

P0461

## 재래산양의 체내 및 체외유래 난자의 활성화 처리방법이 체외발달에 미치는 영향

박희성, 김태숙, 이윤희, 정수영, 진종인, 이지삼, 김충희, 정장용

진주산업대학교 동물생명과학과· 동물생명산업지역협력연구센터

재래산양은 우리나라 고유의 유전자원으로서 첨단생명공학 연구에 매우 적합한 동물이다. 본 연구는 동물복제 및 형질전환동물 생산 등의 연구에 기초자료를 제공하고자 재래산양의 체내 및 체외유래 난자에 단위발생을 유도하여 회수난자의 조건, 활성화방법, 배양조건 등이 단위발생란의 체외발달율에 미치는 영향을 조사하여 최적의 배양조건을 확립하고자 실시하였다. 난자의 회수는 체중 15 ~ 25 Kg 전·후의 성숙한 미경산 재래산양에 FSH와 PMSG를 사용하여 과배란을 유도하였다. hCG 투여 후 제 35시간째에 외과적인 방법으로 *in vivo* (체내성숙) 난자는 난관을 관류하는 방법으로 회수하였으며, *in vitro* (체외성숙)난자는 난포로부터 흡입하는 방법으로 난포란을 채취하여 약 22시간 체외성숙을 실시하였다. 활성화 처리는 전기자극법과 ionomycin + 6-DMAP를 처리하여 단위발생을 유도하였다. 복제수정란의 배양은 M16, TCM-199 및 mSOF 배양액으로 6 ~ 7일 동안 체외배양을 실시하였다.

활성화를 유도하기 위하여 전기자극 및 ionomycin + 6-DMAP 처리를 하였을 때 분할율은 각각 64.1 및 76.5%로서 이들간에 차이는 없었다. 배반포기로의 발달율은 전기자극방법으로는 전혀 발달이 이루어지지 않았으나, ionomycin + 6-DMAP 처리방법에서는 15.6%가 배반포로 발달하였다. *In vivo* 난자와 *in vitro* 난자를 활성화를 유도하였을 때 분할율은 86.8 및 69.0%로서 이들간에 유의적인 차이는 없었다. 4-세포기(93.9% vs 66.1%), 8-세포기(90.9% vs 37.0%) 및 상실배기(89.4% vs 23.6%)는 이들간에 유의적( $P < 0.05$ )인 차이가 있었으며, 배반포기로의 발달율은 체내성숙난자가 50.0%로서 체외성숙난자의 0.8%보다는 유의적으로 높았다. 활성화를 유도한 난자를 mSOF 배양액으로 체외배양을 실시하였을 때 분할율은 81.0%로서 TCM-199 + oviduct cell의 64.3% 및 M16 배양액의 51.6%보다는 높게 나타났다. 배반포기로의 발달율은 mSOF 배양액에서는 23.4%가 발달하였으나, TCM-199 + oviduct cell 배양액과 M16 배양액에서는 전혀 발달이 이루어지지 않았다. 이상의 결과로 볼 때 재래산양의 활성화 처리는 ionomycin과 6-DMAP 병용처리가 적합하며, 단위발생란의 체외배양은 mSOF 배양액이 적합한 것으로 생각된다.

**Key words:** 단위발생, 전기자극, ionomycin, 6-DMAP, mSOF, 재래산양