

성장중인 생쥐와 돼지난자의 성숙억제요인에 관하여

이원교 · 권혁방

전남대학교 자연과학대학 생물학과

세포융합방법을 사용하여 성장중인 포유동물의 난자에 들어있는 성숙억제요인(maturation inhibiting activity, MIA)에 대해 조사하였다. 성장중인 생쥐난자와 성장한 미성숙난자를 1:1로 융합하여 배양했을 때 (14-17시간)에는 거의 모두 핵붕괴를 일으키었으나(90%), 2:1로 융합했을 때는 대부분(약 64%) 3개의 핵을 모두 간직하고 있었다. 돼지난자의 경우는 성장중인 것과 성장한 것을 1:1로 융합하여 배양했을 때에도 융합체들은 모두 핵을 간직하고 있었으며 돼지의 성장중인 난자와 생쥐의 성장한 난자를 융합했을 때에도 모두 핵을 보존하고 있었다. 이에 반하여 돼지와 생쥐 모두에서 성장한 난자끼리 융합했을 때에는 예외없이 핵붕괴가 일어났다.

이러한 결과는 성장중인 생쥐나 돼지의 난자에 MIA가 존재한다는 것과 이종간에도 효과가 있다는 것을 보여주고 있다. 또한 이는 MIA와 성숙촉진요인(maturation promoting factor, MPF)의 상대적인 양의 변화가 난자의 성숙조절에 중요한 역할을 한다는 것을 시사해주고 있다.

KEY WORDS: Maturation inhibiting activity, Oocyte maturation, Mammals

대부분의 척추동물에서 여포난자는 제1감수분열 전기(Prophase I)에서 분열이 정지되어 있다가 생식기에 이르러 뇌하수체호르몬(luteinizing hormone, LH)의 자극을 받으면 감수분열이 재개되어 핵붕괴(germinal vesicle breakdown, GVBD)가 일어나고 제2감수분열 중기에 이르는 난자의 성숙(oocyte maturation)이 일어난다 (reviewed by Masui & Clarke, 1979). 성장이 끝난 그라프씨 여포(Graafian follicle)에서 여포난자를 취하여 인공배양할 때 양서류에서는 성숙유도호르몬(progesterone)을 처리하여야만 난자의 성숙이 일어나지만 (Schuetz, 1967), 포유류의 난자는 호르몬의 도움없이도 자발적인 성숙(spontaneous maturation)을 일으킨다 (Pincus & Enzmann, 1935). 그러나 성장중에 있는 작은 여포난자는 일정한 크기에 이르기까지 성숙이 유도되지 않는다 (Sorensen and Wassarman, 1976; Motlik *et al.*, 1984).

범개구리(*Rana pipiens*)에서 성숙된 난자의 세포질에서 성숙촉진요인(maturation promoting factor, MPF)이 존재한다는 것이 발견된 이래 난자 혹은 배아의 세포질에 대해 많은 연구가 있어 왔다 (reviewed by Masui and Clarke, 1979; Masui, 1985). 일부의 학자들은 생쥐에서 난자의 성숙을 일으킬 수 없는 성장중인 난자(growing oocyte)와 핵붕괴를 일으킨 난자(GVBD oocyte)를 세포융합하여 배양을 하면 성장중인 난자의 핵붕괴가 일어나고 염색체가 조기응축(premature chromosome condensation)을 일으키는 것으로 보아 포유류의 난자에서도 양서류처럼 MPF가 존재한다고 주장하였다 (Balakier, 1978; Balakier and Masui, 1986). 또한 포유류 난자에서 발견된 MPF는 초기배아에도 효과를 나타내며 이종간에도 작용한다는 것이 보고된 바 있다 (Balakier, 1979; Fulka, 1983; Gulyas *et al.*, 1984).

