

P-34

소 난구복합체의 체외성숙시 Okadaic acid가 핵성숙 및 mitochondria 활성화에 미치는 영향

최선호, 한만희, 조상래, 김현종, 최창용, 손동수, 김영근, 정연길

축산연구소 가축유전자원시험장, 'ET 바이오텍

Okadaic acid (OA)는 성숙촉진인자(MPF)의 형성을 촉진하며, MPF는 세포주기 중 유사 및 감수분열의 주요 조절물질로 알려져 있다. 높은 농도의 OA (25 nM)는 돼지 난구복합체에서 plasminogen activator의 활성을 촉진하나, 핵성숙 분열 중기(Met II)의 과정만을 억제하는 것으로 알려져 있다. 따라서 본 연구는 소 난구복합체의 체외성숙시 OA가 Met II의 형성 및 세포질내의 미토콘드리아 활성화에 미치는 영향에 대하여 조사하였다. 도축암소의 난소로부터 소 난구복합체를 채취하여 TCM199를 기본배양액으로 0.1% PVA, 25 ug/ml cycloheximide (CX), 6시간 동량의 CX 처리 후 2 uM OA 처리 또는 25 uM OA 단독으로 5% CO₂, 39°C 에서 6, 12, 24시간동안 체외성숙을 시도하였다. 소 난구복합체의 핵형을 조사하기 위하여 0.5% hyaluronidase 용액으로 난구세포를 제거하고, 난자는 1:3 acetic acid, ethanol 용액에 30초간 고정하였고, 3% basic Fuchsin을 염색하여 핵형을 관찰하였다. 체외성숙된 난자의 fluorescent intensity (FI)를 측정하기 위하여, 핵형관찰시와 동일한 방법으로 난구세포를 제거하고, 20 nM mito tracker로 20분간 염색하였다. 체외성숙된 난자의 미토콘드리아 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, 25 ug/ml cycloheximide (CX), 6시간 동량의 CX 처리 후 2 uM OA 처리 혹은 2 uM OA 단독으로 24시간동안 체외배양하여 MII에 도달한 것은 각각 74%, 7%, 45%, 51%, 73%를 나타내었으며, 처리간에 극도의 유의차를 나타내었다(P<0.01). 0.1% PVA, CX+OA, OA 단독처리시 체외성숙시 FI는 체외성숙 시간에 따라 증가하는 경향을 나타냈으나, CX 단독처리시 다른 처리구의 배양시간 6시간의 FI 3배가 감소하는 것으로 나타났다. 따라서 OA는 소 난구복합체의 체외성숙을 조절하는 인자임을 확인할 수 있었다.