

Tris-buffer에 첨가되는 당의 종류에 따른 동결융해정자의 생존율 및 운동성에 관한 연구

유대중, 정수룡, 오인석, 이정우, 손병훈, 서재석, 서진성, 조성균, 배인휴, 오동환, 공일근

순천대학교 농업생명과학대학 동물자원과학과

본 연구는 개의 동결정액제조 시 동결보호 희석액 내에 첨가되는 당의 종류와 조합이 동결융해 후 정자의 생존율 및 운동성에 미치는 영향과 정자동결 시 straw size, 예비동결 시 액체질소표면으로부터 straw까지의 거리 및 용해온도가 생존율에 미치는 영향에 대하여 조사하고자 실시하였다.

포유류의 경우 부생식선의 정낭선에서 분비되는 정장내에는 정자의 체외사출 후 정자의 영양물질인 fructose가 분비되는데, 동결정액제조 시 희석액내에 첨가되는 당 성분은 fructose 및 glucose를 일반적으로 사용하고 있다. 희석액은 Tris-citric acid extender(Tris-buffer)의 기본용액에 20% Egg-yolk, 4% glycerol, 0.5% Equex STM paste 등을 첨가하였으며, 당성분으로는 monosaccharide(fructose 및 xylose) 및 disaccharide(trehalose)로 구분하여 최종 70 mM의 농도로 첨가 이용하였다. 본 연구에서는 control (fructose, xylose, trehalose), two combination (Fruc+Tre, Fruc+Xyl, Tre+Xyl) 및 three combination (Fruc+Tre+Xyl)으로 구분하여 Tris-buffer에 첨가하였다.

Tris-buffer에 첨가되는 Fruc+Tre 처리구가 fructose, xylose, trehalose, Fruc+Xyl, Tre+Xyl, Fruc+Tre+Xyl 처리구보다 동결융해 후 CASA data의 Progressive motility (%)가 가장 높았다 (59% vs 47, 42, 55, 13, 49, 44%). 이후부터는 Tris-buffer에 Fruc+Tre를 첨가하여 실험을 수행하였다. 예비동결 10분에서 0.25 ml straw를 이용하였을 때 10분 예비동결에 0.5 ml, 5분 예비동결에 0.25 및 0.5 ml straw 처리구보다 유의적으로 높은 생존율을 얻었다 (80+0.0 vs 65+7, 68+16, 58+8%). 예비동결 시 액체질소표면으로부터 straw까지의 거리가 5 Cm일 때가 7 cm보다 유의적으로 높은 생존율을 얻었다 (73+12 vs 58+8).

본 연구결과 70 mM Fruc+Tre (two combination)가 첨가된 Tris-buffer에서 가장 높은 생존율 및 전진운동율을 얻었으며, 이를 이용한 정자동결 시 액체질소표면으로부터 straw까지의 5 Cm 높이에서 0.25 ml straw를 이용하여 10분간 예비동결을 실시하는 것이 가장 높은 동결융해 후 생존율을 얻을 수 있었다.

Key words) *canine, sperm, frozen, sugar, progressive motility*