

을 시행하고 ethidium bromide로 염색한 후 DNA fragmentation 양상을 확인하였으며, densitometer를 이용하여 fragmentation된 DNA의 상대적인 양을 계산하였다.

전기 영동 결과 전체 DNA양에 fragmentation이 일어난 상대적인 양은 Combo군에서 32.22%, GnRH군에서 24.27%를 보여 통계학적으로 유의한 차이가 없었다. 반면 과배란 유도 방법에 구분 없이 채취된 난자의 질에 따라 DNA fragmentation의 양상을 조사한 결과 난자 세포질과 cumulus cell의 색깔이 어둡고 세포질 내 granulation이 심한 군에서 fragmentation된 DNA의 상대적인 양이 39.05%로 양질의 난자가 채취된 군 19.83%보다 통계학적으로 유의하게 증가된 양상을 보여 주었다. 이상의 결과에서 과배란 유도 과정 중에 사용된 GnRH agonist가 배란 전 난포 세포의 apoptosis에는 직접적인 영향을 미치지 못하며, 난자 채취시 현미경하에서 관찰된 난자의 질과 난포 세포의 apoptosis와는 상관 관계가 있는 것으로 판단된다. 따라서 난포 세포를 이용한 공동 배양이나 실험에 양질의 난포 세포만을 선택하여 사용하는데 필요한 좋은 지표가 될 것으로 사료된다.

P-5

Effects of Protein Kinase Inhibitors on the Maturation of Mouse Oocytes *In Vitro*

피엘 산부인과, *한양대학교 생물학과

최규완 · 김수경 · 강희규 · 양현원
이승재 · 박종민 · *계명찬 · *김문규

포유동물의 난자의 성숙은 핵성숙과 세포질 성숙으로 구분된다. 난자의 성숙 과정 동안 진행되는 단백질의 인산화는 난자의 성숙 뿐만 아니라 이후의 수정 및 발생에 중요한 조절 요인으로 작용한다. 그러나 난자 내 단백질의 인산화에 관여하는 protein kinase system에 관한 구

체적인 내용은 잘 알려져 있지 않다. 본 실험에서는 난자의 성숙에 미치는 인산화 효소의 작용을 규명하기 위해 난자의 성숙 과정을 미성숙 (GV-intact) - 핵막 붕괴 (GVBD) 와 GVBD - MII 전이 두 단계로 나누어 각 단계에서 PKA, PKC, 그리고 tyrosine kinase의 역할을 조사하고자 하였다.

생후 6주된 ICR계 생쥐에 5IU의 PMSG를 주사 후 48시간에 난소로부터 난자-난구 세포 복합체를 채취하였다. 100 μ M dbcAMP를 함유한 human tubal fluid (HTF)내에서 난구 세포를 물리적으로 제거하고 핵막(germinal vesicle; GV)을 가진 미성숙 난자를 준비하였다. 일부의 난자는 dbcAMP-free HTF에서 3시간 배양하여 핵막 붕괴를 유도하였다. 각각의 난자에 DMAP (100 μ M), genistein (75 μ M), H-8 (100 μ M), H-7 (50 μ M)을 처리하여 20시간 동안 배양한 후 MII상태로의 전이를 관찰하였다.

미성숙 난자의 핵막 붕괴는 모든 protein kinase inhibitor처리군에서 억제되었으며, 특히 DMAP처리군에서는 완전히 억제되었다. 한편, 핵막 붕괴 난자의 MII transition은 genistein처리군에서만 유의하게 억제되었다. 이상의 결과에서 미성숙 난자의 핵막 붕괴는 PKA 이외의 protein kinase들이 관여하지만, 핵막 붕괴 난자의 MII transition에는 tyrosine kinase의 역할이 중요한 것으로 사료된다.

P-6

Enhanced results in Human Embryo Culture Using a Modified Human Tubal Fluid Medium Lacking Glucose and Phosphate

피엘 산부인과

강희규 · 최규완 · 양현원 · 김수경 ·
이승재 · 박종민

체외수정에 사용되는 배양액은 Ham's F-10 과 같은 synthetic media 였으나, 최근에는 정도

관리가 된 상품으로 공급되는 chemically defined media와 synthetic serum을 널리 사용되고 있다. 그러나 운송 과정, 촉박한 폐기일 및 mouse embryo bioassay에 적합치 못한 이유로 질적 평가는 직접적인 사람의 IVF가 전부였다. HTF는 Quinn에 의해 고안되었으며, 최근에 modified HTF(m-HTF)로 glucose와 phosphate를 제거하고, glutamine과 EDTA를 첨가해 주었다. 이들의 유용성을 알아보기 위하여 본원에서는 상품 배양액인 M2(Medi-Cult) 배양액과 본원에서 제조한 m-HTF에 10% SSS(IRVINE)를 섞은 배양액에 의한 IVF에서 수정율, 배아 발생을 및 임신율을 비교해 보았다.

