

expanded blastocyst 시기에서만 ES-like 세포주가 확립됨을 알 수 있었다. 그러나 ES-like 세포주의 확립 성공률은 그다지 높지 않았으며, 이러한 이유는 배아의 체외배양 조건이 체내와 동일하지 않았기 때문이라고 생각된다. 따라서 체외배양 조건을 개선하는 연구가 활발히 이루어져야만이 향후 사람을 비롯한 많은 실험동물에서 체외수정하여 얻은 배아로부터 ES-like 세포주를 확립하는 것이 수월하게 이루어질 것이다.

## P-11 Creation of Viable Oocyte using Diploid Somatic Cell-derived Nuclear Transfer Technique

마리아 기초의학연구소/마리아 생명공학연구소, <sup>1</sup>마리아 병원  
박세필 · 김은영 · 길광수 · 허영태 · 윤지연 · 박세영 · 임진호<sup>1</sup>

**Objective:** In this study, we tried to create bovine normal haploid oocyte by modified nuclear transfer technique and to produce blastocyst from these reconstructed oocytes after *IVF*.

**Materials and Methods:** Bovine female adult fibroblast cells arrested in G0/G1 of cell cycle using tricostatin-A were introduced into *in vitro* matured and enucleated recipient oocytes. Reconstructed eggs were activated by chemical method and cultured to permit extrusion of polar body for 18 h. Some of these eggs were stained with Hoechst to observe chromatin morphology in hourly intervals until 18 h of culture. Also, 8-cell embryos recovered at 60 h after *IVF* were examined their chromosome number using G-banding technique. And remainder were developed to blastocyst stage after *IVF*.

**Results:** Forty three (46.2%) of 93 donor cell and recipient oocyte units were fused. In the fused oocytes, *in vitro* survival, cleavage and development to morula and blastocyst stage were 86.0%, 53.5% and 20.9%, respectively. We confirmed that transition from premature chromosome condensation (PCC) to prophase was observed after 8 h. Especially, extruded polar bodies in reconstructed eggs observed at 18 h after fusion using Hoechst staining. Normal chromosome number was observed with blastomere of 8-cell embryos.

**Conclusions:** This result indicated that viable oocyte can be created using diploid somatic cell-derived nuclear transfer technique and that it may offer the pregnancy opportunity to infertile women who do not produce their own oocytes in human IVF-ET program.

## P-12 수정된 배아의 전핵 상태가 배아 발달 및 임신율에 미치는 영향

서울대학교 의과대학 산부인과학교실<sup>1</sup>, 의학연구원 인구의학연구소<sup>2</sup>  
성기철<sup>2</sup> · 김희선<sup>2</sup> · 오선경<sup>1,2</sup> · 천대우<sup>1,2</sup> · 천은경<sup>1</sup> · 서창석<sup>1,2</sup> · 김석현<sup>1,2</sup>  
최영민<sup>1,2</sup> · 김정구<sup>1</sup> · 문신용<sup>1,2</sup> · 이진용<sup>1</sup>

**목 적:** 수정된 배아의 전핵 상태가 배아 발달에 미치는 영향을 알아보고 배아의 발달을 예측하여 임신과의 관계를 알아보고자 하였다.

**대상 및 방법:** 2000년 10월부터 2001년 9월까지 서울대학교병원 산부인과 불임클리닉에서 체외수정 시술을 시행받은 환자 226명의 전핵 상태의 배아를 연구 대상으로 하였다. 전핵 상태의 판정은 Tesarik 과 Greco (1999)의 방법을 변형하여 핵인 (nucleoli)의 분포와 수에 따라 다음과 같이 여섯 단계로 분류 하였다.

Z1: 동일한 수의 핵인이 두 개의 전핵에 대칭형으로 분포되어 있는 경우

Z2-1: 서로 다른 수의 핵인이 두 개의 전핵에 대칭형으로 분포되어 있는 경우

Z2-2: 같은 수의 핵인이 두 개의 전핵에 서로 다르게 분포되어 있는 경우

Z2-3: 서로 다른 수의 핵인이 두 개의 전핵에 서로 다르게 분포되어 있는 경우

Z3: 핵인이 1개 있는 경우

Z4: 두 개의 전핵이 떨어져 있거나 크기가 다른 경우

**결 과:** 226 환자를 대상으로 721개의 수정란 (PN stage embryo, Day 1)을 조사한 결과 전핵의 상태에 따른 분포는 Z1이 38.3%로 가장 많은 분포를 나타냈고, Z2-1, Z2-2, Z2-3, Z3, Z4가 각각 32.6%, 9.7%, 14.5%, 0.7%, 4.2%로 나타났다.

두 개의 전핵이 동일한 수의 핵인을 가지는 Z1의 전핵 상태를 가지는 수정란이 다른 전핵 (Z2-1~Z4)을 가진 수정란 보다 배양 2일째에 상태가 좋은 배아로 가장 많이 진행되었다.

또한 임신된 환자의 경우, 배양 2일째에 4개의 배아를 이식했을 때 Z1의 수정란을 가졌던 환자군이 Z1 이외의 수정란을 가졌던 환자군보다 임신율이 높게 나타났다 (93.1% vs. 6.9%). 3개의 배아를 이식했을 때도 Z1의 수정란을 가졌던 환자군이 다른 환자군보다 임신율이 높게 나타났다 (80% vs. 20%). 배양 3일째에 4개의 배아를 이식했을 때 Z1의 수정란을 가졌던 환자군이 다른 환자군보다 임신율이 높게 나타났다 (85.7% vs. 14.3%).

**결 론:** Z1의 수정란이 Z2~Z4의 수정란 보다 질이 좋은 배아로 발달하였다. 또한 Z1의 수정란으로부터 발생이 진행된 배아를 이식한 경우 나머지 전핵 상태의 수정란으로부터의 배아를 이식했을 때보다 임신율이 높게 나타났다.

결론적으로 전핵의 상태를 판정하여 질이 좋은 배아를 예측할 수 있으며 체외수정시술 시 이를 적용하여 더 나은 임신율을 기대할 수 있을 것으로 사료된다.

### P-13 Enhancement of Fertilizing Ability of Frozen-thawed Human Spermatozoa Treated with Fertilizing Promoting Peptide and Pentoxifylline

마리아 기초의학연구소/마리아 생명공학연구소, <sup>1</sup>건국대학교 축산대학, <sup>2</sup>마리아 병원

이금실 · 김은영 · 박세영 · 신현아 · 박세필 · 이훈택<sup>1</sup> · 정길생<sup>1</sup> · 임진호<sup>2</sup>

**Objective:** This study was to examine whether the *in vitro* fertilizing ability of frozen-thawed human sperm can be improved by adding Pentoxifylline (PF) and Fertilization Promoting Peptide (FPP).

**Materials and Methods:** Human semen was obtained from patient's semen samples which were discarded after analysis in our infertility hospital. Human semen was freezed ultra-rapidly using TYB freezing medium. Additive (PF, FPP) effects in frozen-thawed human sperm were analyzed by microscopic count for sperm motility and coomassie brilliant blue staining method for sperm acrosome intact.