

human cord serum induces cumulus expansion and affects the secretion of sex steroid hormones by OCCs during culture.

- 5 -

한약탕제의 투여가 생쥐의 배란율에 미치는 영향

차병원 여성의학연구소, 한의학연구센터
경희대학교 한의과대학¹

이경설¹, 정형민, 이창훈¹, 송병기¹,
고정재, 차광열

본 연구는 불임환자의 치료를 위해 사용하는 한약제제를 이용하여 생쥐의 배란에 미치는 영향을 알아보기 위하여 실시하였다. 연구에 사용된 약제는 현재 차병원 한의학연구센터에 내원하는 불임환자의 치료를 위해 사용중인 보옥탕, 온포산 및 온토육린탕을 택하였다. 각각의 한약제에 물 1,200 ml를 넣고 약탕기에서 2시간동안 끓여 전탕액을 준비하였다. 제작된 전탕액을 멸균 거어즈로 여과한 다음 4 °C에서 냉장시킨 후 상층액 500ml를 취하여 실험에 사용하였다. 4주령 B6 F1 hybrid 자성생쥐를 보정한 다음 경구투여용 catheter를 사용하여 준비된 전탕액을 1회 투여시 두당 0.3 ml씩 투여하였다. 전탕액의 투여는 1일 1회 2일간 투여한 군 (Group I), 1일 1회 4일간 투여한 군 (Group II) 및 2일간격으로 1회 6일간 총 3회 투여한 군 (Group III)으로 나누었으며 대조군은 동일한 방법으로 물을 투여한 군으로 하였다. 실험전탕액의 투여가 완료된 생쥐는 투여종료 4일 후 PMSG와 hCG를 이용하여 배란을 유도하였으며 hCG 투여 15시간째에 도살하여 배란된 난자의 총수와 정상적인 형태를 보이는 난자의 수를 비교하였다. 그 결과 Group I의 경우 3종류의 한약탕제가 투여된 생쥐의 배란난자수 및 정상난자의 수 모두 대조군의 그것에 비해 유의적으로 높게 나타났으며 특히 온토육린탕의 경우 두당 총 배란난자수가 32.0개 그리고 정상 난자수가 28.5개로서 대조군의 그것 (18.0개, 16.0개)에 비해 유의적으로 높게 나타났다. Group II의 경우 보옥탕을 제외한 다른 두가지 탕제의 경우 배란된 난자의 수와 정상난자의 수에

있어서 차이가 없었으며 보옥탕의 경우 배란된 난자의 수 및 정상 난자수에 있어 유의하게 낮은 결과를 나타내었다. 한편 Group III의 경우 전실험군에서 배란된 난자의 총수 및 정상난자의 수에 있어서 차이를 나타내지 않았으나 Group I 및 Group II의 결과와 비교해 볼 때 현저히 낮은 배란수와 정상난자수를 나타내었다. 이상의 결과를 미루어 볼 때 본 연구에 사용된 한약탕제는 단기간 투약시 배란율의 증가효과를 나타냈으나 이들 한약탕제의 투약기간을 4일 이상연장하거나 혹은 비정기적으로 투약시에는 배란율의 증가효과는 나타나지 않은 것으로 나타났다.

- 6 -

Effects of Vitamins and Amino Acids on the *In Vitro* Development of Rat Oocyte Following Round Spermatid Injection.

Department of Animal Sciences, Kon-Kuk University

S.M. Lee, J.W. Lee, J.H. Kim, N.H. Kim,
H.T. Lee and K.S. Chung

The objective of this study was to determine effects of vitamins and amino acids on the rat oocytes following round spermatid injection (ROSI) on the *in vitro* development. Rat one cell embryos fertilized by ROSI were cultured in rat one cell embryo culture medium (RECM) under following different culture conditions : RECM, 2) RECM + MEM essential amino acids (EAA), RECM + EAA + MEM vitamins (Vt). Approximately 70% of oocytes were survived after ROSI. About 84% of oocytes following injection developed to the two-cell stages. The percentage of one cells that developed into blastocyst stage at RECM + EAA + Vt (13.4%) and RECM + EAA (5.2%) were significantly higher than those in RECM (1.3%). Few hatching blastocysts (1.7%) were observed at

120 h after culturing in the RECM + EAA + Vt medium. Developmental speed of rat embryos to the blastocyst stage was faster about one day than other treatment. These results suggested that the addition of vitamins and essential amino acids to the chemically defined medium enhanced rat embryo development following round speratid injection.

