

## 한우 체외 수정란의 체외 배양 조건에 따른 염색체 이상

최선호, 조상래, 한만희, 김현종, 최창용, 손동수, 상병돈, 정연길<sup>1</sup>, 손시환<sup>2</sup>

축산연구소 가축유전자원시험장, <sup>1</sup>ET 바이오텍, <sup>2</sup>진주산업대학교

소 체외 수정란의 생산은 폐기되는 유전자원의 재활용과 생산된 수정란의 이식은 한우 가격의 안정을 이루어 농가소득 향상이 기대된다. 그러나 오랜 기간동안 체외 수정란의 생산을 위하여 체외 성숙 및 체외 발달에 대한 연구가 다양하게 실시되었으며, 그에 따라 생산량은 증가되는 개선점을 보였으나, 질적 향상에 대한 과학적인 분석이 미미한 실정이다. 이에 따라 체외에서 생산된 소 수정란의 염색체이상(Viuff 등, 1999, 2000)이 보고된 바 있으며, 체외수정 후 배양조건에 따른 소 배반포의 염색체 이상(Lonergan 등, 2004)을 보고하였다. 따라서 본 연구는 한우 난구 복합체를 체외성숙 후 체외 발달 조건에 따른 염색체 이상을 확인하기 위하여 실시하였다. 도축 한우 암소의 난소로부터 난구 복합체를 채취하여 TCM199를 기본 배양액으로 0.1% PVA 또는 0.1 mM L-cystein를 첨가하여 5% CO<sub>2</sub>, 95% 공기, 39°C에서 24시간동안 체외 성숙을 유도하였다. 난구 복합체의 핵형을 조사하기 위하여 0.5% hyaluronidase 용액으로 난구세포를 용해하고, 난자는 1:3 acetic acid, ethanol 용액에 30초간 고정하고, 3% basic Fuchsin을 염색하여 핵형을 관찰하였다. 체외수정은, 동결한우 정액을 10 mM caffein이 든 BO 배양액으로 2회이상 세정하여, 체외수정능 획득을 유도하였고, 5 mM caffein+1 ug/mL heparin이 포함된 BO 배양액으로 체외 수정을 실시하였다. 체외수정은 8시간을 실시한 후 방사관 세포가 부착된 상태까지 난구세포를 피펫으로 제거하였다. 체외 발달은 TCM199를 기본배양액으로 5% FBS, 또는 0.1mM L-cystein+0.3% BSA를 함유한 배양액에서 약 6일간 체외배양을 실시하였다. 염색체 분석은 초기 배반포 단계의 수정란에 0.1ug/mL의 demecolcin을 첨가하여 중기상을 유도하였고, 중기상을 유도한 수정란은 탈수 고정을 실시한 후 Giemsa 염색을 실시하여 염색체상을 조사하였다. 체외 성숙 및 발생의 결과는 Satview program을 이용한 ANOVA test로 실시하였다. 체외 성숙율은 73.4%, 94.6 %으로 0.1% PVA, 0.1 mM L-cystein 첨가시 각각 나타났으며, 처리간에 유의적인 차이를 보였다( $p < 0.05$ ). 체외발달율은 20.3%, 10.0%로 5% FBS+TCM199, 0.1mM L-cystein+ 1% BSA 첨가구에서 각각 나타났으며, 처리간에 유의적인 차이는 보이지 않았다.

염색체 이상은 증기상의 수정란이 18.3%, 12.0%를 보였으며, 분석 가능 수정란 수는 6.1%, 4.0%로 5% FBS+TCM199, 0.1mM L-cystein 첨가구에서 각각 나타내었으며, 60,XX 2개, 60XY 1개가 5% FBS+TCM199 처리구에서, 60,XX 2개가 0.1mM L-cystein 처리구에서 확인되었으며, 처리간에 유의적인 차이가 없었다. 이상의 결과에서 L-cystein은 체외성숙에 중요한 역할을 하는 것으로 나타났으며, 체외 배양 조건에 따른 한우 체외 수정란의 염색체이상을 확인할 수 없었으나, 처리 수정란의 수가 적어 명확히 확인할 수 없어, 더욱 많은 시도가 요구된다고 하겠다.

Key words) 소 난구 복합체, 체외 성숙, 체외 발달, L-cystein, 염색체