

초음파 난자 채취

최 민 철

경상대학교 수의과대학

소에서 초음파를 이용한 난자 채취하는 방법에는 여러 가지 있을 수 있으나 본 연구실에서 사용하는 방법은 아래와 같다.

1. 실험소의 과배란 처리

먼저 건강하고 번식장애가 없는 건강한 소를 준비하고 과배란 처리를 하기 위하여 follicle stimulating hormone (FSH; Folltropin-V[®], Australia)을 사용하여 multiple decreasing doses로 400mg FSH를 12시간 간격으로 1일 2회 3일간 근육주사 한 후 12시간만에 채란하거나, single dose로 400mg FSH를 25% PVP에 첨가하여 1회 근육주사한 후 60시간에 채란한다.

2. 실험소의 마취

마취방법으로는 여러 가지 방법이 있을 수 있으나 많이 사용되는 방법으로는 경막외마취 단독 혹은 진정제의 합용으로 할 수 있다. 경막외마취방법으로는 2% lidocaine 5-10ml를 소의 제 1과 2 미추간 사이에 주사한다. 진정제로서는 2% xylazine(Rompun[®]; Bayer, Korea)를 0.2ml/100Kg 용량으로 정맥주사 또는 근육주사를 할 수 있으며, detomidine(Dormosedan[®]; Canada)을 1mg/100Kg 용량으로 정맥투여해서 이루어질 수 있다.

3. 채란기구

소의 채란에 사용된 진단장치로서는 6.5MHz의 인의용 및 수의용 질식삽입 탐촉자를 초음파장치(본 실험실에서 사용중인 기기: Sonoace-1500 및 Sonovet-600, Medison, Korea)에 연결하고 이에 채란기구를 연결하여 사용한다.

채란기구는 Sonovet-600형은 수의 전용으로 개발된 초음파기구로 이에 기다란 탐촉자에 긴 장침(약 55cm)을 연결하도록 되어있는 것을 사용할 수 있으며, Sonoace-1500은 인체용 질식 탐촉자에 중간 길이(약 30cm)의 채란침을 사용하거나 1회용 바늘을 이용해 사용할 수 있다. 주사침은 17-20 gauge가 주로 사용된다. 여기에 가는 관을 연결하고 흡입장치기계와 채란tube를 준비하며 0.2% heparin이 첨가된 PBS로 관과 바늘의 내강을 채운다.

4. 난포란의 채란

소를 보정틀에 넣고 위의 마취방법을 이용하여 진정시키고, 직장내의 변을 제거한 뒤 회음부와 외음부를 깨끗하게 씻고 소독한 후 채란기구가 장착된 탐촉자에 초음파용 gel을 바른 뒤 질내로 삽입하고 이어서 초음파 진단기구의 monitor를 보면서 난소를 촉진하고 난포를 확인한다. 난포란 채란기구를 질을 통과하여 질벽 가까이 위치한 난소를 바늘로 침자함과 동시에 진공장치에 진공(75-85mmHg; 분당 흡입양 27-30ml)을 유지하면서 조심스럽게 난포액을 회수한다. 이렇게 한 후 다른 한쪽 난소도 동일하게하여 채란한다.

5. 난포란의 회수

난포액이 들어있는 tube는 채란후 즉시 실험실로 운반하여 채란액은 실온에서 약 25-30분간 정치시킨 뒤 침전된 하층액을 5ml의 피펫으로 흡입하여 구획이 그어져 있는 60mm 배양접시에 옮겨서 40배율의 도립현미경(Olympus Co., Japan)하에서 난포란을 회수한 후 기본 배양액(TCM-199 + 10% FCS)으로 4-5회 세척한 후 난포란을 채집하여 채란율을 조사하고 등급별로 분류선별하였다.

난포란의 등급분류

회수한 난포란은 아래와 같이 등급분류를 한다.

- 1) Grade I: 4층 이상의 난구세포층이 층만하면서 균일한 세포질을 가진 것
- 2) Grade II: 1-3 층의 난구세포층을 가진 것
- 3) Grade III: 부분적으로 또는 완전히 나화된 것
- 4) Grade IV: 난구세포층이 팽화되었거나 퇴화된 것

《 초음파상에 나타난 난포 및 황체구조 》



<대, 중, 소의 난포란을 보이는 난소>



황체내강에 약간의 액체저류가 보임
<대난포 1개와 우측에 보이는 황체>