

기 전에 포배강을 인위적으로 붕괴시킴으로써 (artificial shrinkage, AS) 얼음결정으로부터 초래하는 물리적인 손상을 제거할 수 있었으며, 이를 바탕으로 인간 포배기배아에 AS를 실시한 후 유리화하여 보존하는 방법이 효과적이라는 것을 증명하였다. 본 연구는 인간 포배기배아의 완만동결법에서 AS를 실시하였을 때 임신율에 미치는 영향을 조사하였다.

**Method:** 2001년 1월부터 2003년 12월까지 체외수정 및 배아이식을 시행하고 남은 배아를 완만동결한 후 융해하여 배아이식을 시행한 473명의 환자들을 대상으로 조사하였다. 그 중 293명에서는 일반적인 완만동결법을 적용하였고 (대조군: 1042 포배기배아), 180명에서는 29G의 주사침으로 AS를 실시한 후 완만동결법을 적용하였다 (AS군: 590 포배기배아). 모든 포배기배아들을 20% (v/v) hFF와 5% (v/v) glycerol이 포함된 DPBS 용액에 5분간 노출한 다음 20% (v/v) hFF, 9% (v/v) glycerol 및 0.2 M sucrose가 포함된 DPBS 용액에서 10분간 노출하였다. 이어 포배기배아들을 0.25 ml plastic straw에 장진하여 밀봉한 후 자동세포동결기 (KRYO-III)에서 완만동결을 시행하였고 동결과정이 완료된 straw는 -196°C의 액체질소에서 보관하였다. 융해는 7단계로 냉동보호제를 제거하는 융해방법을 적용하였다.

**Results:** AS군의 생존율과 부화율은 각각 84.2%와 71.6%로 이는 대조군의 각각 71.5%와 21.1%에 비해 유의하게 높았다 ( $p<0.05$ ). 또한 AS군의 임신율과 착상율은 각각 26.0%와 15.8%로 이는 대조군의 17.1%와 9.4% 보다 유의하게 높은 결과를 나타냈다 ( $p<0.05$ ).

**Conclusions:** 완만동결법에서 포배기배아를 동결하기에 앞서 인위적으로 포배강을 붕괴시키는 것은 생존율과 부화율뿐만 아니라 임신율과 착상율을 높이는데 매우 효과적이다.

## P-13 Silane-coated Sperm Separation Solution을 이용한 정자처리법에 관한 연구

박성진 · 윤효진 · 이석윤 · 윤산현 · 이원돈 · 임진호

마리아병원

**Background & Objectives:** Percoll (Pharmacia, USA)을 이용한 discontinuous density gradient centrifugation은 정액내에서 운동성이 뛰어난 정자만을 분리하기 위해 보편적으로 사용하고 있다. 그러나 PVP-coated silica particle인 Percoll은 수정을 실시한 후 인간배아의 발생을 지해한다고 보고되고 있다. 본 연구에서는 discontinuous density gradient centrifugation을 실시함에 있어, silane-coated spermGrad (Vitrolife, Sweden)의 이용이 정자의 운동성과 침체소실에 어떠한 영향이 있는지를 Percoll과 비교·조사하였다.

**Method:** 정액을 액화시킨 후 WHO의 규정에 따라 정자의 농도와 운동성을 측정하였다. 정상적인 정액상을 보이는 환자들 ( $n=17$ )의 정액을 3등분하여 각각 three-layer Percoll (group 1: 40%~70%~90%), three-layer spermGrad (group 2: 40%~70%~90%), mono-layer spermGrad (group 3: 90%) 방법으로 처리하였다. 액화된 정액을 층의 맨 위에 올려놓은 후 300 G에서 15분간 원심분리한 후 정자괴를 제외한 상층액을 제거하였다. 정자괴를 10% (v/v) hFF가 첨가된 mHam's F-10으로 2회 세척한 후 상층액을 제거하고 정자괴에 0.5 ml의 배양액을 넣어 운동성을 지닌 정자들을 회수하였다. 운동성을 지닌 정자의 회수율과 침체의 손실률을 측정하였다. 침체반응은 fluorescein isothiocyanate-Pisum sativum agglutinin (FITC-PSA)에 의해 각 시료의 슬라이드 각각에서 100마리 이상의 정자를 형광현미경 ( $\times 1000$ )하에서

관찰하였다.

