

소 수정란 이식의 현황과 문제점

— 수정란 생산 중심으로 —

양보석 · 임경순*

축산시험장 서울대학교

Research Problems of Bovine Embryo Transfer

— A Review of Superovulation —

B. S. Yang and K. S. Im*

Livestock Experiment Station, Seoul Nat'l University

Summary

The individual difference of superovulatory responses and inferior embryo quality in superovulated cattle may cause disturbances in the endocrine profile, follicular steroidogenesis, nuclear maturation of oocyte, fertilization and cleavage of embryos. However, the reasons why those disturbances are occurred were not understood. The methods of the improvement of superovulatory response and embryo production were the use of anti-PMSG if PMSG used, pure FSH or controlled FSH-LH inducer, priming dose of gonadotropin in the first few day of the estrous cycle and GnRH or analogue. However, all of the above methods were not reduced the individual differences but improved embryo production We must continue the fundamental studies to understand the mechanism.

서 론

소의 개량을 위하여 과거에는 우수한 종모우를 이용한 인공수정이 주로 사용되어 왔으나 1970년대 이후 가축개량효과를 더욱 증대시키기 위하여 우수한 종모우 뿐만 아니라 종빈우도 함께 이용하는 수정란 이식 기술이 세계 각국의 축산 연구기관 및 대학에서 연구가 이루어지고 있으며 육종회사에서는 사업화된 실정이다.

소의 수정란 이식 기술은 유전적으로 우수한 공란우로부터 다수의 난자를 배란시키는 다배란 처리과정, 다수의 배란된 난자를 수정시켜 수정된 난자를 체외로 회수하는 체외과정, 체외 수정란을 검사, 조작 또는 보존하는 체외조작 과정, 수란우와 공란우의 발정을 동기화 하는 과정 및 수정란을 수란우에 이식하는 수정란 이식 과정으로 크게 나눌 수 있다. 이러한 소의 수정란 이식 과정에서 수정란의 생산과 이식에 관한 연구 현황을 살펴보면 Table 1과 Table 2에서 보는 바와 같이 다수의 수정란을 생산하기

위하여 성선자극 호르몬인 PMSG와 FSH를 투여한 결과 연구자들 간에 다소의 차이는 있으나 평균 두당 배란수는 7.2~11.2개, 총 회수 난자수는 4.4~8.9개 그리고 그중 이식이 가능한 수정란수는 2.3~4.4개였으며 수정란 이식 수태율은 국내의 경우는 33%로서 다소 낮으나 외국의 경우는 외과적 이식의 경우는 약 70%, 비외과적 이식의 경우는 약 60%로서 인공수정에 의한 수태율과 큰 차이가 없다. 그러나 Table 1에서와 같이 다배란 처리에 따른 다배란 반응을 보인 개체의 비율은 80% 내외에 불과할 뿐만 아니라 다배란 반응을 보이더라도 개체간에 수정란의 생산에 있어서의 변이가 커서 신선란 이식의 경우 수란우의 두수를 계획적으로 맞추는 것이 곤란 하다.

따라서 여기에서는 수정란 이식의 과정중 중요한 첫단계인 다배란 처리에 의한 수정란 생산 과정을 중심으로 수정란의 초기발달에 영향을 미치는 내분비 및 다배란 처리에 따른 공란우 자체 및 난자의 이상에 대하여 생각을 해보고 현재까지 연구되어온 다배란 처리에 대한 개체의 반응을 높이는 방법에

Table 1. Ovarian response and embryo production in superovulated cattle

Conadotropin	No. of cows		No. of CL	Total	Embryos Transferable	Reference
	Treated	Responded*				
PMSG	28	—	8.1 ± 7.4	6.0 ± 6.4	3.3 ± 4.6	Monniaux et al. 1983
FSH	30	—	11.1 ± 6.7	8.6 ± 6.7	4.4 ± 4.3	
PMSG	10	—	—	8.9 ± 8.1	3.4 ± 1.8	Kweon et al. 1987
FSH	8	—	—	6.8 ± 6.0	3.4 ± 4.6	
PMSG	75	55	7.2 ± 4.7	4.4 ± 4.7	2.3 ± 3.5	Yang et al. 1990a
FSH	80	71	9.2 ± 6.8	6.6 ± 6.8	3.1 ± 4.0	

*Responded indicated the number of donors with more than 2 corpus lutea (CL.)

Table 2. Results of embryo transfer in cattle

No. of transfer	Technique	No. of pregnancy	Rate (%)	Reference
2256	NS	1,670	65	Schenider et al. 1980
3980	NS	2,348	59	Hahn, 1984
7652	S	5,457	71	Hasler et al. 1987
455	NS	152	33	Yang et al. 1990b

NS : non-surgical, S : surgical

대하여 종합하여 검토하고자 한다.

