentration of EGF(ng/ml)	No. of oocytes examined	No. (%) of nuclear stage*					
		GV	Pro I	Met I	Ana I	Tel I	Met II
0	49	10(20.4)	—	10(20.4)	—	1(2.1)	28(57.1) ^a
10	54	2(3.7)	2(3.7)	9(16.7)	—	—	41(75.9) ^b
30	52	3(5.8)	—	13(25.0)	—	—	36(69.2) ^b
50	52	2(3.9)	—	15(28.9)	—	—	35(67.2) ^b
100	55	2(3.6)	—	13(23.6)	1(1.8)	—	39(71.0) ^b

*GV : germinal vesicle stage, Pro I : first prometaphase, Met I : first metaphase, Ana I : first anaphase, Tel I : first telophase, Met II : second metaphase

^{ab}Different superscripts indicate that percentages were significantly different(P<0.01).

Table 2. Effect of EGF on *in vitro* maturation of porcine follicular oocytes in TCM-HEPES with pFF

Concentration of EGF(ng/ml)	No. of oocytes examined	No. (%) of nuclear stage*					
		GV	Pro I	Met I	Ana I	Tel I	Met II
0	54	11(20.4)	—	11(20.4)	—	—	32(59.2) ^a
10	52	11(21.2)	1(1.9)	6(11.5)	—	—	34(65.4) ^a
30	57	5(8.8)	—	7(12.3)	—	1(1.8)	44(77.1) ^b
50	58	5(8.6)	—	15(25.9)	—	—	38(65.5) ^a
100	54	8(14.8)	1(1.8)	7(13.0)	—	—	38(70.4) ^a

*GV : germinal vesicle stage, Pro I : first prometaphase, Met I : first metaphase, Ana I : first anaphase, Tel I : first telophase, Met II : second metaphase

^{ab}Different superscripts indicate that percentages were significantly different(P<0.01).

30, 50 및 100ng/ml의 EGF를 첨가하여 배양한 결과로서 배양액 ml당 30ng의 EGF를 첨가한 처리구에서 77.1%의 핵성숙률을 나타내서 0(59.2%), 10(65.4%), 50(65.5%) 및 100(70.4%)ng/ml의 처리구에 비하여 유의성(P<0.01)이 인정되는 높은 성적을 나타냈다.

이와 같은 결과는 소에서 혈청이 첨가된 성숙배양액에 EGF를 첨가하였을 때 난포란의 성숙률이 증가되었다는 보고(Coskun 등, 1991)와 사람 미성숙난포란의 체외배양에서 EGF를 첨가한 처리구가 무첨가구에 비하여 유의적으로 높은 GVBD 및 Met-II 도달률을 나타냈다고 한 보고(Gomez 등, 1993) 및 돼지에서 EGF의 단독첨가는 난포란의 성숙에 영향을 주지 못하였으나, 성선자극호르몬과의 병용투여시에는 난포란의 성숙에 효과적으로 작용하였다는 보고(Ding과

Foxcroft, 1994) 등과는 일치하는 결과였지만 EGF가 난포란의 성숙분열 촉진인자로서의 역할을 가지고 있지 않다고 한 Boland와 Gosden(1994)의 보고와는 일치하지 않는 결과였다.

2. TGF- α 의 효과

체외성숙 배양액에 TGF- α 를 첨가했을 때 돼지 난포란의 체외성숙률에 미치는 영향을 구명하기 위하여 돼지 난포액을 첨가 또는 무첨가한 TCM-HEPES배양액에 TGF- α 를 농도별로 첨가하여 42시간 배양한 결과는 다음과 같다.

Table 3은 돼지 난포액을 첨가하지 않은 체외성숙 배양액에 0, 10, 30, 50 및 100ng/ml의 TGF- α 를 첨가하여 배양한 결과이다. TGF- α 의 첨가농도에 따른 돼지 난포란의 핵성숙률은 30ng/ml의 TGF- α 를 첨

Table 3. Effect of TGF- α on *in vitro* maturation of porcine follicular oocytes in TCM-HEPES without pFF

Concentration of TGF- α (ng/ml)	No. of oocytes examined	No. (%) of nuclear stage*					
		GV	Pro I	Met I	Ana I	Tel I	Met II
0	49	10(20.4)	—	10(20.4)	—	1(2.1)	28(57.1) ^a
10	58	1(1.7)	—	22(37.9)	—	—	35(60.4) ^a
30	57	5(8.8)	1(1.8)	10(17.5)	—	—	41(71.9) ^b
50	52	2(1.9)	—	16(30.7)	—	—	34(65.4) ^a
100	50	3(6.0)	1(2.0)	16(32.0)	—	—	30(60.0) ^a

*GV : germinal vesicle stage, Pro I : first prometaphase, Met I : first metaphase, Ana I : first anaphase, Tel I : first telophase, Met II : second metaphase

^{ab}Different superscripts indicate that percentages were significantly different(P<0.01).