**Results:** 정액을 처리한 후, 운동성을 지닌 정자의 회수율은 group 1에서  $65.4 \pm 11.3\%$ , group 2에서  $71.4 \pm 13.4\%$ , group 3에서  $66.2 \pm 15.3\%$ 로 각 군간의 유의차를 나타내지 않았다. 그러나 첨체의 반응율은 group 1에서  $57.5 \pm 24.5\%$ 로 group 2의  $42.4 \pm 24.8\%$ 와 group 3의  $33.5 \pm 15.6\%$ 에 비해 유의하게 높게 나타났다 ( $p < 0.05$ ).

**Conclusions:** Silane-coated spermGrad는 정액처리시 Percoll의 대체물질로서 적합하며, 또한 mono-layer 방법은 간단하면서도 정자회수와 첨체손실면에서 discontinuous방법과 거의 차이가 없다. 추후 silane-coated spermGrad의 사용에 따른 경제성은 물론 수정률과 임신율에 있어서도 어떠한 영향을 미치는지에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

## P-14 수정방법이 인간 포배기배아의 유리화보관 프로그램의 임상결과에 미치는 영향

김형준 · 이소영 · 윤혜진 · 윤산현 · 이원돈 · 임진호

마리아병원

**Background & Objectives:** 본원에서는 IVF-ET를 실시한 후 포배기배아까지 발생한 잉여배아를 유리화보관 프로그램에 적용하고 있다. 본 연구에서는 수정방법이 유리화보관 및 융해 후 이식결과에 미치는 영향을 조사하였다.

**Method:** 2002년 10월부터 2004년 12월까지 본원의 IVF-ET 프로그램에 참여한 환자들 중 잉여 포배기배아들을 유리화보관한 후 융해이식을 실시한 644주기를 대상으로 하였다. 전통적인 IVF 또는 ICSI를 실시한 후 정상적으로 수정된 배아를 난포액이 첨가된 배양액 (YS + 10% hFF)에서 난구세포와 공동배양하여 포배기까지 발생한 배아들 중에 형태학적으로 양질의 배아만 (C급 이상)을 유리화하여 보관하였다. 포배기배아는 29G의 주사침으로 artificial shrinkage를 실시한 후, EM-grid상에서 유리화보관하였다. 유리화는 20% (v/v)의 난포액과 20% (v/v) ethylene glycol (EG)이 첨가된 DPBS 용액에서 전처리하고, 40% (v/v) EG, 18% (w/v) Ficoll 및 0.3 M sucrose (EFS) 용액이 첨가된 DPBS 용액에 노출하여 실시하였다. 융해는 0.5 M sucrose와 20% (v/v) 난포액이 각각 첨가된 DPBS 용액에 5분씩 노출시키는 2단계 방법으로 시행하였다. 수정방법에 따라 전통적인 IVF-ET를 실시한 후 포배기까지 발생한 군을 group 1 (n=343), ICSI를 실시한 후 포배기까지 발생한 군을 group 2 (n=145), 전통적인 IVF와 ICSI를 병행한 군을 group 3 (n=156)로 나누어 유리화보관한 후 융해하여 결과를 분석하였다.

**Results:** 포배기까지의 발생율은 group 1 (66.9%)이 group 2 (55.5%) 보다 높게 나타났다 ( $p < 0.05$ ). 융해한 후 18~20시간 동안 배양하였을 때 생존율과 부화율은 group 1에서 각각 91.1% (909/998)와 87.1% (792/909), group 2에서 각각 93.9% (401/427)와 91.8% (368/401), group 3에서 각각 89.9% (410/456)와 89.5% (367/410)로 각 군간의 유의한 차이를 나타내지 않았다. 착상율과 임신율 또한 group 1에서 각각 24% (214/891)와 48.1% (165/343), group 2에서 각각 29.5% (117/395)와 54.5% (79/145), group 3에서 각각 24.7% (99/401)와 50% (78/156)로 유의한 차이를 나타내지 않았다.

**Conclusions:** 인위적으로 포배강을 붕괴시킨 후 EM-grid를 사용한 사람 포배기배아의 유리화보관은 누적임신율을 증가시킨다. 그러나 수정방법은 유리화보관 및 융해 후 이식결과에 영향을 미치지 않는