

한우 난포란의 체외성숙 시 배양액 교환방법이 배 발달에 미치는 영향

이제협¹, 박민철¹, 박윤미¹, 김소섭², 박용수³, 박흠대¹

¹대구대학교 생물공학과, ²충북대학교 수의학과, ³영주축산기술연구소

본 연구는 한우 난소 유래 난포란의 체외성숙과정에 있어 배지의 교환이 그 후 배발달에 미치는 효과를 검토하였다.

도축장 유래 한우 난소로부터 채취한 미성숙난포란을 TCM-199 용액에 10% FBS와 LH, FSH가 첨가된 배지를 이용하여 39°C 5% CO₂ 배양기에서 22~24시간 배양함으로써 체외성숙을 유도하였다. 그리고 체외성숙 유도 중 1) 배양 4.5시간째와 9시간째 배지를 전부 교환하였으며, 2) 배양 4.5시간째와 9시간째에 각각 동량의 배지를 첨가하였다. 체외수정은 fer-TALP 배지를 이용하여 수정하였다. 체외배양액으로는 CR1aa를 이용하였으며, 수정 후 48시간은 0.3% BSA를 첨가하였고, 그 후에는 10% FBS를 첨가하였다. 그리고 배양 7일째와 8일째 확장 배반포의 TE와 ICM의 세포 수를 검사하기 위해 이중형광염색을 실시하였다.

난포란의 배반포로의 배발달을 관찰한 결과 배지 무교환·무 첨가의 대조군은 29.1%, 4.5시간 교환군과 첨가군은 각각 26.6%, 28.6%이다. 9시간 교환군과 첨가군은 각각 37.5%, 26.2%로서 9시간 교환군이 가장 높았으며, 특히 9시간 첨가군보다 유의하게 높았다. 한편 체외 생산된 배반포의 총 세포수는 대조군 133±23개로서 ICM과 TE의 분포는 10.4%와 89.5%였다. 그리고 4.5시간 교환군과 첨가군의 총세포수는 각각 122±15개와 101±20개로서 ICM과 TE의 분포는 76.6%와 23.4% 및 83.9%와 16.1%였다. 9시간 교환군과 첨가군의 총세포수는 각각 110±36개와 127±22.5개로서 ICM과 TE의 분포는 82.5%와 17.5% 및 81.2%와 18.8%였다. 4.5시간 첨가군에서의 세포수 및 ICM과 TE의 세포 분포율이 가장 양호하였다. 이상의 결과로부터 배반포의 체외 생산에 있어서 체외성숙시 적절한 시기의 배지 교환은 효과적이었으며, 이것은 난포란 성숙에 있어서 핵성숙보다는 세포질 성숙의 지표로서 어떤 것을 암시하고 있다고 사료된다.

Key words) 체외 성숙, 교환 시기, 첨가 시기, 배 발달, 세포 수