

을 이용하였다. 난자와 배반포는 1단계로 D-PBS에 ethylene glycol (EG)이 첨가된 항동해제에 2분 30초간 노출시켰으며 그 후 2단계로 EG에 1.0 M sucrose가 첨가된 항동해제에 20초간 노출시킨 후 Grid에 난자를 부착시켰다. 핀셋을 이용하여 난자가 부착된 Grid를 직접액체질소에 침지한 후 이식을 위해 5단계의 sucrose용액에서 각 단계마다 2분 30초 간격으로 서서히 용해시켰다. 생존된 난자는 ICSI방법으로 수정시켰으며, 용해 3일 후나 용해 5~6일 후에 배아이식을 시행하였다. 배반포는 이식 하루 전에 용해하여 배아의 생존능력을 확인 후 이식하였다.

Results: 24명의 환자가 난자의 동결 program에 참여하였고, 41명의 환자가 배반포의 동결 program에 참여하였다. 24명의 환자 중 5명의 환자에게 난자에서 동결 용해한 후 수정시킨 후 배아를 얻어 이식하였고 41명의 환자 중 5명에게 배반포의 이식을 시행하였다. 각각 5명의 환자로부터 난자 96개, 배반포 21개를 회수하였다. 유리화동결시킨 난자의 생존율, 수정율, 분할율은 각각 81.2% (78/96), 50.8% (32/63), 90.6% (29/32)로 관찰되었고, 배반포의 생존율은 61.9% (13/21)였다. 난자를 이용한 환자 5명에서 3명이 임신되었고 이들 중 한 환자는 유산되었고 두 환자는 현재 임신이 진행중이다. 배반포를 이식한 환자는 4명이 임신되었다.

Conclusions: 일반적으로 난자와 배반포의 동결시 항동해제에 노출되었을때 다른 투과성과 독성에 대한 내성을 나타내므로 동결시 서로 다른 항동해제를 사용한다. 그러나 본 연구에서는 빠른 투과성과 낮은 독성을 가진 EG를 난자와 배반포에 동일하게 이용하여 좋은 결과를 나타내었다.

This work was supported by a grant from the INTERDISCIPLINARY RESEARCH PROGRAM of the KOSEF (1999-2-205-002-5).

P-13 인간 배아의 동결 보존 기간이 동결 보존 및 용해 후 생존에 미치는 영향

서울대학교 의학연구원 인구의학 연구소¹, 서울의대 산부인과²

성기침 · 강문주¹ · 김희선¹ · 오선경^{1,2} · 지병철^{1,2} · 구승엽^{1,2}
서창석^{1,2} · 김석현^{1,2} · 최영민^{1,2} · 김정구² · 문신용^{1,2}

Background & Objectives: 인간 전핵 시기와 초기 배아의 동결 보존 기간이 용해 후 배아의 생존에 영향을 미치는지 알아보고자 하였다.

Method: 서울대학교병원 산부인과 불임클리닉에서 1990년 1월부터 1991년 12월까지 체외 수정 및 배아 이식을 시행하고 남은 배아를 냉동 보존한 후 2년 이내에 용해하여 배아 이식을 시행한 환자 69명 79주기와 같은 기간 냉동하여 보존 기간이 10년 이상된 환자 90명 105주기를 대상으로 전핵시기의 배아와 2~4세포기의 초기 배아를 구분하여 용해 후 회수율과 생존율을 비교하였다. 또한 2000년 1월부터 2002년 12월까지의 환자 68명 80주기를 대상으로 하여 보존기간에 따른 배아의 회수율과 생존율을 비교하였다. 사용한 동결 보존액과 용해액은 다음과 같다. - 1990~1991 (Basic solution: dPBS + 20% human cord serum) 동결 보존액: Basic solution + 1.5 M PROH + 0.1 M sucrose - 10 min 용해액: 1단계 - Basic solution + 1.0 M PROH + 0.2 M sucrose - 5min, 2단계 - Basic solution + 0.5 M PROH + 0.2M sucrose - 5 min, 3단계 - Basic solution + 0.2 M sucrose - 5 min - 2000~2002 (Basic solution: dPBS + 20% SSS) 동결 보

