

β -Mercaptoethanol이 돼지 체외수정란의 생산에 미치는 영향

한만희, 구덕본*, 이경광*, 박창식**, 서길웅**, 정영채***, 이규승**

축산기술연구소, *한국생명공학연구원, **충남대학교 동물자원학부,
***중앙대학교

β -Mercaptoethanol(β -ME)은 일반적으로 황화합물(thiol compounds)의 일종으로, 배양액 중에서 이황화결합(disulfide bonds)을 분해하여 일정한 물질의 산화·환원반응에 관여하며, 특히 cysteine이 cystine으로 산화되는 것을 차단함으로써 cysteine의 이용능력을 증대 시키고, GSH의 합성을 촉진 및 증대시키는 것으로 알려져 있고, 각종 활성산소로부터 세포를 보호하는 역할을 수행하는 것으로 보고되었다. 특히, 돼지수정란의 체외배양체계에 유의적인 영향을 미치는 것으로 보고되었다(Abebydeera 등, Theriogenol., 50:747-756, 1998). 따라서 본 실험에서는 돼지난포란의 체외성숙시 β -ME의 첨가배양이 체외수정과 배발달에 미치는 영향에 관하여 조사하였다.

돼지난포란을 10% PFF, 0.1mg/ml cysteine, 10IU/ml PMSG, 10IU/ml hCG 및 10ng/ml EGF가 첨가된 NCSU23 배양액에 β -ME를 각각 0, 25, 50 및 100uM을 처리하여 22시간 동안 배양을 실시하고, 성선자극호르몬이 배제된 배양액에서 추가로 22시간을 배양하여 체외성숙을 유도하였다. 체외성숙이 유도된 난자는 난구세포를 제거하고, 2.5mM caffeine과 0.1% BSA가 첨가된 mTBM 배양액에 정자를 1.25×10^5 cells/ml의 농도로 5-6시간 동안 공동배양을 실시하여 체외수정을 유도하였다. 체외수정후 일부의 수정란은 12시간에 난자급속염색방법으로 염색하여 다정자침입률 및 자·웅전핵형성률 등을 확인하였다. 그리고 나머지 1-세포기의 수정란은 0.4mg/ml BSA가 함유된 NCSU23 배양액에 30 embryos/50ul 소적으로하여 38.8°C, 5% CO₂의 탄산가스배양기에서 각각 7일간 배양을 실시하였다. 조사된 결과는 SAS/STAT를 이용하여 통계분석을 실시하였다.

체외수정 12시간 후에 난자급속염색법으로 염색을 실시한 결과, 모든 처리구에서 핵성숙률(76.4~95.2%), 정자침투율(51.1~66.9%), 웅성전핵형성률(95.2~100%), 다정자침입률(18.2~25.6%) 및 평균침입정자수(1.2~1.4개)에서 유의적인 차이가 인정되지 않았다. 체외배양 48시간 난할률을 조사한 결과, 처리구별 차이(53.9~67.9%)는 인정되지 않았으나, 배양 7일째 배반포형성률은 각각 14.5, 25.4, 17.3 및 12.4%로서 25uM의 β -ME처리구가 유의적(P<0.05)으로 높은 배발달률을 나타내었고, 총세포수에 있어서는 대조구와 처리구간 유의적인 차이가 인정되지 않았다. 따라서 돼지 난포란을 성숙배양할 때, 25uM β -ME를 첨가배양하는 것이 양질의 돼지체외수정란을 생산하는 하나의 방법으로 조사되었다.

Key words) 돼지체외수정란, β -ME, NCSU23