

# 젖소의 受精卵移植

黃 禹 錫\*

## 1. 歷史 및 定義

英國의 Heape(1890년)가 토끼에서 최초로 수정란이식을 성공시킨 이래 각종 動物에서의 相關연구가 進行되어 오던 중, 1951年 美國 Cornell大學의 Willett 교수 등이 도살우에서 수정란을 採取, 移植에 성공시킨 것이 産業動物에 응용가능성을 시사한 첫 證例가 되었다. 그 후 美國, Canada, 유럽 및 日本 등지에서 이 분야 研究를 지속적으로 수행, 1965년에는 日本農林水産省畜産試驗場에 근무하던 杉江가 세계에서 처음으로 非手術的方法에 의한 수정란이식 성공례를 報告하였다.

1970年代 중반까지는 주로 수술적 방법에 의한 채란과 이식기법, 수정란의 보존에의 난점, 낮은 수태율 등의 문제로 인해 소 등 産業동물에의 본격적 적용은 지지부진한 상태였다. 그러나 우수유전질의 선택적증식에 의한 家畜의 改良期間短縮 및 자질의 向上 또는 가축두수의 증가 등 수정란이식에 의한 여러 利點에 힘입어 世界各國의 學者들에 의한 부단한 研究結果, 비수술적채란 및 이식법이 定着되고 수정란의 동결보존법이 開發되어 基礎學問에 대한 기여 뿐만 아니라 産業化로의 응용이 날로 더해가고 있으며 축산선진제국에서 이미 가축번식분야의 중요 위치를 점유하고 있는 형편이다.

\* 서울大學校 獸醫科大學

원래 수정란이식의 語意는 어느 動物의 生殖器에서 착상전의 수정란을 빼내어 타동물의 생식기에 移植하여 着床, 妊娠, 分娩을 이룩하는 과정이다. 소는 單胎動物이기 때문에 비록 난소 내에 수만개의 원시난포가 있으나 생애 1~수두의 송아지를 얻는 것이 일반적이나 수정란이식기법을 이용, 供卵牛에 과배란처리를 할 경우 생애 약 10년간의 産仔를 1회처치에서 얻는 셈이 될 수 있다. 그러므로 유전적으로 뛰어난 체형과 우수한 생산능력을 지닌 암소가 있을 경우 수정란이식술을 도입하면 생애 수백두의 우수능력보유자손을 生産할 수 있게 된다(그림 1).

한편 전술한 여러 長點이 있는 반면 경제적으로 高價가 소요되며 복합된 고등기술과 여러 연구단계가 요구되는 등 참작해야 할 난점 또한 상존하므로 원만한 目的達成을 위해서는 각 단계별 기본지식에 대한 理解가 필수적 要素이다.

소의 수정란이식에는 약 20여 단계가 있으나 이를 대별하면 (1) 과잉배란유기, (2) 발정동기화 (3) 난회수, (4) 난검사 및 조작, (5) 이식 등 5 단계가 된다.

