

P-44

돼지 동결정액을 생산하는데 사용되는 동결액의 반복동결융해 영향

김현종, 최선호, 손동수, 조상래, 최창용,
김성재, 최순호, 상병돈, 김영근, 김일화

농촌진흥청 축산연구소 가축유전자원시험장, 충북대학교 수의학과

본 실험은 돼지동결정액을 생산하는데 사용되는 동결보존액을 매번 신선하게 제조하는데 발생하는 작업의 번거로움과 생산된 동결정액의 활력검사에서 난황입자들로 인한 정자활력 확인의 어려움을 해결하기위해 원심분리하여 상층액을 동결보존하여 반복적으로 사용하는 방법이 정액의 동결성에 어떤 영향을 미치는지를 검토하였다. 1차 동결액은 lactose 110g을 초순수로 녹여 0.7Liter가 되게 맞춘 후 0.22 μ m 필터 하였다. 신선한 계란의 난황만을 모아 0.3Liter를 추가하여 총량이 1 Liter가 되게 한 후 실험처리별로 3000, 4000, 그리고 5000 rpm으로 30분간 원심분리하여 상층액을 분리하였다. 2차 동결액은 1차 동결액 100ml에 글리세롤 6 ml와 OEP 1ml를 추가하여 제조하였다. 제조된 1차 동결액과 2차 동결액을 50ml 튜브에 분주하여 -20 $^{\circ}$ C 냉동고에 보관하여 사용하였다. 요크셔 종모돈의 정액을 채취하여 BTS 희석액으로 10배 희석한 후, 1500rpm으로 15분간 원심분리하여 정자펠렛에 1차 동결액을 정자농도가 8×10^7 cells/ml되게 희석한 후 활력을 검사하였다. 재부유된 정액을 5 까지 2시간에 걸쳐 서서히 냉각하여 냉각된 1차 동결액에 glycerol과 OEP가 첨가된 2차 동결액을 최종농도가 5×10^7 cells/ml가 되게 4회에 걸쳐 균등하게 첨가한 후 정자의 활력을 검사하고, 0.5cc 스트로에 충전하였다. 스트로를 액체질소 상단 15cm에 놓고 15분간 냉각시킨 후 액체질소에 침지하였다. 37 $^{\circ}$ C 수조에서 융해 후 정자활력을 검사하였다. 모든 정자활력은 SAIS 영상프로그램 (Medical Supply, Korea)을 이용하였으며, 현미경으로 다시 한번 확인하였다. rpm 별로 제조한 동결액으로 희석 후, 5 $^{\circ}$ C 냉각 후, 동결 융해 후 활력을 검사했을 때 3000rpm 처리에서 82, 74, 52%와 4000rpm 처리에서 82, 70, 52%, 그리고 5000rpm처리에서 82, 74, 58%로 차이가 없었으며, 제조 후 1회 융해하여 사용한 결과와 하루 간격으로 2회, 3회 융해동결을 반복한 후 사용한 정자의 활력도 72, 65, 40%와 71, 55, 40%, 그리고 73, 55, 44%로 차이가 없었다. 이상의 결과로 정액을 동결보존하는데 매 시기마다 동결보존액을 만들어 사용할 필요 없이 동결보존액을 대량 제조하여 사용하여도 차이가 없음을 확인하였다.

Keywords: 돼지, 동결정액, 동결보존액, 동결보존, 반복융해