초음파 절단 동결정액을 활용한 소 수정란 생산기법

김성우, 이재영, 김찬란, 고응규
농촌진흥청 국립축산과학원 가축유전자원센터

e-mail: sungwoo@korea.kr

Ultra sonic cutting of bovine frozen semen for production of Blastocyst

Sung Woo Kim, Jae-Yeong Lee, Chan-Lan Kim, Yeoung-Gyu Ko
Animal Genetic Resources Research Center, National Institute of Animal Science, RDA

요 약
본 논문에서는 동결정액을 활용하여 체외수정기법으로 소 수정란을 대량 생산하기 위한 기술에 대한 조건을 확립하고자 연구를 수행하였다. 유전자원으로 영구 보존되고 있는 종축의 동결정액은 융해하여 사용하면 재생산할 수 없는 소모성 자원으로 간주되고 있다. 그러므로 체외수정기법을 이용하여 유전자원을 복원하고자 할 경우, 최대한의 많은 난자를 이용하는 것이 바람직하나, 현실적으로 활용할 수 있는 난자의 수는 정자에 비하여 제한적인 것으로 판단된다. 일정한 수의 난자를 체외성숙시켜 이식가능한 수정란을 생산하는 기술을 최적화하는 것은 가장 경제적인 방법으로 수정란을 생산할 필요성이 존재한다. 초음파 커터를 이용하여 동결정액을 절단하여 이용하면, 동결정액의 활용성을 증가시킬수 있었다. 절단하지 않은 스트로는 융해후 생존성이 73.5±4.5%로 절단된 정자의 생존성 72.4±6.3%와 차이가 존재하지 않았다. 동일한 동결 정액을 초음파 절단할 때, 5차까지 정액을 활용할 수 있었고 초음파 절단법을 활용한 정자에서 유래한 체외수정란도 생산이 가능하였다. 그러므로 초음파 절단에 의한 동결정액을 활용 방법은 우수한 종축의 유전자원을 활용하는데 도움이 되는 것으로 판단되며, 체외수정 뿐 아니라 인공수정과 난소 생검 유래 난자를 활용할 때 그 이용성이 높을 것으로 판단된다.

1. 서론

포유류의 유전자원을 보존하기 위하여 동결정액을 생산하는 것은 유전적 개량과 멸종위기품종의 유전자원을 보존하는데 가장 흔히 사용되는 방법으로 알려져 있다. 종축의 동결정액은 한번 생산하여 액체질소에 영구 보존하면, 동결정액을 융해하여 사용하기 때문에 그 수가 제한되어 있으며 이용에는 한계가 존재한다. 본 연구에서는 이러한 단점을 극복하기 위하여 동결정액을 최대한 활용하는 방법을 강구하기 위하여 동결정액의 운동성을 소실하지 않으며 동결된 상태를 유지하면서 체외수정을 극대화하는 방법을 강구하고자 연구를 진행하였다.

2. 방법 및 결과

2.1 초음파 절단된 스트로의 생존성 검사

초음절단기(Honda ZO-80, Japan)를 이용하여 액체질소 표면 위에서 직접 제조한 동결정액을 약 2 cm크기로 절단하였으며 37도로 가온된 BO 수정용 배양액에 직접 투입하여 정액을 융해하였다. 각 절단 순서에 따른 정자의 운동성과 생존성은 표 1에서 나타내었으며 유의적 차이는 관찰되지 않았다.

[표 1] 초음파 절단기로 짜른 동결정액의 생존율

Ultrasonic cut semen straw	No of Sperm	Viability	Motility
1st cut straw	3.2×10^6	62.5%	69.2%
2nd cut straw	2.9×10^6	67.3%	71.4%
3th cut straw	4.1×10^6	61.2%	65.1%

2.2 분절된 동결정액을 활용한 수정란 생산율

위에서 회수된 정자를 이용하여 체외수정을 실시할 때 각 수정란 생산 효율을 표 2에 표시되었다.

[표 2] 절단동결스트로의 체외수정란 생산 효율

Ultrasonic cut semen straw	No. of Oocyte	Morula	Blastocyst
1st cut straw	56	14 (25.0%)	11(19.6%)
2nd cut straw	92	29 (31.5%)	25(27.2%)
3th cut straw	86	22 (25.6%)	17(19.8%)

참고문헌

[1] 김민수, “융해 온도가 유전자원 활용을 위한 희소한우(칡소, 흑우 및 백우) 동결 정액의 재 동결 후 정자의 생존성에 미치는 영향”, 한국수정란이식학회지 제 32권 1호, pp. 1-8, 1월, 2017년