## 2. 供卵牛(Donor)에 대한 처리

### 1) 공란우의 선택

공란우의 선발은 특히 중요하며, 경제성 외에 健康面에도 고려하여 선발해야 한다. 적어도 과거 2회에 걸쳐 정상발정이 확인되어야 하며 발

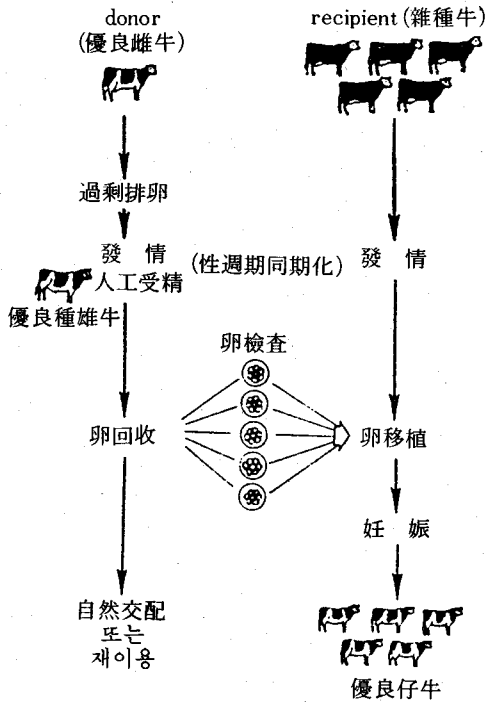


그림 1. 소의 수정란이식의 개요

정주기가 불확실한 번식장애牛, 問題牛, 子宮內膜炎이환우, 장기간 공태우 등은 공란우로서 부적당하다. 공란우로서 지속적 이용은 그 자체가 번식에는 문제가 있다는 점 때문에 일부 농가에서는 자신들이 보유하고 있는 血統, 体型 및 能力이 뛰어나지만 장기간의 번식장애우, 또는 나이가 어렸을 때는 우수한 활약을 하다가 최근 장기간 不妊狀態에 있는 고령우 등을 공란우로서 이용하고 싶은 충동을 느낄 수 있다.

그러나 공란우에는 과잉배란처치(호르몬처치) 등 인위적조치를 가하는 조건과 더불어 번식상 문제가 있는 소를 이용하면 단회수율, 이식후 수태율 등에서 結果가 不良하므로 이를 畜主에게 잘 납득시켜야 한다.

공란우 선택의 원칙은 表 1에 나타나 있다. 단, 이와 같은 기준은 어디까지나 지침이므로 개개의 사정에 따라 담당수의사가 要因을 熟考하여 선발토록 해야 한다.

표 1. 供卵牛 選抜의 基準

항 목	기 준
발 정 주 기	성성숙 이후 정상발정주기를 보일 것
수 태 성	2 회 이상 수정에서의 불임 경력이 없을 것
연 산 성 (連 産 性)	2 세 미만에 초산경력이 있으며 번식성적이 표준이상일 것
건강, 우량성	전염병, 난산, 번식장애 경력이 없으며, 혈통, 체형, 능력이 우수할 것

## 2) 과잉배란처치

수정란이식의 유효한 活用을 위해 단태동물인 소에 인위적 조치를 가해 한번에 다수의 수정란을 얻기 위한 조치로서 행한다. 일반적으로 공란우로부터 卵子를 얻는 방법은 表 2와 같다. 이 중 종래에는 일반적으로 40~50mg의 난포자극호르몬(FSH)이나 3000~4000I.U.의 妊馬血清性 性線刺戟호르몬(PMSG) 등 성선자극호르몬(GTH)을 발정주기 16일째부터 투여하고 이 GTH 투여후 3, 4일째 2~3mg의 estradiol을 2회 주사하며 발정증상이 나타났을 때 絨毛性性線刺戟호르몬(6000I.U. HCG)을 정맥주사하는 方法이 통용되었다.

표 2. 난자획득법

처 치 법	배란수	채 란 법
GTH	과잉배란	자궁세척
GTH+PGF <sub>2</sub> α	과잉배란	자궁세척
무처치	1 개	21일마다 발정후 자궁세척
무처치	무배란	난포천자에 의한 흡입

GTH : 성선자극호르몬  
PGF<sub>2</sub>α : Prostaglandin F<sub>2</sub>α

그러나 이 방법은 발정주기에 대한 소의 개체차 등의 영향으로 發情發現에 1~2일의 차이가 생기는 등 결점이 있어 最近에는 黄体退行作用이 강한 Prostaglandin F<sub>2</sub>α(PGF<sub>2</sub>α)를 PMSG나 FSH와 함께 使用하여 個別別 발정주기차에 관계없이 처치가 가능케 되었다. 이 방법의 대강은 그림 2에 나타나 있으며 이 경우 GTH의

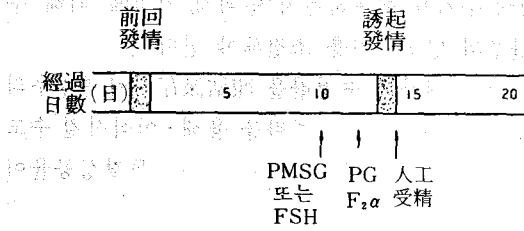


그림 2. 성선자극호르몬과 PGF<sub>2</sub>α의 併用에 의한 과잉배란처치법

투여일은 9~14일 범위에서 변동이 가능하고 PGF<sub>2</sub>α의 투여량은 25~40mg로서 적당하다.

