

## 돼지에서 정액 성상 및 인공수정 분만율과 염색질 구조 분석(SCSA)과의 상관관계에 관한 연구

유재원\*, \*\* . 김인철\*\*\* . 이장희\*\*\*\* . 조규호\*\*\* . 지달영\*\*\*\*\* . 이주형\*\*\* . 김 일\*\*\*\*\* . 이종완\*\*\*\*\* . 윤희진\*\*\*\*\* . 방명걸\*, \*\* . 류범용\*, \*\* . 정영채\* . 김창근\*, \*\*  
중앙대학교 동물자원과학과\*, 중앙대학교 생명환경연구원\*\*, 농촌진흥청 축산연구소\*\*\*, 바이오컬처\*\*\*\*, 공주대학교\*\*\*\*, 서울대공원\*\*\*\*\*, 다비육중\*\*\*\*\* 연변대학교\*\*\*\*\*

## Studies on Correlation Among Sperm Characteristics, Farrowing Rates by AI and Chromatin Structure in Boars

J. W. Ryu\*, \*\*, I. C. Kim\*\*\*, J. H. Lee\*\*\*\*, G. H. Cho\*\*\*, D. Y. Gi\*\*\*\*\*, J. H. Lee\*\*\*, I. Kim\*\*\*\*\*, J. W. Lee\*\*\*\*\*, H. J. Yun\*\*\*\*\*, M. G. Pang\*, \*\*, B. Y. Ryu\*, \*\*, Y. C. Chung\* and C. K. Kim\*, \*\*  
Department of Animal Science & Technology\* and BET Research Institute, Chung-Ang University\*\*, National Livestock Research Institute, R. D. A., Korea\*\*\*, Bioculture Inc\*\*\*\*, Kong-Ju National University\*\*\*\*\*, Seoul Grand Park\*\*\*\*\*, Darby Genetics Inc.\*\*\*\*\* Yanbian University\*\*\*\*\*

### ABSTRACT

This study was designed to investigate between the semen characteristics and sperm chromatin structure in boar with different farrowing rates and relationship between fertility by AI and results of sperm chromatin structure assay (SCSA). The CASA (computer-aided sperm analysis) and SCSA were performed with liquid semen in boars. The all SCSA parameters based on the farrowing rates by AI were significantly differ ( $P<0.05$ ). The significant negative correlations ( $P<0.05$ ) were observed between all SCSA parameters and farrowing rate obtained by AI in the field. In conclusion, these results suggest that the sperm parameters evaluated in these studies may be useful indicators to predict the fertility by AI. (**Key words** : Sperm chromatin structure assay; SCSA, Fertility, Boar)

### I. 서론

돼지의 인공수정은 최근 15년간 급속히 발전하였고, 보편적인 번식 방법으로 이용되고 있다. 인공수정 과정에서 정액의 질을 평가하기 위해 정자의 농도, 운동성, 생존율, 기형을 등의 평가에 주안점을 둔 정액 검사 방법이 널리 사용되고 있다. 그러나 이러한 일반적인 정액 검사 방법은 수정 능력에 관한 정자의 기능적 측면을 충분히 반영하지 못하는 것으로 알려져

있다(Gadea, 1998). 인공수정을 통한 수태율, 분만율, 산자수 등에 관한 분석은 종모돈의 수정 능력(fertility)을 평가하는데 있어서 보다 정확한 정보를 얻을 수 있는 유용한 방법이다(Hammit 등, 1989, Galli 등, 1988; Gadea 등 2000). 그러나 인공수정을 이용하여 수정 능력을 측정하는 것은 많은 시간과 경제적 비용이 소요될 뿐만 아니라 시술자, 동물의 사육 환경 등에 의해 오차가 발생할 수 있다. 따라서 인공수정의 효율을 증진시키기 위하여 종모돈의 수정 능력을

Corresponding author : C. K. Kim, Dep. of Animal Science and Technology, College of Industrial Sciences, Chung-Ang University, Ansong-Si Kyunggi-Do 456-756 Korea.  
Tel : 031-670-3026 E-mail : cckim7503@cau.ac.kr

간편하고 정확하게 평가 할 수 있는 검사법의 개발이 요구되고 있다. 현재까지 정액의 수정 능력을 효율적으로 평가할 수 있는 방법에 대한 많은 연구들이 진행되어 왔으며, 정자 원형 질막 활성(Pérez-Llano 등, 2001), 정자의 난자 내 침투 능력(Gadea 등, 1998), 침체의 상태, 침체반응, 난관상피세포 부착 반응(Waberski 등, 2005), 정자의 난자 투명대 부착 반응, 정자 염색 질 구조 분석(SCSA, Evenson 등, 1980 ; Gillian 등, 2005 ; Gry 등, 2004, 2005) 등이 보고되었다.

