

소 체외수정에 있어서 에너지 대사량의 측정 및 에너지 대사와 발생능과의 관계

류 재 응

가톨릭대학교 의과학연구원 실험동물연구실

착상전 포유동물 난자는 모체환경과의 사이에서 에너지 물질대사와 기질의 흡수(uptake)와 축적(pool)이 행하여지고 있다는 연구가 생쥐, 랫트와 면양 등에서 보고되었다. 소의 초기수정란에서도 외부기질의 산화능과 해당계의 다양한 효소계가 존재하는 것으로 알려져 있다.

소 초기수정란은 포유동물 등과 유사한 glucose 산화경로를 보여주고 있다. 즉, 돼지는 8세포기, 랫트와 토끼는 상실배까지 glucose가 5탄당의 경로(Pentose phosphate pathway : PPP)를 거쳐 산화되어지고, 배반포기에서도 Embden MeyerHof pathway (EMP)의 경로로 산화된다.

사실, 소 초기수정란에 있어서 ATP와 NAD의 대사경로 및 각 발달단계의 기질 이용성이 다르지 않을까라는 의문이 제기되고는 있지만, 지금까지 포유동물의 에너지 대사에 관한 대부분의 연구는 분석을 목적으로 다수의 난자를 사용하여 방사성 동위원소에 의한 흡수량만을 측정하거나, 체외 배양용 배지에 외부에너지 급원을 첨가하여 발생능에 미치는 영향만을 관찰하여 왔었다. 그러나 이러한 방법에 의한 대사량의 측정은 난자에 손상을 가할 수 있으며, 다수 난자의 측정에 의한 대사량의 평균치는 1개 난자에 대한 발생단계 각각의 대사활성 차이를 정확하게 규명할 수 없는 어려운 점이 있다. 또한 외부기질의 첨가에 의한 발생능과의 관계만으로는 발생단계 각각의 정확한 에너지 요구량 및 glucose 대사의 산화경로를 해석하기는 불가능하다.

이에 연자는 효소주기법과 non-invasive 방법에 의해 1개의 소 체외수정란에 있어서 발생단계 각각의 에너지 대사와 발생능과의 관계 및 에너지 요구량을 검토하였다.

효소주기법을 이용하여 신선한 소 체외수정란 1개에 있어서 효소활성 측정이 가능한지 hexokinase에서 검사한 결과, Tris-HCl buffer와 DPBS buffer에서의 hexokinase 활성은 동일한 활성치를 보였다. 그러나 효소활성을 측정한 수정란을 난구세포와 공동배양하였을 때 Tris-HCl buffer의 경우에는 계속해서 발달하지 않는 반면, DPBS buffer의 경우는 배반포기까지 발달하였으며, 효소활성과 발생능과의 관계규명이 가능했다.

G6PDH, 6PGDH의 효소활성치에 따른 수정란의 체외발달율에는 유의성이 인정되지 않았으며, 소 체외수정란에 있어서 glucose의 PPP대사는 8세포기에서 활발히 이루어지고

있음을 알 수 있었다. 또한 소 초기수정란의 glucose 산화경로에서 외부에너지 급원을 이용하고 있다는 것을 입증했다.

TCA계를 경유하여 대사되고 있는 중간대사물질의 에너지 이용성을 알기 위해 효소 반응액에 중간대사물질인 malate, α -ketoglutarate, glutamate, iso-citrate 및 DNP를 첨가하여 MDH의 효소활성을 측정된 결과, 기질무첨가구 및 iso-citrate 첨가구에서의 효소활성치는 낮았으나, 그 이외의 기질 첨가구에서는 높았다. 이러한 결과는 malate, α -ketoglutarate, glutamate은 소 초기배의 에너지 급원으로서, DNP은 TCA계 중간대사물질의 전자전달 자극원으로서 작용하고 있을 가능성을 시사했다.

해당계의 중간대사물질인 lactate와 에너지 대사와의 관계에서 퇴행수정란(발달지연, 발달정지 및 발달불량)은 정상수정란보다 LDH 활성이 높았으며, 효소활성 측정 후 배발달은 극히 드물었다. 이러한 결과는 소 초기배의 lactate 에너지 대사는 배 발생능과 높은 상관관계가 있으며, LDH 활성이 높을 수록 배 발달율은 저하된다는 결과를 얻었다.

소 초기 수정란내에 있어서 해당계 중간대사물질의 흡수, 축적 및 영양요구량을 분석할 목적으로 non-invasive 방법을 이용하여 1개의 소 체외수정란으로부터 glucose, pyruvate 및 lactate에 대한 흡수, 축적, 생산량 및 소비량을 측정하였다. 혼합 발생배지에서 glucose, pyruvate 및 lactate의 대사량을 수정란의 발달단계별로 각각 측정한 결과 glucose의 흡수량은 2세포기부터 배반포기까지 점차적으로 증가하는 반면에, pyruvate 흡수량 및 lactate 생산량은 점점 감소하는 경향을 보였다. 이러한 결과로 소 체외수정란에 있어서 기질대사는 배반포기에서 glucose 대사계로 전환되는 반면에, pyruvate는 8세포기까지의 분할을 주로 지지해주는 에너지원으로 이용되고 있다는 사실을 알게 되었다. 아울러 체외수정란의 발달에 있어서 lactate 기질의 첨가 없이도 lactate 축적량이 흡수량에 관계없이 상대적으로 높은 양을 나타낸 본 실험의 결과는 소 체외수정란의 체외배양시 lactate의 첨가가 필요하지 않을 수 있음을 제시하고 있다.