

P-27

소 초기배 할구세포의 발생능력

¹고려대학교 응용동물학과, ²대구대학교 축산학과

이홍준¹ · 김선욱¹ · 서승운¹ · 정용¹
이상호¹ · 송해범²

본 실험은 소 초기배 할구세포의 배발생능력을 검정하고 PCR에 의한 할구세포의 성판정에 이용하고자 실시하였다. 채취한 난소에서 3-7mm 크기의 난포란만을 선별·회수하여 20% FCS, 10IU/ml hCG 및 PMSG가 첨가된 TCM199배양액에서 22-24시간의 체외성숙 후 동결정액을 45 및 90%의 two-step Percoll gradient법을 이용하여 운동성이 활발한 정자만을 회수한 후 준비된 성숙난자와 체외수정을 시켰다. 체외수정후 48시간째에 난할율을 조사하고 2세포기 이상 발생이 진행된 수정란을 선별하여 acid Tyrode's 용액으로 투명대를 제거한 후 Ca₂⁺, Mg₂⁺-free PBS + EDTA 안에서 pipette을 이용하여 할구를 개개로 분리하였다. 할구세포를 30 μ l의 microdrop에 하나씩 옮겨 240시간 배양하여 배발생율을 조사하였다. 소 초기배 할구세포의 배발생능력을 검토한 결과, 1/2 할구세포에서 54개 중 10(18.5%)개, 1/4 할구세포에서 48개 중 16(33.3%)개, 1/8 할구세포에서는 41개 중 14(34.2%)개가 배발생을 하였으며, 배발생된 할구세포의 배반포 형성율에서는 1/4 할구세포가 1/2, 1/8, 할구세포보다 높은 31.3%를 보여주었다.

이러한 결과는 PCR에 의한 할구세포의 성판정후 처녀발생 수정란과 할구세포의 융합기법을 이용한 수정란 이식이 가능성을 제시할 수 있을 것이다.

P-28

Predetermination of Sex in Bovine Embryos by PCR

Depts. of ¹Animal Science & ²Genetic Engineering, Korea Univ., Seoul

Seung Woon seo¹ · Hong Jun Lee¹ ·
Ki DongKim¹ · Sung Soo Park² and
Sang Ho Lee¹

Predetermination of sex in early embryos is of great value in the industry of animal production since it provides a means to select animal sex of interest. Capillary polymerase chain reaction (PCR) was used to determine the sex of somatic cells, *in vitro* fertilized (IVF) or parthenogenetic embryos. Morulae or blastocysts to be sexed were obtained from IVF and subsequent coculture with bovine oviductal epithelial cells. The embryonic DNA samples were prepared by suspending single embryos in PCR lysate buffer containing 0.2 μ g/ μ l proteinase K and incubated at 50°C for 1h followed by inactivation at 95°C for 10 min. Two amplified products (Y- and bovine-specific) were obtained in male samples whereas only one product (bovine-specific) in female and parthenogenetic embryos. The sex ratio (σ : ♀ = 10:9) did not differ significantly from the expected 1:1 ration by this technique. False sex determination was often found, which may be associated with the residual cumulus cells or zona pellucida-bound sperms. Citrate treatment followed by complete removal of the zona pellucida eliminated false positive or negative results.

These results suggest that rapid (2h amplification) and accurate sexing is now possible in bovine embryos produced *in vitro*, and that the contamination from non-embryonic sources could be efficiently excluded by the established method.