

임신 18일에 발현이 증가하였다. 반대로 p57<sup>kip2</sup>는 임신 12일과 14일에 많이 발현되다가 임신 16일과 18일로 갈수록 감소하는 양상을 나타내었다. Western blot과 면역조직화학 염색 결과도 동일하게 나타났다.

**결 론:** 본 연구의 결과로 볼 때, 정소의 초기 발달 과정에 p57<sup>kip2</sup>가 중요한 역할을 하는 것으로 나타났다. 또한 체세포 뿐 아니라 생식세포에서의 발현도 확인하였다. 따라서 Sertoli cell only syndrome, growth arrest나 감소된 정자형성 등의 남성불임 환자와 정소암 환자에서 p27<sup>kip1</sup>과 p57<sup>kip2</sup> 발현양상을 연구함으로써 이러한 질병의 원인 규명은 물론 치료에 큰 도움을 줄 수 있으리라 사료된다. 그리고 태반 발달 초기에는 p57<sup>kip2</sup>가, 후기에는 p27<sup>kip1</sup>이 중요한 역할을 하는 것으로 나타났다. 따라서 사람의 임신 초기에 태반 발달의 장애로 인해 유산이 초래된 경우, p57<sup>kip2</sup>의 발현양상을 확인해 봄으로써 그 원인을 밝힐 수 있는 단서를 마련할 수 있으리라 사료되며 나아가 유산의 예방에 관한 연구에 도움을 주리라 사료된다.

## P-20 배지미세환경이 소의 정자침입과 전핵형성에 미치는 영향

부산세화불임크리닉, \*동의대학교

이채식 · 김병기\* · 이상찬 · 류란숙 · 김종홍

소의 체외수정에 이용되는 배지의 미세환경 중 삼투압과 calcium이 정자침투와 전핵형성에 미치는 영향과 체외수정배지 내에서 정자의 수정능력획득시간과 난자의 세포질로 침투하는 시간 및 침투 후 전핵형성에 소요되는 시간을 조사하였다.

미성숙 난자는 TCM-199을 사용하여 22시간 동안 39°C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 체외성숙시켰고, mBO 배지에서 체외수정을 실시하였다.

정자가 난자 세포질 내로의 침입에 대한 삼투압의 영향은 수정배지의 삼투압이 200 mOsm과 240 mOsm에서 각각 41.6%와 56.7%의 정자침입률을 보였고, 280, 320, 360, 400, 440 mOsm에서는 69.6, 72.0, 70.0, 68.2, 68.5%로서 유의적인 증가가 있었다 ( $p<0.05$ ). 정자가 침입한 난자의 전핵형성률은 280, 320, 360 mOsm에서 각각 64.1, 67.2, 60.3%였으나, 400 mOsm과 440 mOsm에서는 각각 30.0, 3.3%로서 유의적 ( $p<0.05$ )으로 전핵형성률이 감소하였다.

Calcium의 농도가 0, 0.5, 1.0 mM에서는 정자침입이 일어나지 않았고, 1.5, 2.0, 2.5 mM에서는 30.4, 67.1, 68.9%로 정자의 침입이 증가하였지만 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0 mM로 농도가 증가하면서 64.0, 57.1, 33.3, 25.8, 21.7%로 감소하는 경향을 나타내었다. 전핵형성은 최초 1.5 mM에서 33.3%의 전핵형성률을 나타내었고, 2.0 mM과 2.5 mM에서 각각 61.7%와 62.7%로 최고의 전핵형성률을 나타냈으며, 3.0 mM 이상의 농도에서는 전핵형성률이 감소하였다.

정자가 체외에서 수정능력획득에 소요되는 시간과 난자 내로의 침입 및 침입 후 전핵형성에 소요되는 시간을 조사하기 위하여 정자를 각각 2, 4, 6, 8시간 동안 39°C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 수정능력획득 과정을 유기한 후 체외수정한 결과, 2시간 전처리구에서 수정 후 190분째에 최초 정자침입을 확인할 수 있었고 4시간 전처리구에서는 수정 후 70분째에 처음으로 정자침입을 확인하였다. 6시간과 8시간 전처리구에서는 수정 후 50분째에 정자침입을 확인할 수 있었다. 2시간 전처리구에서는 수정 후 250분까지 전핵이 관찰되지 않았으나, 4시간 전처리구에서는 수정 후 250분째 전핵을 확인할 수 있었고,

6시간과 8시간 전처리구에서는 수정 후 230분째에 전핵형성을 확인하였다. 본 실험 결과에서 소의 정자가 체외에서 수정능력획득과 난자 내 침입에 소요되는 최소 시간은 260분과 50분이었고, 침입 후 전핵형성에 소요되는 시간은 최소 230분이었다.

## P-21 Influence of Semen Processing Technique on Human Sperm DNA Integrity

마리아 기초의학연구소/마리아 생명공학연구소, <sup>1</sup>마리아 병원

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

**Objective:** This study was to compare the effects of washing, swim-up and density-gradient centrifugation technique on human sperm DNA integrity.

**Materials and Methods:** Semen sample (n=16) were obtained from consecutive non-azoospermic men presenting for infertility (n=10) and fertility evaluation (n=6). Individual samples were divided into three aliquots (washing sperm, swim-up and density-gradient centrifugation) for analysis of DNA integrity. The DNA of the fixed sperm was stained with 0.2 mg/ml of Acridine Orange and DNA integrity was evaluated by fluorescence microscope using 460~470 nm emission filter. Sperm DNA integrity assessed as green color is double stranded DNA and red one is single stranded DNA (denatured form).

**Results:** In total semen sample, the mean percentage of sperm with denatured DNA was tend to increase after processing with swim-up (30.8%) and density-gradient centrifugation (35.2%) compared with washing sperm (25.5%). Also, when the result was examined on fertile evaluation, denatured DNA percentage of infertile group (35.3%, 47.0% & 20.6%) was more increased by semen processing technique than that of fertile group (24.2%, 40.8% & 17.9%).

**Conclusions:** Our data indicated the potential detrimental effect of density-gradient centrifugation on sperm DNA integrity. Also, the mean percentage of denatured DNA was higher in the infertile group than fertile group.

## P-22 Telomeric Probes for Preimplantation Genetic Diagnosis of Structural Abberations in Human ART Program

서울대학교 의과대학 산부인과학교실<sup>1</sup>, 의학연구원 인구의학연구소<sup>2</sup>

오선경<sup>1,2</sup> · 김희선<sup>2</sup> · 성기청<sup>2</sup> · 설혜원<sup>2</sup> · 노미경<sup>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:** 반복된 자연유산을 경험했던 translocation carrier 부부와 임신에 실패했던 부부를 대상으로 blastomere를 biopsy 하여 telomeric probes를 이용한 착상 전 유전진단을 시행하여 염색체로 인한 기형이 초래되지 않도록 본 연구를 시행하였다.

**대상 및 방법:** 부인의 핵형이 46,XX, t(9;14) (p22;q31) 이어서 2회의 자연유산과 multiple anomaly가