

미성숙 난포란의 동결·용해후 배양시간에 따른 성숙율

양병철, 류일선, 연성흠, 김일화, 서국현, 이동원,
손동수, 이광원, 황우석¹, 임경순²

축산기술연구소, ¹서울대학교 수의과대학, ²서울대학교 농업생명과학대학

본 연구는 소 미성숙 난포란의 동결·용해후 체외배양에서 발달시간과 성숙율을 알아보기 위하여 수행하였다. 도축된 한우 암소의 난소에서 채취한 미성숙 난포란(oocyte-cumulus complex)을 채취직후(1시간 이내)에 동결하였다. 대조구는 동결용해하지 않고 배양하였으며, 동결용해 처리구는 10% FBS가 첨가된 TCM199에 10% Ethylene glycol + 5% PVP(polyvinylpyrrolidone) + 0.05M Trehalose를 사용하였다. 동결 방법은 실온에서 15분 평형후 0°C에서 2분, -7°C까지 1°C/min으로 하였고, 이때 식빙을 하여 8분간 정치후 -30°C까지 0.3°C/min 씩 내렸으며, -30°C에서 액체질소에 침지하였다. 용해는 35°C 온수에 10초간 용해후 rehydration은 m-TCM199에 15분동안 정치하여 내동제를 제거하였으며, 이후의 배양은 TCM199 배양액에 5 μ g/ml FSH, 10 μ g/ml hCG, 1 μ g/ml estradiol-17 β , 10% FBS와 50 μ g Gentamycin을 첨가하여 사용하였다. 그리고 배양시 난포직경 10~20 mm의 대난포로부터 회수한 과립막세포(농도 1 \times 10⁶ cells/ml)와 공배양을 실시하였다.

체외성숙 시간에 따른 핵성숙율(Metaphase-II)은 0, 18, 20, 22, 24, 26시간에 따라 염색하여 판정하였다. 동결용해하지 않은 대조구에서 성숙율은 각각 4.1, 44.2, 76.0, 78.6, 76.7, 75.0%이었으며, 동결 용해한 난포란의 성숙율은 0, 11.9, 25.5, 52.2, 62.3, 48.7%로 나타났다. 동결용해하지 않은 난포란은 20시간에 거의 모두 성숙이 되었으며, 동결 용해한 난포란의 성숙율은 24시간에서 가장 높아 동결 용해하지 않은 난포란보다 약 2시간이 더 걸렸다. 본 실험의 결과로 동결 용해한 난포란의 성숙율이 62%로 이전의 보고된 성적보다 매우 높았으며 또한 동결용해한 난포란의 체외수정은 24시간 동안 배양후 이루어져야 할 것으로 사료된다.