

P0487

재래산양에 있어서 핵이식란의 융합조건이 융합 및 체외발달에 미치는 영향

박희성, 김태숙, 이윤희, 정수영, 이명열, 홍승표, 박준규, 김충희, 정장용

진주산업대학교 동물생명과학과· 동물생명산업지역협력연구센터

오늘날 생명공학기술의 눈부신 발달로 인하여 우리나라 재래산양은 그 모델동물로서 번식·생리학적으로 매우 중요한 가치를 지니고 있을 뿐만 아니라 고유의 유전자원 보존 측면에서도 산양복제와 같은 다양한 연구를 통하여 개량체계의 확립이 절실히 요구된다. 본 연구는 우량가축의 증식, 인간의 질병치료 및 멸종위기동물의 종보존 등에 활용할 수 있는 기초자료를 얻고자 재래산양의 핵이식을 실시하여 공여세포의 조건, 전기적 세기 및 융합횟수 등이 융합율과 체외발달율에 미치는 영향을 조사하였다. 공여세포는 귀 유래 섬유아세포와 태아 유래 섬유아세포를 분리 배양하여 사용하였으며, 수핵란의 채취는 체중 15~25Kg 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 채취한 다음 약 22시간 체외성숙을 실시하였다. 수핵난자는 난구세포를 제거한 다음 0.05 M sucrose를 처리하여 세포질이 양호하고 극체가 뚜렷하게 보이는 난자만을 선별하여 zona drilling을 한 다음 핵이식을 실시하였다. 핵이식란의 융합은 전기자극방법으로 실시하였으며, 융합이 이루어진 핵이식란의 활성화 처리는 핵이식 조작 후 약 3시간 동안 전배양을 실시한 다음 전기자극법과 약물처리 방법을 사용하여 활성화를 유도하였다. 복제수정란의 배양은 10% GS가 첨가된 M16 배양액과 0.8% BSA가 첨가된 mSOF 배양액으로 체외배양을 실시하였다.

귀 유래 섬유아세포를 공여세포로 사용하였을 때 융합율은 60.4%로서 태아 유래 섬유아세포의 40.3%보다는 높게 나타났다. 분할율에 있어서는 귀 유래 섬유아세포와 태아 유래 섬유아세포가 각각 47.6 및 48.2%로서 유의적인 차이가 없었다. 2.40~2.46 kv/cm로 전기자극을 주었을 때 융합율은 43.8%로서 1.30~1.40 kv/cm(26.7%)와 2.30~2.39 kv/cm (34.8%)보다 높게 나타났으며, 융합이 이루어진 핵이식란의 분할율은 82.9(1.30~1.40 kv/cm), 43.8(2.30~2.39 kv/cm) 및 51.8%(2.40~2.46 kv/cm)로서 전기자극의 세기에 따른 유의적($P < 0.05$)인 차이는 없었다. 전기융합을 1회 실시하였을 때 *in vivo* (체내성숙난자)는 43.5%로서 *in vitro* (체외성숙난자)의 23.6%보다 유의적으로 높게 나타났으며, 2회 실시하였을 때는 55.7(*in vivo*) 및 39.2%(*in vitro*)로 *in vivo*에서 높게 나타났다. 3회 실시하였을 때 전체 융합율은 *in vivo*가 66.1%로서 *in vitro*의 52.8%보다는 유의적으로 높게 나타났다.

Key words: 섬유아세포, *In vivo*와 *In vitro*, 핵이식, 융합, mSOF, 재래산양