이에 대하여 Fulka (1985)는 어린 생쥐에서 취한 성장중인 난자와 성장이 끝난 미성숙난자를 융합시킨 후 일정시간 배양을 하면 오히려 융합체의 성숙(핵붕괴)이 억제되는 것을 발견하고 성장중

본 연구는 한국과학재단(1986)의 지원에 의해 수행된 것임.

인 난자에는 성장한 난자의 성숙을 억제하는 요인 (maturation inhibiting activity, MIA)이 있음을 보고하였다. 이 억제요인은 또한 MPF처럼 이종 간에도 영향을 나타내는 것으로 보고되었다 (Fulka *et al.*, 1985). 따라서 난자의 세포질에는 세포 분열을 조절하는 두가지의 세포질요인(MPF, MIA)이 있는 것으로 알려지게 되었으며 이들의 상호작용이 중요한 관심사가 되고있다. MPF에 관해서는 많은 사실이 밝혀졌으나 MIA에 관해서는 거의 알려져 있지 않으며 그 실체가 확인되지 않고 있다.

본 연구는 난자의 성숙조절, 특히 감수분열 억제기작(meiotic arrest mechanism)에 중요한 역할을 할지도 모르는 MIA의 본체를 밝히려고하는 노력의 일환으로 세포융합방법을 사용하여 생쥐와 돼지에서 MIA의 존재를 재확인하고 MPF와의 상호관계에 대해서 조사해보고자 시도하였다.

재료 및 방법

실험재료로는 본과에서 사육하는 ICR strain 생쥐와 도살장(삼호축산)에서 가져온 돼지의 난소를 사용하였다.

재료의 채취 : 생쥐의 성장중인 난자(growing oocyte)는 생 후 10일 된 암컷의 난소에서 얻었다. 난소조각을 0.5% pronase(from *Streptomyces grieseus*, Calbiochem)를 포함한 PBS(phosphate buffered saline)용액에서 2시간 가량 처리하여 부분적으로 난소조직을 분해시킨 후 작은 여포내에 들어있던 성장중인 난자들을 미세피펫으로 흡입 방출하여 채취하였다. 이때 얻어지는 난자들은 투명대(zona pellucida)가 이미 제거된 상태이었다. 돼지의 성장중인 난자는 신선한 돼지의 난소를 얻어온 즉시 해부현미경하에서 직경 0.5 mm 이하의 여포를 미세 핀셋으로 터뜨려 채취하였다. 생쥐의 성장한 난자(immature large oocyte)는 생 후 3주된 것의 난소로부터 미세침을 사용하여 그라프씨여포(Graafian follicle)를 터뜨려 채취하였으며 돼지의 경우는 3-5 mm의 여포로부터 5 ml 주사기로 여포액을 흡입해 낸후 따라나온 난자를 채취하였다.

세포융합 및 배양 : 난자 융합은 Spindle(1981)의 방법에 따라 수행하였으며 기본배양액으로는 0.4% bovine serum albumin(BSA, Sigma)이 포함된 standard egg culture medium(SECM, Biggers *et al.*, 1971)을 사용하였다. 생쥐난자는 PBS에 녹인 0.5% pronase로 3-5분, 돼지 난자는 0.2% pronase로 1분 정도를 각각 처리하여 투명대를 제거한 후 기본배양액으로 서너번 세척하였다. 투명대가 제거된 난자들을 400 $\mu\text{g/ml}$ 의 phytohemagglutinin(PHA, Sigma)이 들어있는 기본배양액으로 옮겨서 정해진 난자쌍들을 흡착시킨 후 45% polyethylene glycol(PEG 1000, Sigma)이 함유된 BSA free SECM에서 1분 30초-1분 40초 처리하여 융합을 유도하였다. 필요에 따라서는 융합과정중에 일어날지도 모르는 핵붕괴를 억제하기 위하여 150 $\mu\text{g/ml}$ 의 dbcAMP(Sigma)나 200 μM 의 isobutyl methylxanthine (IBMX, Sigma)이 첨가된 배양액에서 융합조작을 수행하기도 하였다. 난자들이 완전히 융합된 후 융합체들을 기본배양액으로 옮겨서 14-17시간 동안 5% CO₂가 공급되는 습기찬 정온기(Forma Scientific)에서 통상적인 방법으로 배양하였다 (Kwon *et al.*, 1987). 배양 후 융합체들을 2% glutaraldehyde(Sigma)에서 10분 정도 전고정한 후 Normarskii interference microscope(Nikon)로 핵붕괴 여부를 조사하고 핵붕괴가 된 것은 후고정, 염색과정을 거쳐서 핵상을 관찰하였다.

