

수정란의 보관 및 이동을 위한 표기방법

손 동 수

농촌진흥청 축산기술연구소

서 론

소에서 수정란이식은 유전적으로 우수한 능력을 보유하고 있는 자손을 단기간 내 증식이 가능하므로 개량기간을 단축할 수 있고, 특정품종이나 특정계통을 확대 생산할 수 있다는 잇점이 있고, 다른 가축보다 그 효율성이 높아 널리 활용되고 있다. 우수한 유전능력 또는 특정한 유전능력을 보유하고 있는 공란우에서 회수된 수정란은 지역간 및 국제간에 교역이 이루어져 이식되고 있다.

따라서 수정란이식으로 태어나는 송아지의 혈통관리를 위해서는 이식된 수정란의 유래를 확인할 수 있는 기록 또는 증명이 무엇보다도 중요하다. 이 기록이 유지되기 위해서는 수정란의 생산에서부터 정확하게 기록이 되어야하고, 수정란 하나하나에 대하여 기록할 수 있는 체계가 필요하다. 특히 수정란을 보관하거나 이동시에 정확하고, 신뢰할 수 있는 표준화된 기록이 수정란과 항상 같이 수반되어야 한다.

그 동안 국제수정란이식학회(International Embryo Transfer Society)에서는 수정란의 기록체계, 양식 및 표식을 표준화하는 작업을 시도하여 왔으며, 현재 많은 국가에서 국제수정란이식학회에서 권장하는 수정란 기록체계를 활용하고 있다. 이에 국제수정란이식학회의 수정란 보관 및 이동과 관련하여 제시하고 있는 표기방법에 대하여 소개코자 한다.

수정란이식 기록 양식

국제수정란이식학회에서는 수정란 회수, 이식, 동결 및 수출 증명서 등 10종의 양식을 Manual of the International Embryo Transfer Society에 수록해 놓고 있으며 이 표준화된 양식을 전 세계에서 사용하기를 권장하고 있다(Table 1).

최근 체외수정 및 핵이식 기술에 의한 수정란의 생산과 이식이 시술됨에 따라 난자의 회수, 체외성숙, 체외수정 및 체외수정란의 이식과 관련된 기록을 양식에

보완하여 수록해 놓고 있다. 양식들은 3부 작성을 권장하며 원본은 소유자, 첫 번째 복사본은 시술자 또는 시술기관이 가지며, 2번째 복사본은 등록기관에 제출한다.

수정란 회수·동결 증명서는 수정란이 이동될 때 동반되어야 하며, 수정란이식 증명서는 첫 번째 수정란이 이식된 날로부터 120일 이내에 등록기관에 제출하여야 하고, 이 시기까지 수정란 모두가 이식되지 않으면 나머지 수정란을 위해 증명서를 복사하여 둔다.

Table 1. Embryo transfer recording forms

Embryos	Recording forms	Content
<i>In vivo</i> embryos	A	Certificate of Embryo Recovery
	B	Certificate of Embryo Transfer
	C	Certificate of Embryo Freezing
	D	Application for Embryo Export
<i>In vitro</i> embryos	A2	Certificate of Oocyte Recovery and IVM/IVF
	B2	Certificate of Embryo Transfer
	C2	Certificate of Embryo Freezing
NT embryos	A1	Certificate of Embryo Recovery or Oocyte Aspiration and IVM/IVF
	B1	Certificate of Embryo Transfer
	C1	Certificate of Embryo Freezing

1. 수정란회수 증명서(Certificate of Embryo Recovery; A 양식)

수정란회수 증명서에는 공란우의 품종, 공란종빈우의 이름·등록번호·이표 또는 문신·소유자·소유자 주소, 공정우의 이름·등록번호·정액채취소의 ID·정액 동결일자 또는 batch 번호 등 공란우와 수정 정액에 대한 정보를 기록하며, 공란우의 발정일자·수정일자·수정란 회수일자·총회수난자 수·회수된 난자중 난할란 및 변성란 수·미수정란 수·이식한 수정란 수·동결한 수정란 수 등을 기록하고, 수정란을 회수한 시술자나 수정란 생산팀의 책임자 서명, 시술기관의 명칭·등록code 등을 기재하도록 되어있다.

