

cells. DNA was prepared by suspending single embryos in PCR lysis buffer containing 200 $\mu$ g/ml proteinase K and incubated at 50 $^{\circ}$ C for 1hr. Metaphase chromosome spreads were prepared from nocodazole-treated embryos by air-drying method. To eliminate possible false positive signals, two sets of bovine- and Y chromosome-specific primers were used in the PCR. Two amplified products (bovine- and Y-specific) were obtained in male samples whereas only one product (bovine-specific) in female. FISH and PRINS were used to identify the Y chromosome on metaphase spreads. The fluorescent Y-specific signal was stronger in PRINS than in FISH.

The results suggest that a rapid, accurate and efficient sexing is now possible in bovine preimplantation embryos produced *in vitro* using PCR. This was evidenced by PRINS.

## P-6

### Single Cell Analyses of Dystrophin Gene and Sexing Using Whole Genome Amplification

Genetic Research Lab., Dep. of Obstetrics and Gynecology<sup>1</sup>,  
Sumsung Cheil Hospital & Women's Healthcare Center,

Soo Kyung Choi, Jin woo Kim, Eun Hee Cho, So Yeon Park,  
Hyun Mee Ryu<sup>1</sup>, Inn Soo Kang<sup>1</sup>

Recently, developed primer extension preamplification(PEP) method amplifies the whole genome and simultaneous multiple DNA analyses became possible. It leads to the development of preimplantation genetic disease diagnosis using single cells from early embryo, sperm, polar body and oocyte. The most important advantage is the ability which can investigate several loci

simultaneously and confirm results by analysing multiple aliquots for each locus. Whole genome from each single cells was amplified using 15-base oligonucleotide random primers. In this study, we performed PEP-PCR for applicate on prenatal and preimplantational genetic diagnosis in 20 cases of single amniocytes and 20 cases of single chorionic villi cells. We stued 7 gene loci simultaneous analysis of single cells at two locus of exon 46, 47 and two VNTR(variable number tandem repeat) markers using 5'dysIII, 3'CA related to dystrophin gene and ZFY, alphoid repeat Y, DYS14 regions on chromosome Y. In all these cases, ninety seven percent of PEP reactions with single amniocytes and chorionic villus cells were successful. We obtained 38/40(95%) of accurate gender determination by comparing chromosome analysis and general PCR from gDNA. Therefore, these results have significant implications for a sperm or oocyte typing, prenatal and a preimplantational genetic diagnosis.

---

## Group 2, discussion : 14:00~14:30

---

## P-7

### 실패하였던 정관부고환문합술과 정관정관문합술에서 MESA-ICSI와 TESE-ICSI의 효용성

삼성제일병원 비뇨기과, 불임연구실<sup>1</sup>

김종현, 서주태, 박용석<sup>1</sup>, 이유식

연구목적 : 폐쇄성 무정자증의 치료방법인 정관 부고환문합술과 정관수술후의 정관복원을 위한 정관정관문합술을 시행후 실패하였던 경우, 재수술을 시행할 때 수술의 성공에 대하여 절대적인 확신을 가질 수 없다. 그러므로 재수술을 할 때 부고환이나 고환에서 정자를 채취하여 난자의 세포질내로

주입하는 MESA-ICSI와 TESE-ICSI를 시행하여 재수술의 실패시 보조적인 방법으로써 그 효용성을 평가하였다.

**대상 및 방법** : 과거에 폐쇄성 무정자증으로 정관부고환문합술을 시행한 후 실패하였던 30례와 정관복원을 위한 정관정관문합술을 시행한 후 실패하였던 9례의 환자를 포함한 총 39례를 대상으로 재문합술을 시행할 때 MESA-ICSI 또는 TESE-ICSI를 동시에 시행하였다.

**결과** : 이전에 정관부고환문합술을 받았던 환자 30례중 10례에서 재문합술이 가능했으며 20례는 재문합술이 불가능하여 MESA 또는 TESE만 시행할 수 있었고, 재문합술이 가능했던 10례중 3례(전체 환자의 10%, 3/30)에서만 개통에 성공하였다. 이전에 정관정관문합술을 받았던 환자 9례에서는 7례에서 재문합술이 가능하였고 나머지 2례는 불가능하여 TESE만 시행하였으며, 재문합술이 가능했던 7례중 6례(전체 환자의 66%, 6/9)에서 개통에 성공하였다. 수술과 함께 시행한 MESA-ICSI와 TESE-ICSI의 성적은 39례 모든 환자에서 수정에 성공하여 배아이식이 가능하였으며, 15례(38%)에서 임신에 성공하였다.

**결론** : 과거에 정관부고환문합술과 정관정관문합술에 실패하였던 환자에서 재문합술을 시행하고자 할 때, 수술과 함께 시행하는 MESA-ICSI 또는 TESE-ICSI 방법은 재수술의 실패에 대비한 합리적인 보조적 방법으로써 특히 실패하였던 정관부고환문합술 환자의 경우 그 효용가치는 더욱 크다고 생각된다.

## P-8

### 과소정자증 불임의 치료를 위한 난자내 정자 주입술 : 경희대 불임클리닉의 첫 10 예

경희대학교 의과대학 산부인과

김범수, 이보연, 엄기봉, 이진희, 이선경,  
허주엽, 김승보

과거 극소수의 정자만을 가진 불임부부는 여러 가지 체외 수정 및 배아 이식 시술로도 임신이 어려운 경우가 많았으나, 최근 발전된 미세 조작기의 개발과 조작기술의 향상으로 미세조작기를 이용한 난자 내 정자 주입술이 높이 평가되고 있다. 그러나 아직 이러한 체외에서의 세포 조작에 의한 임상적 안정성이나 선천성 질환의 빈도등은 앞으로 안정된 임상적 적용을 위해서 더 고찰해야할 과제이다. 경희 의료원 산부인과 불임클리닉에서는 난자내 정자 주입술 후 분만이 완료한 예를 기준으로 1995년 4월 1일부터 1996년 7월 30일 까지 4개월간 과소정자증으로 모두 7명의 환자에서 10주기에 걸쳐 시술을 하였다. 전 예에서 long protocol의 GnRH analogue를 이용한 배란 유도를 시행하였으며, 난자내 정자 주입을 위하여, Micromanipulator (NARISHIGE : NICKON) 및 injector를 사용하였다. 배아이식을 위하여는 배양 1 일에 골반경을 이용한 배아 난관내 이식 시술을 시행하거나 배양 2 일에 고식적인 자궁내 배아이식을 시행하였다. 7명 환자 중 5 예에서 임상적 임신에 성공하였고, 3예에서 분만을 완료하여 5명의 아기가 분만되었으며 출생아에서 선천적 기형은 없었다. 쌍태아 1예, 4 태아 1예였으며 이는 질식 초음파 감시하 선택적 임신중절을 시행하였다. 적은 수의 예이기는 하지만 본 예에서 시행한 난자내 주입술의 결과를 고찰하여 보면, 같은 기간 같은 시술환경에서 시행된 고식적 체외 수정 방법에 의한 임신율과 비교하여 임신율에 차이가 없었다. 난자내 정자 주입술은 임상적으로 안전하고 효과적인 남성불임 치료방법으로 사료되는 바이다.

## P-9

### 보조 생식술에 의한 쌍태 임신과 자연 쌍태 임신 간의 임신 결과의 비교 연구

삼성제일병원. 산부인과

이종표, 김계현, 현우영, 유근재, 송인옥,  
연혜정, 백은찬, 궁미경, 손일표,  
강인수, 전종영

일반적으로 보조 생식술에 의한 임신시 자연 임신