결 과

생쥐의 성장중인 난자와 성장한 미성숙난자와의 융합

생쥐의 성장중인 난자의 세포질에 과연 성숙억제요인(MIA)이 존재하는지를 확인하기 위하여 성장한 미성숙난자와 성장중인 작은 난자를 융합시켜 배양하여 보았다 (Table 1). 두 종류의 난자를 1:1로 융합시켜 배양했을 때 융합체는 거의 모두 핵붕괴가 되어서 핵을 관찰할 수 없었으며 (18/20) 이들을 염색하여본 결과 두조의 염색체들을 관찰할 수 있었다 (Table 1). 대조군으로 성장중인 난자끼리 융합시킨 것들은 뚜렷하게 두개

Table 1. Fusion of growing mouse oocytes with immature large mouse oocytes: MPF activity of large oocytes

| Type of pairing | No. of oocyte pairs fused/No. of oocyte pairs unfused | Nuclear phase of fused oocytes | | Nuclear phase of unfused oocytes | |
|---------------------------------|---|--------------------------------|------|----------------------------------|------|
| | | 2GVs | GVBD | GV | GVBD |
| Growing oocyte alone | | | | 24 | 0 |
| Immature large oocyte alone | | | | 0 | 11 |
| Growing oocyte + Large oocyte | 20/3 | 2 | 18 | 3(G) | 3(L) |
| Growing oocyte + Growing oocyte | 21/2 | 21 | | 4(G) | |

Growing and fully grown immature large oocytes were collected and immediately handled for fusion as described in materials and methods. Those fused giant cells were cultured for 15 hours and checked for their GV after culture. The data of at least 5 repeated experiments were pooled. (G); growing oocyte, (L); large oocyte

Table 2. Fusion of growing mouse oocytes with immature large mouse oocytes: MIA of growing oocytes

| Type of pairing | No. of oocyte pairs fused/No. of oocyte pairs unfused | Nuclear phase of fused oocytes | | | Nuclear phase of unfused oocytes | |
|---------------------------------------|---|--------------------------------|------|------|----------------------------------|------|
| | | 2GVs | 3GVs | GVBD | GV | GVBD |
| Large oocyte + Large oocyte | 11/3 | | | 11 | | 6(L) |
| Growing oocyte + Large oocyte | 15/4 | | | 15 | 4(G) | 4(L) |
| Two growing oocyte + One large oocyte | 58/0 | 2 | 36 | 20 | | |

Those oocytes were handled for fusion in the presence of IBMX (200 μ M) or dbcAMP (150 μ g/ml). After fusion, they were transferred to plain medium and cultured for 14-17 hours, and checked their GV after culture. The data of at least 5 repeated experiments were pooled. (G); Growing oocyte, (L); large oocyte

의 핵을 지니고 있었으며 또한 단독으로 배양한 성장한 난자들은 모두 정상적으로 핵붕괴가 일어난 것을 볼 수 있었다. 또한 융합과정을 거쳤으나 융합이 되지 않은 난자들은 성장중인 것은 핵을 간직하고 있었으며 성장한 난자는 핵붕괴를 일으켰다. 이러한 대조군의 결과로 보아 융합과정 자체가 핵의 행동에 어떤 영향도 미치지 않은 것으로 보이며, 따라서 성장중인 난자의 MIA를 확인할 수 없었다. 오히려 성장한 난자가 성숙함에 따라 생성된 MPF가 성장중인 난자의 핵붕괴와 염색체의 응축을 유도했다는 것을 알 수 있었다 (Table 1).