2. 수정란이식 증명서(Certificate of Embryo Transfer; B, B2 양식)

수정란이식 증명서는 직접이식에 적합하도록 구성되어 있다. 수정란이식 일자, 이식방법은 외과적 또는 비외과적으로 구분, 공란우부터 발정후 경과일을 기록하며, 수란우에 대하여는 이표·등록 또는 문신번호, 품종, 발정후 경과일, 수정란의 발육단계·등급·분할 여부, straw 번호, 수정란 이식일자, 특별히 기록해야 할 사항이나 분할 수정란을 이식할 때에 나머지 수정란의 소재 및 임신여부 등의 특기사항을 기재하고, 만약 수정란을 동결하였을 경우에는 straw 동결일자, 동결자, straw 번호를 기록하며, 수정란이식 시술자 또는 이식팀의 책임자 서명과 시술기관의 명칭·등록code·전화번호 등을 기재한다.

3. 수정란동결 증명서(Certificate of Embryo Freezing; C, C1, C2 양식)

수정란이 보관되어 있는 container에는 수정란동결 시술소 code, 공란우 품종·등록번호, 수정란 동결일자, straw 번호 등을 알 수 있도록 표시한다. 동결된 수정란에 대하여는 수정란이 들어있는 cane 번호, straw 번호, straw내 수정란 수, 수정란의 세정회수·typsin 처리여부·발육단계·등급·투명대 정상여부·분할 여부, 특기사항 등을 기록한다. 수정란의 동결과정에 대하여는 수정란회수에서부터 동결까지 경과시간, 동해방지제의 종류·농도·평형·최종mol.농도·냉각절차 등이 기록되어야하고, 식빙온도, 냉각속도, 액체질소 침지온도 등에 대한 동결방법과 권장하는 용해 및 희석 방법을 기재한다. 또한 수정란을 동결한 사람 또는 팀의 책임자 서명과 동결기관의 명칭·등록code·전화번호 등을 기재한다. 수정란동결 증명서는 수정란이 동결될 때마다 수정란회수 증명서와 함께 기록된다.

4. 수정란회수, 난자 흡입·체외성숙/체외수정 증명서(Certificate of Embryo Recovery or Oocyte Aspiration and IVM/IVF; A1 양식)

이 증명서에서 공란우와 수정 종모우에 대한 기록은 수정란회수 증명서와 같으며, 난자의 채취일자, 체외수정일자, 체외배양후 수정란 회수일자·회수번호·총 회수난자 수·회수된 난자중 난할란 및 변성란 수·미수정란 수·이식한 수정란 수·동결한 수정란 수·핵이식 수정란 수 등을 기록한다. 수정란회수에 대한 증명은 수정란생산팀의 책임자가 서명한다.

5. 핵이식 수정란의 이식 증명서(Certificate of Embryo Transfer; B1 양식)

이 증명서에서 수정란이식 일자, 방법, 수란우에 대한 내역 및 이식 수정란에 대하여는 수정란이식 증명서와 같으며, 핵이식 수정란으로 이식되었을 경우에는 핵이식 계통, 회수 번호, 핵이식 수정란 번호 등이 추가로 기록된다.

6. 난자회수와 체외성숙/체외수정 증명서(Certificate of Oocyte Recovery and IVM/IVF; A2 양식)

이 증명서에서 공란우 대한 기록은 수정란회수 증명서와 같으며, 난자의 채취 일자와 난자를 회수한 시술자 및 팀의 책임자가 서명하고, 시술기관의 명칭·등록 code 를 기재한다. 체외수정시에는 수정종모우에 대한 정액 내역을 기재하고, 체외수정일자, 체외배양후 수정란 회수일자·총회수난자 수·회수된 난자중 난할란 및 변성란 수·이식한 수정란 수·동결한 수정란 수 등을 기록한다. 또한 체외성숙 및 체외수정시킨 팀의 책임자가 서명하고, 시술기관의 명칭·등록 code 를 기재한다.