1. 수정란의 초기 발달과 내분비

소에서 정상 발정주기의 발정기에 수정후 높은 수정율을 얻고 수정란의 정상발육으로 높은 수태율을 얻기 위해서는 수정전의 황체에 혈중 progesterone 수준이 높아야 하며, 황체 퇴행기에는 progesterone 수준이 급격히 감소하여 발정 개시 2일전 부터 황체가 형성되기 전인 발정개시후 3~4일까지 낮은 수준을 유지하고 있어야 하며 난포 발육기에는 혈중 estradiol 수준이 높게 유지되고 발정개시후 배란을 위하여 LH 급증(LH surge)이 있어야 한다. 그러나 이러한 내분비 양상의 이상이 생겨 발정기에 혈중 progesterone 수준이 높거나 발정후 혈중 estradiol 수준이 높은 경우에는 난자가 배란이 되어라도 수정이 되지 않거나 수정이 되더라도 퇴행이 되며, 발정기에 LH 급증이 없으면 난포가 발육이 되더라도 배란이 안된다 (Maurer와 Echternkamp, 1982).

이와 같이 정상 수정란의 발육을 위해서는 혈중 LH, progesterone 및 estradiol의 변화 양상이 정상이

어야 하나 다수의 난자를 발육, 배란시키기 위하여 성선 자극 호르몬을 주사 하면 Table 3에서 보는 바와 같이 발정기에 LH 급증이 없거나 혈중 progesterone 수준이 발정기에 감소하지 않고 ng/ml 이상이 되거나 배란전 혈중 estradiol 급증이 없는 비정상 내분비 변화 양상을 보이는 개체가 나타나 수정란 생산에 나쁜 영향을 끼치게 된다.

또한 정상 발정주기를 보이는 소에서 발정동기화를 위하여 PGF₂α 또는 그 유사체를 황체에 투여하면 투여후 약 55시간에 배란전의 LH 급증 현상이 나타나 (Stotts 등 1987), 다배란 처리시에 동일 제제에 의한 발정동기화 처리시에는 배란전 LH 급증 현상은 PGF₂α 처리후 40시간 내외로 정상 발정 주기중의 경우에 비하여 약 15시간 일찍 나타난다 (Callesen 등, 1986). 이러한 현상은 다배란 처리우의 경우 성선 자극 호르몬에 반응하여 다수의 난포가 발육, 이들 난포로부터 estradiol이 다량 분비 됨으로서 발정이 일찍 오며 LH 급증도 일찍 나타나게 되는 것이다. 따라서 다배란 처리시에는 미성숙 난자도 배란이 되어 수정이 안되거나 수정이 되더라도 퇴행함으로써 수정란 생산효율을 저해한다. 또한 성선자극 호르몬

Table 3. Number of cows with normal (N) and deviating (D) plasma hormone profiles of LH, progesterone (P₄) and Estradiol-17^β(E₂)

LH	P ₄		E ₂	
	N	D	N	D
N 5	1	4	3	2
D 12	0	12	0	12

(Callesen et al. 1987)

은 LH도 함유하고 있어 처리시 LH에 대한 반응을 보이는 난포로 존재하면 이 난포는 함유된 LH에 의하여 배란이 되어 황체로 변하며, 이 새로이 형성되는 황체는 다배란 처리 과정의 PGF_{2α} 처리시에도 퇴행이 되지 않아 발정시에도 혈중 progesterone 수준을 높게 유지하며 특히, PMSG 단용 투여시에는 PMSG의 반감기가 긴 특성에 의하여 발정, 배란후에도 난포를 재 발육시켜서 발정후 혈중 estrogen 수준을 높게 유지시킬 수 있어서 난자의 수정과 수정란의 초기 발달에 나쁜 영향을 끼칠 수 있다.