생쥐 난자들이 완전히 융합하는데는 두시간 정도가 소요되므로 이 기간동안에 성장한 난자의 성숙이 일어날 가능성이 있으므로 이를 막기 위하여 dbcAMP (150 μ g/ml)나 IBMX (200 μ M)의 존재하에서 융합조작을 한 경우에도 같은 결과가 나왔다 (Table 2). 즉 이때에도 성장한 난자와 성장중인 난자의 융합체 (1:1)들은 모두 핵붕괴가 되었다 (15/15, Fig. 1). 따라서 융합기간 동안에 성장한 난자의 세포질에 MPF가 먼저 나타나서 성장중인 난자의 핵붕괴를 유도했을 가능성은 없다고 보겠다. 성장중인 난자는 체적이 성장한 난자보다 작으므로 (약 1/2) 세포질의 양적 차이가 세포

Table 3. Fusion of pig growing oocytes with immature pig large oocytes: MIA of growing oocytes

| Type of pairing | No. of oocyte pairs fused/No. of oocyte pairs unfused | Nuclear phase of fused oocytes | | | Nuclear phase of unfused oocytes | |
|---------------------------------|---|--------------------------------|------|------|----------------------------------|------|
| | | 1GV | 2GVs | GVBD | 1GV | GVBD |
| Large oocyte alone | | | | | 10 | 21 |
| Growing oocyte + Growing oocyte | 42/18 | 13* | 29 | 0 | 36(G) | |
| Growing oocyte + Large oocyte | 40/16 | 20* | 20 | 0 | 16(G) | 8(L) |

Those oocytes were handled for fusion in the presence of IBMX (200 μ M) or dbcAMP (150 μ g/ml). After fusion, they were transferred to plain medium and cultured for 14-17 hours, and checked their GV after culture. The data of at least 5 repeated experiments were pooled. *No. of fused giant cells with one clear GV but unclear for another one (G); Growing oocyte, (L); large oocyte

질 요인의 작용에 영향을 미칠 수도 있다고 생각되어 2개의 성장중인 난자와 한개의 성장한 난자를 융합시켜 보았다. 그 결과 58개의 융합체중 36개는 3개의 핵을 유지함이 관찰되고 (Fig. 2) 2개는 핵들이 하나로 합쳐진 큰핵과 한개의 작은 핵을 가지고 있었으며, 20개는 핵을 관찰할 수 없었다 (Table 2). 대조군으로 성장한 난자끼리 1:1로 융합시킨 것들은 모두 핵붕괴가 되었다 (11/11). 이 결과는 생쥐의 성장중인 난자의 세포질에 난자의 MPF의 출현을 억제하는 어떤 요인(MIA)이 들어 있어서 핵붕괴를 억제했다는 것을 보여주며 세포질에 존재하는 이 물질이 어느 수준 이상되어야 그 효과가 나타난다는 것을 시사해주고 있다.

돼지의 성장중인 난자와 성장한 미성숙난자와의 융합

돼지의 성장중인 난자의 세포질에도 MIA의 활성이 있는지를 보기위하여 생쥐와 같은 방법으로 조사하였다. 성장한 난자와 성장중인 난자를 1:1로 융합한 결과 융합체들 중에서 반은 두개의 핵을 가지고 있었으며 (20/40) 나머지 반은 한개의 핵만 확인할 수 있었다. 그러나 핵이 붕괴되어 염색체를 관찰할 수 있는 융합체는 한개도 없었다. 대조군의 성장중인 난자끼리의 융합에서도 한개의 핵만을 지닌 융합체가 상당수 나타나고 (13/42) 염색 결과 핵과 염색체가 융합체내에서 동시에 나타나지 않는 것으로 보아 한개의 핵만 관찰된 경

