

3분간 상온에서 방치한 후 0.5M sucrose로 5분간 처리하여 세척하여 배양하였다.

실험 결과는 다음과 같다.

각 초자화동결보존액의 독성을 조사한 결과 생존율은 EFS40, VS11, VS3a에서 각각 95.6% (43/45), 90.9% (40/44), 84.4% (38/45)로 EFS40에서 유의하게 높은 생존율을 보였다. 3분간 각 용액으로 처리한 후 배양한 결과 대조군은 69개중 포배율 43.0%이고 부화율 50.7%이며 EFS 40은 전체 43개중 포배율이 16.3%, 부화율이 81.4%이었다. 또 VS11은 40개중 포배율이 37.5%, 부화율이 62.5%이고 VS3a 38개중 포배율이 47.4%, 부화율이 50.0%로 전체적인 발생율은 세 처리군 모두 비슷하지만 EFS40 군에서 높은 부화율을 보였다.

각 초자화동결보존액으로 동결후 해빙한 후의 생존율은 다음과 같다. 대조군으로 실행한 완만동결군은 96.8% (60/63), EFS40처리군은 94.1% (64/68), VS11처리군은 85.5% (65/72), 그리고 VS3a처리군은 80.0% (63/78)로 VS11처리군과 VS3a처리군이 대조군에 비해 낮은 생존율을 보여 주었다. 각 처리군의 해빙 후 발생율은 각각 포배율이 대조군(무처리군)이 35.2% (25/71), 완만동결처리군이 33.4% (20/60), EFS40처리군이 23.4% (15/64), VS11처리군이 24.6% (16/65), 끝으로 VS3a처리군은 36.5% (23/63)이었다. 또 부화율은 대조군(무처리군)이 53.5% (38/71), 완만동결처리군이 58.4% (35/60), EFS40처리군이 70.3% (45/64), VS11처리군이 63.1% (41/65), 끝으로 VS3a처리군은 36.5% (23/63)이었다. 즉 동결, 해빙 후의 발생율은 EFS40과 VS11이 오히려 대조군보다 매우 높은 부화율을 보여주었으나 VS3a는 퇴화율(23.8%, 15/63)이 높게 나타났다.

이상의 실험결과를 통해 볼 때 생쥐 제3일째 배아의 초자화동결보존은 EFS40이 다른 VS11과 VS3a 보다 적절하며 완만동결보다 높은 부화율을 보이고 있어 EFS40의 이용이 효과적인 것으로 사료된다.

P-20 Expression of Epidermal Growth Factor-Receptor (EGF-R) on the Human Embryos Developed from IVF Multi-Pronucleated zygotes and Inner cell mass Cells (ICMs)

**Eun Young Kim, Myo Kyung Kim, Bong Kyung Yi, Hyeon Sook Lee,
San Hyun Yoon*, Sepill Park, Kil Saeng Chung** and Jin Ho Lim***

*Maria Infertility Medical Institute (마리아기초의학연구소), *Maria OB/GYN, Seoul*

***College of Animal Husbandry, Kon-Kuk University*

The objective of this study was to examine whether EGF-R is expressed on human embryos developed from multi-pronucleated (MPN; $\geq 3PN$) zygotes using indirect immunofluorescence (IIF). Human MPN zygotes were obtained from patients undergoing *in vitro* fertilization. For embryo development, MPN zygotes were co-cultured with human cumulus cells from day 1, which is assessed to MPN zygote, to day 5. The results in these experiments were summarized as follows; When expression of EGF-R was examined by IIF, it presented almost similar pattern from the 2-cell to blastocyst stage. Especially, to detect of EGF-R on human ICMs, surplus blastocysts were used for immunosurgery. After immunosurgery, the viability of the recovered ICMs was confirmed by live (calcein; green) and dead (ethidium homodimer; red) staining method. In addition, the EGF-R was also detected on isolated ICMs by IIF. Therefore, these results de-

monstrate that EGF-R expression from the early embryonic stage might be stimulate the higher usability of exogenous EGF in human embryos to improve the preimplantation embryo development.

P-21 생쥐 preantral follicle 체외배양에 있어서 gonadotropin의 영향

한남여성의원 불임연구실, 건국대학교 동물자원연구센터*

김동훈 · 지희준 · 김지연 · 구정진 · 장상식 · 이훈택* · 정길생*

포유동물의 난소 내에는 수많은 초기단계의 난포 (primordial, primary follicle)가 존재하고 있으나, 이러한 난포의 대부분은 성장 (growth) 및 성숙 (maturation)과정에서 퇴행할 수 있게 된다. 따라서, 매우 적은수의 선별된 난포만이 graafian 난포까지 발달하여 배란을 하게 되며, 이러한 난소 내 난포의 성장 및 성숙과정에는 gonadotropin이 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 이에, 본 연구는 생쥐 preantral follicle의 체외배양시 gonadotropin의 첨가가 난포의 성장 및 성숙에 미치는 효과를 알아보고자 실시하였다.

preantral follicle은 생후 12일째 생쥐의 난소를 collagenase와 DNase를 처리하여 회수하였으며, 회수된 난포는 Costar transwell-COL membrane insert가 삽입된 6-well dish에서 배양을 실시하였다. FSH의 효과를 알아보기 위하여 농도별 (50 mIU~1000 mIU/ml)로 배양액 내에 첨가하여 조사하였다. 그리고 난포의 발달에 있어 FSH와 HMG의 효과를 비교조사하였으며, 배양일에 따른 배양액내 estrogen과 progesterone의 농도를 RIA를 통하여 분석하였으며, ocular micrometer를 이용하여 체외배양된 난포의 oocyte의 직경을 측정하였다.

체외배양 후, oocyte의 생존율 및 MetII까지의 발달율은 FSH첨가군이 무첨가군에 비하여 유의하게 높았으나, FSH농도별 처리군간에는 유의한 차이가 없었다. HMG (100 mIU/ml)첨가군의 oocyte의 생존율 (85.7%) 및 MetII까지의 발달율 (56.3%)은 FSH (100 mIU/ml)첨가군 (71.4, 45.5%)과 대조군 (50.9, 5.4%)에 비하여 유의하게 높았다. oocyte의 직경은 처리군간에 유의한 차이를 나타내지 않았지만, 체내에서 성장된 난포의 oocyte에 비해서는 작은 것으로 나타났다. 그리고 처리군간에 배양액내 estrogen 및 progesterone이 분비되는 양상은 배양일이 경과함에 따라 증가하는 유사한 양상을 나타냈으나, 그 농도에 있어서는 HMG첨가군과 FSH첨가군이 대조군에 비하여 유의하게 높게 나타났으며, 특히 HMG첨가군이 가장 높은 수치를 나타냈다.

이상의 결과를 종합해 볼때, gonadotropin은 생쥐 preantral follicle의 체외발달에 있어서 중요한 역할을 수행하며, 특히 FSH 단독작용보다는 FSH와 LH의 공동작용이 체외배양된 난포의 생존율 및 성숙율에 더 유효한 영향을 미치는 것으로 판단된다.