

돼지 난포란 복합체(PCOCs)의 체외성숙시 Plasminogen Activator의 생산에 관한 연구

최선호, 이장희, 연성흠, 박성재, 이해현, 류일선, 손동수, 박춘근¹, 김남형²

농촌진흥청 축산기술연구소, 강원대학교¹, 충북대학교²

소의 난포란과 난구세포의 체외배양시 plasminogen activators(PAs)의 생산을 보고하였다 (Choi 등, 1998). 따라서 본 연구는 돼지 난포란 및 난구세포의 체외성숙시 PAs의 생산을 SDS-PAGE와 Zymogram을 이용하여 조사하였다. PCOCs는 도축암돼지의 난소로부터 채취하여, 난구세포가 충실한 것만 선별하였으며, 실험구에 사용될 난구세포는 pipetting에 의해 분리하여 이용하였다. 돼지 신선정액은 D-PBS로 1,500 rpm, 5분간 2회 원심분리하여 정장물질을 제거하고, 3회째는 5mM caffein이 함유된 BO(Brackett과 Oliphant, 1985) 배양액으로 세정하였다. 처리한 돼지 정액은 1×10^8 cells/ml로 조정하여 20 μ l씩 분주하고 0, 1, 2, 3 또는 4시간 동안 39 $^{\circ}$ C 5% CO₂, 95% 공기인 배양기에서 수정능획득을 유도하였다. 배양이 완료된 정액은 20 μ l의 sample buffer(5% SDS, 20% glycerol, 0.0025% bromophenol blue 그리고 0.125M Tris HCl buffer)에 넣어 -70 $^{\circ}$ C 동결기에 보관하였다. 전기영동은 4% stacking gel과 10% separating gel로 분리하였으며, 20 mA에서 90분간 실시하였다. Zymogram은 Choi 등(1988)의 방법에 따라 실시하여 PAs의 생산을 확인하였으며, 이상의 실험은 3반복을 실시하였다. 시험구 전체에서 urokinase type plasminogen activator(uPA)가 확인되었으며, 체외수정능 획득시간에는 차이가 없었다. 두 종류의 고분자량의 uPA의존성 영역이 나타났으며, 분자량은 65kD과 62 kD이었다. 이러한 결과로 볼 때 Hart 등 (1986)이 uPA의 경우 다양한 영역의 분자량 변이를 확인할 수 있었다고 한 것과 동일하였으며, 돼지 정자가 체외수정능 획득시 uPA를 생산하는 것을 확인할 수 있었다.

Key words) 돼지 난포란 복합체, 수정능획득, Plasminogen activator, 전기영동