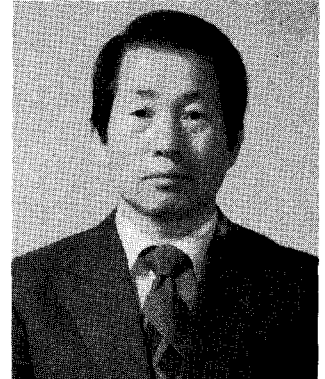


소 동결정액의 올바른 이해



서울대 농대교수
농학박사 임 경 순

서울대학교 농과대학 축산학과
서울대학교 대학원 석사
일본 경도대학 대학원 석사 및 박사
농촌진흥청 축산시험장 축산연구사 및 특수연구원
영남대학교 농축산대학 교수
현 : 서울대학교 농과대학 교수

1. 서 론

우선 사단법인 가축인공수정사협회가 뒤늦게나마 발족되어 가축개량사의 권익을 보호하고 가축개량에 조직력을 가지고 적극적으로 참여하게 된것을 기쁘게 생각한다. 1961년 1월 농사원 축산부 가축과에 인공수정계가 설립되어 처음으로 농민을 대상으로 한우와 돼지에 인공수정을 실시한 이래 어언 30여년의 세월이 흘렀고 이 인공수정계 발족에 시발점이 되었던 본인으로서 한국의 인공수정산업 발전에 무엇보다 관심이 크다. 급반 인공수정사협회에서 발간하는 유인물에 기고를 하게된 것은 더 없는 기쁨이 아닐수 없다.

현재 한우와 젃소의 인공수정 보급율은 거의 100%에 달하고 있으며 인공수정 보급율에 있어서는 선진 어느나라에도 뒤지지 않고 있으며 인공수정의 높은 보급율은 한우와 젃소의 경제능력개량에 크게 공헌하였

다. 이와 같이 인공수정의 보급율이 급격히 향상된 것은 농협 가축인공수정소가 1976년을 기점으로 액상정액에서 동결정액으로 정액공급체계를 바꾼것과 액체질소의 공급이 쉬워졌고 교통과 통신이 발달한데 힘입은 바 크다. 또한 1980년 정액용기를 앰플에서 스트로로 전환한 것도 인공수정을 실용화하고 인공수정에 의한 수태율을 향상하는데 크게 기여한 바 있다. 앞으로 인공수정에 의하여 수태율을 향상시키고 정액을 효율적으로 사용하기 위하여는 소 동결정액에 대한 올바른 인식이 요구된다.

2. 정자의 내동성(耐凍性)

동결전후의 생존성의 차를 정자의 내동성(freegability)이라고 하는데 정자의 내동성은 다음과 같은 여러가지 요인에 의하여 지배된다.

(1) 동물종(動物種)

정자의 내동성은 동물종에 따라서 차이가 있다. 동결후 정자의 생존성을 기준으로한 정자의 내동성의 순위는 사람, 닭, 소, 염소, 토끼, 말, 면양 및 돼지로 소는 비교적 정자의 내동성이 높은 품종에 속한다. 닭의 정자는 동결융해후 생존성은 높으나 동결정자에 의한 수정율은 낮은 편이어서 수태성적에 따라서는 순위가 바뀔 가능성이 높다.

(2) 품종과 개체

정자의 내동성은 소에서는 홀스타인종, 기타 유용종 및 육용종의 순으로 높은 것으로 알려져 있다. 같은 품종에서도 개체에 따라 내동성에 차이가 있다. 필자가 1975년 경기도 가축품평회에 출품한 한우 수소에서 채취한 정액을 동결융해하여 보았든바 융해후 41이상의 정자 생존지수를 보여준 개체는 45% 이였고, 종모우의 약 25%는 동결이 되지 않는 정액을 생산하였는데, 동결정액만을 인공수정에 사용하는 오늘에 있어서 이런 개체는 아무리 유전능력이 우수하더라도 종모우로서 가치가 없다. 특히 정자의 내동성이 약한 품종에서는 내동성에 있어서 개체차가 심한 것을 볼 수 있다.

