

배양액이 마우스 핵이식 재구축배의 초기발생에 미치는 영향

심보웅, 권오용, 이은화, 김순희, 서정선

(주)마크로젠

본 실험은 Piezo-미세조작기(PrimeTech Ltd., Japan)를 사용하여 마우스 핵이식 후 재구축배를 CZB와 KSOM 두가지 배양액을 사용하여 체외배양성적을 비교 검토하였다.

MII의 미수정란은 성숙한 4~5주령 B6D2F1에 hCG 주사 후 14시간째에 외과적 방법을 통해 난관의 팽대부로 부터 회수하였고, metaphase II chromosome-spindle complex와 최소량의 세포질을 내경이 10 $\mu$ m인 피펫으로 흡입하여 탈핵하였다. 핵이식에 사용된 난구세포(8-10 $\mu$ m)는 3시간동안 12% PVP에 처리 하여 piezo-미세조작기를 이용하여 세포질에 세포의 핵을 직접 미세주입 하였다. 핵이식 후 생존한 재구축배는 2시간동안 배양한 후 10mM SrCl<sub>2</sub>와 5 $\mu$ g/ml의 cytochalasin B가 첨가된 Ca<sup>2+</sup>-free CZB에서 6시간 활성화 처리 하였다, 활성화 처리 후 위전핵이 관찰된 재구축란을 CZB 와 KSOM 배지에서 배양하면서 발달률을 비교 하였고, 상실배 및 배반포배로 발달한 재구축배를 day 3 대리모에 이식하였다.

표 1에서 보는 바와 같이 재구축배의 2-cell로의 발달률에 있어서 KSOM이 CZB에 비하여 유의적으로 높게 나타났으며(P<0.05), 또한 4-cell과 상실배/배반포배로의 발달률에 있어서도 KSOM이 CZB에 비하여 유의적으로 높은 발달률을 나타내었다(P<0.01). 또한 KSOM 배지에서 배양된 상실배/배반포배를 대리모에 이식한 경우에 11.5 d.p.c에 생존한 태아가 관찰되었다.

이상의 결과로 핵이식 재구축배의 활성화 처리 후의 발생에는 KSOM 배지가 CZB 배지에 비하여 유효함을 확인 할 수 있었다.

Table 1. Effect of culture media on development of reconstructed mouse embryo.\*

Medium	No. of survived	No. of activated	2-cell (%)	4-cell (%)	No.(%) developed at day 3 morula/blastocysts	No. transferred (recipient)	11.5 d.p.c	
							No.(%) implansted	No.(%) live fetus
CZB	157	136	113(83.1) <sup>a</sup>	44(32.4) <sup>c</sup>	35(25.7) <sup>c</sup>	17(1)	7(41.2)	0(0.0)
KSOM	275	242	222(91.7) <sup>b</sup>	145(59.9) <sup>d</sup>	109(45.0) <sup>d</sup>	59(2)	31(52.5)	1(1.7)

\* Values with different superscripts were significantly different (a,b:P<0.05, c,d:P<0.01)

Key words) mouse, Piezo, KSOM, 핵이식