우 핵융합까지 된 상태이거나 하나의 핵이 다른 핵에 의해 가리워진 상태라고 판단되었다. 또한 성장한 난자는 단독배양시 65% 이상의 핵붕괴율을 나타내며 이들에서 염색체를 관찰할 수 있었으나 성장중인 난자는 핵붕괴가 전혀 일어나지 않았다 (Table 3). 융합과정을 거쳤으나 융합이 되지 않은 성장중인 난자들은 역시 핵을 간직하고 있었으며 성장한 난자는 50%가 핵붕괴를 일으키며 염색체를 관찰할 수 있었다. 따라서 이러한 결과들을 종합하여 볼 때 돼지의 성장중인 난자의 세포질에도 MIA가 존재하며 이물질이 완전히 성장한 난자에서 MPF의 출현을 억제하여 핵붕괴를 억제시킨 것으로 해석되었다.

돼지의 성장중인 난자와 생쥐의 성장한 미성숙난자와의 융합

돼지의 성장중인 난자의 세포질이 생쥐의 성장한 난자의 성숙을 억제할 수 있는지의 여부를 조사하여 보았다. 두 종류의 난자들을 1:1로 융합한 융합체들의 대부분이 2개의 핵을 지니고 있었으며 (Fig. 3) 한개만이 하나의 큰핵을 가지고 있었다 (Table 4). 융합되지 않은 돼지의 성장중인 난자는 모두 핵을 지니고 있었으며 단독배양의 경우도 모두 핵을 지니고 있었다. 따라서 돼지의 성장중인 난자의 MIA가 생쥐의 성장한 난자의 MPF의 작용을 억제하여 핵붕괴를 억제하는 것으로 생각되었으며 이는 이종간에도 이 억제물질이 작용

Table 4. Fusion of pig growing oocytes with large mouse immature oocytes: Effect of pig MIA on the mouse large oocytes

| Type of pairing | No. of oocyte pairs fused/No. of oocyte pairs unfused | Nuclear phase of fused oocytes | | | Nuclear phase of unfused oocytes | |
|---|---|--------------------------------|------|------|----------------------------------|------|
| | | 1GV | 2GVs | GVBD | GV | GVBD |
| Pig growing oocyte alone | | | | | 30 | |
| Pig growing oocyte + Mouse large oocyte | 10/3 | 1 | 8 | 1 | 3(G) 1(L) | 2(L) |

Those oocytes were handled for fusion in the presence of dbcAMP(150 μ g/ml). After fusion, they were cultured in plain medium for 14-17 hours. The data of at least 3 repeated experiments were pooled. (G); Growing oocyte, (L); large oocyte

함을 시사하는 것으로 해석되었다.

고 찰

본 실험의 결과 생쥐의 성장중인 난자의 세포질에서 MIA와 MPF의 존재를 확인할 수 있었고 돼지의 난자에서도 MIA가 존재하며 이것이 생쥐의 난자에도 효과를 나타낼 수 있음을 보여주었다. 성장중인 여포난자가 감수분열 재개의 능력을 획득하게되는 시기는 핵보다는 세포질의 지배를 받는 것 같다. 왜냐하면 생쥐에서 감수분열 재개능력이 없는 성장중인 난자와 핵붕괴된 난자를 융합했을 때 성장중인 난자의 핵이 붕괴됨과 동시에 정상적인 염색체의 응축(chromosome condensation)이 일어나기 때문이다 (Balakier, 1978). 또한 본 실험에서도 성장중인 난자와 성장한 미성숙난자를 1:1로 융합했을 때에 융합체의 핵붕괴가 일어나고 염색체가 응축하는 것을 관찰할 수 있었다 (Table 1). 이 결과들은 또한 난자의 성숙과정에 MPF가 능동적인 역할을 하며 성장중인 난자 핵의 염색체를 조기에 응축하도록 유도했다고 볼 수 있다. 그러나 성장중인 난자의 핵이나 세포질이 전적으로 MPF의 지배를 받는 것 같지 않다. 왜냐하면 Fulka (1985)는 위의 결과와는 달리 두 종류의 난자를 1:1로 융합했을 때 융합체의 핵붕괴가 전혀 일어나지 않았음을 보여주었기 때문이다. 본 실험에서도 1:1(성장중인 난자와 미성숙난자)로 융합했을 때에는 MIA의 효과가 나타나지 않았지만 2:1로 융합했을 때에는 성장중인 난자의

