

Adenylate Cyclase (ACi) 첨가가 돼지 난포란 체외 발달율에 미치는 영향

박진기, 이연근, 성환후, 임기순, 이창현, 이향훈,
장원경, 이훈택*, 정길생*

축산기술연구소 유전공학과, *건국대학교 동물자원연구센터

본 연구는 돼지 난포란의 체외성숙시 Adenylate cyclase (ACi) 첨가가 돼지 수정란의 배발달에 미치는 효과를 검토하기 위하여 수행하였다. 돼지 난포란은 0.1% PVA, 3.05 mM D-Glucose, 0.91 mM sodium pyruvate, 0.57 mM cysteine, 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ LH, 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ FSH 그리고 10 ng/ml EGF가 첨가된 TCM-199 배양액에서 ACi를 농도별로 첨가하여 42~44 시간 배양함으로써 체외성숙을 유도하였다. 그리고 ACi가 배발달율에 미치는 효과를 알아보기 위하여 체외수정 medium에 0, 0.1, 1% 첨가한 다음, 체외수정을 유도하고 체외배양을 실시하였다. 체외성숙시 22시간 동안 ACi를 0, 0.1, 1, 및 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 처리한 결과 33.3, 31.5, 34.1, 및 36.0%로 대조구와 처리구간의 통계학적인 유의한 차이는 나타나지 않았다. 그러나 체외성숙시 ACi를 0, 0.01, 0.1, 1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 처리한 결과, 25.5%, 33.3, 26.7, 및 25.6%의 배발달율이 확인되어 유의한 ACi의 처리효과가 확인되었다. 이러한 처리효과는 ACi를 0.01%로 첨한 처리구(배발달율, 33.3%)에서 가장 높게 나타났다. 그리고 체외수정시 caffeine과 ACi를 첨가한 실험에서, 1 mM caffeine과 ACi를 0, 1, 10, 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 첨가한 결과, 대조구(30.4%)에 비해 처리구(40.9, 37.9, 및 43.5%)에서 높은 배발달율을 나타냈다. 으나, 0.5 mM caffeine과 ACi를 0, 1, 10, 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 첨가하는 대조구(37.8%)와 처리구(36.5, 36.0, 및 36.0%)간의 유의한 차이는 나타나지 않았다. 또한 ACi가 배발달율에 미치는 효과를 알아보기 위하여 체외수정 배양액에 0, 0.1, 1% 첨가한 결과는 Table 1에서 보는 바와 같이, 처리구(30.3와 37.0%)가 대조구(22.6%)보다 통계학적으로 유의하게 높은 배발달율을 나타냈다. 따라서 본 연구의 결과는 체외성숙 또는 체외수정용 배양액 내에 ACi를 첨가함으로써 초기배의 발달을 효과적으로 유도할 수 있을 것이며, 앞으로 이러한 기술을 활용한다면 좀더 효율적으로 형질전환 동물이나 복제동물을 생산하게 될 것으로 사료된다.

Table 1. Effect of adenylate cyclase treatment in the fertilization medium on the developmental competence of porcine IVF embryos

Con. of ACi	COCs (n)	Cleaved (%) 2 d.p.i	Blastocyst (%) 6 d.p.i	Blastocyst % of cleaved oocytes
Control	69	53(76.8)	12(17.4)	22.6
0.1	97	76(78.4)	23(23.7)	30.3
1	70	46(65.7)	17(24.3)	37.0

(Key Words) adenylate cyclase, pig, oocytes, IVF, blastocyst