그 중 SCSA는 정자 염색질의 안정성을 알아보기 위한 방법으로서 정자형성 과정 중 어떤 결함에 의하여 정자핵의 DNA 구조가 불안정한 정자는 외부 환경에 따른 염색질 DNA의 손상이 쉽게 야기된다. SCSA는 이러한 정자의 특성을 고려하여 인위적으로 고온, 강산 또는 강염기 처리 등을 통하여 정자 염색질의 변성을 유도하고 AO(acridine orange) 염색 후 flow-cytometer를 이용하여 인위적인 처리에 반응하여 DNA가 변성된 정자의 빈도를 측정하는 방법이다.

FCM을 이용한 SCSA는 현미경을 이용한 정액의 검사법과 비교하여 많은 수의 정자를 보다 객관적으로 평가할 수 있다는 측면과 정자 분석에 있어서 염색질 수준의 구조적 이상을 분석할 수 있다는 측면에서 큰 장점을 지니고 있다. 최근에는 SCSA 방법을 이용하여 사람(Evenson 등, 1980, 1999, 1993), 소(Bochenek 등, 2001), 말(Love 등, 2005, 2002), 돼지(Gillan 등, 2005)의 정액을 대상으로 분석을 실시한 결과 정자 염색질의 구조적 이상이 정자의 수정능력 저하와 유의한 상관관계가 있다고 보고되었다.

본 연구는 종모돈의 정액 정상 및 인공수정에 따른 분만율과 SCSA와의 관계를 조사하여 SCSA와 종모돈의 수정 능력과의 관계를 구명코자 하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 공시 재료

인공수정센터에서 정액 생산용으로 이용되고

있는 15개월령 이상의 종모돈 중 개체 별 인공수정 번식 성적을 가지고 있는 종모돈 26두(Duroc : 8, Yorkshire : 7, Landrace : 11)의 정액 정상 기록과 번식성적을 분석 하였고, 액상정액을 공시하여 운동성 분석과 SCSA를 실시하였다.

### 2. 정액의 처리

정액은 인공수정 센터에서 액상 정액으로 제조된 후 17℃ 보관고에 담아 2시간 내에 실험실로 운반하여 정액 검사를 실시하였다. 정액의 일부를 0.5 ml straw에 포장하여 -196℃에서 보관한 후 SCSA를 실시하였다(Evenson 등, 1994).

### 3. 정자 운동성 양상 분석

정자 운동성 양상 분석(CASA ; computer assisted sperm analysis)은 정액 1.5 ml을 취하여 37℃수조에서 30분간 배양시키고 37℃로 예열된 Makler counting chamber(Sefi-Medical, Israel) 위에 정액 10 $\mu$ l을 떨어뜨린 후 CCD 카메라(Toshiba, Japan)가 부착된 광학 현미경(Olympus, Japan)에 연결된 SAIS system (Medical Supply Co. Ltd., Korea)을 이용하여 분석하였고, CASA의 초기 설정은 Zeng 등(2001)의 방법에 준하여 실시하였다.

### 4. 정자 염색질 구조 분석(SCSA)

#### (1) 정액의 처리 및 AO 염색

-196℃에 동결하여 보관된 정액을 37℃ 온수에 15초간 용해하고 PBS액으로 희석하여 2회 원심 분리(600 $\times$ g, 10 min)하여 정자 괴를 농도가 1 $\times$ 10<sup>6</sup>/ml되게 재 부유하였다. SCSA를 위한 정자 처리와 염색은 Evenson 등(1990)의 방법에 준하여 실시하였다.

#### (2) Flow cytometer 측정

488 nm, 35 mW laser beam과 sorter sensor unit이 장치된 FACS-Calibur Flow cytometer (Becton Dickinson, USA)를 사용하였다. Parameter는 Forward Scatter, Side Scatter를 이용하여 초기

설정을 조절하였고, Fluorescence는 525BP filter (green) 및 675BP filter(red)와 550DL을 이용하여 측정하였고, 분석 자료는 List mode file로 저장하였다.

(3) 자료 분석

자료 분석 전에 정자를 제외한 기타 세포들은 Red-green fluorescence cytogram에서 Fig. 1과 같이 제거하였고 구조적 이상을 갖는 Chromatin의 비율은 분석된 각각의 정자들로부터 얻어진 at 값[red(denatured DNA)/ [green(native DNA) + red fluorescence]]에 기초하여 계산하였다. 각각의 시료로부터 얻은 List mode file은 WinList 5.0 Software(Verity Software house, Inc. USA)를 이용하여 Fig. 2와 같이 COMP at, SD at, % R, % PeakR 값을 구하였다. at histogram (Fig. 2a)에서는 COMP at (at기준치 값의 주 집단으로부터 벗어난 high red fluorescence를 갖는 정자의 비율)와 SD at (전체 at 기준치로 계산된 at 기준치의 표준 편차)를 계산하였고, red fluorescence histogram (Fig. 2b)에서는 % Red (red fluorescence 상에서 주 집단으로부터 벗어난 정자의 비율)와 % PeakR (peak channel로부터 high red fluorescence를 갖는 정자의 비율)을 계산하였다(Bochenek 등, 2001).