m-HTF군과 M2군의 수정율은 72.5%, 55.8%로 m-HTF군이 높게 나타났으며, 다수정율은 15.8%와 15.2%로 차이가 없었다. 임신율은 50%와 30%로 m-HTF군이 높게 나타났다. 특히 배아 발생은 m-HTF군이 2일째에 4세포기 이상의 배아가 70%이상으로 배아 발생 속도가 빠를 뿐만 아니라 배아의 등급에서도 Grade 1으로의 발생이 50%이상으로 많았으며, M2군은 Grade 1으로의 발생이 20%이하이고, Grade 2로의 발생이 많이 나타났다. 배아의 절편화(fragmentation)현상은 m-HTF군에서는 20%이하 였고, M2군에서는 50%이상으로 매우 높게 나타났다. 이상의 결과로 보아 glucose와 phosphate를 제거하고 glutamine과 EDTA를 첨가한 m-HTF가 수정율, 초기 배아 발달 및 임신율에서 M2보다 나은 것으로 나타났다. 초기 배아의 영양 물질로 사용되는 육탄당인 glucose는 glucose-6-phosphate isomerase에 의해 fructose-6-phosphate로 변환된 후 해당과정(glycolysis)을 통하여 ATP를 생성하여 다양한 세포내 대사를 수행하게 된다. 그러나 초기 배아에서는 glucose-6-phosphate isomerase가 활성화되지 못하기 때문에 glucose가 축적되어 초기 발생에 저해 요인이 된다. 그러므로 해당과정이 필요 없는 아미노산 계열의 glutamine을 첨가함으로써 양질의 배아 발생율을 높일 수 있으며, 또한 EDTA(through Fe scavenger)로 super oxide radical 과 reactive oxygen species 제거를 통해 배아 발생 속도의 증가와 절편화 현상의 감소로 향상된 발생율과 임신율을 기대할 수 있을 것으로 사료된다.

P-7

인간의 체외수정배아식술에서 2-Point 보조부화술이 임신률에 미치는 영향에 관한 연구

제일병원 불임연구실, 불임클리닉¹

이호준 · 변혜경 · 김정욱 · 전진현 · 손일표¹ · 전종영¹

불임환자의 치료를 위해 시행되는 보조생식술(ART)은 임신률의 향상을 위해 많은 연구가 진행되고 있다. 그 중에서 보조부화술(assisted hatching;AHA)은 임신률을 향상시키며, 투명대 천공(zona drilling)은 생쥐에서 배아의 발생률을 향상시킨다. 본 연구는 사람의 체외수정식술에서 시행되고 있는 acidic Tyrode's(AT) 용액을 이용한 투명대에 1개의 구멍을 뚫어주는 보조부화술(one point AHA;1p-AHA)과 투명대에 2개의 구멍을 뚫어주는 2-point 보조부화술(double point AHA;2p-AHA)을 이용하여 임신률에 미치는 영향을 알아보기 위하여 시행하였다. 임상에 적용하기 이전에 생쥐배아를 이용하여 보조부화술을 시행하여 발생률과 부화율을 비교하였고 사람의 체외수정식술에서 보조부화술을 시행하여 임신률을 비교하였다.

생쥐에서 배아의 부화율을 살펴보면 부분적인 부화율(partial hatching)은 대조군, 1p-AHA와 2p-AHA이 각각 20.3%(61/300), 28.5%(57/200), 18.5%(37/200)으로 나타났다. 완전한 부화율(complete hatching)은 각각 39.7%(119/300), 66.5%(133/200), 80.0%(160/200)으로 나타났다($p < 0.01$). 사람의 체외수정식술에서는 임신률을 살펴보면 대조군이 27.9%(75/269)이고 1p-AHA과 2p-AHA이 각각 39.0%(57/146), 54.3%(38/70)로 나타내서($p < 0.05$), 보조부화술이 대조군에 비해 임신률을 향상시키며 또한 2p-AHA군이 1p-AHA군에 비해 높은 임신률을 나타내었다.

이상의 결과에서 생쥐의 부화율이 보조부화