

초기 배아의 분리할구에서 중기 염색체상 획득 방법에 대한  
연구: 염색체 변이로 인한 착상전 유전자 진단에서  
보인자와 정상 핵형 구분을 위한 연구

임천규, 전진현, 민동미, 변혜경, 김진영<sup>1</sup>, 궁미경<sup>1</sup>, 강인수<sup>1</sup>

삼성제일병원 생식생물학 및 불임연구실, <sup>1</sup>성균관 의과대학 산부인과

염색체의 구조적 이상으로 인한 습관성 유산과 기형아의 출산을 예방하기 위해 착상전 배아에서 할구를 분석하여 정상적인 핵형을 가진 배아만을 이식하는 착상전 유전자 진단 (preimplantation genetic diagnosis, PGD)의 성공적인 임상 적용이 보고 되고 있으며, 그 적용 범위가 확대되고 있다. 그러나 일반적인 간기의 핵상을 이용한 PGD에서는 형광직접조합법 probe의 제약으로 보인자와 정상적인 핵형을 구분할 수 없는 단점이 있다. 따라서 본 연구에서는 보다 정확한 PGD를 위해 생쥐 배아를 이용하여 분리한 할구에서 중기 염색체상을 획득하기 위해 미세소관 (microtubule) 형성 저해제를 처리하였으며, 이를 통해 확립된 방법을 인간의 PGD에 적용하고자 하였다. 과배란이 유도된 ICR 생쥐에서 4- 또는 8-세포기 배아를 수확하여 colcemid, nocodazole, vinblastine을 각각 0.1, 0.5, 1.0, 5.0 $\mu$ M을 처리하고, hoechst 33342로 염색하여 핵상을 관찰하여 최적의 농도를 결정하였다. 또한 각 미세소관 형성 저해제를 혼합 처리하여 가장 높은 중기 염색체상을 획득할 수 있는 혼합 처리를 결정하였다. 이렇게 결정된 혼합 처리 방법을 인간의 체외 수정 및 배아 이식술에서 획득된 3PN 배아에 처리하여 중기 염색체를 획득하였다. Colcemid, nocodazole, vinblastine 모두 1  $\mu$ M이 최적 농도임을 확인할 수 있었다 (각각 96.3%, 92.0%, 98.4%). 미세소관 형성저해제를 혼합 처리하였을 경우 nocodazole과 vinblastine (각각 1 $\mu$ M)을 혼합 처리했을 때 중기 염색체 획득률(97.3%)이 가장 높았다. 인간의 3PN 배아에 1 $\mu$ M의 nocodazole과 vinblastine을 혼합 처리한 후, 113개의 할구를 분석하여 44개(38.9%)의 할구에서 중기 염색체를 확인할 수 있었다. 본 실험 결과를 통해 중기 염색체를 획득하기 위하여 미세소관 형성 저해제를 처리하는 방법은 생쥐의 배아에서는 효과적이지만, 인간의 배아에서는 그 효율이 다소 낮음을 알 수 있었다. 그러나 이 방법을 개선하여 인간의 할구에서 중기 염색체의 획득률을 높이고, 이를 염색체의 구조적 이상에 대한 착상전 유전자 진단에 적용한다면, 보인자와 정상의 핵상을 구분하여 정상의 핵상만을 갖는 배아의 이식을 통하여 더욱 정확한 착상전 유전자 진단을 시행할 수 있으리라 사료된다.

Key words) 착상전 유전자 진단, 형광직접조합법, 미세소관 형성 저해제, 중기 염색체