

무혈청 배양액을 이용한 한우의 체외수정란 생산

정연길^{1,2}, 석상현¹, 박성백¹, 임여정², 최선호³, 송해범¹,
대구대학교 동물자원학과¹, ET바이오텍 연구소², 농촌진흥청 축산기술연구소³

난자의 체외성숙 및 체외배양에는 일반적으로 동물의 혈청을 기본배양액에 5-10% 정도 첨가한 배양액을 사용하고 있다. 그러나, 혈청으로부터 바이러스, 세균, 마이코 플라즈마 등에 오염될 가능성이 있기 때문에, 본 실험에서는 완전 무혈청 배양액에서 난자의 성숙, 배발생, 세포수, 동결성을 검토하였다.

도축된 한우의 난소로부터 채취한 난자는 선별하여 TCM199+10% FBS와 IVMD 101 배양액에서 22~24시간 동안 체외성숙시킨 후, IVF 100(일본, 펩티트연구소)으로 2회 세정한 후, 각각의 배양액 50 μ l 소적에 5개씩 5~6시간 수정시켰다. 체외수정한 수정란은 TCM 199+10% FBS, IVMD 101, IVD 101 배양액에서 7~8일간 배양하여 배발생율을 조사하였다. 발생된 배반포의 일부는 세포수를 조사하였고, 나머지 배반포는 1.8M EG로 동결하였다.

체외성숙율은 TCM 199+10% FBS 95.8%, IVMD 101 96.4%로 유의적인 차이는 없었다. 배반포의 발생율은 TCM 199+10% FBS 12.4%, IVMD 101 34.5%, IVD 101 32.4%였고, 탈출 배반포는 각각 5.3%, 27.8%, 28.6%로 IVMD 101 및 IVD 101이 발생율과 탈출 배반포가 유의하게 높게 나타났다. 또한 동결융해한 후 생존율은 TCM 199+10% FBS 52.5%, IVMD 101 95.8%, IVD 101 94.5%였다. 세포수는 각각 123.5, 173.2, 169.7개였다.

이상의 결과에서 세포성장인자가 첨가된 완전 무혈청배양액(IVMD 101과 IVD 101)에서 발생된 수정란은 체내수정란과 유사하게 이식 가능하였고, 동결보존에서도 내동성이 아주 높았다.

Key words) 체외성숙, 체외발생, 동결보존, 무혈청 배양액.