이외에 발정발현시 성선자극호르몬 방출호르몬(GnRH)을 투여하는 방법도 있으나 전술한 방법과 大差는 없는 것으로 알려져 있다. 이 경우 과잉배란유기성적에 미치는 영향은 供卵牛個體差(品種 및 年齡), GTH의 투여시기, PMSG 투여량, FSH투여량 및 투여횟수, HCG 또는 GnRH의 투여여부, 분만후 경과일수, 계절 및 사양관리형태 등에 따라 달라진다.

### 3) 供卵牛의 發情檢査

과잉배란처치를 한 공란우에서는 발정발현시 적기에 수정을 해야 회수란중 수정란율이 높아 지기 때문에 발정발견이 매우 중요한 요인이 된다. 이 경우에 발정은 다른 소가 승가하는 것을 허용하는 소위 "standing estrus"를 발정의 기준으로 삼는 것이 가장 정확한 방법중 하나가 될 것이다.

GTH와 PGF<sub>2</sub>α를 병용할 경우 PGF<sub>2</sub>α투여 2일후 78~91%에서 발정이 집중되며 3일 이상 경과후 유발되는 발정에서는 난회수율 및 수정란율이 저하된다.

### 4) 供卵牛에 대한 人工受精

인공수정에는 여러가지 방법이 있으나 실제 standing estrus를 발견한 아침 1회째, 同日 저녁 2회째 및 그 다음날 아침 3회째 수정법이 일반적이다.

### 5) 受精卵의 回收

채란방법에는 난관세척법(개복수술) 및 자궁세척법(개복 및 비개복법)이 있다. 수정란은 일반적으로 受精後 4일간은 난관내에, 5일째는

자궁·난관접합부, 6일째는 자궁각선단에 存在한다. 그러므로 채란시기에 따라서 세척부위가 달라지게 되나 실제응용되는 방법으로는 6~7일째 자궁세척법이 일반화되어 있다.

자궁세척에는 2-way 또는 3-way catheter이 용법이 응용되고 있으며(그림 3), 세척부위에 따라 자궁각선단 부분세척 및 자궁전체세척, 세척법에 따라 고정식세척법 및 가변식세척법, 세척액 주입에 따라 연속주입법 및 단속주입법, 세척액배출에 따른 자연배출법 및 강제회수법 등으로 세분된다.

### 6) 세척액 및 보존액

세척액 및 보존액으로는 TCM-199, PBS, Ham's F-10, SOF, Brinster's Medium 등 여러 종류가 있으며 이 경우 단백질이 포함되지 않으면 수정란을 취급할 때 glass 벽에 수정란이 부착되기 때문에 위와 같은 합성배지의 血清이나 혈청알부민을 첨가한다.

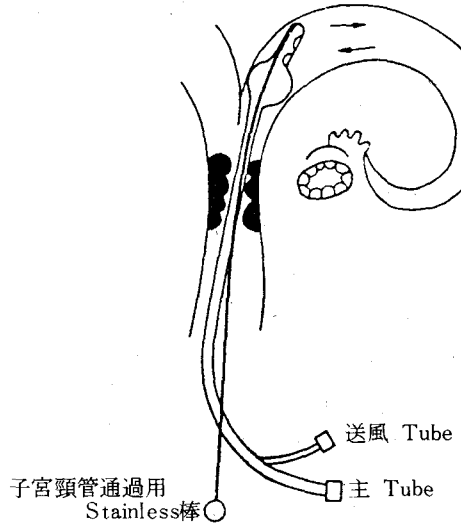


그림 3. 비수술적 난회수법

## 3. 卵의 檢査

소의 수정란은 발정주기 8~9일째까지는 透明帶를 지니고 있으며 투명대와 함께 수정란 전체의 크기는 0.15~0.2mm 정도이다. 그러므로 세척액 중에서 이 조그만 수정란을 찾아내기 위

해서는 실제 현미경을 이용하여 검사해야 한다.

### 1) 필요기구 및 기재

실체현미경(배율 10~40배 정도, 투과형 조명용, 시야 및 배율이 연속적으로 변경가능한 것), 사레, petridish, micropipette, glass봉, 보존액 및 용기 등이 있다.