Table 4. Effect of TGF- α on *in vitro* maturation of porcine follicular oocytes in TCM-HEPES with pFF

Concentration of TGF- α (ng/ml)	No. of oocytes examined	No. (%) of nuclear stage*					
		GV	Pro I	Met I	Ana I	Tel I	Met II
0	54	10(18.6)	—	12(22.2)	—	—	32(59.2) ^a
10	53	5(9.4)	—	14(26.4)	—	—	34(64.2) ^a
30	53	5(9.4)	—	6(11.3)	—	1(1.9)	41(77.4) ^b
50	54	4(7.4)	—	6(11.1)	—	1(1.9)	43(79.6) ^b
100	52	6(11.5)	—	14(26.9)	—	—	32(61.6) ^a

*GV : germinal vesicle stage, Pro I : first prometaphase, Met I : first metaphase, Ana I : first anaphase, Tel I : first telophase, Met II : second metaphase

^{ab}Different superscripts indicate that percentages were significantly different ($P < 0.01$).

가 한 처리구가 71.9%의 핵성숙률을 나타내서 0ng/ml의 대조구(57.1%)와 10(60.4%), 50(65.4%) 및 100(60.0%)ng/ml의 TGF- α 첨가농도에 따른 성숙률에 비하여 유의적($P < 0.01$)으로 높은 성적을 나타냈다. 한편, 10%(v/v)의 돼지난포액을 첨가한 배양액에 각각 0, 10, 30, 50 및 100ng/ml의 TGF- α 를 첨가하여 배양한 결과는 Table 4에서 보는 바와 같이 배양액 ml당 30ng과 50ng의 TGF- α 를 첨가한 처리구에서 77.4%와 79.6%의 핵성숙률을 나타내서 0, 10, 100ng/ml의 TGF- α 를 첨가한 경우의 핵성숙률 59.2, 64.2 및 61.6%보다 유의차($P < 0.01$)가 인정되는 높은 성적을 나타냈다.

이와 같은 결과는 Vorob'eva(1989)의 난구세포 및 과립막세포에서 합성되는 EGF, TGF 및 FGF 등의 성장인자는 포유동물 난포란의 성숙분열에 분열촉진 인자로서 영향을 미친다는 보고와 흰쥐(rat)에서

25pg/ml의 TGF- β 를 첨가한 처리구가 무첨가 control구보다 난포란의 성숙률이 50% 이상 증가하였다고 한 Feng 등(1988)의 보고와 일치하는 결과였다.

3. EGF와 TGF- α 의 병용처리 효과

EGF와 TGF- α 의 병용처리가 돼지난포란의 체외성숙에 미치는 영향을 구명하고자 TCM-HEPES배양액에 30ng/ml의 EGF와 TGF- α 를 무처리, 단독 및 병용처리하여 배양한 결과는 다음과 같다.

돼지난포액을 첨가하지 않은 체외성숙 배양액에서의 핵성숙률은 Table 5에서 보는 바와 같이 EGF와 TGF- α 가 없는 무처리구에서는 57.3%, TGF- α 처리구는 60.4%, EGF처리구는 75.9% 그리고 EGF+TGF- α 처리구에서는 79.7%로 나타나서 EGF+TGF- α 처리구와 EGF단독처리구의 핵성숙률이 무처리구와 TGF- α 단독처리구보다 유의적($P < 0.01$)으로

Table 5. Effect of EGF(\pm) and TGF- α (\pm) on *in vitro* maturation of porcine follicular oocytes in TCM-HEPES without pFF

Grow factor*		No. of oocytes examined	No. (%) of nuclear stage**					
EGF	TGF- α		GV	Pro I	Met I	Ana I	Tel I	Met II
—	—	75	20(26.7)	1(1.3)	11(14.7)	—	—	43(57.3) ^a
—	+	58	1(1.7)	—	22(37.9)	—	—	35(60.4) ^a
+	—	54	2(3.7)	2(3.7)	9(16.7)	—	—	41(75.9) ^b
+	+	59	1(1.7)	—	10(16.9)	—	1(1.7)	47(79.7) ^b

*EGF 10ng/ml, TGF- α 10ng/ml

**GV : germinal vesicle stage, Pro I : first prometaphase, Met I : first metaphase, Ana I : first anaphase, Tel I : first telophase, Met II : second metaphase

^{ab}Different superscripts indicate that percentages were significantly different ($P < 0.01$).

