

-1-

**동결·융해 미성숙 생쥐난자의
체외수정에 의한 초기발생**

안양중앙병원 체외수정연구실, 안양중앙병원
산부인과, 고려대학교 응용동물학과

이중한¹ · 민병혁¹ · 이상호²

생쥐 미성숙 난포란의 동결·융해 후 체외 성숙, 체외수정의 가능성은 이미 보고한 바 있다. 본 실험은 동결·융해 후 미성숙 난포란의 체외수정, CZB 배양액내에서 정상적인 초기 배의 발생이 체외에서 진행될 수 있는가를 조사하기 위하여 수행하였다. ICR 생쥐로부터 미성숙 난포란을 회수하기 위하여 7.5 IU PMS 처리 후 48시간에 정상난포란만을 선별하여 propanediol를 기본 항동해제로 이용하여 동결·융해 과정을 거쳐 생존율을 판정하고, 이를 체외성숙, 체외수정을 실시하여 CZB 배양액에서 2세포, 8세포, 배반포시기까지의 발생 능력을 조사하였다. 동결·융해 후 평균 38.8%의 생존율을 나타냈으며 그 중 중기 II 시기까지 대조군 87.7%, 실험군 68.1%의 평균 성숙율을 보였다. 이를 체외수정을 실시하여 배반포시기까지의 발생율을 조사한 결과, 대조군 63.6%, 실험군 46.8%의 성적을 나타내었다. 이같은 결과는 미성숙 난포란의 동결·융해 후 체외수정 및 배반포로의 체외 발생이 가능함을 보여준 것이며 이를 기초로 하여 인간을 비롯한 포유류 미성숙난자의 정상적인 동결방법을 확립하는 기초자료로 적절하게 이용될 수 있을 것이다.

-2-

**Human Multi-pronuclei
Zygote의 체외배양시
Non fragmented Embryo와
Fragmented Embryo에서의
Methionine 유입량과
Mitochondria 분포
양상의 비교**

차병원 여성의학연구소

도병록 · 정미경 · 장미경 · 이경아
고정재 · 윤태기 · 차광열

Human *In Vitro* Fertilization(IVF)과 Embryo Transfer시 많은 초기배에서 fragmentation이 나타나나, 이러한 embryo fragmentation의 발생 원인에 관한 보고는 극소에 불과하다. 이에 본 실험에서는 그 원인을 알아보고자 생리학적인 측면에서 세포내 대사변화의 하나인 단백질 합성의 양적 변화를 관찰하였으며, 조직학적 측면에서 세포질내 mitochondria의 분포 양상을 관찰하였다.

실험에 공시된 수정난을 human IVF시 나타난 multi-pronuclei zygote(MPZ)로서 다음과 같이 두 가지 실험에 사용하였다. 1) 단백질 합성의 양적 변화; MPZ의 배양은 human fetal cord serum(hFCS)이 20% 첨가된 TC-199 배양액에 250 μ Ci/ml의 ³⁵S-methionine을 첨가하여 5% CO₂, 37°C에서 24시간 동안 배양하였다. 실험의 오차를 줄이기 위하여 2개 이상의 MPZ를 동일배지에서 동시에 배양하였으며, 이들 난자 중 non fragmented(NFR) 및 fragmented(FR) embryo의 methionine 유입 양을 각각 liquid scintillation counter로 측정하여 비교하였다. 2) Mitochondria의 분포 양상; TC-199 media에 20% hFCS가 첨가된 배양액에서 24시간 배양된 2-4세포 난자를 Rhodamine 123를 이용한 형광 염색을 실시하여 mitochondria의 분포양상을 관찰하였으며 (n=38), 투과전자현미경을 이용하여 세포질내 미세조직의 분포 양상을 관찰하여, 그것이 mitochondria임을 확인하였다. Methionine의