### 2) 검사방법

회수액전량검사법 및 부분검사법이 있다. 비수술적방법에 의한 子宮洗滌法에서는 1頭に 적어도 세척액이 300~1000ml가 사용되므로 세척 후 이를 정지시켰다가 上清部를 siphon 요령으로 제거하고 靜置後 下部의 沈渣부분만 검사하는 방법으로 현재 일반화되어 있다.

卵檢査時의 注意點은,

① 미발견난의 발생을 막기 위해 필히 복수의 기술자가 검사하며,

② 검사중 세척액의 급격한 온도변화, 증발, pH변화가 없도록 신속히 실시하며,

③ 사용용기나 세척액, 보존액 등은 무균적 조작이 필수적이라는 점 등이다.

### 3) 회수란의 형태와 품질의 판정

회수란은 이식에 적합한가의 여부를 판정할 필요가 있기 때문에 실체현미경 검사후 200배 정도의 도립현미경하에서 ① 발육정도, ② 난세포 등의 이상여부, ③ 이상란의 경우 이식적합성 등을 검사해야 한다.

또한 회수란의 발육 stage의 구분을 하여야 하는데 이때는 桑實胚, 初期, 中期, 擴張, 脫出 胚盤胞 등의 명칭으로 구분한다. 또한 적당한 배양액에서 수시간~1일밤 정도 体外培養시켜 수정란의 生死를 판단해야 할 필요가 있다.

## 4. 受卵牛(Recipient)의 發情同期化

수정란이식이란 이미 受精이 이루어진 卵子를 타동물의 생식기내에 이식시켜 착상을 이루는 것이므로 供卵牛와 受卵牛 사이의 생식기환경이 동일 또는 유사해야 한다. 즉, 이식에 사용될 수정란의 발육단계와 근접한 수란우의 자궁내환경이 필요하다는 의미이다. 이를 위해서는 자연

발정주기를 이용하든지 인위적 처치에 의해 수란우의 발정주기를 조절해야 한다.

물론 채란된 수정란을 凍結保存시켜 수란우의 발정주기에 맞춰 동결란을 용해·이식시킬 수도 있으나 현단계까지로는 수정란의 동결성공율이 만족스럽지 못한 상태이며 동결란의 보존후 생존율이나 수태율이 신선란의 그것에 비해 절반 수준에 머물고 있기 때문에 수란우의 발정동기화 과정이 필요하다.

### 1) 供卵牛와 受卵牛의 發精日差

보통 공란우와 수란우의 발정일차가 0일이 좋다 하였으나 최근의 보고에 의하면 수란우측이 0.5~1.0일 빠른 편이 수태율이 더욱 높다고 한다.

### 2) 발정동기화방법

예로부터 이용되어 오는 소에서의 발정동기화 방법에는 Progesterone이나 Oxytocin의 연속투여법, Lugol's액 등 자극성물질 투여에 의한 자궁내막자극법 및 PGF<sub>2</sub>α 투여법 등이 주종을 이룬다.

이중 PGF<sub>2</sub>α 투여법이 일반화되어 있으며 다수의 수란우에서 발정을 동기화시키기 위해서는 11~13일 간격으로 2회 투여법이 적용되고 있다.

PGF<sub>2</sub>α의 투여위치에는 근육내, 피하, 외음부 점막하, 자궁내, 황체내(난소내) 등이 있으며 근육주사시는 20~30mg을 자궁내에는 2.5~6.0mg을 난소내에는 1~2mg을 주입한다.

## 5. 受精卵의 移植

채취한 수정란을 수란우의 자궁내에 이식하는 방법은 표3에 나타나 있다.

표3. 수정란의 이식방법

수술여부	종 류
수술적	1) 전신마취에 의한 정중선절개
	2) 국소마취에 의한 경부절개
비수술적	1) 자궁경관경유법(인공수정방식)
	2) 자궁경관우회법
	① 杉江法(CO <sub>2</sub> gas 이용법) ② Testart법(질원개절개법)

1970년대 초 北美대륙에서 수정란이식이 실용화되었을 당시에는 거의 전신마취에 의한 정중선절개법이 이용되었으나 경비나 시간을 절약하기 위해 국소마취에 의한 경부절개법이 개발되었으며 더욱 간편화하기 위해 자궁경관 우회법이 고안되어 이용된 적이 있었다.