존액: Basic solution + 1.5 M PROH + 0.1 M sucrose - 10 min 용해액: 1단계 - Basic solution + 1.0 M PROH + 0.2 M sucrose - 5 min, 2단계 - Basic solution + 0.5 M PROH + 0.2 M sucrose - 5 min, 3단계 - Basic solution + 0.2 M sucrose - 5 min, 4단계 - Basic solution - 5 min 동결 보존액에 10분간 처리하는 동안 배아를 0.25 ml plastic straw에 장진하여 sealing powder로 밀봉하고 자동 세포동결기 (automatic cell freezer; Planer, Model, Model CRYO-10)에서 완만 동결을 시행하였다. 냉각이 완료된 straw는 carrier로 액체 질소통으로 옮겨 서서히 침지하여 -196℃에서 보관하였다. 용해는 액체 질소통에서 꺼낸 straw를 대기 중에 노출시켜 표면의 물기를 제거하고 알콜 거즈로 소독한 후 straw 내의 배아와 동결 보존액을 배양 접시에 부어 해부현미경하에서 배아를 확인한 후 용해액에 처리하여 배양하였다.

Results: 1990년부터 1991년까지 전핵 시기 배아의 동결을 시행한 후 2년 이내에 용해한 배아는 90.5% (390/431)의 회수율과 60.8% (237/390)의 생존율을 보였고, 10년 후에 용해한 배아는 80.8% (257/318)의 회수율과 51.4% (132/257)의 생존율을 보였다. 2000년에서 2002년까지 전핵 시기 배아의 동결을 시행한 후 2년 이내에 용해한 배아는 100% (409/409)의 회수율과 86.3% (353/409)의 생존율을 보였다. 한편, 1990년부터 1991년까지 2~4세포기의 초기 배아의 동결을 시행한 후 2년 이내에 용해한 배아는 95.3% (82/86)의 회수율과 56.1% (46/82)의 생존율을 보인 반면, 10년 후에 용해한 배아는 89.3% (158/177)의 회수율과 12.0% (19/158)의 낮은 생존율을 보였다.

Conclusions: 전핵 시기의 배아보다 난할이 진행중인 배아가 동결 보존 기간이 길어짐에 따라 생존율이 낮아지는 것으로 미루어 전핵 시기의 배아가 동결 보존 기간에 대해 더욱 안정적인 것으로 보여진다. 1990년부터 1991년까지 동결 보존한 전핵 시기 배아의 생존율 (60.8%)보다 2000년부터 2002년까지의 동결 보존한 배아의 생존율 (86.3%)이 높은 것은 동결 보존액과 용해액의 성분 변화와 용해 단계, 회수된 난자의 수, 동결 시간 등 여러 요인의 변화에 의한 것으로 사료된다. 본 연구 결과 전핵 시기의 배아를 장기간 보존하였을 경우 동결 보존 기간이 배아의 생존율에 영향을 미치지 않았음을 확인할 수 있었고, 난할이 진행된 배아보다는 전핵 시기의 배아가 장기간 보존하였을 때 더욱 안정적인임을 알 수 있었다.

P-14 액체 질소를 통한 Virus 전달을 방지하기 위한 인간 성숙난자의 유리화동결법 개발에 관한 연구

포천중문의과대학교 차병원 여성 의학연구소

박성은 · 박은아 · 이우식 · 권 황 · 최동희 · 윤내영 · 고정재
윤태기 · 차광렬 · 정형민

Background & Objectives: 난자의 동결 보존시 동결방법의 선택은 효과적인 난자은행의 개발에 있어 필수불가결한 요소이다. 이전의 연구에서 생쥐의 난자를 ethylene glycol (EG) 항동제로 이용하여 Grid에서 유리화동결 시켰을 때 일반적인 완만동결법보다 동결용해 후 생존율과 배발달율이 높은 것으로 관찰되었다. 그러나 Grid를 이용한 유리화동결법은 항동해제와 난자가 액체 질소에 직접 노출되는 단점이 있다. 이에 액체 질소를 통한 virus 감염을 막기 위해 pulled straw를 이용한 유리화동결법의 효율성을 알아보려고 본 실험을 시행하였다.

Method: 시험관 아기 시술 환자로 부터 채취된 난자들 중 수정에 실패한 난자들을 연구 목적에 따