

난포 한 개가 관찰되었다. HCG 10,000 IU를 근육주한 후 난자를 채취하여 성숙 난자 1개, 미성숙 난자 1개를 채취하였다. ICSI를 시행한 후 수정 2일 째에 5 cell embryo 1개를 자궁에 이식하였다. 임신에 성공하여 2003년 10월 제왕절개수술을 시행하여 2930g의 건강한 남아를 출산하였다.

P-22 생쥐 포배기배아의 냉동보존에 있어 Artificial Shrinking 효과

프라우메디병원 불임연구실

정범식 · 정재돈¹ · 이문희²

Background & Objectives: 본 연구는 과배란 유도에 의해 얻어진 2세포기 단계의 생쥐배아를 체외에서 포배기까지 배양한 다음 micro-manipulator를 이용하여 Artificial shrinking시켜 동결함으로서 그 효과를 알아보고자 실시하였다.

Method: 본 실험에 사용된 생쥐는 ICR 5~6주령으로 PMSG와 HCG를 각각 5 IU씩 48시간 간격으로 투여한 다음 2세포기 단계에서 채취되었다. 채취된 배아는 G1.2과 G2.2의 sequential media를 이용하여 포배기까지 체외에서 배양한 다음 동결을 실시하였다. 동결방법은 slow freezing법과 vitrification법으로 나누어 실시되었고, 이 두가지 방법에서는 artificial shrinking을 유도한 처리군과 그렇지 않은 대조군으로 나누어 조사되었다. Slow freezing에 있어 동결은 PBS + 10% hFF, PBS + 10% hFF + 5% glycerol + 0.2M sucrose, PBS + 10% hFF + 9% glycerol + 0.2M sucrose의 배지에서 각각 5분, 10분, 5분간 침지한 다음 CRYO10 (seriseIII) 동결기를 이용하여 동결하였다. Vitrification에 있어 동결은 PBS + 10% glycerol + 10% hFF, PBS + 10% glycerol + 10% hFF + 20% ethylene glycol, PBS + 25% glycerol + 25% ethylene glycol + 10% hFF의 배지에서 각각 5분간 침지시킨 다음 0.25 ml의 straw에 장착 후 액체질소에 바로 침지시켜 동결하였다. Slow freezing 방법에 있어 용해는 25% hFF가 첨가된 PBS를 기본배지로 하고 이에 sucrose를 0.2 M 첨가한 다음 glycerol을 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0%로 나누어 각각 5분, 6분, 7분, 7분, 6분, 2분간 단계별로 침지하였다가 최종적으로 G2.2배지에서 24시간 추가 배양한 다음 부화율을 조사하였다. Vitrification법에 있어 용해는 PBS + 20% hFF + 0.5M sucrose, PBS + 20% hFF + 0.25M sucrose에서 각각 5분간 침지한 다음 G2.2배지에서 24시간 추가 배양하여 부화율을 조사하였다.

Results: Slow freezing의 경우 Artificial shrinking을 하지 않은 대조군에서 용해 후 생존률은 73.1% 부화율은 59.2%였으며, Artificial shrinking을 한 처리군에서 용해 후 생존률과 부화율은 각각 77.9%, 66.0%로 나타났다. Vitrification의 경우 artificial shrinking을 하지 않은 대조군에서 용해 후 생존률은 75.0% 부화율은 36.1%였으며, artificial shrinking을 한 처리군에서 용해 후 생존률과 부화율은 각각 95.8%, 56.5%였다.

Conclusions: 이상의 결과로 미루어볼 때 slow freezing에서 Artificial shrinking 효과는 생존률과 부화율에 있어 다소 향상된 결과는 있었으나 유의성은 없었다. 그러나 vitrification법에 있어 artificial shrinking 효과는 생존율과 부화율에 있어 유의하게 증가되었다. 따라서 artificial shrinking하여 포배기배아를 동결할 경우 vitrification법을 이용할 경우 효과적인 것으로 사료된다.