

## 돼지의 受精卵 移植

鄭鎮官

畜産試驗場

## Swine Embryo Transfer

Jung, Jin Kwan

Livestock Experiment Station

### I. 緒 論

수정란 移植이란 遺傳的으로 우수한 能力을 가진 家畜을 단시일내에 많이 生産해 내기 위하여 유전적으로 우수한 소수의 種畜을 선발하여 다배란 처리 등을 한 후 種付시켜서 受精卵을 채란하여 일시에 여러마리의 優良한 家畜에 이식을 하여 우수한 가축을 生産해 내는 것을 말하며 이러한 수정란 이식은 受精卵 移植에 의한 유전적 改良量이 많은 (정등, 1986) 소와 같은 單胎動物에서 많이 이용되고 있다.

돼지에 있어서의 受精卵 移植은 1950年代초부터 실시되긴 했으나 돼지는 多胎動物이기 때문에 소에서보다 그 遺傳的 改良量이 적고 또 受精卵 移植을 하기 위해서는 外科적인 수술을 해야 되기 때문에 크게 實用化 되지 못하고 있다. 그러나 돼지 자체를 다루거나 운송하는 것보다는 돼지의 受精卵을 다루거나 운송하는 것이 훨씬 편리하고 소에서와 같이 受精卵의 凍結方法이 開發되면 우수한 유전인자를 장기간 保存할 수 있는 잇점들이 있다. 또 最近에는 SPF 豚群으로 새로운 돼지를 導入할 때 受精卵 移植을 利用하고 있다 (Holtz 등, 1987).

### II. 受精卵 移植 절차

돼지의 수정란 이식절차는 원칙적으로 소의 受精卵 이식 절차와 비슷하며 Donor 와 Recipient 의 선발, 發情의 동기화 및 다배란 유도, 수정, 채란, 검란 및 移植등의 순서로 행해진다.

#### 1. Donor와 Recipient의 선발

受精卵 移植의 Donor 로 선정될 수 있는 돼지는 번식형질 등을 포함한 주요 경제 형질의 유전적 능

력이 우수하여야 하며 질병에 감염되지 않고 건강 상태가 양호한 돼지이어야 한다.

보통 수정란 이식의 Donor 로는 경산돈 및 미경산돈이 다 이용될 수 있으나 미경산돈이 아무래도 마취나 수술 등을 하기 쉽기 때문에 대체로 미경산돈이 많이 이용된다. 그러나 미경산돈을 이용하는 경우 성성숙이 완속되고 적어도 1~2 회 정도 정규적으로 발정을 보인 돼지를 선정해야 한다.

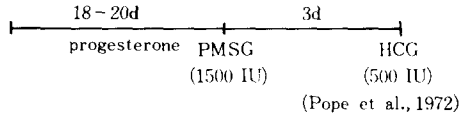
Recipient 로 선정되는 돼지는 Donor 보다 유전적 우수성은 덜 강조되지만 정규적으로 발정을 보이며 외형적으로도 건전한 돼지이어야 한다.

#### 2. 發情의 동기화 및 다배란 유도

發情의 동기화는 경산돈인 경우 仔豚의 離乳시기를 조절하여 유도할 수 있으나 Altrenogest (Davis 등, 1985)나 Allyl Trenbolone (Kraeling 등, 1981; Pursel 등, 1981) 같은 프로세스테론제를 約 18~20일 동안 Donor 와 Recipient 에 같이 給與하여 유도하는 것이 効果的이다. 이 경우 다배란은 프로세스테론제의 給與가 끝나는 날에 PMSG 를 주사하고 3일 후 HCG 를 주사하여 유도한다 (Fig. 1). 그러나 현재 그와같은 프로세스테론제는 商品化 되어있지 않기 때문에 다배란용으로 사용되는 PMSG 와 HCG 및  $PGF_{2\alpha}$  를 利用하여 發情의 동기화 및 다배란을 유도할 수 있다 (Guthrie, 1979). 즉 PMSG 와 HCG 를 約 3일 간격으로 주사하여 發情 및 배란을 유도한 후 13~14일 후에  $PGF_{2\alpha}$  를 주사하여 황체를 퇴행시킨 후 다시 PMSG 와 HCG 주사에 의해 발정 및 배란을 유도하면 發情의 동기화 및 다배란을 유도할 수 있다 (Fig. 1).