(3) 사정회수

정자의 내동성은 매 사정에 따라 차이가 있다. 오랜 기간 정액을 채취하지 않던 수소로부터 채취한 정자의 내동성은 다소 떨어진다. 연속 사정한 정액의 경우 동결융해후 정자의 내동성은 5회까지는 떨어지지 않으나 그이후 부터는 떨어진다. 종모우로부터 정액을 채취시는 일반적으로 연속 2회 정액을 채취하는 바 정자의 내동성은 1회 사정 보다 2회 사정 정자에서 높다.

(4) 정자의 성숙도

정자의 내동성은 일정한 간격으로 채취한 것이 빈번히 채취한 것보다 높다. 채취간격이 짧으면 미성숙한 정자가 사출되며 이런 정자는 내동성이 낮다. 따라서 정자의 내동성을 높게 유지하기 위하여는 정액의 채취간격을 적절히 유지하는 것이 중요하다.

(5) 계절

소정자의 내동성은 여름에 떨어지고 겨울철에 가장 높다는 것이 확인되었다. 따라서 종모우는 연중 일정한 온도가 유지되는 축사에서 사육되어야 연중 내동성이 높은 정자를 생산할 수 있다. 필자가 견학한 미국 뉴욕주 인공수정소의 종모우 축사는 무창의 건물로 종모우

축사내부의 온도, 습도 및 환기가 연중 같은 조건을 유지하는 호적한 환경이 유지되고 있었다.

3. 정자의 동결원리

정액을 동결할 때는 정자가 동결융해에 의하여 장애를 받지 않도록 정액회색액에서 동해방지제와 난황등을 첨가하나 정자는 동결융해에 의하여 적든지 많은지 장애를 받는다. 동결융해에 의한 장애의 기작(機作)을 안다는 것은 동결정액을 올바르게 취급하는데 도움이 된다.

(1) 정자의 생존과 온도

동결보존법이 개발되기 이전에는 적혈구 및 정자를 포함한 일반세포의 보존 적온은 0~10℃ 범위라고 생각하여 왔다. 0℃ 이하의 보존온도의 경우 생존에 부적당한 온도는 0℃~-50℃ 사이로 -50℃~-25℃ 사이가 대단히 유해한 온도역(溫度域)이다. -60℃ 이하의 온도에서는 물분자의 이동히 극심하게 억제되어 세포에 대한 유해도가 감소한다. 이 경향은 온도가 낮아질수록 효과가 있어 가축정자의 동결보존 온도도 최초의 -79℃에서 최근에 -196℃로 바뀌었다. 즉 세포의 생존 온도는 상한은 있어도 하한은 없는 셈이다. 따라서 정자를 초저온에서 생존시키기 위하여는 유해한 온도역을 어떻게 잘 통과하여 안전한 초저온(超低溫), 극저온(極低溫)에 도달시키느냐가 가장 중요한 과제가 된다.

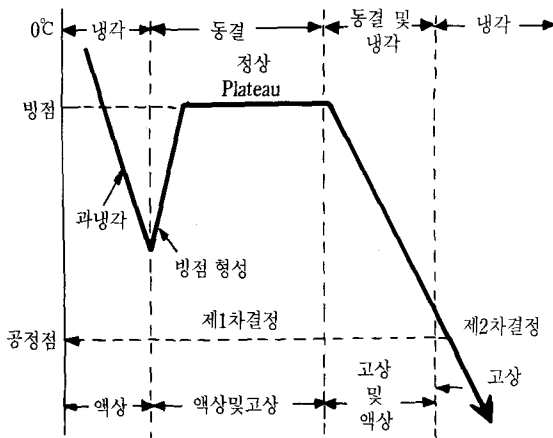
(2) 정자세포의 동결과정

용액중에 부유하고 있는 정자는 동결하면 먼저 정자 주위의 용액의 동결이 시작된다. 순수용액은 냉각할 경우 빙점에 이르러도 결빙하지 않고 액상으로 계속 냉각이되어 -10℃ 때로는 -30℃가까이에서도 액상의 상태를 유지하는데 이런 상태를 과냉각(過冷却)이라고 한다. 이 과냉각의 정도는 물의 용적, 냉각속도, 용질에 의하여 영향을 받으며 냉각속도가 늦거나 혼입물이 많은 경우 또는 기계적 자극은 과냉각을 깨뜨리기 쉽다.

