

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, ¹건국대학교 축산대학, ²마리아 병원

이금실 · 김은영 · 박세영 · 신현아 · 박세필 · 이훈택¹ · 정길생¹ · 임진호²

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.

Results:

I) To investigate *in vitro* motility of frozen-thawed human sperm, when PF of various concentration prior to freezing was examined, the result of 5 mM treatment group (51.0%) was higher than those of the other treatment groups (control: 39.0; 2.5 mM: 40.0; 10.0 mM: 46.0%) ($p < 0.01$).

II) In case of intact acrosome rate, FPP treatment group before freezing was higher than those after thawing. Especially, 50 nM (75.5%) FPP adding in all treatment procedures for human semen freezing (before freezing, freezing and after thawing) was significant effect on maintaining of the sperm intact acrosome (control: 45.0; 25 nM: 53.0; 100 nM: 68.0%) ($p < 0.01$).

III) Based on these data, when the additive effects of PF and FPP on sperm motility and intact acrosome were compared simultaneously, intact acrosome rate in FPP treatment group (65.0%) was significantly higher than that in PF treatment group (43.0%) ($p < 0.05$), although sperm motility was slightly higher in PF treatment group.

Conclusions: These results demonstrated that the more improved sperm fertilizing ability of frozen-thawed human sperm can be obtained by addition of 50 nM FPP in all semen freezing procedures.

P-14 Molecular Cloning of the Human Adam 6 Pseudogenes

삼성제일병원 발생생물학 및 불임연구실, ¹성균관대학교 의과대학 산부인과

이형송 · 박용석 · 강인수¹

Objectives: The cell-cell interactions that occur between sperm and egg involve not only the binding but also the fusion of the gamete plasma membranes. Numerous studies have implicated several different molecules on both the sperm and egg as being involved in gamete membrane interactions. The sperm proteins that have received the most attention recently have homology to disintegrins, which are proteins in snake venoms. These sperm disintegrin-like proteins are members of a molecular family, known as ADAMs (a disintegrin and metalloprotease) or MDCs (metalloprotease, disintegrin and cysteine-rich). In this study, to identify further members of ADAM family in the testis, we have searched the expressed sequence tags (EST) section of the EMBL nucleotide database. ADAM-like EST sequences that were not identical to known ADAMs were further analyzed to determine whether they contained putative ADAM-specific sequences.

Materials and Methods: Using the similarity search of the EST database and RT-PCR we identified a partial cDNA clone that encodes the 3' end of a putative novel ADAM. One million independent recombinant bacteriophage from a human testis cDNA library in λ TriplEx was screened using a human ADAM6 partial cDNA that had been isolated from human testis RNA by RT-PCR. And the 5' end was amplified by PCR and the full-length cDNA was cloned and sequenced. And DNA sequencing of PCR fragments using genomic DNA as template with *hADAM6p*-specific primers confirmed the DNA sequences.

Results: The novel human ADAM (*hADAM6p*) shows striking sequence similarity to other members of the MDC family, especially macaque (*Macaca fascicularis*) *tMDCIV* (*ADAM6*). DNA sequencing of *hADAM6p* showed that it was a processed pseudogene. The pseudo-coding regions of this gene contain all