

한우 난소 과립막세포의 체외배양에서 Follicular Fluid 및 Anti-Inhibin Serum의 첨가효과

성환후, 최선호, 장유민, 박진기, 장원경, 정일정
축산기술연구소, 유전공학과

본 연구는 한우 난포발달에 있어서 난포액 및 inhibin의 생리적 역할을 검토하기 위해 수행하였다. Anti-inhibin serum(AIS) 생산을 위해 사용된 항원은 porcine inhibin- α -subunit 19~32의 peptide를 사용하여 adjuvant 용액을 1:3의 비율로 혼합하여 앙고라 종 토끼 5두(체중 2.5kg)에게 주 2회 간격으로 8회 실시후 ELISA Leader로 항혈청의 역가를 확인하였다. 난포액(bFF; bovine follicular fluid)은 도축장에서 도축되는 한우 난소로부터 직경 1.0cm 이하의 난포로부터 회수하여 스테로이드를 제거하기 위해 10% charcoal solution(50 mg/ml, Norrit-A, Fisher Sci., USA)을 처리하여 45분간 배양후 원심분리후 상층액을 회수하여 실험에 공시하였다. 과립막세포의 체외배양을 위해 D-MEM용액(10% FCS와 antibiotics를 첨가)을 배양액으로 하여 1×10^6 cells/ml로 조절하였다. 호르몬은 RIA 및 ELISA법으로 분석하였다. 그 결과 항원-항체반응은 항원처리후 24일째부터 항체를 확인할 수 있었으며 52일째에서 높은 항원-항체반응을 보였다. 한편, 난포크기별 난포액의 progesterone 및 Estradiol-17 β 을 농도를 분석한 결과, Progesterone농도는 난포크기가 직경 1.0 cm부터 유의적으로 증가하기 시작하여 직경 2.0cm의 난포액에서는 높은 progesterone이 존재하고 있는 것으로 나타났다. 이에 반해, 난포크기별 난포액중 estradiol17 β 농도는 직경 1.0cm구에서 가장 높게 나타났다. 난포직경이 1cm일 경우에 난포액내 estradiol-17 β 가 가장 많이 존재하고 있음이 나타났다. 과립막세포의 체외배양에서 배양 24시간에서는 과립막세포의 progesterone분비는 약 40ng/1x10⁶ cell/well/ml 전후로 나타났으며 bFF 5%, AI 5% 및 bFF+AI첨가구에 따라 유의적인 차이는 없었다. 반면에 48시간배양구에서는 24시간에 비해 유의적으로 높게 분비되었으며, bFF 5%처리구와 bFF5%+AI5%처리구에서는 progesterone을 대조구보다 유의적으로 억제되었으나 AI 5%단독처리구에서는 대조구와 큰 차이가 없었다.

한편, 각 세포질을 SDS-PAGE로 분리하여 nitro cellulose membrane에 transfer하여 Western blotting법에 의해 검토한 결과, 직경 1.0 cm의 성숙난포의 granulosa cell에 특이하게 Inhibin이 존재하고 있음이 확인되었다.

이상의 결과로, 한우에 있어서 성숙난포에 존재하는 Inhibin은 난포발달 및 난포세포의 스테로이드호르몬합성에 중요하게 관여하고 있는 것으로 사료된다.

Key words) *Inhibin- α subunit*, 한우 난소, *estradiol-17 β* , *progesterone*