빙정핵의 형성은 두 가지 방식이 있는데, 그 하나는 순수한 물분자인 응집에 의하여 핵이 형성되는 동결성 빙정핵형성이고 다른 하나는 핵의 형성이 용액중의 이물을 중심으로 시작되는 이질성 빙정핵형성인데 전자는 빙정형성이 꽤 낮은 온도에서 일어나나 후자는 빙정형성이 상당히 높은 온도에서 일어난다. 동결시

정자가 살아 남기 위해서는 빙정형성이 상당히 높은 온도에서 일어나는 것이 바람직하다. 높은 온도에서 과냉각이 깨졌을 때는 빙정핵의 수가 적으나, 낮은 온도에서 과냉각이 깨어졌을 때는 일시에 다수의 빙정핵이 생긴다.

핵의 형성후 빙정은 급속히 성장한다. 이때 생기는 빙정의 모양은 동결속도와 용질에 따라 다르다. 동결할 때 시료의 온도 변화는 그림1과 같다. 정상(plateau)의 길이는 동결속도에 따라 다른데 급속동결시에는 정상(plateau)의 길이가 짧다. 과냉각에서 빙정이 형성되면서 온도가 상승하는 온도반발의 정도가 급한 것은 빙정의 급성장을 뜻하여, 세포가 생존하는데 유해하므로 될 수 있으면



높은 온도에서 과냉각을 깨뜨릴 필요가 있다. 동결한 시료(희석정액)를 더욱 냉각하면 얼음(빙정)의 양은 점점증가하며, 이에 따라 잔존하는 용액량은 감소하여 용질은 점점 농축되어 간다. 여기에서 어느 온도에 도달하면 용액은 빙정과 용질의 결정으로 분리되어 시료 중의 용액부는 없어진다. 이 온도를 용질의 빙정점(eutectic point)이라고 한다. 공정점(共晶點)은 용질에 따라 크게 차이가 있어 식염 -21.8°C , 포도당 -4°C , 글리세롤 -46.5°C 그리고 DMSO가 -132°C 이다.

세포(정자)에 대한 동해는 시료(희석액)중에 빙정이 형성되기 때문에 생기며, 이 빙정은 $0\sim-30^{\circ}\text{C}$ 의 범위를 지날때 생긴다. 이 온도역을 초급속($100\sim 200^{\circ}\text{C}/\text{초}$)으로 통과하면 시료중에 얼음이 생기지 않아 세포가 살아 남을 수 있다.

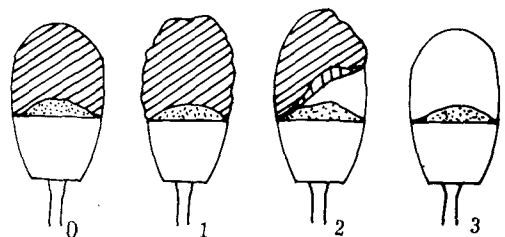
세포내에 있는 수분은 세포내의 용매로서 세포내 고분자의 구조유지에 중요한 성분이다. 세포안에 들

어있는 수분은 자유수(free water)와 결합수(bound water)로 되어 있으며, 세포를 동결하면 세포내 수분의 약 10%는 얼지 않는데 이 얼지 않는 수분을 결합수라고 한다.

4. 동결용해에 의한 정액성상의 변화

동결용해에 따른 정자의 장해 정도는 동결 및 용해 속도와 보호물질의 유무에 따라 다르다. 원정액의 경우 대부분의 동물정자는 동결용해에 의하여 완전히 사멸한다. 내동성이 비교적 강한 소 정자에 글리세롤과 같은 동해방지제를 첨가하여 적절한 동결을 시도한 경우에도 정자의 약 1/3~1/2이 사멸한다. 소정자에 저온충격이나 동결처리를 가하면 소 정자는 피막의 구성요소이며 에너지원으로서 중요한 역할을 하는 지질(lipid)이 정자로 부터 누출한다. 또한 동결에 의하여 정자내의 무기물의 함량에 변화가 생긴다. 무기물의 함량은 소의 경우 Na와 Ca의 함량은 정자 보다 정장에서 많고, 반대로 K와 Mg 함량은 정장보다 정자에서 많다. 소 원정액에 저온충격과 동결처리를 가하면 정자로 Na와 Ca이 유입하고 K와 Mg이 정자외로 유출하는 현상이 일어난다. 급냉 및 동결처리를 받으면 소 정자로부터 사이토크롬C(cytochrome c), 지질단백질(lipoprotein), 히아루로니다제(hyaluronidase), 단백질, 다당류, 유산탈수소효소(lactic dehydrogenase) 및 COT(glutamic oxaloacetic transaminase) 등의 고분자물질이 누출한다.

