

P0481

무혈청배양액으로 생산된 한우 체외수정란의 동결성

최선호, 조상래, 한만희, 김현중, 손동수, 김영근, 이종완¹, 정연길², 星宏良³

농촌진흥청 축산연구소, ¹공주대학교, ²이티바이오텍, ³기능성펩타이드연구소

한우가격의 상승으로 젖소에 한우 체외수정란의 이식이 활발히 이루어지고 있으나, 체외수정란의 수태율이 생산자 및 시술자에 따라 많은 차이를 보이고 있다. 또한 체외수정란은 생산방법에 따라 또는 수정란의 상태와 동결보존 형태에 의해 수태율에 직접적인 영향을 미치는 것으로 보고되고 있다. 따라서 본 연구는 시판되고 있는 무혈청배양액(IVMD, IVD, 일본기능성펩타이드연구소)을 이용하여 한우 체외수정란을 생산하고, 혈청이 첨가되지 않은 동결액으로 동결보존하였을 때 생존성을 검사하기 위하여 실시하였다. 도축암소의 난소를 25℃의 생리식염수에 보존하여 실험실로 운반하였다. 난소는 깨끗한 생리식염수로 2~3회 세정한 후, 18 gauge 주사침이 부착된 주사기로 난소실질을 관통하면서, 흡입하여 난포액과 함께 난자복합체(COCs)를 채취하여 10 ml 시험관에 정치하였다. 0.1% PVA-TCM199 배양액으로 COCs를 선별하여, IVMD 배양액으로 22시간 체외성숙을 실시하였다. 체외수정은 caffein과 heparin이 첨가된 BO 배양액으로 한우 동결정액을 용해 후 3회 세정하여 체외수정능 획득을 유도하였다. 체외수정은 6~8시간 정도 실시하였고, 실시 후 0.3% BSA-TCM199으로 세정 후 IVMD 및 IVD 배양액으로 체외발달을 유도하였다. 대조구로서 10% FBS-TCM199로 체외발달을 실시하였다. 체외발달 7일째에 확장배반포로 진행되고 있는 배반포를 선별하여, 1.4 M ethylene glycol과 0.5% BSA가 함유된 D-PBS 용액으로 동결하였으며, 동결방법은 동결기를 이용한 conventional methods로 실시하였다. 동결된 수정란은 37℃ 물에서 20초간 용해하였고, 생존율 검사를 위하여, IVMD 배양액에서 24시간 동안 체외배양을 실시하여 확장이 진행 중인 것을 생존한 것으로 판별하였다. 동결-용해 후의 생존율은 대조구에서 65.1%, IVMD, 80.1%, IVD 95%의 생존율을 보였고, 각각의 배양 후 세포수는 평균 123.5개, 173.2개, 169.7개로 나타났다. 이상의 결과로 혈청보다는 무혈청으로 배양된 수정란이 동결성이 더 우수한 것으로 나타났으며, 세포수에서도 약간의 차이를 보여, 혈청에 있는 미확인 물질에 의해 한우 체외수정란의 체외발달에 있어서, 적절한 환경을 조성하지는 않는다는 것을 암시하고 있어, 혈청을 이용한 연구가 더욱 더 요구된다.

Key words: 무혈청배양액, 한우 체외수정란, 동결-용해