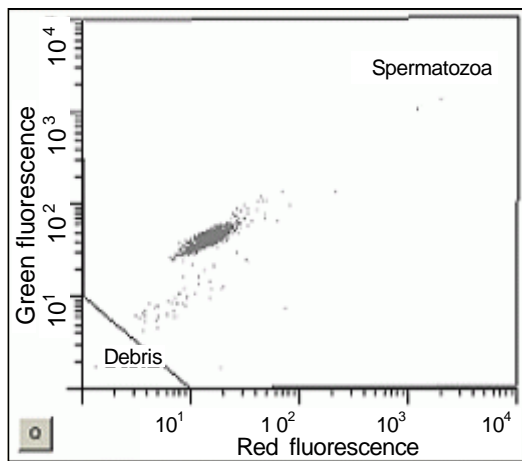


Fig. 1. Green vs. red fluorescence cytogram. Spermatozoa with abnormal chromatin show shifted red fluorescence.

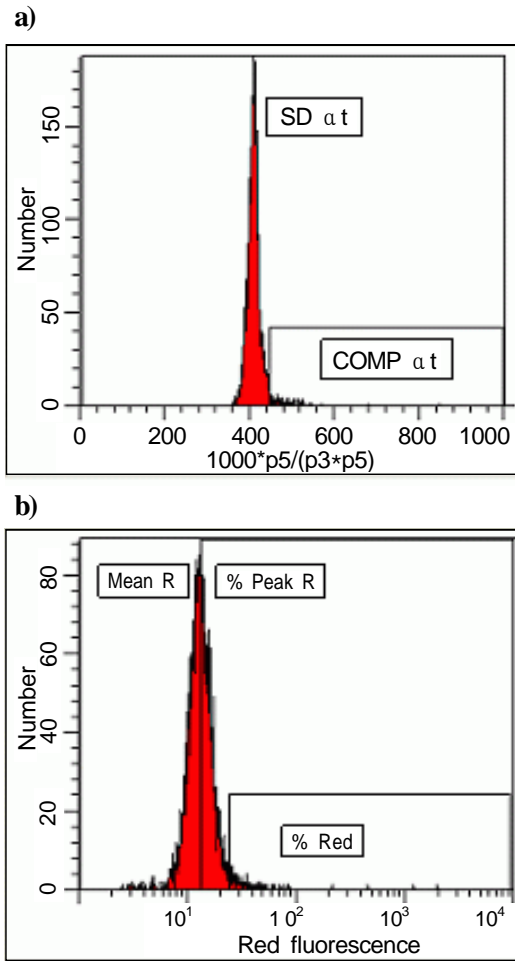


Fig. 2. Parameters calculated for each samples.

5. 통계 분석

실험 결과에 대한 통계 분석은 SAS의 GLM (General Linear Model)을 이용하여 분석하였고, 각 항목간의 상관은 Pearson's Correlation Test를 실시하였고, 처리 구간의 유의성 검정은 Duncan's multiple range test를 실시하였다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

인공수정 분만율에 따라 3개의 종모돈 군 (80% 이상, 80-70% 및 70% 미만)으로 나누어 정액의 운동성 양상 분석과 SCSA를 분석한 결과는 Table 1 및 2에 나타난 것과 같다. 정액의

CASA를 이용한 운동성 분석 결과는 분만율에 따른 종모돈 집단 간에 유의적인 차이는 인정되지 않았다. 종모돈의 분만율에 따른 각 집단에서 산자수는 11.1두, 10.3두 및 9.5두로 분만율이 가장 낮은 종모돈 군은 가장 높은 종모돈 군에 비하여 산자수가 유의하게 적었다(P<0.05).

분만율에 따른 종모돈의 염색질구조를 분석한 결과 COMP at 값과 SD at 값은 각각 1.2, 2.6 및 4.4 그리고 14.4, 17.6 및 35.5로 분만율이 높을수록 COMP at 값은 낮게 나타났고, 분만율이 가장 낮은 종모돈 군과 다른 두 군 간에 유의적인 차이를 보였다(P<0.05). 또한 % Red 값(2.6, 2.3, 5.5), % Peak R 값(39.8, 45.4, 56.0), % Mean R 값(18.8, 18.1, 24.0)에서도 분만율이 가장 낮은 종모돈 군과 다른 두 군 간에 통계

적으로 유의한 차이를 나타냈다(P<0.05).