세포질의 MIA가 오히려 성장한 난자의 성숙을 억제했음을 보여주었다 (Table 2). 이 결과들은 성장중인 난자의 세포질에 성장한 난자의 MPF의 활성을 억제하는 요인이 들어있다는 것을 말한다. 이미 MPF가 활성화된 성숙된 난자는 MIA의 영향을 받지 않고 오히려 성장중인 난자의 염색체를 응축시킨다는 것을 고려할 때 MIA의 작용은 MPF의 출현을 방해하는 것으로 추정되며 일단 MPF가 활성화된 다음에는 거의 영향을 미치지 못한다고 생각된다. Kim (1987)등은 난자성숙 억제제인 cAMP는 MPF의 활성화단계를 방해하여 난자의 핵붕괴를 억제하며 일단 활성화가 되면 더 이상 MPF가 cAMP의 영향을 받지 않는다고 주장하였다. 이 현상은 전술한 MIA의 작용과 공통된 점이라 할 수 있다. 양서류의 난자에서 조사된 바에 의하면 MPF는 그 본체가 단백질로 알려져 있고 (Wu and Gerhart, 1980), 생성과정과 활성화과정의 두 단계를 거쳐서 기능을 나타낸다고 한다 (Masui, 1985). 성숙된 생쥐난자의 세포질이 개구리난자의 성숙을 유도할 수 있다는 것 (Sorensen *et al.*, 1985)을 근거로하여 포유류의 MPF도 양서류의 그것과 유사하다고 가정하면 성장중인 난자의 MIA가 어느 단계를 억제하는지가 흥미로운 문제로 남아있게 된다. 본 실험의 결과로는 MIA가 MPF의 합성 혹은 활성화의 어느 단계에서 억제하는지 구분할 수 없다.

Fulka (1986)등은 핵붕괴가 이미 일어난 난자와 성장중인 난자들과의 다중융합(multiple fusion)을 함으로써 MPF가 희석이 되면 성장중인 난자들의 핵붕괴를 유도할 수 없음을 보여주었

다. 본 실험에서도 성장중인 난자와 성장한 난자를 2:1로 융합을 해야만 MIA의 활성이 나타나서 성장한 난자의 핵붕괴를 억제하였다 (Table 2). 이런 결과들은 세포질내에 들어있는 MIA나 MPF의 상대적인 양이 핵의 행동을 조절하는데 매우 중요한 역할을 한다는 것을 보여주고 있다.

돼지의 성장중인 난자는 생쥐보다도 더 효율적으로 성장한 난자의 성숙을 억제하여 1:1로 융합했을 때에도 그 효과가 나타났으며 생쥐난자의 성숙도 억제할 수 있었다 (Table 3,4). 따라서 이 결과는 이종간에도 MIA가 효과를 나타낸다는 Fulka (1985) 등의 보고와 일치하며, 종간에 MIA의 활성도가 다르다는 것을 또한 보여주고 있다. 실험결과에서 보면 융합체에서 특히 돼지 난자들의 경우 한개의 핵만 관찰되는 경우가 많았다 (Table 3). 이는 난자의 세포질에 지방적이나 과립등이 많아 (Fig. 3) 핵을 관찰하기가 매우 어려웠기 때문이다. 또한 핵과 염색체들을 동시에 보여주는 융합체들을 관찰한 경우는 결코 없으므로 이러한 과립들에 의해 핵이 가리워졌거나 핵의 융합이 일어났을 가능성이 큰 것으로 판단되었다. 정상적으로 핵붕괴가 일어난 경우에는 대부분 그림1과 같은 염색체를 관찰할 수 있었다.

