

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, ¹마리아 병원

신현아 · 김은영 · 박세영 · 이금실 · 박세필 · 임진호¹

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 산부인과학교실¹, 의학연구원 인구의학연구소²

오선경^{1,2} · 김희선² · 성기창² · 설혜원² · 노미경² · 천대우^{1,2} · 천은경¹
서창석^{1,2} · 김석현^{1,2} · 최영민^{1,2} · 김정구¹ · 문신용^{1,2} · 이진용¹

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

있는 아기를 분만하였으나 곧 사망한 경험이 있는 환자의 경우 8개의 배아에서 blastomere를 각각 생검하여 TelVysion 9p와 CepX, Y를 이용하여 FISH로 분석하였다.

정상 또는 balanced carrier로 판정된 3개의 배아를 자궁내 이식하여 현재 정상적으로 임신이 진행 중이며 양수세포를 이용한 FISH 분석과 배양한 세포의 염색체 핵형 검사 결과 46,XX로 판명되었다.

계속되는 자연유산으로 (5회) 임신을 할 수 없었던 환자의 경우 그 핵형이 46,XX, t(12;13) (q15;q12)이었다. 6개의 배아에서 blastomere를 생검하여 TelVysion 12q probe와 CepX, Y를 이용하여 FISH 분석한 결과 모두 비정상적인 배아로 판정되어 자궁내 이식은 시행하지 아니 하였고 계속 배양하여 이 배아들이 모두 난할이 정지된 것을 확인하였다.

결 과: 부인이 46,XX, t(9;14) (p22;q31)인 환자에서 착상 전 배아 유전진단 후 정상적인 배아를 선택하여 자궁내 이식하여 현재 정상 염색체를 가진 아기를 임신 중에 있다.

다른 46,XX, t(12;13) (q15;q12) 환자의 경우 6개의 배아 모두가 착상 전 유전진단 후에 비정상 배아였으므로 배아를 자궁내 이식을 할 수 없었다.

결 론: 본 연구에서는 translocation carrier의 착상 전 유전진단을 위해 비교적 손쉽게 구입하여 사용할 수 있는 telomeric probe와 CepX, Y를 이용하여 translocation carrier 부부에게 착상 전 유전진단을 시행한 후 정상 임신 1례를 경험하였기에 보고하고자 한다.

P-23 *In vitro* Differentiation and Survival of Neural Cell Type from Human Embryonic Stem Cell Derived from Frozen-thawed Blastocysts

마리아 기초의학연구소/마리아 생명공학연구소, ¹마리아 병원

조현정 · 김은영 · 박은미 · 이금실 · 박세필 · 임진호¹

Objectives: This study was to investigate the neural cell differentiation *in vitro* from the human embryonic stem (hES) cells derived from frozen-thawed blastocyst stage embryo.

Materials and Methods: To induce the neural cell and *in vitro* differentiation from hES colony, the neurotrophic growth factors containing EGF, bFGF, PDGF, retinoic acid and NGF were added to the cells. The cell survival rate detected by MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)2,5-diphenyl tetrazolium bromide] assay and cell counting. Immunocytochemistry, RT-PCR and western blotting were used for identification of neuronal and supporting cells differentiation.

Result: In cell counting, the addition of bFGF and PDGF on hES cell increased up to 3 fold than non-treatment group. The cell survival rate detected by MTT assay showed that bFGF increased cell survival rate of 1.33 fold compared to non-treatment group. Especially, PDGF increased cell survival rate of 1.73 fold compared to non-treatment group. Besides neural cell, glia cells were differentiated from hES cell in the presence of bFGF or PDGF. In immunocytochemistry, the neuron was detected with NF160, synapsin and β -tubulin, astrocyte with GFAP, oligodendrocyte with O4, CNPase, S-100 β and α Galactocerebroside, and glial precursor with A2B5. In western blotting, N-CAM was detected as neuron type marker. In the RT-PCR analysis, differentiated hES had neurofilament 200 (NF200) for neuron positive.

Conclusions: This study showed that the human embryonic stem (hES) cells derived from frozen-thawed