

P-33

Protein Kinase 억제제가 소 난구복합체의 체외성숙시  
mitochondria 활성화에 미치는 영향

최선호, 조상래, 김현종, 최창용, 손동수, 김영근, 정연길

축산연구소 가축유전자원시험장, 'ET 바이오텍

Protein Kinase A(PKA)와 Protein Kinase C(PKC)는 돼지 난구복합체의 체외성숙시 plasminogen activator의 생산을 촉진한다고 하였으며, PKA와 PKC는 돼지 난자의 단위발생을 유도한다고 하였다. 따라서 본 연구는 소 난구복합체의 체외성숙시 PKA억제제(H89)와 PKC억제제(H7)가 세포질내의 미토콘드리아 활성화에 미치는 영향에 대하여 조사하였다. 도축암소의 난소로부터 소 난구복합체를 채취하여 TCM199를 기본배양액으로 0.1% PVA, 50uM H89, 50uM H7를 첨가하여 5% CO<sub>2</sub>, 95% 공기, 39 에서 6, 12, 24시간동안 체외성숙을 시도하였다. 소 난구복합체의 핵형을 조사하기 위하여 0.5% hyaluronidase 용액으로 난구세포를 용해하고, 난자는 1:3 acetic acid, ethanol 용액에 30초간 고정하고, 3% basic Fuchsin을 염색하여 핵형을 관찰하였다. 체외성숙된 난자의 fluorescent intensity (FI)를 측정하기 위하여, 핵형관찰시 수행한 것과 동일한 방법으로 난구세포를 제거하고, 10ul/ml Rhodamine 123로 15분간 염색을 실시하였다. 체외성숙된 난자의 미토콘드리아의 FI는 laser confocal 현미경(Fluoview, Olympus, Japan)을 이용하여 측정하였고, 난자의 중앙부에서 정점까지를 5 um의 두께로 측정하였다. 체외성숙된 난자의 핵형에 대한 통계분석은 3반복을 하여 얻어진 결과를 ANOVA로 분석하였고, 체외성숙된 난자의 FI는 Fisher의 LSD를 이용한 다중검정법을 이용하여 분석하였다. TCM199를 기본배양액으로 0.1% PVA, 50uM H89, 50uM H7를 첨가하여 24시간동안 체외배양하여 MII에 도달한 것은 각각 73.8±8.6%, 0±0%, 69.2±16.5%를 나타내었으며, 처리간에 극도의 유의차를 나타내었다(P<0.01). 0.1% PVA로 체외성숙시 FI는 체외성숙 시간에 따라 증가하는 경향을 나타냈다. 반면에 H7의 경우는 배양시간에 관계없이 변화가 없었으며, H89의 경우는 배양시간 6시간의 FI의 2-3배가 감소하는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 PKA 억제제는 소 난구복합체의 체외성숙을 억제하며, 그에 따라 미토콘드리아의 활성을 억제하는 것으로 나타나, protein kinase는 소 난구복합체의 체외성숙에 중요한 역할을 하는 것으로 사료된다.

keywords: 소 난구복합체, 체외성숙, Protein kinase, 미토콘드리아