- 7 -

Cryopreservation of Mouse IVF Zygotes by Vitrification

*Maria Infertility Medical Institute, Seoul,
Maria OB/GYN¹, Seoul
College of Animal Husbandry², Kon-Kuk
University*

**Kim Myo Kyung, Lee Hyeon Sook,
Uhm Sang Jun, Kim Eun Young,
Yoon San Hyun¹, Park Sepill, Chung
Kil Saeng² and Lim Jin Ho¹**

Vitrification has been focused as a simple and rapid alternative to the conventional freezing methods for the cryopreservation of mammalian embryos. This study was carried out to determine the optimal condition for successful vitrification of mouse zygotes, 1-cell embryos, using EFS40 which contained 40% (v/v) ethylene glycol (EG), 30% (w/v) ficoll and 0.3 M sucrose in DPBS. Mouse IVF zygotes were vitrified by two freezing methods. The survival rates of 1-cell zygotes were assessed as cleavage to the 2-cell stage and development into the hatching blastocysts at 5 day. In the one-step method, embryos were directly exposed to the vitrification solution at 25°C for 1 min. Survival and development rates of zygotes were 85.5% and 31.9%. In the two-step method, embryos were equilibrated with a dilute 20% EG for 1, 3, 5 min. before 1 min. exposure to EFS40,

respectively. However, the rates of development (17.7, 3.3, 0%) were lower than that of one-step method. The highest survival rate (95.9%) was obtained by one-step method which exposes embryos in EFS40 for 30 sec. and 63.8% of 2-cell developed into hatching blastocysts. In the cell number of Total and ICM using differential labelling technique, there are no significant differences in the cell number of Total and ICM between blastocysts developed in vitrified-thawed embryos (63.2 ± 16.9 , 13.5 ± 4.0) and control blastocysts (54.0 ± 15.2 , 12.3 ± 4.6). Therefore, these results show that mouse zygotes can be successfully cryopreserved by this proposed vitrification method.

- 8 -

냉동 보존후 생쥐 배아의 발생에 관한 연구

이화여자대학교 의과대학 산부인과학교실¹,
서울대학교 의과대학 산부인과학교실²

이경순¹, 문신용², 안정자¹

최근 불임 환자의 치료로써 보조생식술이 보편화됨에 따라 임신율을 높이기 위한 연구가 이루어지고 있다. 특히 성선자극호르몬 방출호르몬 유도체(gonadotropin-releasing hormone agonist, 이하 GnRHa로 약함)를 사용하여 과배란 유도를 시행한 후 많은 수의 난자를 얻는 것이 가능하여졌고, 질식초음파를 이용하여 다수의 난자를 채취할 수 있게 되었다. 이에 따라 다수의 배아를 자궁내에 이식하여 다태임신의 빈도가 높아져 조기진통, 조산 등의 태아 및 모체측의 합병증이 의학적인 문제로 대두되고 있다. 이에 체외수정시술시 이식에 필요한 배아가 적정수를 초과하는 경우 배아의 보존이 문제가 되고 있어 이의 해결책으로 배아의 냉동보존이 이용되고 있다.

냉동보존후의 배아는 냉동 및 해빙의 과정을 거치는 동안 손상을 받아 배아 발생 및 임신율에 영향을 받게된다. 냉동보존 후 배아의 생존률에 영향을 주는 인자로는 첫째, 배아 세포막의 투과성 및