Table 6. Effect of EGF(±) and TGF-α(±) on *in vitro* maturation of porcine follicular oocytes in TCM-HEPES with pFF

Grow factor*		No. of oocytes examined	No. (%) of nuclear stage**					
EGF	TGF-α		GV	Pro I	Met I	Ana I	Tel I	Met II
-	-	54	11(20.4)	-	11(20.4)	-	-	32(59.2) ^a
-	+	53	5(9.4)	-	14(26.4)	-	-	34(64.2) ^a
+	-	52	11(21.2)	1(1.9)	6(11.5)	-	-	34(69.4) ^a
+	+	79	4(5.1)	1(1.3)	13(16.4)	-	1(1.3)	60(75.9) ^b

* EGF 30ng/ml, TGF-α 30ng/ml

** GV : germinal vesicle stage, Pro I : first prometaphase, Met I : first metaphase, Ana I : first anaphase, Tel I : first telophase, Met II : second metaphase

^{ab}Different superscripts indicate that percentages were significantly different (P<0.01).

높은 성적을 나타냈다. Table 6은 10%(v/v)의 돼지 난포액을 첨가한 배양액에서의 결과를 나타내고 있는데, EGF+TGF-α처리구가 75.9%의 핵성숙률을 나타내서 EGF와 TGF-α 무처리구(59.2%), TGF-α 단독처리구(64.2%) 및 EGF단독처리구(69.4%)에 비하여 유의적(P<0.01)으로 높은 성적을 나타냈다.

이와 같은 결과는 사람 난포란의 체외성숙에서 EGF와 IGF- I (insulin-like growth factor- I)의 처리구가 무첨가 대조구에 비하여 유의적으로 높은 GV-BD 및 Met-II 도달률을 나타냈다고 한 Gomez 등(1993)의 보고와 소에서 EGF+IGF- I 처리구가 무첨가 대조구, IGF- I 및 EGF 단독처리구와 비교하였을 때 가장 높은 Met-II 도달률을 나타냈다고 한 Lorenzo 등(1995)의 보고와 일치하는 결과였다.

IV. 적 요

본 연구는 돼지 난포란의 체외배양시 epidermal growth factor(EGF)와 transforming growth factor-α(TGF-α)가 난포란의 핵성숙에 미치는 영향을 구명하기 위하여 수행하였다. 기본배양액은 TCM-HEPES배양액을 사용하였고, 난포란의 체외성숙배양 시간은 42시간으로 하였다. 본 연구에서 얻어진 결과는 다음과 같다.

1. 돼지 난포액을 첨가하지 않은 배양조건에서 EGF 첨가농도에 따른 난포란의 핵성숙률은 10, 30, 50 및 100 ng/ml를 첨가한 처리구가 각각 75.9, 69.2, 67.2 및 71.0%로서 무첨가 대조구의 57.1%에 비하여 유의성(P<0.01)이 인정되는

높은 성적을 나타냈다. 10%(v/v)의 돼지 난포액을 첨가한 배양액에서는 30ng/ml의 EGF를 첨가한 처리구에서 77.1%의 핵성숙률을 나타내서 무첨가 대조구(59.2%)와 10, 50 및 100 ng/ml(65.4%, 65.5% 및 70.4%)의 처리구에 비하여 유의성(P<0.01)이 인정되는 높은 성적을 나타냈다.

2. 돼지 난포액을 첨가하지 않은 배양조건에서 TGF-α 첨가농도에 따른 난포란의 핵성숙률은 30 ng/ml를 첨가한 처리구가 71.9%의 핵성숙률을 나타내서 무첨가 대조구(57.1%)와 10, 50 및 100 ng/ml(60.4, 65.4 및 60.0%)의 처리구에 비하여 유의적(P<0.01)으로 높은 성적을 나타냈다. 10%(v/v)의 돼지 난포액을 첨가한 배양액에서는 30 ng/ml과 50 ng/ml의 TGF-α를 첨가한 처리구에서 77.4%와 79.6%의 핵성숙률을 나타내서 무첨가 대조구(59.2%)와 10 및 100 ng/ml(64.2% 및 61.6%)의 처리구에 비하여 유의성(P<0.01)이 인정되는 높은 성적을 나타냈다.
3. 돼지 난포액을 첨가하지 않은 배양조건에서 EGF(30 ng/ml)와 TGF-α(30 ng/ml)가 첨가되지 않은 무처리구는 57.3%, TGF-α 단독처리구는 60.4%, EGF 단독처리구는 75.9% 그리고 EGF+TGF-α 처리구에서는 79.7%로 각각 나타나서 EGF+TGF-α구와 EGF 단독처리구의 핵성숙률이 무처리구와 TGF-α 단독처리구보다 유의적(P<0.01)으로 높은 성적을 나타냈다. 10%(v/v)의 돼지 난포액을 첨가한 배양액에서

