

grid를 이용하여 전도율을 높인 본원에서 개발된 vitrification 법에 의한 초급속 동결법은 인간 배반포난의 동결보존에 효과적으로 이용될 수 있다고 사료된다.

## P-55 소 배반포 동결융해란의 포배강 내 아미노산 농도

한경대학교 동물생명자원학과, 중앙대학교<sup>1</sup>

박용습\* · 정연길 · 노상호 · 이호준 · 최은주  
김창근<sup>1</sup> · 정영채<sup>1</sup> · 윤종택

본 연구는 체외수정 소 배반포란을 신선란과 동결란으로 구분하여 포배강 내 아미노산 농도를 측정하여 포배강 내의 아미노산 이용도를 알아보기 위하여 실시하였다.

도출된 한우 난소로부터 흡입, 채취한 난자를 선별하여 TCM-199에 10% FBS를 첨가한 배지에서 24시간 동안 체외성숙시킨 후 30~42시간 동안 수정용 TALP 배양액을 이용, 체외수정하였으며 수정 후 난자는 4-well dish에서 난관상피세포와 공배양하거나 6~10개씩 30  $\mu$ l의 배양액 (배양용 TALP) 미소적에 분주하여 7~10일간 배양하였다. 배양 후 확장배반포로 발육한 수정란을 선별하여 10% glycerol 동결배지를 사용, -5 $^{\circ}$ C에서 식빙한 후 -30 $^{\circ}$ C까지 -0.5 $^{\circ}$ C/min 속도로 냉각하여 액체질소에 침지하였다. 융해는 0.3 M의 sucrose가 함유된 PBS배지에 6%, 3%, 0% glycerol이 첨가된 융해배지에 각각 5분간 정치하여 다단계 융해하였다. 아미노산 분석은 Biochrom 20 (Pharmacia Biotech, England)을 사용하여 실시하였다. 배반포를 동결-융해한 후 1% NEAA + 2% EAA 첨가한 mTALP 배양액 내에서 12시간 배양, 재확장 여부로 생존성을 판정한 후 확장된 배반포 만을 선별하여 포배강 내 아미노산 농도측정에 공여하였다. 아미노산농도측정을 위해 BSA를 PVA로 대체한 TALP 배양액으로 20  $\mu$ l의 미소적을 만들고 각각의 미소적에 배양액과 15~30개의 난자를 10  $\mu$ l 첨가하여 최종 volume을 30  $\mu$ l로 조정 한 후, 미세조작기를 이용하여 포배강 내의 액을 흡입하여 배지와 회석하여 분석하였다.

공배양 및 단순배양체계에서 생산된 체외수정란의 동결·융해 후 생존성은 각각 52% (39/75) 및 21.5% (17/79)로 나타나 공배양유래 배반포가 유의적으로 높게 나타났다 ( $p < 0.0001$ ). 신선란에서는 포배강 내의 아미노산이 methionine, leucine, glutamine, arginine, isoleucine 등 11종의 필수 아미노산 및 glutamate, aspartate, alanine, proline 등 7종의 비필수 아미노산이 검출되었다. 동결융해한 포배강 내 아미노산은 tyrosine, phenylalanine, cysteine, threonine 등 10종의 필수아미노산 및 glycine, serine, asparagine, alanine 등 4종의 비필수 아미노산이 검출되었다. 본 실험의 결과로 보아 단순배양체계 유래의 수정란보다 공배양 유래 수정란의 동결성이 좋은 것으로 사료되며, 신선란과 동결·융해란은 각기 다른 아미노산을 대사활성에 이용하고 있음이 시사되었다.