그림2와 같이 정자는 저온충격에 의하여 침체막이 유리하는 표면 구조에 장해가 생긴다.



5. 동결용해에 의한 장해원인

정자가 동결에 의하여 받는 장해원인은 과냉각, 급

냉충격, 세포의 동결, 세포내 동결 및 용해로 구분할 수 있다.

(1) 과냉각에 의한 장애

이미 앞에서 설명한 바와 같이 냉각중에 있는 용액은 빙점이하의 온도에서 동결하지 않고, 액상상태를 유지하였다가 온도가 상승하면서 동결을 시작하기 때문에 과냉각에 의한 장애를 받아 생존성이 떨어진다.

소에 있어서 회석정액의 과냉각점(온도)은 글리세롤 농도에 따라 지배되어 농도가 증가할수록 낮으며, 동결속도가 빠를수록 높다.

(2) 급냉충격

정자를 저온충격 또는 동결하게 되면 전술한 바와 같이 정자내외로 무기물의 이동이 일어나며, 또한 고분자물질이 정자로부터 누출한다. 이와 같은 현상은 능동적이거나 수동적으로 일어나는 현상인데 정자 대사능(代謝能)에 영향을 미치는 장애요인으로 작용한다. 특히 정자는 30℃에서 0℃까지와 0℃에서 -20℃까지의 두 온도역(溫度域)에서 충격에 대한 장애도가 크다. 따라서 채취한 원정액이나 용해한 정액은 30℃에서 0℃사이에서 급냉충격이 없도록 취급하여야 하며 회석정액을 냉각동결하고자 할때는 0℃에서 -20℃사이를 잘 통과해야 한다.

(3) 세포의 동결에 의한 장애

원정액 혹은 회석정액을 냉각할 경우 정액의 동결은 정자 주위의 용액에서부터 동결이 시작되며, 이 정자 외의 동결과정에서는 용질의 농축과 삼투압의 상승,

용액의 pH 변화 및 정자의 탈수현상이 일어난다. 이와 같이 장애원인은 복합성을 지니고 있다. 탈수에 의한 장애기작으로는 고분자내 수소결합에 의한 구조적 변화, 원형질의 탈수에 따른 단백질의 불가역적 응고와 침전등을 생각하고 있다.

(4) 세포내 동결에 의한 장애

세포내 동결은 세포의 동결때 충분히 탈수되지 않은 세포의 주위에 빙정(氷晶)이 접촉하므로써 빙식(氷植)되어 생기는 장애이다. 세포내 원형질의 콜로이드(colloid) 상태가 파괴되면 치명적인 장애가 일어난다. 세포내 동결에 의한 장애는 동결속도, 정자막의 투과성 및 정자를 둘러싸고 있는 용질 즉 회석액에 의하여 영향을 받는다.

(5) 용해에 의한 장애

용해의 과정에서 받게 되는 장애요인은 온도상승, 시료의 재결정, 탈초자현상(devitrification), 고삼투압으로부터 저삼투압에 이행 등의 요인으로 나눌 수 있다. 용해과정에서 재결정이 생기면 이것이 세포내 동결을 유발하여 세포를 사멸하게 한다. 따라서 용해시는 시료의 재결정이 생기지 않도록 급속용해가 바람직하다. 소 동결정액의 경우 고온에서 빠른 속도의 용해는 저온에서 늦은 속도의 용해보다 생존성이 높다. 이러한 사실은 용해과정이 정자 생존에 분명히 영향을 미친다는 것을 의미하며, 용해에 의한 장애는 동결과정에서 생기는 장애와 같은 양식에 의하여 발생한다고 할 수 있다. 「다음호에 계속」

가축 개량은

가축인공수정으로~