Donor 에 대해 계속적으로 다배란 처리를 할 경우는 다배란 처리 후 적어도 1~2 회정도 자연 發情이 온 후에 다음 다배란 處理를 하는 것이 좋다

A. Using progesterone



B. Using PGF<sub>2</sub>α

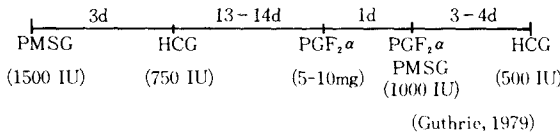


Fig. 1. Synchronization of estrus between donors and recipients and superovulation

(Thorup, 1987).

3. 受精

發情의 동기화 및 다배란이 유도된 돼지는 대체로 HCG 주사 후 40~44시간 후에 배란이 일어나므로 (Dziuk and Baker, 1962) 發情개시 24시간 후에 첫종부를 시키는 것이 좋고 그후 매 12시간 간격으로 2~3회 더 종부를 시키는 것이 좋다 (Day, 1980). 또 돼지에 人工授精을 시킬 수도 있으나 아무래도 人工授精을 하면 自然종부보다 수태율이 좋지 않으므로 수정율을 높이기 爲해서는 自然종부를 시키는 것이 좋다.

4. 受精卵의 採卵

1) 채란일 및 채란 場所

돼지 受精卵은 發情개시 2일後부터 세포분열을 하기 시작하며 대체로 發情개시후 3~4일 까지는 난관에 있으며 5일 以後부터는 자궁으로 들어가게 된다 (Table 1 및 2).

Table 2. Cleavage stages of ova recovered from various sections of the reproductive tract

Cleavage stage	Oviduct				Uterus (%)
	First quarter (%)	Second quarter (%)	Third quarter (%)	Fourth quarter (%)	
1-cell	100	86	34	4	0
2-cell	0	14	32	35	0
3-to 4-cell	0	0	29	51	56
5-to 8-cell	0	0	5	8	33
8-cell plus	0	0	0	2	11

(Oxenreider & Day, 1965)

따라서 受精卵의 採卵場所는 채란일에 따라 달라지며 종부後 1~2일 이전에 採卵한 경우는 난관에서, 종부後 3~4일 이후는 자궁에서 採卵하는 것이 보통이나 受精卵의 發達 및 체내 이동에는 변이가 많으므로 정확을 기하기 위하여 종부後 1~2일 이내에 採卵하는 경우에도 난관을 물론 자궁상단(자궁 전체의 위쪽 1/3정도)을 같이 세척하여 採卵을 하는 것이 좋다 (Day, 1980).

2) 배양액

보통 소의 受精卵 採卵 및 배양에 PBS가 많이 사용되지만 돼지 受精卵의 採卵 및 배양에는 PBS와 더불어 m-KRB나 TCM 199등이 많이 사용되며 (Eng 등, 1986) 각 배양액의 化學的 組成은 Table 3과 같다.

3) 採卵方法

(가) 마취

돼지의 受精卵을 採卵하기 위해서는 우선 돼지를 마취시켜야 하는데 마취는 마취약을 귀정맥에 주사

Table 1. Location and number of ova recovered at various intervals after onset of estrus

Location	Hours after onset of estrus						
	24	30-42	48-54	60	66-75	78-84	90-108
Oviduct							
First quarter	0	5	0	0	0	0	0
Second quarter	0	13	10	4	1	0	0
Third quarter	0	20	23	39	36	11	2
Fourth quarter	0	0	1	39	40	18	7
Uterus	0	0	0	0	22	44	83

(Oxenreider & Day, 1965)

