

P0437

돼지 액상정액의 보존일령에 따른 체외수정율에 미치는 영향

임영순², 황지현², 최은주¹, 김창희³, 한경수⁴, 정경섭³, 김상환², 이호준^{1,3}, 민관식³, 윤종택^{1,2}

¹(주)한경제능텍, ²한경대학교 동물생명자원학과, ³한경대학교 생물정보통신대학원,
⁴천안연암대학 양돈유전자원센터 AI사업부

본 실험에서는 돼지 액상정액의 보존일령에 따른 생존율과 활력도를 CASA를 이용하여 조사하고, 이어 IVF 후 전핵 형성율과 배 발생율을 비교하여 액상정액의 보존일령이 돼지 체외수정율에 미치는 영향을 조사하였다.

돼지 난포란을 10% pFF, 0.1 mg/ml cysteine, 10 IU/ml PMSG, 10 IU/ml hCG, 10 ng/ml EGF가 첨가된 TCM-199 배양액에서 22시간 동안 배양한 후, 성선자극 호르몬이 배제된 배양액에서 추가로 22시간 동안 배양하여 성숙을 유도하였다. 회석제(BTS)로 회석된 액상정액은 17°C에서 보관하였다. 체외수정 전 CASA를 이용하여 정자의 활력도를 조사하였고, 체외수정을 위해 정액을 2.5 mM caffeine과 0.1% BSA가 첨가된 mTBM 배양액에 정자를 2×10^6 sperm/ml의 농도로 6시간 동안 mTBM으로 세정 후 IVF 배지에 넣어 놓은 난자와 공배양을 실시하여 체외수정을 유도하였다. 체외수정 후 6시간에 난자를 1% aceto-orcein으로 염색하여 전핵 형성율을 분석하였고, 나머지는 4mg/ml BSA가 첨가된 NCSU-23에서 39°C, 5% CO₂ 배양기에서 각각 6~7일 동안 배양하여 배 발달율을 조사하였다.

본 실험의 결과 회석제(BTS)로 회석된 액상정액을 보존하였을 때 활력도는 1~10일째에 각각 86.4%, 75.4%, 77.5%, 75.3%, 74.5%, 70.2%, 70.5%, 62.8%, 57.6%, 49.2%로 8일째부터 활력도가 현저히 떨어짐을 볼 수 있었다. 전핵 형성율은 Group I(1, 2, 3일)에 각각 76.9%, 65.3%, 69.2%였으나, Group II(8, 9, 10일)에는 각각 54.5%, 50.8%, 43.5%로 떨어졌다. 난할율은 Group I(1, 2, 3일)에 각각 78.1%, 78.8%, 73.8%였으나, Group II(8, 9, 10일)에는 각각 48.1%, 47.0%, 37.8%로 떨어졌고, 배반포 발달율 또한 Group I(1, 2, 3일)에 각각 19.8%, 12.7%, 11.9%였으나, Group II(8, 9, 10일)에는 각각 7.7%, 8.3%, 5.9%로 떨어졌다. 또한 fragmentation율은 Group I(1, 2, 3일)에는 각각 13.6%, 17.8%, 16.7%였으나, Group II(8, 9, 10일)에는 각각 22.8%, 26.1%, 25.0%로 높아짐을 볼 수 있었다.

액상정액의 보존일령에 따른 난할율 및 배발달율은 Group II가 Group I보다 현저히 저하하였고, fragmentation율은 Group II가 Group I보다 높았음을 알 수 있었다. 따라서 액상정액의 보존일령이 길어짐에 따라 정자의 활력도가 떨어지고 이와 함께 체외수정 후 수정란 발달에 영향을 미치는 것을 알 수 있었다.

그러므로 액상정액은 보존 8일째 이후로는 실험에 공시하지 않는 것이 좋을 것으로 사료된다.

Key words: 배발달율, 체외수정, 액상정액, CASA, 돼지