종모돈의 정액 차수에 따라 8주간 6회 채취한 정액에서 채취 횟수에 따른 정액 성상과 SCSA를 조사한 결과는 Table 3과 같으며, 채취 차수에 따른 SCSA 결과의 차이는 나타나지 않았다.

인공수정 후 분만 성적과 염색질 구조 분석 결과와 상관관계를 조사한 결과는 Table 4에 나타난 것과 같다. 종모돈의 분만율과 SCSA 결과와의 상관관계에 있어서 COMP at (r=-0.81, P<0.05), SD at (r=-0.76, P<0.01), % Red (r=-0.40, P<0.05), % Peak R (r=-0.55, P<0.05), Mean R (r=-0.53, P<0.01)는 모두 분만율과 부의 상관관계를 나타냈다. COMP at와 산자수 간에(r=-0.32, P<0.05)는 낮은 부의 상관관계를 나타냈다.

SCSA parameter간의 상관은 COMP at와 SD at

Table 1. Sperm movement characteristics among 3 boar groups with different farrowing rates

Farrowing rate <sup>1)</sup> (n = boar, sow)	Motility (%)	VCL( $\mu\text{m/s}$ ) <sup>2)</sup>	VSL( $\mu\text{m/s}$ ) <sup>3)</sup>	VAP( $\mu\text{m/s}$ ) <sup>4)</sup>	LIN <sup>5)</sup>
>80%(7, 256)	81.1 ± 10.0	129.7 ± 23.7	67.7 ± 8.6	75.5 ± 8.8	52.7 ± 4.4
80-70%(9, 745)	83.6 ± 8.8	142.1 ± 24.2	77.4 ± 7.0	82.6 ± 9.6	55.0 ± 4.7
<70%(10, 293)	86.7 ± 6.4	127.6 ± 25.3	78.0 ± 7.4	81.5 ± 10.7	52.8 ± 6.6

Values are means ± SD. No significant differences for all parameters.

<sup>1)</sup> Sows were inseminated with  $3 \times 10^9$  sperm 12h and 24h after detection of estrus and semen was used within 24h for analysis and 72h for insemination after collection ; <sup>2)</sup> Curvilinear Velocity ; <sup>3)</sup> Straight Line Velocity ; <sup>4)</sup> Velocity of Average Path ; <sup>5)</sup> Linearity.

Table 2. Comparison of SCSA parameters among 3 boar groups with different farrowing rates

Farrowing rate <sup>1)</sup> (n= boar, sow)	COMP at	SD at	% Red	%Peak R	Mean R	Liter size
>80%(7, 256)	1.2 ± 0.2 <sup>a</sup>	14.4 ± 1.6 <sup>a</sup>	2.6 ± 1.5 <sup>a</sup>	39.8 ± 7.8 <sup>a</sup>	18.8 ± 2.2 <sup>a</sup>	11.1 ± 2.2 <sup>a</sup>
80-70%(9, 745)	2.6 ± 0.6 <sup>a</sup>	17.6 ± 5.0 <sup>a</sup>	2.3 ± 0.6 <sup>a</sup>	45.4 ± 8.1 <sup>a</sup>	18.1 ± 2.5 <sup>a</sup>	10.3 ± 0.7 <sup>ab</sup>
<70%(10, 293)	4.4 ± 1.6 <sup>b</sup>	35.5 ± 15.6 <sup>b</sup>	5.5 ± 3.3 <sup>b</sup>	56.0 ± 8.6 <sup>b</sup>	24.0 ± 5.3 <sup>b</sup>	9.5 ± 1.2 <sup>b</sup>

Values are means ± SD.

<sup>1)</sup> Sows were artificially inseminated with  $3 \times 10^9$  sperm 12h and 24h after detection of estrus. Semen was used within 24h for analysis and 72h for insemination after collection.

<sup>a,b</sup> Means with different superscript in the column were significantly differ(P<0.05).

Table 3. Semen characteristics and SCSA from 1st to 6th ejaculated semen

Ejaculation record <sup>1)</sup>	Motility (%)	Volume (ml)	Concentration ( $\times 10^8/\text{ml}$ )	COMP at	SD at	%Red	%Peak R	Mean R
1st - 2nd	87.7 ± 1.4	238.8 ± 70.0	5.7 ± 2.4	2.5 ± 2.9	20.2 ± 14.3	4.3 ± 4.9	48.3 ± 7.8	16.9 ± 3.8
3rd - 4th	88.1 ± 0.7	235.9 ± 51.9	6.1 ± 2.6	2.9 ± 2.6	21.8 ± 14.4	4.3 ± 4.4	51.0 ± 6.1	17.7 ± 4.9
5th - 6th	88.1 ± 1.0	239.5 ± 72.6	6.2 ± 2.3	2.8 ± 1.8	21.0 ± 7.3	3.6 ± 2.1	52.6 ± 8.3	21.6 ± 9.5

Values are means ± SD. No significant differences for all parameters.

