

마우스 성숙난자의 유리화동결법에 따른 동결 용해후의 염색체와 방추사의 분석

박성은, 신태은, 김승범, 차수경, 임정목*, 정형민

포천중문의과대학교 차병원 여성의학연구소

* 서울대학교 동물생명과학부

유리화 동결법은 동결중 ice crystal의 형성이 이루어지지않으므로 난자의 동결보존을 위한 유용한 동결방법이다. 이전의 연구에서 마우스의 난자를 ethylene glycol과 electron microscope grid를 이용한 유리화 동결법으로 동결 용해한 결과 기존의 slow freezing 방법에서보다 높은 생존율과 배발달율이 나타남을 관찰하였다 그러나 동물과 인간 난자를 이용한 연구를 통하여 난자의 경우 동결 용해후 염색체에 부착되어있는 미세소관인 방추사가 온도의 변화에 매우 민감하여 염색체 이상성이 증가되는 것이 보고되었다. 이에 본 연구에서는 성숙난자를 유리화동결법에 의해 동결 용해후 난자의 염색체와 방추사의 이상성이 증가되는지 알아보하고자 본 실험을 수행하였다. ICR mouse의 성숙란을 채취하여 연구목적에 따라 fresh한 대조군과 동결용해 시킨 실험군으로 분류하였다. 동결방법은 난자를 1.5 M ethylene glycol (EG)에 2분 30초간 노출시킨후 5.5 M EG와 1M sucrose가 첨가된 동결액에 20초간 노출시킨 후 Grid에 난자를 부착시킨후 직접 액체질소에 침지하여 동결하였다. 동결후 난자는 5단계로 용해를 실시한 후 생존된 난자는 tubulin 항체를 이용한 immunostaining 방법으로 방추사의 이상성을 관찰하였고, 염색체는 난자를 고정 후 10% Giemza로 염색 후 염색체의 수적인 이상성을 관찰하였다. 염색체 분석결과 염색체 이상 빈도는 대조군의 경우 19.6%, 동결용해군은 32.8%로 관찰되었다. 또 방추사의 이상빈도는 대조군의 경우 20.2%, 동결 용해군은 32.3%로 관찰되어 동결 용해후의 난자에서 염색체와 방추사의 이상 빈도가 증가됨이 관찰되었다.

(Key words) 유리화 동결법, 방추사, 염색체, immunostaining method