

처리구 II는 CR1aa에 4일간 배양 후 나머지 3일을 CR1aa + 5% FBS 배지에 cumulus cell과 공배양, 처리구 III은 CR1aa + 5% FBS 배지에 cumulus cell과 공배양하였다. 수정란이식은 발정발현 7일째에 비외과적 방법으로 젖소 미경산우에 이식하였으며 이식란수는 2~4개의 핵이식된 수정란을 이식하였다. 임신진단은 45~60일 사이에 직장검사 및 초음파 진단기를 이용하여 실시하였다.

**결 과:** ①, ②, ③, ④의 전압을 이용하여 공여핵의 체세포와 수핵란 세포질간의 융합을 유도한 결과, 융합율은 각각 50.7%, 48.1%, 65.5%, 및 33.3%였으며, 수핵란자의 세포질 lysis율은 39.1%, 41.7%, 22.6%, 및 52.7%으로 ③ 2.2 kv/cm, 10  $\mu$ s 2회의 조건에서 융합율이 유의적으로 높았고, 수핵란자의 세포질 lysis율에 있어서도 다른 groups에 비하여 낮았다. 각 자극별로 융합 후 난할율 및 배반포 발생율은 각각 65.7%, 73.5%, 77.2%, 및 53.3%과 47.8%, 52.0%, 49.7%, 및 21.8%로 나타나 난할율 및 배반포 발생율에 있어서 1.9 kv/cm, 30  $\mu$ s 2회의 조건이 다른 조건들에 비하여 유의적으로 낮았다. 각 배양 처리구에 따른 수정란 이식 후 수태율은 처리구 II와 III에서 공히 20%의 수태율을 나타낸 반면 처리구 I에서는 수태가 되지 않았다.

**결 론:** 체세포와 수핵란 세포질간의 융합시 전압보다는 시간에 더 영향을 받음을 알 수 있었으며, 이와 같은 결과에서 융합시 시간을 오래 주는 것보다 전압을 높이는 것이 수핵란자의 세포질에 상해를 줄이고 이후 배반포 발생에 유리할 것으로 사료되고, 체세포 복제수정란의 이식 후 수태율을 높이기 위한 배양방법은 단순배양보다 공배양이 더 효과적인 것으로 생각되지만 이런 결과가 복제송아지 생산효율에 있어서도 효과적일지는 향후 더 많은 연구가 있어야 할 것으로 생각된다.

## P-13 Effect of Fertilization Promoting Peptide (FPP) Treatment on the Intact Acrosome of Cryopreserved Human Sperm

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

신현아 · 이금실 · 허영태 · 김은영 · 박세영 · 박은미 · 윤지연  
조현정 · 길광수 · 박세필 · 임진호<sup>1</sup>

**Objective:** This study was to examine the effect of FPP addition at freezing and thawing solution on the intact acrosome of human sperm.

**Materials and Methods:** After FPP (50 nM) treatment, the acrosome of sperm was investigated using 0.25% Coomassieblue G-250 staining or 100 ug/ml FITC-PSA staining method.

**Results:** The freezing process and incubation increased the rate of spontaneous acrosome reaction of frozen-thawed human spermatozoa *in vitro*. At freezing, FPP addition group in freezing solution maintained the highly proportion of intact acrosome sperm than FPP non-treated group. Also, the addition of FPP in thawing solution as well as freezing solution indicated the similar effect compared to non-freezing group.

**Conclusions:** This result indicates that FPP may play an important role to maintain the acrosome for sperm fertility following the sperm cryopreservation process.

**Table 1.** Effect of 50 nM FPP treatment on the intact acrosome of cryopreserved human sperm (r=5)

	Control	FPP treatment*					
		A		B			
		(-)	(+)	(-)/(-)	(-)/(+)	(+)(-)	(+)/(+)
Coomassiblue staining (%)	89	74	86	42	48	59	68
FITC-PSA staining (%)	88	71	87	50	61	64	72

\* A: Non-freezing, Incubation with/without 50 nM/ml FPP for 3 h, B: Freezing, Absence (-) and/or presence (+) of 50 nM/ml FPP at freezing and after thawing (incubation for 3 h), respectively.

## P-14 착상전 생쥐 배 발생에 미치는 Nicotine의 영향

성신여자대학교

오 지 현 · 배 인 하

**목적:** 담배 연기 속에는 약 4000여 개 이상의 화학 물질이 복잡하게 섞여 있으나, 그 성분들이 생체에 미치는 영향은 분석되지 않고 있는 상태이다. 그 중 담배의 주요 성분인 nicotine은 혈액에 녹아 각 조직에 전달되어 특히 세포에 해로운 영향을 미칠 수 있다고 추정할 수 있다. 또한 지금까지는 흡연에 대한 체내 (in vivo) 실험이 주로 이루어져 왔기 때문에 모든 조건이 통제되는 체외 (in vitro) 실험이 필요하리라 사료된다.

본 연구에서는 이러한 nicotine이 체외에서 착상 전 (preimplantation) 생쥐 배 발생에 미치는 영향을 알아보기 위해 조사 시기를 8세포기 밀집화 현상 (8-cell compaction), 포배 (blastocyst)의 형성 그리고 부화 (hatching)로 나누어 실험하였다.

**대상 및 방법:** Swiss albino인 ICR 계통의 5~8주된 암컷과 12주 이상 되어 생식력이 있는 수컷을 사용하였다. hCG 주사 후 48시간째에 후기 2세포기 배와 62~63시간째에 4~8세포기 배를 얻어 0~1 mM의 nicotine이 포함된 배양액에서 체외배양 하였고, 이로부터 발생한 상실배와 포배는 Hoechst 33342 로 형광 염색하여 세포 수를 측정하였다.

**결 과:** 실험 결과 상실배 (morula) 형성율은 0.05, 0.1, 0.5, 1 mM 농도의 nicotine을 처리한 실험군에서 0.5 mM은 유의한 차이가 없었으나, 다른 실험군의 경우, 25.0, 18.9, 17.5%로 대조군 보다 유의하게 낮았다 ( $p < 0.01$ ). 또한, 포배의 형성에서도 지연되는 현상이 나타났는데, 우선 실험군의 포배 형성 정도는 0.05 mM의 농도로 처리한 실험군을 제외하고 nicotine을 처리한 다른 실험군의 경우는 대조군 58.3%에 비해 54.3, 53.9, 51.5%로 유의하게 낮았다 ( $p < 0.05$ ). 한편, 포배강 (cavitation) 형성 정도를 알아보기 위해 포배 중에서 포배강이 expand 되어 있고 내세포괴가 뚜렷이 발달되어 있는 후기 포배 (late blastocyst)를 조사한 결과, 후기 2세포기 배를 48시간 배양한 경우와 72시간 배양한 경우 모두 nicotine의 농도가 높아질수록 각각 실험군의 포배 중에서 후기 포배의 비율이 현저하게 감소되는 것을 알 수 있었다. 또한, nicotine 농도가 높아짐에 따라 부화 중 (hatching blastocyst)이거나 부화된 (hatched blastocyst) 포배는 38.5, 37.5, 30.1, 6.4%로 대조군의 70.0%에 비해 유의하게 낮아졌다 ( $p < 0.001$ ). 또한 1 mM의 nicotine을 처리한 경우 퇴화율이 35.5%로 높아 nicotine이 매우 toxic한 효과를 나타내는 것을 알 수