는 EGF+TGF- α 처리구가 75.9%의 핵성숙물을 나타내서 무처리구(59.2%), TGF- α 단독처리구(64.2%) 및 EGF 단독처리구(69.4%)에 비하여 유의적($P < 0.01$)으로 높은 성적을 나타냈다.

V. 인용문헌

- Boland, N. I. and R. G. Gosden. 1994. Effects of epidermal growth factor on the growth and differentiation of cultured mouse ovarian follicles. *J. Reprod. Fertil.*, 101: 369-374.
- Byun, T. H., S. H. Lee and H. B. Song. 1991. Development of a rapid staining method for of the oocytes from domestic animals. *Kor. J. Anim. Sci.*, 33:25-31.
- Carson, R. S., Z. Zhang, L. A. Hutchinson, A. C. Herington and J. K. Findlay. 1989. Growth factors in ovarian function. *J. Reprod. Fertil.*, 85:735-746.
- Coskun, S., A. Sanbuisho, Y. C. Lin and Rikihisa. 1991. Fertilizability and subsequent developmental ability of bovine oocytes matured in medium containing epidermal growth factor(EGF). *Theriogenology*, 25:485-494.
- Dekel, N. and I. Sherizly. 1985. Epidermal growth factor induces maturation of rat follicle enclosed oocytes. *Endocrinology*, 116: 46-49.
- Ding, J. and G. R. Foxcroft. 1994. Epidermal growth factor enhances oocytes maturation in pigs. *Mol. Reprod. Dev.*, 39:30-40.
- Feng, P., K. J. Catt and M. Knecht. 1988. Transforming growth factor-beta stimulates meiotic maturation of the rat oocyte. *Endocrinology*, 122:181-186.
- Gomez, E., J. J. Tarin and A. Pellicer. 1993. Oocyte maturation in humans:the role of gonadotropins and growth factors. *Fertil. Steril.*, 60:40-46.
- Gospodarowicz, D., C. R. Ill and C. R. Birdwell. 1977. Effects of fibroblast and epidermal growth factors on ovarian cell proliferation *in vitro*. I. Characterization of the response of granulosa cells to FGF and EGF. *Endocrinology*, 100:1108-1120.
- Hammond, J. M., C. J. Hsu, J. S. Mondschein and S. F. Canning. 1988. Paracrine and autocrine functions of growth factors in the ovarian follicle. *J. Anim. Sci.*, 66(suppl. 2):21-31.
- Harper, K. M. and B. G. Brackett. 1993. Bovine blastocyst development after *in vitro* maturation in a defined medium with epidermal growth factor and low concentrations of gonadotropins. *Biol. Reprod.*, 48:409-416.
- Lorenzo, P. L., M. J. Illera, J. C. Illera and M. Illera. 1995. Influence of growth factors on the time-depended meiotic progression of the bovine oocytes during their *in vitro* maturation. *Rev. Esp. Fisiol.*, 51:77-83.
- May, J. V., J. P. Frost and D. W. Schomberg. 1988. Differential effects of epidermal growth factor, somatomedin-C/insulin-like growth factor I, and transforming growth factor-beta on porcine granulosa cell DNA synthesis and cell proliferation. *Endocrinology*, 123:168-179.
- Motlik, J. and J. Fulka. 1986. Factors affecting meiotic competence in pig oocytes. *Theriogenology*, 25:87-96.
- Vorob'eva, O. A. 1989. Growth factors-the new regulators of reproduction. *Tsitologiia*, 31:1139-1157.
- Yoshida, M., Y. Ishizaki, H. Kawagihi, K. Bamba and Y. Kojima. 1992. Effect of pig follicular fluid on maturation of pig oocytes *in vitro* and on their subsequent fertilizing and developmental capacity *in vitro*. *J. Reprod. Fertil.*, 95:481-488.

(접수일자 : 1997. 5. 1 / 채택일자 : 1997. 5. 31)