

체외성숙시간이 돼지 단위발생능에 미치는 영향

임현선², 김병정², 이호준¹, 최은주¹, 윤종택^{1,2}

¹(주)한경제농텍, ²한경대학교 동물생명자원학과

난자성숙 중 MPF활성은 M I 과 M II에서 최대로, M II로의 성숙 직후 난자를 핵이식에 이용하는 것은 핵과 세포질 사이의 reprogramming에의 효율을 높일 수 있을 것이다. 일반적으로 돼지의 IVF나 핵이식은 체외성숙후 44h에 이뤄지고 있다. 이는 aging을 낳을 수 있고 aging은 또한 발달능을 떨어뜨릴 수 있다. 따라서, 본 실험은 돼지의 체외성숙시간에 따른 체외성숙율과 단위발생후 체외발달율을 비교하여 최적의 체외성숙시간을 찾고자 실시하였다.

돼지 난포란을 10% pFF, 0.1mg/ml cysteine, 10IU/ml PMSG, 10IU/ml hCG, 10ng/ml EGF가 첨가된 TCM-199배양액에서 22, 30, 44시간 동안 배양하여 성숙을 유도하였다. 체외성숙이 야기된 난자는 난구세포를 제거한 후 전기자극(2.0kv/cm, 30 μ s) 후 5분 동안 TCM-199에서 세정하고 다시 4시간 동안 6-DMAP에서 배양된 후 4mg/ml BSA가 첨가된 NCSU-23에 넣어 39 $^{\circ}$ C, 5% CO₂배양기에서 각각 6-7일 동안 배양을 실시하였다.

체외성숙 22시간 성숙난자는 M I 44.3%(35/79)와 A I-T I 36.7%(29/79)로 81%가 M II로의 성숙에는 아직 미치지 못했다. 30시간 성숙난자는 46.3%(56/121)가 M II로 성숙하였고, M I과 A I-T I은 각각 25.6%(31/121), 27.3%(33/121)이었다. 44시간 성숙난자는 78%(71/91)가 M II로 성숙하였고, M I과 A I-T I은 각각 12.1%(31/121), 7.7%(33/121)이었다. 단위발생율은 22시간에 난할율은 35.4%(75/137)이었고, 배반포 발달은 없었다. 30시간에 난할율은 51.8%(145/280)이었고, 배반포 발달율은 5.5%(8/145)이었다. 44시간에 난할율은 80.0%(244/306)이었고, 배반포 발달율은 14.3%(35/144)이었다.

본 연구결과 핵 및 세포질의 완전한 성숙은 44h에 이루어지고, 이에 따른 배발달율도 뒤따름을 알 수 있었다. 난자가 핵성숙의 완성에도 불구하고 완전한 활성을 위한 발달능은 갖지 못함을 알 수 있었으며, 질 좋은 배반포 생산을 위해 핵과 세포질 성숙의 synchronous가 중요하다 사료된다. 체외성숙을 위한 배양기술의 진전과 더불어 체외성숙 시간에 따른 세포질적인 기전에 대한 연구가 필요하다.

Key word) 체외성숙, 단위발생, 돼지