

mean numbers of penetrated sperm in each oocytes. There were no significant differences in the early development of oocytes between EtOH stimulation before IVF of oocytes and common IVF oocytes. These results suggest that the exposure of porcine oocytes to an EtOH stimulation before common IVF might be associated with late sperm penetration to induce cortical reaction completely, which might reduce the mean number of penetrated spermatozoa in each oocytes.

P-30

Comparative Aspects of Immature Human Oocytes Derived from Stimulated and Unstimulated Ovaries

Infertility Medical Center, CHA General Hospital, Seoul, Korea

Ri-Cheng Chian, Hyung-Min Chung,
Sung-Eun Park, Joon-Gyo Lim,
Jung-Jae Ko, Tae-Ki Yoon, Kwang-Yul Cha

It is not clear how is the time course of GVBD and maturation when the GV-stage oocytes derived from stimulated and unstimulated ovaries. It is also nuclear how is different in fertilization and early development between the immature human oocytes derived from stimulated and unstimulated cycles. The purpose of the present study was to compare the time course of oocyte maturation and the capacity of fertilization and cleavage with the immature human oocytes retrieved from stimulated and unstimulated ovaries. Immature GV-stage oocytes were obtained from 35 women in IVF-ET programs. The stimulation protocol for these patients was GnRH agonist with FSH/hMG. Immature GV-stage oocytes were collected from unstimulated ovaries of 12 consented donors. Oocytes were matured in TCM-199 supplemented 20% fetal bovine serum, 10 IU/ml PMSG, 10

IU/ml hCG and 0.2 mM pyruvate. One to three oocytes were cultured in 2 ml of maturation medium in the two well organ culture dish at 37 °C in an atmosphere of 5% CO₂ in air. For time course of oocyte GVBD and nuclear maturation, oocytes were observed 3 h interval under dissecting microscopy in a warm (37°C 5% CO₂) chamber. For insemination, a male factor caused infertility was excluded from this experiment. GV-stage oocytes from stimulated ovaries were inseminated with fresh husband semen. GV-stage oocytes from unstimulated ovaries were inseminated with donor fresh semen. Fertilization medium was TCM-199+20% follicular fluid (FF). Oocytes that had been fertilized were identified when two pronuclei were present in the cytoplasm. Following observation, the oocytes were transferred into TCM-199+20% FF for further developmental culture. At 48 h after insemination, the oocytes were observed for cleavage. The results of the present study indicated that the time course of GVBD and maturation were different between the oocytes retrieved from stimulated and unstimulated ovaries. Most of oocytes matured to M-II stage were at 30 h after culture in vitro in the oocytes derived from stimulated ovaries and were at 45 h after culture in vitro in the oocytes derived from unstimulated ovaries. However, there was no significant difference in maturation rate between the two groups (75.0% vs 77.5%). The fertilization rate were significant difference between the oocytes retrieved from stimulated and unstimulated ovaries respectively (54.6% vs 92.6%; P<0.01). However, the cleavage rates were not different between the two groups (83.3% vs 88.0%). These results suggest that low fertilization rate with stimulated oocytes may be due to the altered characteristics of the zona pellucida.

