

Catalase 첨가배양이 돼지체외수정란의 배발달에 미치는 영향

한만희, 이경본*, 천행수*, 박병권**, 이규승*, 서길웅*

축산기술연구소, *충남대학교 동물자원학부, **공주대학교 특수동물학과

Catalase(CAT)는 주요한 활성산소(ROS)의 일종인 과산화수소(H_2O_2)가 Hydroxyl 유리기 생성에 관여하지 못하도록 H_2O_2 를 H_2O 및 O_2 로 대사시켜 주는 효소계 항산화제의 한 종류이다. 따라서 본 실험에서는 CAT가 5% O_2 및 20% O_2 조건하에서 1-세포기 돼지체외수정란의 배발달에 미치는 영향을 조사하였다.

돼지난포란을 10% PFF, 0.1mg/ml cysteine, 10IU/ml PMSG, 10IU/ml hCG 및 10ng/ml EGF가 첨가된 NCSU23 배양액에서 22시간 동안 배양을 실시하고, 성선자극호르몬이 배제된 배양액에서 추가로 22시간을 배양하여 체외성숙을 유도하였다. 체외성숙이 유도된 난자는 난구세포를 제거하고, 2.5mM caffeine과 0.1% BSA가 첨가된 mTBM 배양액에 정자를 1.25×10^5 cells/ml의 농도로 5-6시간 동안 공동배양을 실시하여 체외수정을 유도하였다. 체외수정후 1-세포기의 수정란을 0.4mg/ml BSA가 첨가된 NCSU23 배양액에 CAT를 각각 0, 100, 500 및 1,000unit 첨가하여 30 embryos/ 50ul 소적으로하여 38.8°C, 5% CO_2 및 5% CO_2 , 5% O_2 , 90% N_2 조건하의 배양기에서 각각 7일간 배양을 실시하였다. 조사된 결과는 SAS/STAT 6.03 Package를 이용하여 통계분석을 실시하였다.

체외배양 48시간에 난할률을 조사하였을 때, 대조구와 처리구간 차이가 인정되지 않았으나, 배양 7일째 배반포형성률에 있어서는 각각 22.7 ± 2.7 , 22.1 ± 3.9 , 18.7 ± 4.9 , 및 $15.1 \pm 2.5\%$ 로서 처리구가 대조구보다 유의적으로 낮은 결과를 나타냈다. 그리고 산소농도에 따른 배반포형성률은 5% O_2 조건($22.1 \pm 2.4\%$)이 20% O_2 조건($17.2 \pm 2\%$)보다 유의적($P < 0.05$)으로 높은 것으로 나타났다. 총 세포수에 있어서는 각각 44.4 ± 4.0 , 43.3 ± 36 , 25.4 ± 2.4 및 13.4 ± 1.5 로서 처리구가 대조구보다 세포수가 적은 것으로 나타났으며, 산소농도에 따른 차이는 인정되지 않았다. 따라서, 체외생산된 돼지초기수정란을 배양할 때, CAT의 첨가는 효과가 없는 것으로 나타났다.

Key words) 돼지체외수정란, Catalase, 저분압산소조건