

P0446

Demecolcine 처리 및 난자의 세포주기가 소 체세포 핵이식란의 발육에 미치는 영향

백진주, 박춘근, 양부근, 김정익, 정희태

강원대학교 동물자원과학대학

본 연구는 소를 이용한 체세포 핵이식에 있어서 탈핵전 demecolcine 처리 및 난자의 세포주기가 재구축배의 생산 및 발육에 미치는 영향을 검토하기 위하여 실시하였다. 도축장에서 회수한 난소로부터 채취한 미성숙란을 각 실험에 따라 성숙배양한 후 실험에 이용하였다. 난구세포 제거 후 일부 난자를 0.4 ug/ml의 demecolcine이 함유된 배양액으로 40분간 처리하여 핵이식에 이용하였으며, 극체 미방출란 및 MI기 난자에 demecolcine을 처리하여 미성숙난자의 핵이식 이용 가능성을 검토하였다.

Demecolcine으로 처리한 핵이식란의 배반포 형성율은 20.5%로 대조구의 18.2%와 차이가 없어 demecolcine 처리가 핵이식란의 발육에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 그러나 demecolcine을 처리하여 제 1극체와 chromosome mass만 제거하는 방법으로 탈핵을 실시한 경우가 demecolcine의 처리 없이 제1극체와 주위의 세포질을 소량 흡인하는 일반적인 탈핵방법으로 탈핵을 실시한 대조구보다 유의적으로 높은 탈핵율을 나타내었다 (98.9% vs. 74.8%; $p < 0.01$). 체외 성숙 20시간에 극체 방출난자 및 극체 미 방출 난자로 나누어 핵이식 한 실험에서는 극체 미 방출 난자를 이용한 복제란의 발육능이 극체 방출난자를 이용한 복제란에 비하여 유의적으로 낮았다 (4.6% vs 18.2%; $p < 0.01$). 한편, 성숙배양 후 16시간째의 MI기 난자와 20시간 후의 MII기 난자에 핵이식 후 발육능을 비교한 결과 demecolcine으로 처리 후 chromosome mass의 돌출율은 MI기 난자의 경우 79%, MII기 난자의 경우 88.8%로 나타났으며, 배반포 발육율은 MI기 난자가 MII기 난자보다 현저히 낮았다(5.9% vs 23.9%; $p < 0.01$).

본 연구의 결과 demecolcine의 처리에 의해 난자의 탈핵율을 높일 수 있었으며, 비록 저조하기는 하지만 미성숙란을 핵이식에 이용할 경우도 배반포 형성이 가능한 것으로 확인되었다.

Key words: *Demecolcine, Enucleation, Nuclear Transfer, Cell cycle stage*