그러나 자궁경관우회법은 시술방법이 복잡하여 널리 보급되지는 못했으며 현재는 인공수정술과 유사한 자궁경관경유법이 점차 확대 보급되어 이미 수술적 이식법은 거의 줄어들고 있다.

### 1) 자궁경관 경유법

직장질병에 의한 인공수정요령으로 이식기구를 자궁경관으로부터 자궁질내에 삽입하여 수정란을 주입하는 방법이다.

본 법에 주로 사용하는 이식기구로는 straw 식 정액주입기와 자궁내 오염방지를 위한 外筒 등이 있다.

### 2) 이식부위 및 위치

소에서는 배란후 자궁각내 수정란이 착상되는 것이 보통이므로 이식할 때도 통상 수란우의 황체존재 자궁각에 실시한다.

이식위치는 자궁각선단부(자궁, 난관접합부)로부터 2~4cm 떨어진 선단부가 최적 위치로 알려져 있으며 그 이유로는 선단부가 호르몬의 영향을 쉽게 받고 수정란을 받아들이기 적합한 자궁내 분비 등 환경이 조성되기 때문으로 생각되고 있다. 수술적 이식법에서는 선단부에 용이하게 이식시킬 수 있으나, 자궁경관경유법으로는 이식기구를 자궁각내로 삽입해야 하는 어려움이 뒤따른다.

최근 분석에 의하면 이식후 수태율은 이식기구에 의한 자궁경관통과술 및 황체축진술에 의해 크게 좌우되는 것으로 밝혀져 있어, 적어도 수정란의 체란 및 이식에는 해부생리학적 기초 지식 위에 임상경험이 풍부한 수의사에 의해서만 시술될 수 있으며, 그래야만 이식후 수태율도 산업화 가능수준까지 도달할 수 있을 것이다.

이와 관련 그간 국내 일부에서 행해졌던 비수외사에 의한 수정란이식연구, 체란, 이식의 결

과 외국에 비해 수태율이 거론조차 부끄러울 정도의 수준이하였던 점은 시사되는 바가 크다 하겠다.

## 6. 수정란의 보존

채취된 수정란을 수란우의 발정주기에 맞추기 위해서는 체외보존이 필요하다.

### 1) 비동결보존

체외보존에는 단기보존과 장기보존으로 구분하며 단기보존에는 배양액 등을 이용, 실온보존(20~25℃)과 저온보존(4~5℃)이 있으나 현 단계로서는 어느 경우이든 1~2일간의 보존에만 한정되며 생존율 또한 저하되는 단점이 있다. 그러나 동결수정란의 이식후 수태율이 신선란의 수태율에 비해 절반수준(30~40%:60~80%)이어서 가능한 비동결상태로 일정기간의 보존법이 개발된다면 가장 理想的이라 하겠다.

최근 필자를 비롯 일본 북해도대학의 金川 교수팀이 특수실물추출호르몬을 이용, 비동결보존법 개발에 관한 연구를 진행중이다.

### 2) 동결보존

오늘날 이용되는 동결정액과 마찬가지로 수정란을 초저온화(-196℃)에 보존하여 세포내의 효소활성, 세포호흡, 대사, 발육, 증식 등을 거의 정지시키므로써 영구적으로 보존할 수 있는 수많은 연구가 진행되고 있으나 수정란은 정액, 혈액, 세균, 종양세포 등에 비해 대량 채취가 어려우며 세포내 수분함량이 많기 때문에 凍害를 입기 쉽다는 등 난점이 많다.

동결보존에는 완충액의 종류(PBS, BMOC-3 Sucrose등), 동결보호제의 종류(glycerine, DMSO, PVP, Ethylene glycol, sucrose 등) 및 농도, 희석단계, 동결프로그램, 융해법(37℃ 5초), 동결보호제 제거법 등 실로 고려해야 할 사항이 많다.