**Table 3. Composition of PBS and m-KRB**

Ingradiant	PBS (mg/L)	m-KRB (mg/L)
NaCl	8,000	5,546
KCl	200	356
CaCl <sub>2</sub>	100	189
MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	100	—
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	—	294
NaH PO <sub>4</sub>	1,150	2,106
NaHCO <sub>3</sub>	200	2,106
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	—	162
Na lactate	—	2,253
Na pyruvate	36	28
Glucose	1,000	1,000

하여 시키며 마취가 된 돼지는採卵을 하는 동안 마취 狀態가 지속될 수 있도록 폐쇄회로식 마취 기구를 통하여 마취제 (halothane 및 nitrous oxide) 및 산소를 흡입하도록 한다. 그러나 마취기구 없이 마취제의 주사만으로도 계속 마취를 유지시킬 수도 있다.

(나) 採卵

Donor 마취를 한 후에는 복부를 정중선을 따라 메스로 절개를 한 후 자궁 난관 및 난소를 들어낸 후 受精卵을 採卵하는데 受精卵의 採卵方法은 採卵場所에 따라 다르다. 즉 난관에서 採卵을 하는 경우는 주사기 (22-gauge) 를 자궁과 난관 경계부위에 넣어 배양액을 난관에 주입하고 난관 누두부에 끼워 넣은 L 자형의 유리관을 통해 난관을 통과한 배양액을 Petridish에 받으면 되며 受精卵을 자궁에서 採卵하는 경우는 자궁난관 접속부에서 約 20cm 정도 내려온 부위를 검자로 누른 다음 난관 누두부에 끝이 무딘 주사기로 배양액을 주입하여 자궁에 끼워 넣은 L 자형 유리관을 통해 배양액을 Petridish로 받아내면 된다. 이때 사용되는 배양액은 約 37°C 정도로 가온되어 있어야 하며 採卵은 좌우 양쪽의 난관 및 자궁에서 한다.

(나) 受精卵의 檢査

採卵한 受精卵은 현미경을 통하여 移植이 가능한 受精卵인지의 여부를 檢査해야 하는데 돼지에 있어서의 受精卵의 檢査는 소에서와 같이 엄격하지 않으며 대개 4~8 세포기의 受精卵을 移植하였을 경우 妊娠率이 높으므로 (Davis & Day, 1978) 4~8세

포기의 受精卵 중에서 퇴화되지 않은 정상적인 受精卵 이면 移植이 가능한 것으로 판정된다.

5. 受精卵 移植

1) 移植 方法

受精卵의 移植도 採卵과 마찬가지로 외과적인 방법에 의해 實施되며 마취후 복부를 절개하여 난관이나 자궁을 들어낸 뒤 난관이나 자궁에 주사기를 통해 受精卵을 移植하면 된다.

그러나 Donor와 Recipient 간의 發情 동기화와 마찬가지로 채란 및 移植場所도 동일해야 受精卵 移植에 의한 妊娠率이 높기 때문에 (Table 4) 난관에서 採卵한 受精卵은 난관에, 자궁에서 採卵한 受精

**Table 4. Pregnancy rate of transferred embryos collected from uterus**

Item	Transferred site		
	Oviduct	Uterus	
		Tip	Middle
No. of transferred	15	15	14
No. of pregnant	8	12	11
Fetus	5.9	10.0	10.4

(Stein-Stefani & Holtz, 1987)

卵은 자궁에 移植해야 한다.

2) 移植 受精卵數

돼지의 受精卵 移植時 移植하는 受精卵수는 아직 정립되어 있지 않으나 13~16個를 移植한 경우보다 18~19個를 移植하였을 때 妊娠率이 높았다는 보고 (Table 5)와 12個를 移植하였을 때 보다 24個를 移植하였을 때 妊娠率이 높았다는 보고 (Pope 등, 1972) 로 미루어보아 적정 이식 受精卵數는 18~24個인

**Table 5. Effect of number of embryos transferred on pregnancy and embryo survival**

Eggs transferred/ recipient	Embryo survival		No. born
	All recipients	Pregnant recipients	
13-16	6.5%	30%	4.5
18-19	32%	48%	8.8
24	—	—	—
35	40%	40%	14