7. 수정란 수출 신청서(Application for Embryo Export; D 양식)

이 양식은 수정란의 국가간 이동을 위하여 수출국 등록기간에 제출되는 신청서이다. 수출업자의 등록번호, 구매자 이름·주소·국가, 판매일자, 수출일자, 혈액형 증명 여부가 기재되어야 하며, 판매자(수정란 회수당시 공란우 소유자)의 주소·서명과 수정란을 회수하여 생산한 자 또는 팀의 책임자가 서명한다. 공란우, 수정종모우, 회수 수정란내역 등에 대한 기록은 수정란회수 증명서(A1 양식)와 동일하다. 한편 신청서 하단에는 수정란 동결 및 확인 증명서(Certificate of Freezing and/or Identification of Embryos)가 기재되어 있으며, 이 양식은 수정란동결 증명서(A 양식)에 수출업자의 회사와 서명이 추가된다.

표준 약식 기호

1. 수정란의 발육단계

수정란의 발육단계에 대한 code는 Table 2에서 보는 바와 같이 code 1~9까지 숫자로 표시한다. code 1은 미수정란 또는 1세포기 수정란을 말하며, code 2는 2~16세포기, code 3은 초기 상실기, code 4는 상실기, code 5는 초기 배반포기,

code 6은 배반포기, code 7은 확장 배반포기, code 8은 탈출 배반포기, code 9는 확장탈출 배반포기 수정란을 표시한다.

Table 2. The code for embryo stage of development

Code	Embryo stage
1	Unfertilized oocyte or 1-cell(day 1)
2	2-cell to 16-cell(day 2 to day 5)
3	Early morula(day 5 to day 6)
4	Morula(day 6)
5	Early blastocyst(day 7)
6	Blastocyst(day 7 to day 8)
7	Expanded blastocyst(day 8 to day 9)
8	Hatched blastocyst(day 9)
9	Expanding hatched blastocyst(day 9 to day 10)

2. 수정란의 질

수정란의 질에 대한 code는 Table 3에서 보는바와 같이 code 1~4로 분류한다. code 1은 우수 또는 우량(excellent or good) 수정란을 뜻하며, 크기·색조 및 조밀성에 있어서 균일한 할구(세포)를 가지는 대칭성 구형의 수정란으로 발육단계와 일치한다. 불균일성은 비교적 경미해야 하며, 세포의 최소한 85%가 정상적인 생존 수정란으로 구성되어야 한다. 투명대는 매끄러우며 오목하거나 편평한 면을 가지지 않아야 한다. code 2는 보통(fair)의 수정란을 말하며, 수정란 세포 덩어리의 전반적인 형태 또는 각 세포의 크기, 색조 및 조밀성에 있어서 중정도의 불균일성을 나타내며, 세포의 최소한 50%가 정상적인 생존 세포이어야 한다. code 3은 불량(poor)의 수정란을 뜻하며, 수정란 세포 덩어리의 형태 또는 각 세포의 크기, 색조 및 조밀성에 있어서 심한 불균일성을 나타내고, 세포의 최소한 25%가 정상적인 생존 세포이어야 한다. code 4는 사멸 또는 변성(dead or degenerating)된 난자 또는 수정란과 1세포기의 수정란을 말한다.

Table 3. The code for embryo quality

Code	Embryo quality
1	Excellent or Good
2	Fair
3	Poor
4	Dead or degenerating

3. 일자를 표시하는 월

수정란 증명서 및 straw에 표기되는 월을 1월 JA, 2월 FE, 3월 MR, 4월 AP, 5월 MY, 6월 JN, 7월 JY, 8월 AU, 9월 SE, 10월 OC, 11월 NO, 12월 DE로 나타낸다.

4. 품종

수정란 증명서 및 straw에 표기되는 소, 산양, 말, 돼지, 면양의 품종은 2자의 영문 대문자 약자로 표시한다. 즉 Friesian (Dutch); DF, Hereford (horned); HH, Jersey; JE, Holstein; HO, Simmental; SM 등으로 97종이 등록되어 표기하고 있다.