그림 4 및 5에는 냉각속도와 세포내의 빙정형성관계와 냉각프로그램의 1例가 나타나 있다 이와 같은 컴퓨터냉각기를 이용한 완만동결법과 액체질소내에 직접 수정란을 침지시키는 급

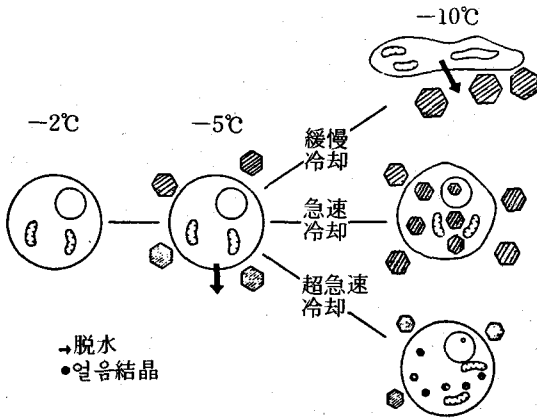


그림 4. 냉각속도와 세포내 얼음결정의 형성관계

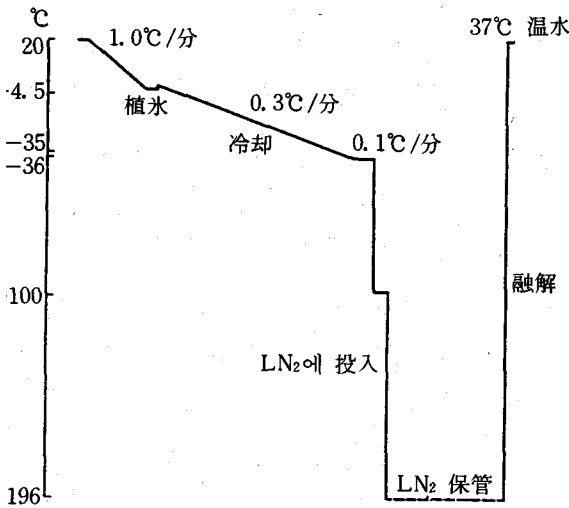


그림 5. 凍結法の 1例

속동결법이 극히 최근에 개발되고 있어 이미 마우스 수정란에서는 본 법에 의해 80%까지의 생존율을 얻고 있으나 소수정란에서는 10% 수준으로, 야외에서의 실용성 증진을 위해 급속동결법의 적극적인 개발이 절실하다고 하겠다.

이에 대해서는 국내에서도 필자가 속해 있는 서울대학교 수의과대학팀이 연구에 착수할 단계에 있다.

## 7. 수정란의 미세조작

수정란이식의 장점을 극대화시키기 위해서는 우수유전질의 선택적 생산, 유전자 조작, 성염색체검사에 의한 인위적 성지배 등을 이룩해야 할 것이다. 이를 위해서는 미세조작기(micro-

manipulator)하에서 수정란의 분할, 핵치환 및 이식 등에 대한 조작이 필요하다.

## 8. 수정란이식과 수의사

소의 수정란이식술은 이미 외국에서 생산능력을 증진시켜 축산수익을 증대시키는 적절한 수단인 된다는 사실이 확인되었고 특히 서구나 남미와 같은 광활한 초지를 충분히 보유한 조방적 축산가능국에서보다도 일본이나 한국과 같은 초지제한국에서 더욱 유용한 방법이 될 수 있을 것이다.

여기에는 공란우는 어느 수준에서 선택할 것인가와 수정란이식 시스템을 어느 형으로 택할 것인가라는 몇가지 자체 문제가 대두되기도 한다.

그러나 수정란이식기술이 현재와 같은 축산불황상태를 개선할 수 있는 수단이 되며 이를 위해서는 수의사의 능동적 참여와 적극적인 역할이 필수요인이라고 볼 때, 국내의 수정란 이식현황이 외국에 비해 초보단계에 머물고 있는 현실과 일반농가에서 수정란이식에 대한 이해도가 회의적인 상황은 우리 수의학분야 종사자들에게 큰 책임이 있다고 하겠다. 실제 국내에서는 수정란이식에 관한 연구 및 적용이 수의전문가들에 의해 주도되었다기 보다는 축산학 출신들에 의해 이루어져 오고 있다.