(James et al., 1980)

**Table 6. Ovulation rate after superovulation and number of eggs transferable.**

Ovulation rate	No. of transferable	Referance
28	15.0	Christenson et al., 1970
29	—	Pope et al., 1970
25	—	Webel et al., 1970
29.8	14.0	Stein-stefari & Holtz, 1987

것으로 생각된다. 한편 다배란 처리에 의해 돼지는 25~30개의 배란을 유도할 수 있으나 이중 이식이 가능한 受精卵數는 14~15개로 알려져 있다 (Table 6).

### Ⅲ. 受精卵 移植에 對한 금후 과제

돼지의 受精卵 移植을 效率的으로 行하기 爲해서는 다음과 같이 몇가지 點에 對해 더욱 연구되어져야 할 것이다.

#### 1. 효과적인 發情의 동기화 方法의 확립

Donor와 Recipient간의 발정 동기화는 소에서와 마찬가지로 돼지에서도 受精卵 移植의 성공 여부를 가름하는 아주 主要한 일이나 소의 發情 동기화에 對해서는 많이 研究되어 왔으나 돼지의 發情 동기화에 對해서는 특별히 效果的인 方法이 開發되어 있지 않으며 또 效果的인 方法으로 알려진 프로제스테론제의 使用은 現在 이러한 糞몬제가 상용으로 開發되어 있지 않기 때문에 널리 보급되기 어렵다. 따라서 現在 상용화되는 PMSG, HCG 및 PGF<sub>2</sub>α를 利用한 效果的인 동기화 方法의 開發이 必要하다.

#### 2. 採卵시기 및 移植 受精卵數

대체로 수정란은 4~8 세포기에 採卵하여 移植하는 것이 수태율이 높다고 보고되어 있기는 하지만 (Webel 등, 1970; Davis & Day, 1978) 정확히 수태율이 가장 높은 채란시기에 대해서는 알려져 있지 않기 때문에 이에 對한 研究가 필요하다. 또 受胎率이 높고 産仔數가 많은 移植 수정란수를 알아내어 돼지의 수정란 이식이 좀더 경제적이 될 수 있도록 해야 할 것이다.

### 3. 非外科的 移植기술의 개발

현재 비외과적 方法에 依한 돼지의 受精卵 移植은 아직 확립되어 있지 않기 때문에 外科적 方法에 依해 採卵 및 移植이 實施되고 있는데 아무래도 마취 및 수술등의 過程에서 Donor나 Recipient가 희생될 수 있으며 受精卵의 착상 및 生存率을 저하시킬 수가 있으므로 소에서와 같이 비외과적 移植 기술의 開發이 必要하다.

### 4. 돼지 受精卵의 凍結 保存

돼지의 受精卵 移植이 소에서와 같이 널리 利用되기 爲해서는 受精卵을 장기간 保存할 수 있어야 하며 受精卵을 장기간 保存하기 爲해서는 受精卵의 凍結 方法이 開發되어야 한다.

## Ⅳ. 要 約

돼지의 受精卵 移植은 원칙적으로 소의 수정란 이식 절차와 비슷하며 Donor와 Recipient의 選拔, 發情同期化 및 다배란 처리, 채란 및 移植의 순서로 行하여진다.

#### 1. 發情의 同期化 및 多排卵 처리

발정의 동기화는 프로제스테론劑를 약 18~20일 동안 Donor와 Recipient에 동시에 급여하여 유도하는 것이 효과적이거나 다배란용으로 사용되는 PMSG와 HCG 및 PGF<sub>2</sub>α를 利用하여 유도할 수 있다. 또 다배란은 프로제스테론劑의 供給이 끝나는 PGF<sub>2</sub>α를 주사한 후 PMSG와 HCG를 주사하여 유도한다.

#### 2. 採卵

受精卵은 보통 種付 1~2일 후에 난관에서 실시하여 종부 3~4일 以後에 採卵을 하는 경우에는 子宮에서 실시한다.