P-31

한국인 스와이어 증후군 환자 및 가계
구성원의 SRY 유전자 변이의 양상

서울대학교 의과대학 산부인과학교실,
함춘여성크리닉¹

채희동, 최영민, 황도영¹, 서창석, 김석현,
신창재, 김정구, 문신용, 이진용

스와이어 증후군(Swyer syndrome)은 46, XY 순수 성선이형증(46, XY pure gonadal dysgenesis)이라고도 하며 혈액 염색체 검사(karyotype)상 남성인 46, XY로 나타나나 외견상 여성의 외양 및 외부 생식기(external genitalia)를 보이는 이상 성 발현 증후군으로서, 이 질환의 발생 기전은 아직 확실히 밝혀진 바는 없으나 현재까지 알려진 바로는 남성을 결정하는 유전자(들)의 발현 이상이 그 원인으로 생각되고 있다. 정상적으로는 Y 염색체가 존재하면 고환 결정인자(testis-determining factor; TDF)가 발현되어 미분화 상태의 성선이 고환으로 분화되는 것으로 알려져 있다. 현재 남성 분화를 결정하는 가장 중요한 유전자는 Y 염색체의 단완(short arm) 말단부에 존재하는 SRY 유전자로 알려져 있으며 이것이 고환 결정인자 유전자에 해당된다고 생각되고 있다. 따라서 스와이어 증후군 환자에 있어서는 SRY 유전자에 어떤 변화가 있으리라고 추측되었으나, 여러 외국 연구들에 따르면 이러한 스와이어 증후군 환자에 있어 SRY 유전자가 결손(delition)되거나, 변이(mutation)가 있는 경우도 있는 반면, 정상적인 SRY 유전자가 존재하고 있는 경우도 있고, 또한 변이가 있는 SRY 유전자를 지니면서도 정상 남성인 경우도 보고되어 있어 아직은 이 질환의 유전자 양상에 대한 완전한 이해가 이루어지지 못하고 있는 실정이다.

따라서 스와이어 증후군 환자의 유전자 양상에 관한 연구는 인간의 성 분화(sex differentiation) 기전을 밝히는데 있어 좋은 기초 자료를 제공할 수 있으리라고 사료되나 이에 대한 연구 결과들은 만족할 만큼 많지 않고 국내의 경우 이 질환에 대한 분자유전학적 연구가 거의 전무한 실정으로, 이에 본 저자는 한국인 스와이어 증후군 환자 4명 및 이 중 동일 가계에서 발생한 환자 2명의 아버지를 대상으로 DNA를 추출하여 중합효소반응(Polymerase Chain Reaction: PCR) 및 DNA sequencing에 의하여 SRY 유전자의 존재 유무 및 변이의 양상을 조사하여 스와이어 증후군의 병태 생리 및 성 분화 기전의 이해에 기여하고자 본 연

구를 시작하였으며 그 결과는 다음과 같았다.

1. 스와이어 증후군 환자 4명과 이 중 동일 가계에서 발생한 환자 2명의 아버지, 그리고 2명의 정상 대조군 남성에서는 PCR을 통하여 SRY 유전자를 encoding하는 418 bp의 band를 발견할 수 있었으나 2명의 정상 대조군 여성에서는 발견되지 않았다.

2. 스와이어 증후군 환자 4명과 이 중 동일 가계에서 발생한 환자 2명의 아버지, 그리고 2명의 정상 대조군 남성 SRY 유전자의 DNA sequence는 동일하였으며 그 어느 경우에도 결손이나 변이는 관찰되지 않았다.

이상의 결과를 통하여 SRY 유전자는 남성을 발현시키는 고환 결정인자로 작용함은 논란의 여지가 없으나 성 결정 과정(sex-determining cascade)은 SRY 유전자 이외에도 상염색체 또는 X 염색체에 존재하는 다른 유전자도 관여하는 복합적인 과정으로, 단순한 SRY 유전자의 변화만으로는 설명할 수 없으리라고 사료된다. 물론 결론을 내릴 수 있는 단계는 아니며 더 많은 연구가 시행되어야 하겠으나 본 연구를 통하여 성 분화 기전 및 스와이어 증후군의 발생 기전의 이해에 중요한 기초 자료를 제공할 수 있으리라 사료된다.

P-32

In vitro culture and cryopreservation of sexed and nuclear transplanted bovine embryos

Department of Animal Science, Chung-Ang University, An Seong National University¹, Kongju University²,

Y.C. Chung, C.K. Kim, K.B. Na, H.Y. Kim, J.T. Yoon¹ and J.W. Lee²

One of major obstacles to exploitation of bovine cloning is low level of *in vitro* develop-