<sup>1)</sup> Ejaculation records were obtained from boars having 6 ejaculations during 8 weeks (Duroc: 8, Yorkshire: 7, Landrace: 11).

Table 4. Correlation coefficients between various sperm parameters

	COMP <sub>at</sub>	SD <sub>at</sub>	% Red	%Peak R	Mean R	FR(%) <sup>1)</sup>	LS <sup>2)</sup>
COMP <sub>at</sub>	—	0.75*	0.73**	0.65**	0.49*	-0.81*	-0.32*
SD <sub>at</sub>		—	0.55**	0.55**	0.50**	-0.76**	-0.29
% Red			—	0.66**	0.29	-0.40*	-0.15
%Peak R				—	0.29	-0.55*	0.21
Mean R					—	-0.53**	-0.17
FR(%)						—	0.39
LS							—

<sup>1)</sup> Farrowing rate ; <sup>2)</sup> Litter size. \* P < 0.05., \*\* P < 0.01.

( $r = 0.75$ ,  $P < 0.05$ ), % R( $r = 0.73$ ,  $P < 0.01$ ), %Peak Red( $r = 0.65$ ,  $P < 0.01$ ), Mean R( $r = 0.49$ ,  $P < 0.05$ )은 정의 상관관계를 나타냈고, SD<sub>at</sub>와 % Red ( $r = 0.55$ ,  $P < 0.01$ ), %Peak R( $r = 0.55$ ,  $P < 0.01$ ), Mean R( $r = 0.50$ ,  $P < 0.01$ )도 정의 상관관계를 나타냈다.

#### IV. 고 찰

종모돈의 수정 능력은 생산성에 영향을 미치는 중요한 요인이다. 인공수정에 사용되는 종모돈 정액의 질을 평가하는 일반적인 방법으로 현미경적 검사법이 널리 사용되고 있다. 그러나 현미경적 검사에 의한 정액 검사조건이 정상인 개체에서도 인공수정 시 수정률 저하 현상이 보고됨에 따라 현미경 검사법에 의한 정액의 평가는 수정능력을 정확히 반영하지는 못하는 것으로 알려져 있다(Hammit 등, 1989). 최근에는 정자의 운동성을 보다 객관적으로 관찰하기 위한 방법으로서 CASA를 이용한 정자의 운동성 분석법이 개발되었고 다양한 가축을 대상으로 유용성이 검증되고 있다. 그러나 정자의 운동성은 사정에 따른 개체 내 변이가 발생할 수 있고 측정 과정 중 다양한 요인에 의하여 쉽게 영향을 받을 수 있기 때문에 종모돈의 수정 능력을 평가하는 방법으로 미흡한 점을 지니고 있다. 따라서 종축의 수정 능력을 정확하게 평가할 수 있는 정자의 기능 검사 방법이나 정상 변화에 영향을 미치는 요인 분석에 관한 연구가 요구되고 있다.

정자의 수정 능력을 평가하는 검사법에 대한 다양한 연구가 진행되어 왔으며, 정자의 기능적 활성도 검사를 통하여 수정 능력을 평가하

는 방법으로 HOST(hypo-osmotic swelling test, Pérez-Llano 등, 2001), IVP(*in vitro* penetration test, Gadea 등, 1998), 첨체 상태(acrosome status) 등이 연구되고 있다. 이러한 정자의 기능 검사법들은 일반적인 정액 검사와 비교하여 수정 능력의 예측도가 높은 검사법으로 보고되고 있다(Waberski 등, 2005). 그러나 현미경을 이용한 정자의 기능 검사는 극히 제한적인 수의 정자를 평가할 수 있으며 실험 조건과 수행자에 따라 결과의 변이를 나타낼 수 있다. 이러한 변이를 최소화하고 정확한 정자 기능을 평가하기 위하여 FCM(flow cytometer)을 이용한 정자 기능 평가 방법이 개발되었다. FCM을 이용한 정자의 기능 검사는 1회에 많은 수의 정자를 평가할 수 있다.

FCM을 이용한 정자의 기능 검사 방법으로 정자의 생존성(Garner 등, 1995 ; Nagy 등, 2003), 정자 미토콘드리아 막의 활성(Mitochondrial membrane potential) 측정(Evenson 등, 1982 ; Petit 등, 1995 ; Thomas 등, 1998 ; Boilard 등, 2002 ; Marchetti 등, 2002), 첨체반응(D'Cruz 등, 1996 ; Carver-Ward 등, 1997), 정자 DNA 및 염색질 구조분석(Fuentes Mascorro 등, 2000 ; Boissenault, 2002 ; Ward 등, 1990 ; Cho 등, 2003) 등이 연구되고 있다. 이들 방법 중 SCSA는 동결 보관된 sample을 이용하여 정자 DNA의 denaturation 상태를 객관적이고 정확하게 측정할 수 있는 방법으로 알려져 있다(Evenson 등, 2002). 정자의 SCSA는 사람(Evenson 등, 1999, 1993), 소(Bochenek 등, 2001), 말(Love 등, 2005, 2002), 돼지(Gillan 등, 2005) 등의 동물에서 수정능력(fertility)을 평가하는데 유용한 방법으로 보고되었다. 정자 염색질의 구

