

particularly interval 6, are believed to play a critical role in human spermatogenesis. The objective of this study was to validate a sequenced-tagged site(STS)-mapping strategy for the detection of Yq microdeletion and to use this method to determine the proportion of men with Yq microdeletions in idiopathic, obstructive, nonobstructive azoospermia, severe OATS and in normal males. We analyzed three STS markers mapped to interval 6 within long arm of the Y chromosome from 106 nonobstructive, 30 obstructive azoospermia, 15 severe OATS patients, and normal 42 males in Korean men. By PCR, we tested leukocyte DNA, for the presences of STS markers(DAZ, sY129 and sY134) and SRY gene as internal control. And PCR results were confirmed by southern hybridization, and were investigated by SSCP analysis for DAZ gene mutation. None of 42 normal males and 30 obstructive azoospermia had microdeletions. Of the 15 severe OATS typed with DAZ, sY129 and sY134, 3(20.0%) patients failed to amplify 1 or more STS markers, and of the 106 nonobstructive azoospermia typed with DAZ, sY129 and sY134, 12(11.3%) patients failed to amplify 1 or more STS markers. From these results, high prevalence(12.4%) of Yq deletion(DAZ, sY129, sY134) in men with nonobstructive idiopathic azoospermia and severe OATS were observed in Korean infertility patients. To avoid the infertile offspring by assisted reproductive technique using ICSI or ROSI, preimplantation genetic diagnosis will be needed in IVF-ET program.

- 19 -

IVF시술시 회수한 과립세포에서의 Apoptosis

차병원 여성의학연구소

손원영, 박은희, 이경아, 고정재, 최동희,
이숙환, 윤태기, 차광열

본 실험의 목적은 IVF시술시 과배란을 유도한 환자로부터 난자를 회수할 때 함께 얻어지는 인간

과립세포에서 일어나는 apoptosis와 여러 임상적인 관련성을 연구하는 데 있다. IVF환자들은 FSH/hMG/hCG (CB) 또는 GnRHa/FSH/hMG/hCG (LA) 에 의해 과배란을 유도 하였다. 51명의 IVF환자에서 난자 회수시 나온 과립세포를 PBS로 세척하고 즉시 액체 질소에서 동결 후 DNA를 추출할 때까지 -70℃ 에서 냉동보존하였다. 저장한 과립세포에서 DNA를 추출하여 1.5% agarose gel에서 전기영동한 후 EtBr로 염색하여 DNA laddering을 분석하여 apoptosis 여부를 결정하였다. Apoptosis의 여부를 더욱 확인하기 위해서 3'-end labeling방법을 사용하였다. Apoptosis의 positive control로는 bovine의 atretic follicles에서 회수한 과립세포를 사용하였다. 51명 중 17명 (33%)의 환자의 과립세포에서 apoptosis가 관찰되었다. 그 중 7명은 CB에 의해 10명의 환자는 LA에 의해 과배란이 유도된 환자였다. Apoptosis가 관찰된 양성인 군과 일어나지 않은 음성인 군의 환자에서의 평균 연령에서는 차이가 없었다 (32.6± 0.8과 33.6 ±0.7). 과배란후 과립세포에서 일어나는 apoptosis와 환자의 나이와는 관계가 없었다. 이때에 사용한 FSH와 hMG의 양은 차이가 없었다. 그러나, 양성인 군에서 과배란 후 더 많은 난포들 (>15 mm)이 발달하였고 또한 더 많은 난자들을 회수하였다. 그러나 결론적으로 인간의 IVF시술시 사용하는 과배란 약제들에 의해서 apoptosis가 유도되지는 않으며 난자가 많이 회수된 경우 apoptosis가 유의성있게 높게 일어나는 결과로 보아 정상적인 생리환경에서 atresia로 빠질 난포가 과배란 유도로 인하여 같이 회수되기 때문이라고 생각된다.

- 20 -

Detection of Reactive Oxygen Species(ROS) and Apoptosis in Human Fragmented Embryos

피엘 산부인과, 아주의대 산부인과¹

양현원, 황경주¹, 박지영¹, 최규완,
권혁찬¹, 이승재, 박종민, 오기석¹

사람의 체외 수정 및 배아 이식에 있어서 수정된 난자는 일반적으로 배양 조건과 채취된 난자 또는 정자의 질에 따라 일부만이 양질의 배아로