#### 3. 受精卵의 移植

돼지의 受精卵 移植은 대개 4~8 세포기의 受精卵 中에서 잘 발달되고 正當的인 수정란을 선택하여 실시하며 移植 方法은 수정란의 채란과 마찬가지로 대개 外科적 方法으로 실시하는데 난관에서 採卵한 수정란은 난관이나 子宮에서 채란한 수정란

은 자궁에 이식한다.

## V. 引用文獻

1. Christenson, R.K., C.E. Pope, V.A. Zimmerman and B.N. Day. 1970. Synchronization of ovulation in superovulated gilts. *J. Animal Sci.* 31:219.
2. Davis, D.L. 1985. Culture and storage of pig embryos: *J. Reprod. Fert., Suppl.* 33:115-124.
3. Davis, D.L. and B.N. Day. 1978. Cleavage and blastocyst formation by pig eggs in vitro. *J. Animal Sci.* 46:1043-1053.
4. Davis, D.L., J.S. Stevenson and W.E. Schmidt. 1985. Scheduled breeding of gilts after estrous synchronization with Altrenogest. *J. Animal Sci.* 60:599-602.
5. Day, B.N. 1980. Procedures and results obtainable in pigs. In *current therapy in theriogenology*. p.95-100.
6. Dziuk, P.J. and R.D. Baker. 1962. Induction and control of ovulation in swine. *J. Animal Sci.* 21:697.
7. Eng, L.A., E.T. Kornegay, J. Huntington and T. Wellman. 1986. Effects of incubation temperature and bicarbonate on maturation of pig oocytes in vitro. *J. Reprod. Fert.* 76:657-652.
8. Guthrie, H.D. 1979. Fertility after estrus cycle control using gonadotropin and prostaglandin F<sub>2α</sub> treatment of sows. *J. Animal Sci.* 49:158-162.
9. Holtz, W., B. Schlieper, J. Stein-Stefani, B. Blum, P. Agrawala and J. Rickett. 1987. Embryo transfer as a means to introduce new stock into SPF pig herds. *Theriogenology*. 27:239.
10. James, J.E., P.D. Reeser, D.L. Davis, E.C. Straton, A.C. Talbot and C. Polge. 1980. *Theriogenology* 14:463-469.
10. Kraeling, R.R., P.J. Dziuk, V.G. Pursel, G.B. Rampacek and S.K. Webel. 1981. Synchronization of estrus in swine with Allyl Trenbolone (RU-2267). *J. Animal Sci.* 52:831-835.
12. Oxenreider, S.L. and B.N. Day. 1965. Transport and cleavage of ova in swine. *J. Animal Sci.* 24:413-417.
13. Pope, C.E., R.K. Christenson, V.A. Zimmerman-Pope and B.N. Day. 1972. Effect of number of embryos on embryonic survival in recipient gilts. *J. Animal Sci.* 35:805-808.
14. Pursel, V.G., D.C. Elliott, C.W. Newman and R.B. Staigmiller. 1981. Synchronization of estrus in gilts with Allyl Trenolone: Fecundity after natural service and insemination with frozen semen. *J. Animal Sci.* 52:130-133.
15. Stein-Stefani, J. and W. Holtz. 1987. Surgical and endoscopic transfer of porcine embryos to different uterine sites. *Theriogenology*. 27:278.
16. Throup, F. 1987. Repeated superovulation in swine. *Theriogenology*. 27:288.
17. Vincent, C.K., O.W. Robison and L.C. Ulberg. 1964. A technique for reciprocal embryo transfer in swine. *J. Animal Sci.* 23:1084-1088.
18. Webel, S.K., J.B. Peters and L.L. Anderson. 1970. Synchronous and asynchronous transfer of embryos in the pig. *J. Animal Sci.* 30:565-568.
19. 정진관, 임경순, 박영일, 오봉국. 1986. 수정란 이식에 의한 소의 유전적 개량량. *한축지* 28(6): 396-399.