

program을 대상으로 수정율과 임신율을 분석하고자 하였다. Spermatogenic cell은 세정관을 forcep으로 squeeze out하여 얻거나 효소를 이용하여 세정관으로부터 분리해 내었다. 68례의 ELSI/ROSI program에서 채취된 총 945개의 난자 중 776개에서 ELSI/ROSI를 시행하였고 그 중 590개 (76%)가 생존하였다. 351개 (59.5%)에서 전핵을 관찰하였는데, 1PN은 163개 (21.0%), 2PN이 176개 (22.7%), 3PN 이상의 polyPN은 12개 (1.5%)로 나타났다. 68례중 5례 (7.4%)에서 hCG 양성반응을 나타내었고, 그 중 2명 (2.9%)이 정상적인 출산을 하였다. 또한 6례에서는 효소를 이용하여 spermatogenic cell을 분리하는 방법을 사용하였으며, 고환조직에서 정자나 정세포를 보다 효과적으로 분리할 수 있었다. 이 방법을 적용하였을 때 2례에서는 sperm을 발견하여 ICSI를 시행하였고, 나머지 4례에서는 ELSI 혹은 ROSI를 시행하였다. 이들 4례중 한 례에서 정상적인 수정과 임신, 분만을 얻을 수 있었다. 결론적으로 난자의 세포질내 정세포 주입에 의한 수정 방법은 임신이 가능하고, 특히 효소를 이용하여 정세포를 분리하는 것이 효과적인 방법이라고 생각된다. 또한 ELSI/ROSI program에서 임신률을 향상시키기 위해서는 정세포를 분리하는 방법이나 체외에서 성숙시키는 방법에 대한 연구가 필요할 것이다.

## **P-15** Effects of Ascorbic Acid and Ferrous Sulfate on Frozen-Thawed Spermatozoa during *In-Vitro* Fertilization in Porcine

**H.S. Nam<sup>1,2</sup>, H.T. Cheong<sup>1</sup>, B.K. Yang<sup>1</sup>, C.I. Kim<sup>1</sup>, H.S. Yoon<sup>2</sup>,  
S.C. Lee<sup>3</sup>, J.H. Kim<sup>3</sup> and C.K. Park<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>College of Animal Resources Sciences, Kangwon National University,  
<sup>2</sup>Infertility Research Center, Miz Medi (Young-Dong Jeil)  
Hospital, Seoul, <sup>3</sup>Saewha Infertility Clinic, Pusan

Spermatozoa from several mammalian species, including mice and human, are highly susceptible to oxygen-induced damage mediated by lipid peroxidation, because of their relatively high content of polyunsaturated fatty acid and low levels of antioxidants. Exposures of fatty acid peroxides or high concentrations of the combination ascorbic acid (Asc) and ferrous sulfate ( $Fe^{2+}$ ) induce excessive lipid peroxidation in sperm membranes, and at result, rapid loss of motility and viability of spermatozoa. The aim of the this study was to determine whether preincubation of spermatozoa in the presence of ascorbic acid and/or ferrous sulfate can effects the penetration and polyspermy of oocytes by frozen-thawed porcine spermatozoa. Porcine follicular oocytes were matured *in vitro*, and inseminated with frozen-thawed boar spermatozoa which were preincubated for 0, 1, 2, 3, 4 and 5 h with/without Asc and/or  $Fe^{2+}$  supplementation. The sperm penetration rates were not different according to durations of spermatozoa preincubation in medium with 0.1 mM Asc (37~51%) or 1.0 mM  $Fe^{2+}$  (41~56%). However, spermatozoa were preincubated with Asc and  $Fe^{2+}$ , the penetration rates had a tendency to increase according to the time of preincubation, and penetration rate were significantly higher in Asc and  $Fe^{2+}$  supplemented group than control at 5 h preincubation ( $p < 0.05$ ). On the other hand, when spermatozoa were preincubated in medium without Asc and/or  $Fe^{2+}$ , the penetration rates were significantly higher

in  $Fe^{2+}$  group than Asc or Asc/ $Fe^{2+}$  groups ( $p < 0.05$ ). The rates of polyspermy were decreased according to the period of spermatozoa preincubation in Asc and  $Fe^{2+}$  supplementation media. And despite of different culture conditions for spermatozoa preincubation, polyspermy rates were not different in the presence of Asc and/or  $Fe^{2+}$ . These results indicate that preincubation of spermatozoa with Asc+ $Fe^{2+}$ , and addition of  $Fe^{2+}$  in IVF medium maintain penetration potential without increased polyspermy rates during *in vitro* fertilization in porcine.

## P-16 생쥐의 자궁내막 상피세포에서 분비되는 Trypsin-Like Enzyme이 배아의 부화에 미치는 영향

한양대학교 자연과학대학 생명과학과<sup>1</sup>, 한양대학교 의과대학 해부학교실<sup>2</sup>,  
미즈메디(영동제일)병원 불임의학연구소<sup>3</sup>

오은정<sup>1,3</sup> · 김종월<sup>1</sup> · 이정복<sup>1</sup> · 양혜영<sup>1</sup> · 류형은<sup>1</sup> · 이지연<sup>1</sup>  
정호삼<sup>2</sup> · 윤현수<sup>1,3</sup> · 김문규<sup>1</sup>

포유류에서 배아의 부화 (hatching)과정의 조절은 포배기 배아의 팽창과 배아에서 분비되는 효소들에 의한 투명대의 가수분해 등 배아의 내적인 요인들이 알려지고 있으며, 자궁내막 상피세포에서 분비되는 효소와 여러 가지 성장요인 (growth factors) 등과 같은 배아의 외적인 요인들도 부화에 관여하는 것으로 밝혀지고 있으나 이에 대한 연구는 아직 미진한 상태이다. 본 연구는 생쥐에서 포배의 부화를 조절하는 자궁요인을 분석하고자 자궁액내에 존재하는 것으로 알려진 trypsin-like enzyme과 chymotrypsin-like enzyme이 자궁 상피에서 분비되는지를 조사하고, 이 효소들이 배아의 부화에 미치는 영향을 알아보려고 하였다. 체내에서 부화가 일어날 것이라고 예상되는 시기의 자궁내막 상피세포를 체외에서 배양하였을 때, 배양액내에는 trypsin과 chymotrypsin에 대한 활성도가 측정되어 이 효소들이 상피세포에서 분비됨을 확인하였으며, 이들 중 trypsin의 활성도가 높게 나타났다. 또한 상피세포와 배아를 공배양하였을 때, 부화율은 공배양 하지 않은 대조군보다 유의하게 높았으며, trypsin에 대한 억제제를 처리한 후 배아를 48시간 공배양하였을 때 부화율은 공배양하지 않은 대조군과는 유의한 차이가 없었지만 억제제를 처리하지 않은 공배양군의 것보다는 현저하게 낮았다. 그러나 chymotrypsin의 억제제는 배아의 부화에 영향을 주지 않았다. 이상의 결과로 보아 자궁내막의 상피는 배아의 부화를 촉진시키는 효소를 자궁액내로 분비하며, 이 과정에서 trypsin-like enzyme 활성을 갖는 효소가 주된 역할을 하는 것으로 나타났다.