근래에 MPF는 양서류와 포유류에서뿐 아니라 불가사리 같은 하등동물에서도 확인되었으며 (Kishimoto *et al.*, 1982; Sorensen *et al.*, 1985), 심지어 체세포의 G2 stage에서도 발견되었다 (Sunkara *et al.*, 1979). 따라서 많은 학자들이 MPF가 일반적인 세포분열의 주요 조절물질일 것으로 추정하고 있다 (Sunkara *et al.*, 1979; Gerhart *et al.*, 1984). 그러나 MIA에 관한 연구는 매우 빈약한 실정이다. 앞으로 이 MIA의 실체에 관한 연구가 더 진행되면 세포주기의 조절을 규명하는데 많은 진전이 있으리라 생각된다.

References

- Balakier, H., 1978. Induction of maturation in small oocytes from sexually immature mice by fusion with meiotic or mitotic cells. *Exp. Cell Res.* **112**:137-141.
- Balakier, H., 1979. Interspecific heterokaryons between oocytes and blastomeres of the mouse and the bank vole. *J. Exp. Zool.* **209**:323-329.
- Balakier, H. and Y. Masui, 1986. Chromosome condensation activity in the cytoplasm of anucleate and nucleate fragments of mouse oocytes. *Dev. Biol.* **113**:155-159.
- Biggers, J. D., W. E. Whitten, and D. G. Whittingham, 1971. The culture of mouse embryos *in vitro*. In: *Methods in mammalian embryology* (Daniel, J. G., Jr. ed.) W. H. Freeman Co. San Francisco, pp. 86-116.
- Fulka, J. Jr., 1983. Nuclear maturation in pig and rabbit oocytes after interspecific fusion. *Exp. Cell Res.* **146**:212-218.
- Fulka, J. Jr., 1985. Maturation inhibiting activity in growing mouse oocytes. *Cell Differ.* **17**:45-48.
- Fulka, J. Jr., J. Motlik, J. Fulka, and N. Crozet, 1985. Inhibition of nuclear maturation in fully grown porcine and mouse oocytes after their fusion with growing porcine oocytes. *J. Exp. Zool.* **235**:255-259.
- Fulka, J. Jr., J. Motlik, J. Fulka, and N. Crozet, 1986. Activity of maturation promoting factor in mammalian oocytes after its dilution by single and multiple fusions. *Dev. Biol.* **118**:176-181.
- Gerhart, J., M. Wu, and M. Kirschner, 1984. Cell cycle dynamics of an M-phase specific cytoplasmic factor in *Xenopus laevis* oocytes and eggs. *J. Cell Biol.* **98**:1247-1255.
- Gulyas, B., M. wood, and D. G. Whittingham, 1984. Fusion of oocytes and development of oocyte fusion products in the mouse. *Dev. Biol.* **113**:155-159.
- Kim, H. K., H. S. Kong, K. K. Lee, and W. K. Cho, 1987. Maturation induction of mouse GV oocytes by fusion with GVBD oocytes in the presence of dbcAMP. *Korean J. Zool.* **30**:89-98.
- Kishimoto, T., R. Kuriyama, H. Kondo, and H. Kanatani, 1982. Generality of the action of various maturation promoting factors. *Exp. Cell Res.* **137**:121-126.
- 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.
- Masui, Y., 1985. Problems of oocyte maturation and control of chromosome cycles. *Dev. Growth and Differ.* **27**:295-309.
- Masui, Y. and C. L. Clarke, 1979. Oocyte maturation. *Int. Rev. Cytol.* **37**:185-282.
- Motlik, J., N. Crozet and J. Fulka, 1984. Meiotic competence *in vitro* of pig oocytes isolated from early antral follicles. *J. Reprod. Fert.* **72**:323-328.
- Pincus, G. and E. V. Enzmann, 1935. The comparative behavior of mammalian eggs *in vivo* and *in vitro*. 1. The activation of ovarian eggs. *J. Exp. Med.* **62**:655-675.
- Schuetz, A. W., 1967. Action of hormones on germinal

