

P-34

DMSO를 이용한 생쥐 성숙난자의 동결

서울대학교 의학연구원 인구의학 연구소¹, 의과대학 산부인과학교실²

최성미¹ · 류범용¹ · 김희선¹ · 오선경¹ · 서창석² · 김석현²
 최영민² · 김정구² · 문신용^{1,2} · 이진용²

난자의 동결은 항암제를 사용하여야 하는 환자나, 유전적인 이상 등으로 난자를 공여 받아야 하는 환자의 경우 필수적이다. 그러나 난자의 동결 (oocyte freezing)은 동결보존액 (cryoprotectant)의 종류와 동결방법 (freezing method)에 따라 그 생존률과 발생률에 큰 차이가 있음이 보고되어 왔다 (Gook et al, 1993; Van der Elst et al., 1998). 이에 본 실험은 생쥐 성숙 (M II; metaphase II) 난자에서 세포막 비투과성인 DMSO (dimethyl sulfoxide)를 사용하여 최적의 동결보존 방법과 동결에 가장 적합한 난자의 시기를 알아보려고 수행하였다.

F₁ hybrid mice (C57BL×CBA)를 사용하여 PMSG 주사 48시간 후 hCG를 주사하고, 그 후 15시간 후 oocyte를 수확하여 slow freezing (Gook et al., 1993)과 ultra-rapid freezing (Van der Elst et al., 1998) 방법으로 동결하여 생존률을 비교하여 보았다. 또한 동결에 가장 적합한 난자의 시기를 알아보기 위해 hCG 주사후 12시간과 17시간 후 제 1극체가 형성된 성숙난자를 수확하여 앞의 동결방법 중 가장 적절한 방법으로 동결하여 이를 비교하여 보았다.

1. Freezing method에 따른 회수률과 생존률 비교

Freezing method	Thawing method	Recovery rate	Survival rate
1. Slow - 1 step 1.5 M DMSO 10 min 상온에서 start	Rapid - 2 step 1 M DMSO 5 min 0.5 M DMSO 5 min	100%	69.2%
2. Ultra rapid - 3 step 0.25 M sucrose 5 min 0.5 M sucrose 5 min 3.5 M DMSO + 0.5M sucrose 2.5 min	Rapid - 2 step 0.5 M sucrose 5 min 0.25 M sucrose 5 min	100%	1.5%
3. Ultra rapid - 1 step 4.5 M DMSO + 0.25 M sucrose 5 min	Rapid - 1 step 1 M sucrose 10 min	100%	1.8%

2. slow freezing 방법 사용시 oocyte age에 따른 회수률, 생존률 그리고 수정률의 비교

post hCG time	Recovery rate	Survival rate	Fertilization rate
17 hours	98.8%	62.5%	48.5%
12 hours	100%	72.4%	51.4%

DMSO를 사용하여 난자를 동결하는 경우 ultra-rapid freezing 방법보다 slow freezing 방법이 더 효과적이며 배란 직후의 난자를 동결하는 것이 효율적이라 사료된다.