PC-11

재래돼지 수정란의 동결보존에 관한 연구

연성흠, 허태영, 강석진, 서국현, 최선호, 이장희, 박성재,
류일선, 김남철, 이규승[1], 박창식[1], 김일화[2], 손동수
농촌진흥청 축산기술연구소, [1]충남대학교 농업생명과학대학, [2]충북대학교 수의과대학

멸종위험성이 높은 재래돼지를 유전자원으로서 안전하게 보존하고 유전적 다양성을 유지하기 위해 체내수정란의 동결보존 방법을 수행하였다. 재래돼지의 과배란유기는 altrenogest를 1일 20㎎씩 18일 경구투여하고 PMSG 500~1,000IU 근육주사후 80시간에 hCG 500~750IU를 근육주사하였다. 발정이 관찰된 개체는 발정개시후 12시간과 24시간에 자연교배 또는 액상정액을 이용하여 2회씩 수정시켰다. 최종 수정후 5일째에 외과적으로 개복수술하여 FBS가 5% 첨가된 D-PBS 관류액으로 자궁으로부터 수정란을 회수하여 상실기, 배반포기, 확장배반포기의 수정란으로 구분하였다. 회수된 수정란은 FBS가 20% 첨가된 D-PBS의 0.4, 0.8, 1.4M glycerol 항동해제에 각 단계별로 10분씩 평형시킨후 수정란동결기(CL863, Australia)를 이용하여 18℃부터 -7℃까지 2℃/min의 냉각속도와 -7℃부터 -35℃까지 0.5℃/min의 동결속도(실험 1), 1℃/min의 냉각속도와 0.3℃/min의 동결속도(실험 2)로 동결시켰다. 또한 FBS가 20% 첨가된 D-PBS의 ethylene glycol(EG) 1.8M의 항동제에 15분간 평형시킨후 실험 1과 동일한 방법으로 동결시켰다(실험 3). 동결수정란의 융해는 37℃의 항온수조에서 30초간 실시하였다. 항동해제로 glycerol을 이용한 수정란은 융해후 3가지 농도로 0.3M sucrose, 0.8M glycerol, 0.4M glycerol을 첨가한 D-PBS에 각각 10분씩 단계적으로 정치시킨 다음, 10% FBS 첨가 mNCSU-23으로 3회 세척했다. 항동해제로 EG를 이용한 수정란은 융해후 즉시 D-PBS에 각각 10분간 정치시킨 다음, 10% FBS 첨가 mNCSU-23으로 3회 세척했다. 항동해제가 제거된 수정란은 FBS가 10% 첨가된 mNCSU-23 배양액에서 39℃, 5% CO_2 배양기에 48시간 배양하면서 생존여부를 판단하였다. 실험 2에서 확장배반포배 수정란이 25.3%의 생존율을 나타내었으며, 실험 1과 실험 3에서는 수정란의 형태와 관계없이 생존성을 확인할 수 없었다. 이상의 결과로 보아 glycerol 완만동결에서는 확장배반포기 수정란 이상이 보존가능한 것으로 추정되나 더 추가적인 연구가 요구된다.

Key Words) *재래돼지, 체내수정란, 동결보존, 생존율*