- vesicle breakdown in frog (*Rana pipiens*) oocytes. *J. Exp. Zool.* **166**:347-354.
- Sorensen, R. A. and P. M. Wassarman, 1976. Relationship between growth and meiotic maturation of the mouse oocyte. *Dev. Biol.* **50**:531-536.
- Sorensen, R. A., M. S. Cyert, and R. A. Pedersen, 1985. Active maturation promoting factor is present in mature mouse oocytes. *J. Cell Biol.* **100**:1637-1640.
- Spindle, A., 1981. Polyethylene glycol-induced fusion of two-cell mouse embryo blastomeres. *Exp. Cell Res* **131**:465-470.
- Sunkara, P. S., D. A. Wright, and P. N. Rao, 1979. Mitotic factors from mammalian cells induce germinal vesicle breakdown and chromosome condensation in amphibian oocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **76**:2799-2802.
- Wu, M. and J. G. Gerhart, 1980. Partial purification and characterization of maturation promoting factor from eggs of *Xenopus laevis*. *Dev. Biol.* **79**:465-477.

(Accepted October 20, 1988)

Maturation Inhibiting Activity in Growing Mouse and Pig Oocytes

Won Kyo Lee and Hyuk Bang Kwon (Dept. of Biology, Chonnam National University, Kwangju 500-757, Korea)

In an attempt to elucidate the nature of maturation inhibiting activity (MIA) in growing mammalian oocytes, growing mouse and pig oocytes incompetent to resume meiosis were fused with fully grown immature oocytes in various combinations and cultured for 14-17 hours. In giant cells composed of two mouse growing oocytes and one large immature oocyte (2:1), their GVs remained well conserved (about 64%) after culture, but not in the cells composed of one by one pairs. In giant cells of pig composed of one growing and one large immature oocytes, both GVs remained conserved. In the cells composed of one pig growing and one mouse large oocytes, both GVs were also conserved. In contrast to this, pairs of large mouse oocytes or those of large pig oocytes had no GVs after culture. Thus, we could ascertain the existence of MIA and nonspecificity of it in the mouse and pig growing oocytes. The results also suggest that the relative amount of substances showing MIA or MPF activity may be important in the regulation of oocyte maturation.

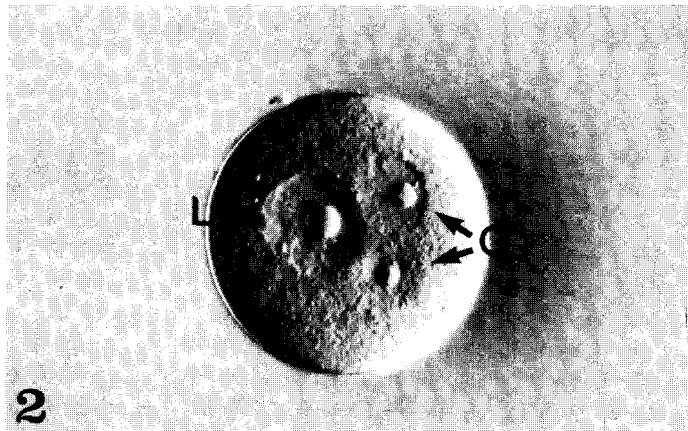


Fig. 1. Fusion of one growing and one immature large mouse oocyte after 15 hours of culture. One group of chromosome in MI are visible (arrow). x800

Fig. 2. Fusion of two growing and one immature large mouse oocyte after 15 hours of culture. Two small GV(G) from growing oocytes and one large GV(L) from large oocyte are still present in the ooplasm. x400

Fig. 3. Fusion of small porcine oocyte and immature large mouse oocyte after 15 hours of culture. Both GV(p-porcine, M-mouse) are visible. x400