그런 결과는 지극히 만족스럽지 못한 상태이며 오히려 이 사업에 직·간접으로 참여했던 축산인들에게 부정적 이미지를 심어준 것이 아닌가 싶다.

필자의 견해로는 그 중요한 이유중의 하나가 바로 낮은 수태율에서 기인된 것으로 본다. 이는 어디에서 기인된 결과일까?

앞에서 살펴본 바와 같이 수정란이식에 있어 공란우 및 수란우의 선택, 란의 이식 등 문제에 있어서는 튼튼한 수의학적 기초지식(특히 해부, 생리, 조직학 등) 위에 장기간의 산과학적 임상경험이 요구되기 때문에 결코 임상경험이 있을 수 없는 축산학도에 의해 주도될 성격이 아님은 명백하다 하겠다.

실제로 일본에서는 1983년 국회에서 家畜改良 増殖法이 개정되어 “수의사가 아닌 자는 수정란을 채취 또는 처리할 수 없으며 인공수정사는 수의사의 지시하에서만 수정란을 검사, 이식할 수 있다.”는 규정을 삽입하여 수정란이식은 수의사에 의해서만 이루어져야 한다고 못박고 있다.

또한 표 4 및 표 5에서 알 수 있는 바, 이식 후 수태율은 이식자에 따라 큰 차가 있으며 직장검사 횟수 및 이식소요시간에 의해서도 좌우

표 4. 이식술자와 수태율

이식술자	이식두수	수태두수	수태율(%)
NO	51	40	78.4
YA	28	19	68.0
KA	47	31	66.6
TA	39	25	64.1
KI	20	12	60.0
ID	14	8	57.0
IW	15	7	46.7
O	9	4	44.0
H	7	2	28.6
R	3	0	0.0

\*1985년 日本 十勝育成牧場 成績  
자궁경관경유법

### ■ 近刊獸醫學文獻紹介

○클론된 DNA 마카를 이용한 DNA Hybridization 기술에 의해 傳染性喉頭氣管炎 바이러스의 強毒株와 弱毒株의 감별

Differentiation between virulent and avirulent strains of infectious laryngotracheitis virus by DNA: DNA hybridization using a cloned DNA marker.

Kotiw, M., Sheppard, M., May, J. T. and Wilks, C. R.

Veterinary Microbiology, 1986, Vol. 11, 319~330.

닭 傳染性喉頭氣管炎 바이러스의 병원성 강독주와 비병원성 약독주 바이러스의 DNA 구조를 DNA 잡종법(DNA hybridization) 기술로 분석한 바 96%의 동질성이 인정되었다. 이와 같은 고도의 동질성에도 불구하고 制限酵素에 의해 절단된 DNA 분절을 사용함으로써 기존의 制限酵素를 이용한 분석법보다 더 용이하게 patho-

표 5. 이식소요시간과 수태율

소요시간(分)	이식두수	수태두수	수태율(%)
5	76	54	71.1
10	31	25	80.6
15	13	8	61.5
20	11	8	72.7
25	9	6	66.6
30	3	1	33.3
이상	7	2	28.6

\*1985년 日本 十勝育成牧場 成績  
자궁경관경유법

되기 때문에 직장검사 및 산과처치경험이 풍부한 임상수의사가 절대적으로 필요하다.

그러나 현재까지 국내에서는 수의학교육 및 연구기관에서도 수정란이식에 관하여 축산학 전문가보다 상대적으로 관심도가 낮았으며, 임상수의사들도 소극적이 아니었으나 하는 생각이 든다.

향후 국내에서의 수정란이식사업의 본궤도 진입을 위해, 또한 이로 인해 축산진흥을 위해 나아가 수의사의 영역을 확대하고 권익을 향상시키기 위해서도 임상가들의 보다 적극적인 참여가 필요한 것으로 생각된다.

type에 의해 독주를 분별할 수 있었다. 이 切斷된 DNA 분절을 *E. coli* HB 101 세포에 클론할 수 있었고 또한 전염성 후두기관염 바이러스 毒株간의 pathotyping을 위해 이용될 뿐만 아니라 다른 家禽 바이러스와의 감별에도 이용될 수 있었다.