

**체외수정시 Sucrose 첨가에 의한 돼지 난자의  
Polyspermy 제어에 관한 연구**

**이창현\*, 박진기, 민관식, 임기순, 양병철, 김광식, 이향흔, 장원경, 이훈택\*, 정길생\***  
**축산기술연구소 유전공학과, 건국대학교 축산학과\***

본 연구는 돼지 난자의 체외 수정시 sucrose 첨가가 돼지 난자의 다정자 침입율에 미치는 영향을 조사하기 위하여 실시하였다. 돼지 난포란은 0.1% PVA, 3.05 mM D-glucose, 0.91 mM sodium pyruvate, 0.57 mM cysteine, 0.5 µg/ml FSH, 0.5 µg/ml LH, 및 10 ng/ml EGF가 첨가된 TCM199 배양액에서 42-44 시간 동안 배양하여 체외 성숙을 유도하였으며, 2 mM caffeine과 0.1% BSA가 첨가된 체외수정용 mTBM 배양 액에 3% sucrose를 첨가하여 6시간동안 수정을 유도하였다. 수정된 난자의 다정자 침입율을 조사하기 위해 체외수정 후 12, 13 및 14 시간대에 각각 1% orcein으로 염색하여 전핵 형성을 조사하였다.

돼지 난자의 체외수정시 3% sucrose를 첨가하였을 때, 전핵 형성을 조사한 결과 대조구에서 미수정, 1, 2, 및 3 PN 이상의 전핵 형성을 각각 57.6 7.6, 9.7, 및 25%로, 처리구 74.2, 7.6, 13.6, 및 4.5%에 비교하여 다정자 침입율이 유의하게 높았다 ( $p<0.05$ ). 그리고 3% sucrose를 첨가한 체외수정용 배양액에서 수정을 유도한 후 12, 13, 및 14 시간대별로 나누어 전핵 형성을 조사한 결과, 수정 후 시간이 경과되면서 다정자 침입율이 증가되는 것을 볼 수 있었다 그러나 대조구 60.7%에 비해서는 각각 32.5, 36.0, 및 33.3%로 현저히 낮은 것을 볼 수 있었다.

Table 1. The effect of pronuclear formation rate by the addition of 3% sucrose in vitro fertilization

Treatment	No. of oocytes	Pronuclear status				
		Nonfertilized	1PN	2PN	3PN	>4PN
control	92	53(57.6)	7(7.6)	9(9.7)	15(16.3)	8(8.7)
3%sucrose	66	49(74.2)	5(7.6)	9(13.6)	2(3.0)	1(1.5)
total						

또한, 3% sucrose가 첨가된 배양액에서 수정된 수정란의 발달율을 조사한 결과, 배반포 생산율은 처리구 21.8%로 대조구 6.9%에 비해 유의하게 높은 것을 확인 하였다. 따라서, 돼지 난자의 체외수정시 3% sucrose 첨가는 체외수정란 생산에서 문제가 되고 있는 다정자 침입율을 저하시키고 배발달율을 향상시킴으로서 수정란의 체외 대량생산 효율성을 물론 수정란 이식시 수태율을 증가시킬 수 있을 것으로 사료된다.

(Key words) 돼지, sucrose, 다정자 침입, 전핵형성을, 배발달율.