

## Protein Kinase 억제제가 소 난구복합체의 체외성숙시 mitochondria 활성화에 미치는 영향

최선호, 조상래, 김현중, 최창용, 손동수, 김영근, 정연길<sup>1</sup>

축산연구소 가축유전자원시험장, <sup>1</sup>ET 바이오텍

Protein Kinase A(PKA)와 Protein Kinase C(PKC)는 돼지 난구복합체의 체외성숙시 plasminogen activator의 생산을 촉진한다고 하였으며, PKA와 PKC는 돼지 난자의 단위발생을 유도한다고 하였다. 따라서 본 연구는 소 난구복합체의 체외성숙시 PKA억제제(H89)와 PKC억제제(H7)가 세포질내의 미토콘드리아 활성화에 미치는 영향에 대하여 조사하였다. 도축암소의 난소로부터 소 난구복합체를 채취하여 TCM199를 기본배양액으로 0.1% PVA, 50uM H89, 50uM H7를 첨가하여 5% CO<sub>2</sub>, 95% 공기, 39 에서 6, 12, 24시간동안 체외성숙을 시도하였다. 소 난구복합체의 핵형을 조사하기 위하여 0.5% hyaluronidase 용액으로 난구세포를 용해하고, 난자는 1:3 acetic acid, ethanol 용액에 30초간 고정하고, 3% basic Fuchsin을 염색하여 핵형을 관찰하였다. 체외성숙된 난자의 fluorescent intensity (FI)를 측정하기 위하여, 핵형관찰시 수행한 것과 동일한 방법으로 난구세포를 제거하고, 10ul/ml Rhodamine 123로 15분간 염색을 실시하였다. 체외성숙된 난자의 미토콘드리아의 FI는 laser confocal 현미경(Fluoview, Olympus, Japan)을 이용하여 측정하였고, 난자의 중앙부에서 정점까지를 5 um의 두께로 측정하였다. 체외성숙된 난자의 핵형에 대한 통계분석은 3반복을 하여 얻어진 결과를 ANOVA로 분석하였고, 체외성숙된 난자의 FI는 Fisher의 LSD를 이용한 다중검정법을 이용하여 분석하였다. TCM199를 기본배양액으로 0.1% PVA, 50uM H89, 50uM H7를 첨가하여 24시간동안 체외배양하여 MII에 도달한 것은 각각 73.8±8.6%, 0±0%, 69.2±16.5%를 나타내었으며, 처리간에 극도의 유의차를 나타내었다(P<0.01). 0.1% PVA로 체외성숙시 FI는 체외성숙 시간에 따라 증가하는 경향을 나타냈다. 반면에 H7의 경우는 배양시간에 관계없이 변화가 없었으며, H89의 경우는 배양시간 6시간의 FI의 2-3배가 감소하는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 PKA 억제제는 소 난구복합체의 체외성숙을 억제하며, 그에 따라 미토콘드리아의 활성을 억제하는 것으로 나타나, protein kinase는 소 난구복합체의 체외성숙에 중요한 역할을 하는 것으로 사료된다.

keywords: 소 난구복합체, 체외성숙, Protein kinase, 미토콘드리아