수정란 Straw 표기

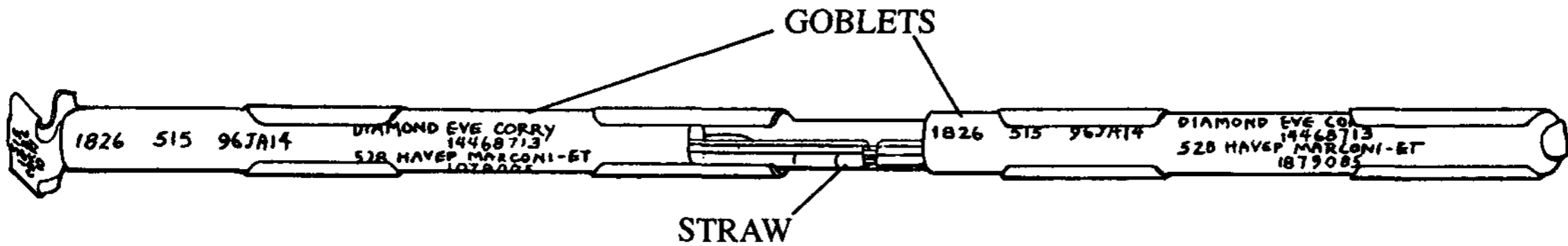
Straw내 장진되어 있는 수정란에 대한 정보는 straw 또는 plug의 연장 부분 또는 straw의 0.5ml 연장 부분내에 삽입되는 0.25ml straw 주위에 고무 label에 수기 또는 기계적으로 2줄 표기한다. 직접이식을 위한 동결 수정란은 노란색의 반투명 straw에서 동결되어야 하며, straw 및 plug의 연장 부분, straw가 들어 있는 goblet 및 cane도 역시 노란색이어야 한다.

straw에 직접이식을 위한 수정란이 동결되어 있으면 straw 번호앞에 DT를 표기하며, straw 번호는 straw의 끝부분 즉 수정란 보관고에서 꺼낼 때 먼저 보이는 부분에 표기해야 한다. 윗 줄에는 수정란이식팀/시술가/기관의 code, 공란우 품종·등록번호·이름과 수정종모우의 품종·등록번호·이름이 표기된다. 아랫 줄에는 수정란 동결일자, straw내 주입된 수정란 수, 수정란의 발육단계·질을 표기한다(Fig. 1).

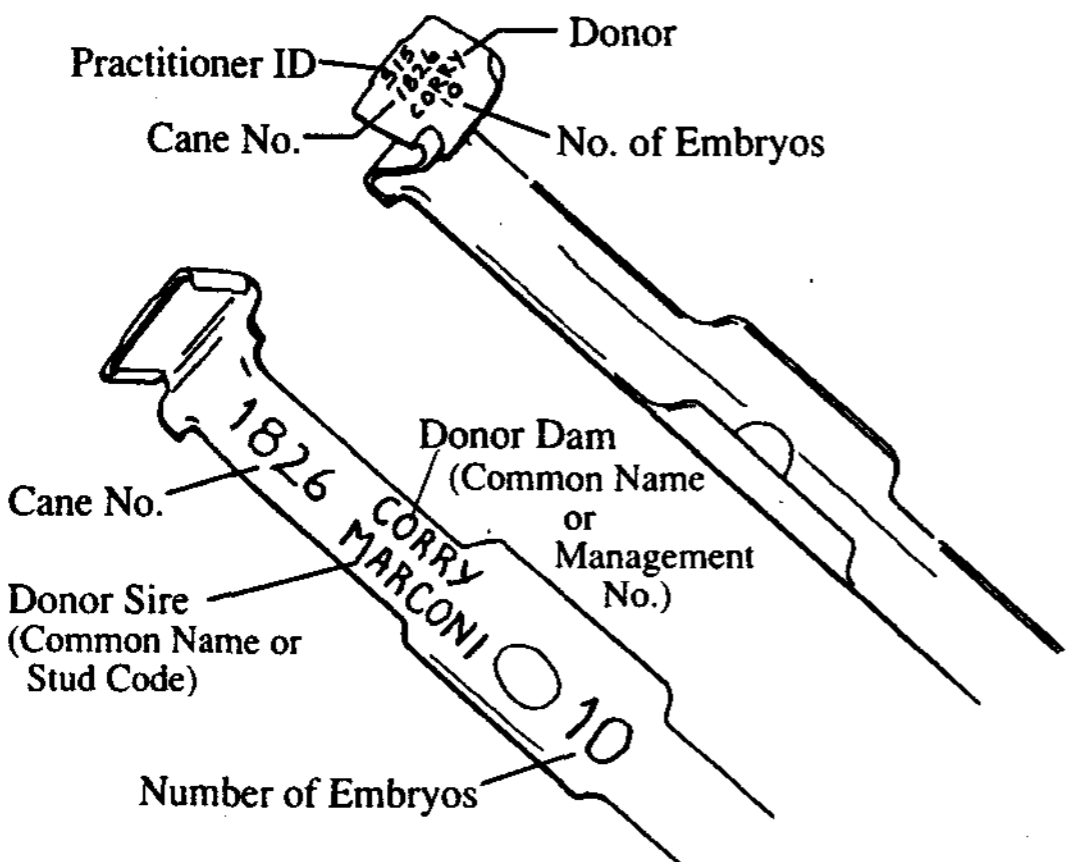
	Straw	Practitioner's	Doner Dam			Service Sire			
	No.	code	Breed	Reg. No.	Name	Breed	Reg. No.	Name	
	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	
TOP	DT 2	515	HO	14468713	Corry	HO	1879085	Marconi	BOTTOM
				96JA14	1Emb		5-1		
				↑	↑		↑		
				Freeze	No. Emb.		Stage		
				date	in straw		Quality		