조적 이상은 정자형성 과정 중에 발생할 수 있으며(Karabinus 등, 1991) 염색질 응축(chromatin condensation)의 결핍(Evenson 등, 2000) 및 사정된 후 정액을 희석하고 보존하는 동안 다양한 외부 환경적 요인에 의하여 초래될 수 있는 것으로 알려지고 있다(Karabinus 등, 1997). 또한 수정 능력이 낮은 동물에서 정액 채취 차수에 따른 SCSA 결과치는 많은 변이를 나타내는 것으로 보고되고 있다(Larson, 2000). 본 연구에서 돼지 정액의 경우 DNA의 손상 정도를 나타내는 SCSA의 COMP at, SD at 모두 분만율이 가장 낮은 종모돈 군과 다른 군 간에 유의적인 차이를 나타냈고, % Red, % Peak R, % Mean R도 같은 경향이었다. 이것은 Bochenek 등(2001)이 소에서 COMP at, SD at와 % Red, % Peak R, % Mean R 간에 유의적 상관이 있으며 또한 인공수정 수태율과도 상관관계가 있다는 결과와 같은 것이었다. 또한 Love 등(1998)이 말에서 COMP at와 Mean at가 번식 계절 임신율과 부의 상관이 있었고, COMP at만이 번식 계절 임신율, 첫 번째 교배 임신율 및 교배당 임신율 모두에서 상관이 있었다는 결과와 유사한 것이었다.

본 연구에서 인공수정 분만율과 SCSA 결과 간에는 모두 부의 상관이 나타났다. 이러한 결과는 수정 능력이 낮은 개체들에서 정자 DNA 변성 정도가 높았다는 것으로서 SCSA의 COMP at와 SD at 값이 정액의 수정 능력과 높은 상관이 있다는 Evenson 등(2002)의 결과와 가축에서 정자의 DNA 온전성과 수정능력과의 높은 상관관계가 있었다는 보고들과 유사한 결과였다(Schmid 등, 2003 ; Bielecki 등, 2001 ; Saleh 등, 2002 ; Aleksander 등, 2003).

이상의 결과를 종합해 보면 SCSA는 인공수정 분만율과 상관관계가 있음을 알 수 있었고, 돼지에서 수정 능력을 예측하고 평가하는데 유용한 방법으로 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

## V. 요 약

본 연구는 돼지에서 정자 SCSA와 정자 운동성 및 인공수정을 이용한 분만율과의 상관관계

를 조사하기 위해 인공수정센터에서 정액 생산용으로 이용되고 있는 종모돈 중 개체별 정액을 이용한 인공수정 번식성적을 가지고 있는 종모돈 26두의 정액 성장 기록과 번식성적을 분석 하였고, 액상정액을 공시하여 정자운동성 분석과 SCSA를 실시하였다. 종모돈의 정액 채취 횟수에 따른 SCSA 분석은 종모돈 26두를 공시하여 정액을 8주간 6회 채취하여 공시하였다. 종모돈은 인공수정 분만율(80% 이상 ; 종모돈 7두, AI 256복, 80-70% ; 종모돈 9두, AI 745복 및 70% 미만 ; 종모돈 10두, AI 293 복)에 따라 3개 군으로 구분 하였다. 액상 정액의 CASA 분석 결과는 분만율에 따른 종모돈 군 간에 유의적인 차이는 인정되지 않았다. 종모돈의 SCSA 결과는 분만율이 높을수록 COMP at, %Red, %Peak R 및 %Mean R 값은 낮게 나타났고, 분만율이 가장 낮은 종모돈 군과 다른 두 군 간에 유의적인 차이를 보였다( $P < 0.05$ ). 종모돈 정액을 채취 차수에 따른 정액의 성장과 SCSA를 조사한 결과에서 채취 차수에 따른 차이는 나타나지 않았다. 종모돈의 인공수정 분만율과 SCSA 결과와의 상관관계는 COMP at, SD at, %Red, %Peak R, Mean R는 모두 부의 상관관계를 나타냈다. 이상의 결과에서 SCSA는 종모돈 정액의 수정 능력을 평가하고 예측하는데 유용한 방법으로 사료된다.

## VI. 사 사

본 연구는 농림부 농림기술개발사업의 지원에 의해 이루어진 것임.

