

## 한우 난포란의 체외 성숙 시 배양 용기로서 정자 동결 보존용 Straw가 배 발달에 미치는 영향

박윤미<sup>1</sup>, 박민철<sup>1</sup>, 이제협<sup>1</sup>, 김소섭<sup>2</sup>, 박용수<sup>3</sup>, 박흠대<sup>1</sup>

<sup>1</sup>대구대학교 생물공학과, <sup>2</sup>충북대학교 수의학과, <sup>3</sup>영주축산기술연구소

본 연구는 한우 난포란의 체외성숙 시 배양용기로서 petri dish 대신에 포유동물 생식세포의 동결 보존용으로 사용하는 straw가 난포란의 성숙 후 수정·배 발달에 미치는 효과를 검토하였다. 도축장 유래 한우 난소로부터 채취한 미성숙란을 TCM-199용액에 10% FBS와 LH, FSH가 첨가된 배지를 이용하여 체외성숙을 유도하였다. 배양용기로는 직경 35mm petri dish(NUNC)와 정자 동결 보존용 0.25ml 및 0.5ml의 straw(FHK)를 각각 이용하였다. petri dish를 이용한 경우는 체외성숙용 배지 50 $\mu$ l당 미성숙 난포란 15개씩 넣었으며, straw를 이용한 경우는 각각의 용기의 용량만큼 체외성숙용 배지를 채운 뒤 미성숙난포란 15개씩 39 $^{\circ}$ C 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 22~24시간 배양시킴으로써 체외성숙을 유도하였다. 체외수정은 fer-TALP배지를 이용하여 수정하였다. 체외배양액으로는 CR1aa를 이용하였으며, 수정 후 48시간은 0.3% BSA를 첨가하였고, 그 후에는 10% FBS를 첨가하였다. 그리고 배양 7일째와 8일째 확장 배반포의 세포 수를 검사하기 위해 이중형광염색을 실시하였다. petri dish와 0.25ml 및 0.5ml의 straw용기를 이용하여 체외 성숙 후 배반포로의 배 발달율은 각각 26.6%와 6.1%, 30.7%로서 0.25ml 처리군에서 가장 낮았으며, 다른 2군보다도 유의성 있게 낮았다( $P < 0.05$ ). 한편 각각의 용기에 의해 생산된 배반포의 총 세포수는 각각  $103 \pm 26.1$ ,  $81 \pm 11.4$ ,  $124.6 \pm 11.6$ 이며, 역시 0.25ml 처리군에서 가장 낮았으며, 또한 유의성도 인정되었다( $P < 0.05$ ). 이상의 결과를 요약한다면 한우 난포란의 체외성숙시 사용하는 용기로서 petri dish 대신에 0.5ml straw가 배반포의 체외 생산율을 증가시키지 않는다 하더라도, 생산된 배반포의 총 세포수가 증가하였다. 따라서 난포유래 난포란의 체외성숙시 3차원 배양과 같은 체외 배양환경의 개선은 아마도 체외 생산되는 배반포의 품질과도 관계가 있을 수 있기 때문에 더욱 연구의 필요성이 있다고 사료된다.

Key words) 체외 성숙, straw, 배 발달율, 세포 수