

전통한우(꺾소)의 귀세포를 이용한 핵이식에서
전기융합 조건이 핵이식 수정란의 발달에 미치는 영향

최은주¹, 이호준¹, 김기수², 윤종택^{1,2}
(주)한경계농택¹, 한경대학교 유전공학연구소²

전기자극은 핵이식 시 수핵난자와 공여핵의 융합을 위해 보편적으로 사용되는 방법이다(Robl, 1999). 그러나 부적절한 전기자극은 수핵난자 세포질에 해를 입히고, 이후의 배발달에 좋지않은 영향을 준다. 본 실험은 체세포 핵이식을 ① 1.9kv/cm, 20 μ s 2회, ② 2.0kv/cm, 20 μ s 2회, ③ 2.2kv/cm, 10 μ s 2회, 및 ④ 1.9kv/cm, 30 μ s 2회의 전기자극으로 융합을 실시하여 각 자극 별 융합율과 난자의 lysis율을 비교하고, 배양 후 배반포 발생율을 조사하였다. 공여핵은 꺾소의 귀 세포를 10% FBS가 첨가된 DMEM에서 39 $^{\circ}$ C, 5%CO₂의 incubator에서 배양하여 monolayer confluent형성 후 0.5% FBS가 첨가된 DMEM에서 3-4일간 배양 후 trypsin처리하여 재핵된 체외성숙 난자에 핵이식하였다.

①,②,③,④의 핵이식 조건을 이용하여 공여핵의 체세포와 수핵란 세포질간의 융합을 유도한 결과, 융합율은 각각 50.7%, 48.1%, 65.5%, 및 33.3%였으며, 수핵난자의 세포질 lysis율은 39.1%, 41.7%, 22.6%, 및 52.7%으로 ③ 2.2kv/cm, 10 μ s 2회의 조건에서 융합율이 유의적으로 높았고, 수핵난자의 세포질 lysis율에 있어서도 다른 군에 비하여 낮았다. 각각의 핵이식 조건별로 융합한 후 난할율 및 배반포 발생율은 각각 65.7%, 73.5%, 77.2%, 및 53.3%과 47.8%, 52.0%, 49.7%, 및 21.8%로 나타나 난할율 및 배반포 발생율에 있어서 융합조건에 따라 큰 차이는 없었으나 1.9kv/cm, 30 μ s 2회의 조건이 다른 조건들에 비하여 유의적으로 낮았다. 따라서, 체세포와 수핵란 세포질간의 융합율과 배반포 발생에 미치는 영향은 전압 보다는 시간에 더 크게 받음을 알 수 있었으며, 이와 같은 결과에서 융합시 시간을 오래 주는 것보다 전압을 높이는 것이 수핵난자의 세포질에 상해를 줄이고 이후 배반포 발생에 유리할 것으로 사료되었다.

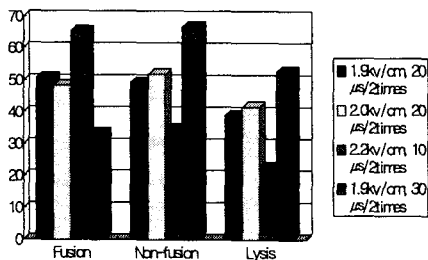


Fig 1. Fusion rate following of electric pulse

Table 1. Effect of fusion condition on the development of nuclear transfer embryos with Han-Woo (Tiger-cattle) ear cells

Group	Fused of couplets	2 cell/fused(%)	Blastocyst/2-cell(%)
1.9kv/cm, 20 μ s/2times	70	46(65.7)	22(47.8)
2.0kv/cm, 20 μ s/2times	68	50(73.5)	26(52.0)
2.2kv/cm, 10 μ s/2times	167	129(77.2)	64(49.7)
1.9kv/cm, 30 μ s/2times	60	32(53.3)	7(21.8)

(Key words) 꺾소, electric pulse, Fusion, Nuclear transfer, Lysis