## VII. 인 용 문 헌

1. Aleksander Giwercman, Richthoff, J., Hjollund, H., Bonde, J. P., Jepson, K., Frohm, B. and Spano, M. 2003. Correlation between sperm motility and sperm chromatin structure assay parameters. *Fertil. Steril.*, 80:1404-1412.
2. Bielecki, R., Zini, A., Phang, D. and Zenzes, M. T. 2001. Correlations between two markers of sperm DNA integrity, DNA denaturation and DNA

- fragmentation, in fertile and infertile men. *Fertil. Steril.*, 75:674-677.
3. Bochenek, M., Smorg, Z. and Pilch, J. 2001. Sperm chromatin structure assay of bulls qualified for artificial insemination. *Theriogenology*, 56:557-567.
  4. Boilard, M., Bailey, J., Collin, S., Dufour, M. and Sirard, M. A. 2002. Effect of bovine oviduct epithelial cell apical plasma membranes on sperm function assessed by a novel flow cytometric approach. *Biol. Reprod.*, 67:1125-1132.
  5. Boissenault, G. 2002. Chromatin remodelling during spermiogenesis : a possible role for the transition proteins in DNA strand break repair. *FEBS Lett.*, 514:111-114.
  6. Carver-Ward, J. A., Moran-Verbeek, I. M. and Hollanders, J. M. 1997. Comparative flow cytometric analysis of the human sperm acrosome reaction using CD46 antibody and lectins. *J. Assist Reprod. Genet.*, 14:111-119.
  7. Cho, C., Jung-Ha, H. and Willis, W. D. 2003. Protamine 2 deficiency leads to sperm DNA damage and embryo death in mice. *Biol. Reprod.*, 69:211-217.
  8. D'Cruz, O. J. and Haas, G. G. 1996. Fluorescence-labeled fucolectins are superior markers for flow cytometric quantization of the human sperm acrosome reaction. *Fertil. Steril.*, 65:843-851.
  9. Evenson, D. and Jost, L. 1994. Sperm chromatin structure assay : DNA denaturability. *Methods Cell Biol.*, 42:159-176.
  10. Evenson, D. and Jost, L. 2000. Sperm chromatin structure assay is useful for fertility assessment. *Methods Cell Sci.*, 22:169-189.
  11. Evenson, D. and Lorna Jost. 2002. Sperm chromatin structure assay is useful for fertility assessment. *Fertil. Steril.*, 78(Suppl. 1) : S191.
  12. Evenson, D. and Zbigniew Darzynkiewicz. 1990. Acridine orange induced precipitation of mouse testicular sperm cell DNA reveals new patterns of chromatin structure. *Exp. Cell Res.*, 187:328-334.
  13. Evenson, D. P., Jost, L. K. and Gandy, J. 1993. Glutathione depletion potentiates ethyl methane sulfonate induced damage to sperm chromatin structure. *Reprod. Toxicol.*, 7:297-304.
  14. Evenson, D. P., Jost, L. K., Marshall, D., Zinaman, M. J., Clegg, E. and Purvis, K. 1999. Utility of the sperm chromatin structure assay as a diagnostic and prognostic tool in the human fertility clinic. *Hum. Reprod.*, 14:1039-1049.
  15. Evenson, D. P., Larson, K. L. and Jost, L. K. 2002. Sperm chromatin structure assay : its clinical use for detecting sperm DNA fragmentation in male infertility and comparison with other techniques. *J. Androl.*, 23:25-43.
  16. Evenson, D. P., Darzynkiewicz, Z. and Melamed, M. R. 1980. Relation of mammalian sperm chromatin heterogeneity to fertility. *Science*, 210: 1131-1133.
  17. Evenson, D. P., Darzynkiewicz, Z. and Melamed, M. R. 1982. Simultaneous measurement by flow cytometry of sperm cell viability and mitochondrial membrane potential related to cell motility. *J. Histochem. Cytochem.*, 30:279-280.
  18. Fuentes-Mascorro, G., Serrano, H. and Rosado, A. 2000. Sperm chromatin. *Arch. Androl.*, 45:215-225.
  19. Gadea, J. and Matas, C. 2000. Sperm factors related to *in vitro* penetration of porcine oocytes. *Theriogenology*, 54:1343-1357.
  20. Gadea, J., Matas, C. and Lucas, X. 1998. Prediction of porcine semen fertility by homologous *in vitro* penetration (hIVP) assay. *Anim. Reprod. Sci.*, 54:95-108.
  21. Galli, A. and Bosisio, M. 1988. Quality of semen stored at +15/16°C is related to fertility of artificially inseminated swine. *Theriogenology*, 30: 1185-1190.
  22. Garner, D. L. and Johnson, L. A. 1995. Viability assessment of mammalian sperm using SYBR-14 and propidium iodide. *Biol. Reprod.*, 53:276-284.
  23. Gillan, L., Evans, G. and Maxwell, W. M. 2005. Flow cytometric evaluation of sperm parameters in relation to fertility potential. *Theriogenology*, 63: 445-457.
  24. Gry B. Boe-Hansen, Annette K. Ersboll, Torben Greve and Preben Christensen. 2004. Redefining the