Figure 1. Embryo identification on a straw for direct transfer.

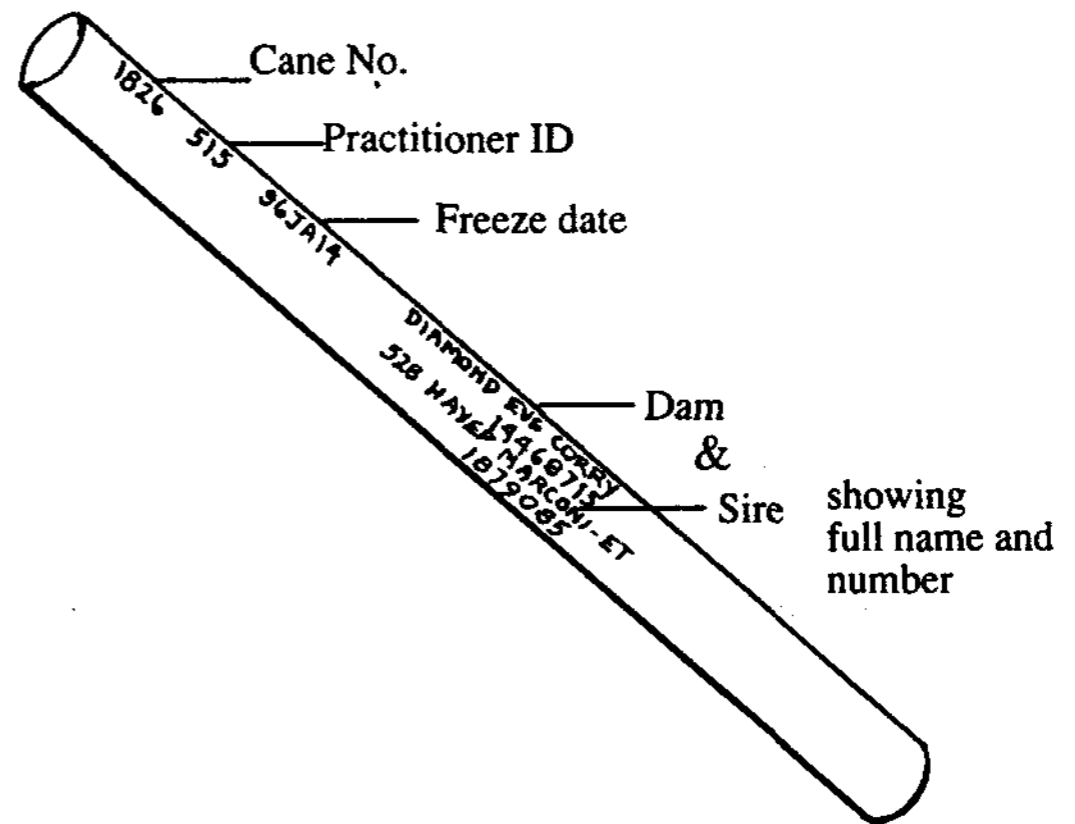
CANE and GOBLETS ASSEMBLED



HEAD OF CANE



GOBLET



SIDE OF CANE

Figure 2. Labeling of canes and goblets.

Straw goblet의 표기

Straw를 보관할 cane의 번호, 수정란을 동결한 시술자/팀/기관의 code, 수정란 동결일자, 공란우 및 수정종모우의 이름과 등록번호를 기록하여야 한다. Cane 아래부분의 goblet에 straw를 넣고 상단의 goblet은 비워두던지 straw가 연장된 부분을 보호할 수 있도록 한다. 직접이식법으로 동결된 수정란 straw의 보관은 노란색 goblet을 사용한다(Fig. 2).

