P0332

재래산양에 있어서 난포란의 활성화 처리방법이 체외발달에 미치는 영향

박희성, 이명열, 김현정, 권병철, 이윤희, 박준규, 정장용

진주산업대학교 동물생명과학과 · 동물생명산업연구센터

오늘날 형질전환동물의 생산과 같은 생명공학기술의 발달로 인하여 우리나라 재래산양은 그 모델동물로서 번식 생리학적으로 매우 중요한 가치를 지니고 있을 뿐만 아니라 고유의 유전자원 보존 측면에서도 산양복제와 같은 다양한 연구가 절실히 요구된다. 따라서 본 연구에서는 이러한 생명공학기술의 기초자료를 제공하고자 난포란의 활성화 방법과 단위발생란의 체외발달율을 조사하였다. 성숙한 미경산 재래산양을 공시동물로 하여 CIDR를 이용하여 발정동기화를 시켰으며, 과배란 처리는 FSH와 hCG를 이용하여 과배란 처리를 실시하였고 난포란의 회수는 외과적 방법으로 개복하여 난소의 난포로부터 난자와 난포액을 흡입하여 회수하였다. 난포란의 활성화 처리는 전기자극법과 약물처리 방법을 사용하였으며, 전기자극방법은 DC 2.36kv/cm, 17μsec 전압으로 1회 전기자극을 가하여 활성화를 유도하였으며, 약물처리법은 5μg/mℓ의 ionomycin 용액에서 5min, 1.9mM 6-DMAP용액에서 4시간동안 처리하여 활성화를 유도하였다. 단위발생란의 배양은 10% GS(goat serum)가 첨가된 M16 배양액과 10% FBS가 첨가된 TCM-199 배양액에서 난관상피세포와 6~7일동안 공배양을 실시하면서 체외발달율을 조사하였다. 활성화 방법에 따른 체외발달율은 전기자극 및 약물처리를 하였을때 분할율은 3.1% 및 67.9%였으며, 상실배 및 배반포로의 발달율은 0% 및 7.9%였다. 단위발생란의 체외 발달율은 10% GS가 첨가된 M16 배양액을 시용하였을 때 분할율은 68.0%였으며, 이중 12.0%가 상실배 또는 배반포로 발달하였다. 뿐만 아니라 10% FBS가 첨가된 TCM-199 배양액에 난관상피세포와 공배양을 실시하였을 경우는 72.0%가 분할하였으며, 이중 16.7%가 상실배 또는 배반포로 발달하였다. 이상의 결과로 볼 때 활성화 처리는 ionomycin과 6-DMAP 용액처리가 적합하며, 단위발생란의 체외배양은 보다 적합한 배양조건의 확립이 필요한 것으로 생각된다.

Key words) ***단위발생, 전기자극, ionomycin, 6-DMAP, 재래산양***