- relationship between sperm DNA fragmentation as measured by the sperm chromatin structure assay (SCSA®) and outcomes of assisted reproductive techniques(ART). *Fertil. Steril.*, 82:46.
25. Hammitt, D. G., Martin, P. A. and Callanan, T. 1989. Correlations between heterospermic fertility and assays of porcine seminal quality before and after cryopreservation. *Theriogenology*, 32:385-399.
  26. Karabinus, D. S., Vogler, C. J., Saacke, R. G. and Evenson, D. P. 1997. Chromatin structural changes in sperm after scrotal insulation of Holstein bulls. *J. Androl.*, 5:549-555.
  27. Karabinus, D. S., Evenson, D. P. and Kaproth, M. T. 1991. Effects of egg yolk-citrate and milk extenders on chromatin structure and viability of cyopreserved bull sperm. *J. Dairy Sci.*, 74:3836-3848.
  28. Larson, K. L., DeJonge, C. J., Barnes, A. M., Jost, L. K. and Evenson, D. P. 2000. Sperm chromatin structure assay parameters as predictors of failed pregnancy following assisted reproductive techniques. *Human Rep.*, 15:1717-1722.
  29. Love, C. C. and Kenney, R. M. 1998. The relationship of increased susceptibility of sperm DNA to denaturation and fertility in the stallion. *Theriogenology*, 50:955-972.
  30. Love, C. C., Brinsko, S. P., Rigby, S. L., Thompson, J. A., Blanchard, T. L. and Varner, D. D. 2005. Relationship of seminal plasma level and extender type to sperm motility and DNA integrity. *Theriogenology*, 63:1584-1591.
  31. Love, C. C., Thompson, J. A., Lowry, V. K. and Varner, D. D. 2002. Effect of storage time and temperature on stallion sperm DNA and fertility. *Theriogenology*, 57:1135-1142.
  32. Marchetti, C., Obert, G., Deffosez, A. and Marchetti, P. 2002. Study of mitochondrial membrane potential, reactive oxygen species, DNA fragmentation and cell viability by flow cytometry in human sperm. *Hum. Reprod.*, 17:1257-1265.
  33. Nagy, S., Jansen, J., Topper, E. K. and Gadella, B. M. 2003. A triple stain flow cytometric method to assess plasma and acrosome membrane integrity of cryopreserved bovine sperm immediately after thawing in presence of egg yolk particles. *Biol. Reprod.*, 68:1828-1835.
  34. Pérez-Llano, B., Lorenzo, J. L., Yenes, P., Trejo, A. and García-Casado, P. 2001. A short hypoosmotic swelling test for the prediction of boar sperm fertility. *Theriogenology*, 56:387-398.
  35. Petit, J. M., Ratinaud, M. H., Cordelli, E., Spanò, M. and Julien, R. 1995. Flow cytometry and sorting of mouse testis cells : DNA and mitochondrial changes during spermatogenesis. *Cytometry*, 19:304-312.
  36. Saleh, R. A., Agarwal, A. and Nelson, D. R. 2002. Increased sperm nuclear DNA damage in normospermic infertile men : a prospective study. *Fertil. Steril.*, 78:313-318.
  37. Schmid, T. E., Kamischke, A., Bollwein, H., Nieschlag, E. and Brinkworth, M. H. 2003. Genetic damage in oligozoospermic patients detected by fluorescence *in-situ* hybridization, inverse restriction site mutation assay, sperm chromatin structure assay and the Comet assay. *Hum. Reprod.*, 18:1474-1480.
  38. Thomas, C. A., Garner, D. L., DeJ-arnette, J. M. and Marshall, C. E. 1998. Effect of cryopreservation on bovine sperm organelle function and viability as determined by flow cytometry. *Biol. Reprod.*, 58:786-793.
  39. Waberski, D., Magnus, F., Mendonca Ferreira, F., Petrunkina, A. M., Weitze, K. F. and Töpfer-Petersen, E. 2005. Importance of sperm-binding assays for fertility prognosis of porcine spermatozoa. *Theriogenology*, 63:470-484.
  40. Ward, W. S. and Coffey, D. S. 1990. Specific organization of genes in relation to the sperm nuclear matrix. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 173:20-25.
  41. Zeng, W. X. and Terada, T. 2001. Protection of boar spermatozoa from cold shock damage by 2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin. *Theriogenology*, 55:615-627.
- (접수일자 : 2006. 9. 14. / 채택일자 : 2006. 11. 10.)