Cane의 표기

Cane의 머리부분에 수정란을 동결한 시술자/팀/기관의 code, cane 번호, 공란우 이름, 보관 수정란 수를 기록하고, 그 아래부분에 cane 번호, 공란우와 수정종모우 이름, 보관 수정란 수를 표기한다. 직접이식법으로 동결된 수정란 straw가 보관될 때에 cane의 머리부분은 노란색이어야 한다(Fig. 2).

	Practitioner's		Doner Dam			Service Sire			
	code		Breed	Reg. No.	Name	Breed	Reg. No.		Name
	↓		↓	↓	↓	↓	↓		
TOP	515		HO	14468713	Corry	HO	1879085	Marconi	BOTTOM
	036N	0021	01	96JA14	1Emb		5-1		
	↑	↑	↑	↑	↑		↑		
	ETN	Rcovery	NT	Freeze	No. Emb.		Stage		
	No.	No.	Line	date	in straw		Quality		

Figure 3. Embryo identification on a straw for embryo produced for nuclear transfer.

핵이식 수정란 straw 표기

핵이식 수정란은 Fig. 3에서 보는 바와같이 straw 좌측에 핵이식 수정란의 일련번호(ETN No.)를 표기하는데 숫자 끝에 N자를 포함하며, 그 다음 수정란 회수팀/시술자/기관에서 공란우 품종에 관계없이 회수된 각 수정란에 지정되는 일련번호(Recovery No.)를 표기하고, 마지막으로 한 공란우로부터 회수된 원래의 수정란을

2자리 숫자로 표시하는 핵이식 계통번호(NT Line)가 표기된다. 나머지 표기는 일반 수정란과 동일하다.

결 론

수정란이식과 관련된 기록은 생산되는 송아지의 혈통관리, 수정란이식에 의한 질병 control, 정보의 공유화 등에 이용되고 있으며, 국제수정란이식학회에서는 국제적으로 기록체계를 표준화하여 사용하는 것을 권장하고 있다. 그러나 국내에서는 소 수정란이식 연구가 시작된 20여년이 지났지만 체계적인 서식이 없고, 수정란의 이동간에 필요한 증명서가 혈통증명을 위한 수단으로만 사용이 가능하도록 만들어져 있어 국제수정란이식학회가 권장하는 양식이 조기에 도입되어야 하겠다. 수정란이식에서 제기되고 있는 문제점의 개선으로 국내 수정란이식 기술의 조기정착에 기대를 건다.

참고문헌

- Callesen H, Liboriussen T and Greve T. 1996. Practical aspects of multiple ovulation-embryo transfer in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, 42:215-226.
- Hasler JF. 1992. Current status and potential of embryo transfer and reproductive technology in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 75(10):2857-2879.
- King KK, Seidel GE, Jr. and Elsdén RP. 1985. Bovine embryo transfer pregnancies. I. Abortion rates and characteristics of calves. *J. Anim. Sci.*, 61(4):747-757.
- Lindner GM and Wright RW, Jr. 1983. Bovine embryo morphology and evaluation. *Theriogenology*, 20(4):407-416.
- Lohuis MM, Smith C and Dekkers JCM. 1993. MOET results from a dispersed hybrid nucleus programme in dairy cattle. *Anim. Prod.*, 57:369-378
- Lohuis MM. 1995. Potential benefits of bovine embryo-manipulation technologies to genetic improvement programs. *Theriogenology*, 43(1):51-60.
- Stringfellow DA and Seidel SM. 1998. Manual of the International Embryo Transfer Society. A procedural guide and general information for the use of embryo transfer technology emphasizing sanitary procedures. 3rd ed., International Embryo Transfer Society. Illinois, pp.103-134
- 석호봉, 이광원, 오성룡, 손동수, 윤충근, 김호중, 조윤연, 오대균, 지설하, 임경순, 지디 마흔. 1984. 소의 동결수정란이 수태에 미치는 영향 III. 5단계부유에 의한 그리세롤제거란의 외과적이식의 영향. *한국축산학회지*, 26(5):429-434.