

돼지 난자의 체외수정 시 Adenosine Di-phosphate(ADP) 첨가가 배발달에 미치는 영향

이향훈^{1,3}, 박진기², 김광식², 이창현², 이연근², 김동훈³, 장원경², 송해범¹

대구대학교¹, 축산기술연구소², 을지병원 의과학연구소³

돼지 난포란의 체외성숙, 수정 및 배양에 관한 연구는 생명공학 기술을 도입하기 위한 기반 기술로 최근까지 계속 진행되고 있으나, 돼지 난포란을 이용한 효율적인 수정란 생산은 불규칙적인 응성전핵 형성과 높은 다정자 침입을 그리고 체내에서 발달된 배반포에 비하여 적은 세포수는 돼지 체외수정 체계에 있어서 끊임없는 문제점으로 제기되고 있다. 따라서 본 연구에서는 난포란을 이용한 보다 효율적인 수정란 생산을 위하여 돼지 난자의 체외수정시 정자의 *adenylate cyclase* 활성을 조절하여 수정능획득 및 자발적인 침체반응을 조절하여 정상적인 수정을 돕는 것으로 알려진 ADP를 체외수정 배양액에 첨가했을 때 수정율, 다정자 침입율, 배발달율 및 배반포의 세포수에 미치는 영향을 조사하였다.

돼지 난포란은 0.1% PVA, 3.05 mM D-Glucose, 0.91 mM sodium pyruvate, 0.57 mM cystein, 0.5 μ g/ml LH, 0.5 μ g/ml FSH, 10 ng/ml EGF가 첨가된 TCM-199 배양액에서 42~44시간 배양함으로써 체외성숙을 유도하였으며, 체외수정 배양액인 mTBM에 2mM Caffeine, 10 μ M ADP 그리고 2mM Caffeine 과 10 μ M ADP를 각각 첨가하여 6시간 체외수정을 유도하여 수정율 및 다정자 침입율을 조사하였으며, NCSU-23 배양액에서 6일간 체외배양을 유도하여 배발달율과 배반포의 세포 수를 조사하였다.

체외성숙 후 체외수정 배양액에 Caffeine 첨가군의 수정율은 40.2%, 다정자 침입율은 9.8%, 배반포 발달율은 10.6%, ADP 첨가군의 수정율은 42.9%, 다정자 침입율은 5.9%, 배반포 발달율은 4.0%, Caffeine과 ADP 첨가군의 수정율은 43.5%, 다정자 침입율은 8.9%, 배반포 발달율은 11.1%로 체외수정시 처리 방법에 따른 수정율, 다정자 침입율 및 배반포 발달율에 유의차가 나타나지 않았지만, ADP 첨가군에서 배반포 발달율이 가장 낮은 경향을 나타냈다.

또한 배반포의 세포 수를 조사한 결과는 Caffeine 첨가군은 31.7 ± 13.5 (TE : 26.7 ± 10.5 , ICM: 5.0 ± 2.9), ADP 첨가군은 20.5 ± 6.4 (TE : 12.0 ± 0.0 , ICM : 8.5 ± 6.4) 그리고 Caffeine 과 ADP 첨가군은 21.5 ± 10.6 (TE : 17.5 ± 10.6 , ICM : 4.0 ± 0.0)으로써 Caffeine 첨가군이 다른 두 군에 비하여 배반포의 세포수가 유의하게 많은 것으로 나타났다($P < 0.05$)

이상의 결과로 보아 돼지 난포란의 체외수정 배양액에 ADP 첨가는 수정율이나 배발달율에 긍정적인 효과를 미치지 않는 것으로 사료된다.

Key words) 체외수정, ADP, TE, ICM