

돼지 난포란의 단위발생에 있어서 성숙배양시간과 체외배양액이 미치는 영향

김현중, 최선호, 한만희, 조상래, 손동수,
류일선, 김인철, 이장희, 김일화¹, 임경순²

축산연구소, ¹충북대학교 수의과대학, ²한국생명과학연구소

본 실험은 체외정자세포생산연구의 체외정자세포 발생능검사를 위한 예비실험으로 실시되었다. 도축난소에서 회수한 난모세포를 체외성숙을 통해 활성화 자극으로 이식가능한 배반포기까지 발생율을 높이는 방법을 검토하였다. 도축돼지에서 회수한 난소들을 생리식염수에 담긴 상태로 실험실로 이동하여 10cc 주사기에 18G 주사침을 부착하고 2~6mm 난포에서 난모세포를 채취하였다. 채취된 난모세포를 100mm 디쉬에서 회수하여 DPBS로 3번 세척하고 TCM199에 10% FCS와 0.5 μ g/ml FSH를 첨가하여 성숙배양하였다. 성숙배양 48시간 후 난구세포들을 제거하고 DPBS에 7% ethanol을 첨가하여 7분간 활성화처리 후 cytochalasin B가 5 μ g/ml 첨가된 TCM199에 5시간 유지시켜 제 2극체의 방출을 억제하여 염색체수를 2배체로 유지시켰다. cytochalasin B가 첨가된 배양액에서 TCM199과 NCSU23 배양액으로 활성화처리된 난모세포를 이동하여 7일간 배양하여 배 발달율을 검사한 결과 TCM199에 배양한 경우 분할율은 26.3%, 배반포발달율은 0%였으나 NCSU23에 배양한 경우 분할율은 42.6%, 배반포발달율은 3%로 나타났다. TCM199에서는 배반포기로 발달하지 못했으나, NCSU23에서는 배반포기로 발달 후 일부 배반포는 부화하였다. 성숙배양을 48, 52, 56, 60, 64, 68, 72시간 실시한 후 활성화처리하여 배발달율을 관찰한 결과 분할율은 각각 66, 68, 71.7, 53.3, 48.9, 51, 34.8%, 배반포발달율은 6, 10, 18.3, 13.3, 11.9, 15.7, 7.2%로 나타났다. 이상에서 돼지난포란를 7% ethanol로 활성화 처리하고 cytochalasin B로 배수체를 만들었을 때, NCSU23은 배반포기까지 배발달을 유지하였으며, 성숙배양은 난모세포가 노화된 시점에서 68시간까지는 배발달에 영향이 적은 것으로 사료된다.

Key words) 돼지, 난포란, 체외성숙시간, 단위발생, 배양액