발정전후 난포의 steroid 호르몬 분비 양상을 살펴보면 정상발정 주기중인 소에서는 Table 4에서 보는 바와 같이 정상 발정주기의 LH 급증이 일어나기 전인 발정전기로 부터 발정개시 15시간 및 24시간에 난소를 적출하여 1mm이상의 난포로 부터 난포액을 회수 분석한 결과 발정 전기에는 난포내 과립막 세포로부터 다량의 estradiol를 분비하며 LH 급증 후에는 이러한 분비량이 감소되며, 협막 세포에서는 Δ⁵ 경로를 통하여 생성되는 estradiol의 전구물질인 androstenedion 수준은 estradiol과 같은 변화 양상을 보인

다. 또한 협막 세포에서 Δ⁴ 경로를 통하여 생성되는 progesterone은 발정전기 동안은 난포액 내에 존재하는 고농도의 estradiol에 의하여 생성이 억제되나 LH 급증후 estradiol 수준이 감소하면 생성이 활발해져 수준이 증가하는 경향을 보인다. 그러나 총 32 mg의 FSH로 다배란 처리를 하고 발정 발현 12시간째, 즉 급증후 약 11시간째에 난소를 적출하여 1mm이상의 난포로 부터 난포액을 회수 분석한 Table 5를 살펴보면 정상발정 주기 중의 동일 시기(Table 4의 발정후 15시간째) 비하여 모든 steroid 호르몬의 수준이 개체간에 변이가 크며 estradiol 수준에 있어서는 그 수준이 상당히 낮다. 이러한 다배란 처리우의 난포액내 steroid 호르몬 수준에서의 변이 즉 난포의 steroidogenesis에서의 이상이 비정상적인 난포의 발육을 야기하여 수정란 생산에 있어서의 장애 요인으로 사료되나 현재까지 이러한 다배란 처리시의 비정상적인 steroidogenesis에 대한 원인 구명이 안되어 있는 실정이므로 더욱 더 많은 연구가 추진되어야 할 것으로 사료 된다.

Table 4. Steroid concentrations in follicular fluid from preovulatory follicles in untreated heifers

Steroid conc. (ng / ml)	Time of Ovariectomy		
	Proestrus (n=11)	Estrus+15hr (n=8)	Estrus+24hr (n=5)
Estradiol	1092.8 ± 64.7	176.7 ± 80.8	89.5 ± 16.7
Estrone	51.9 ± 6.6	16.8 ± 4.6	11.57 ± 3.0
Testosterone	149.6 ± 39.4	4.4 ± 0.8	7.0 ± 2.2
Androstenedion	278.0 ± 44.0	25.2 ± 8.5	29.9 ± 11.1
Progesterone	24.6 ± 3.3	67.7 ± 13.3	89.2 ± 12.4
Pregnenolone	40.0 ± 3.1	21.3 ± 5.2	16.2 ± 1.1

^a: The proestrus follicle was isolated for each heifer 24h after progesterone in daily jugula blood samples had decline to 1>ng/ml and prior to LH surge. Follicle isolated after estrus were obtained 15 or 24h after the onset of estrus, which corresponded to 13±0.9h and 19.6±0.7h (mean±SEM) after LH surge (Fortune & Hansel, 1985)

Table 5. Steroid concentrations in follicular fluid for perovulatory follicles of heifers primed for superovulation

	Heifer number		
	Proestrus (n=6 follicles)	Estrus+15hr (n=7 follicles)	Estrus+24hr (n=7 follicles)
Steroid conc. (ng / ml)			
Estradiol	30.9 ± 5.1	30.8 ± 2.7	4.0 ± 1.0
Estrone	6.4 ± 1.4	5.0 ± 0.9	1.2 ± 0.3
Testosterone	6.1 ± 1.0	3.5 ± 0.5	9.2 ± 2.3
Androstenedion	11.7 ± 1.9	18.3 ± 2.5	21.8 ± 3.2
Progesterone	153.0 ± 36.0	70.1 ± 6.5	20.1 ± 9.0
Pregnenolone	19.7 ± 13.4	13.0 ± 0.6	6.42 ± 1.0

*: Follicle were obtained after heifers 12h after onset of estrus (10.7±1.3h after LH surge). Heifers were treated for FSH. (Fortune & Hansel, 1985)

2. 다배란 처리 난자의 상태

소의 난소내 난자는 출생시에 성숙 분열이 복사기에서 정지된 1차 난모세포(primary oocyte)의 상태로 원시 난포(promodial follicle)내에 존재하여 춘기 발동기에 다달아 발정주기가 시작하여 성선자극 호르몬의 영향으로 난포가 발육을 재개하여 배란적 LH 급증에 의해 난자는 성숙분열이 자극 받는다. 즉 1차 난모세포의 난핵포(germinal vesicle)는 LH 급증 9~11시간후에 붕괴를 하고 18~20시간후에는 제 1극체가 방출된다.

佐藤 등(1978)이 보고한 바와 같이 정상발정 주기중

의 난포 크기별 난자의 핵성숙도를 조사한 결과 크기가 10mm 이하의 난포, 즉 LH 급증 이전의 난포에서의 난자는 모두 난핵포 상태로 있다가 10mm 이상으로 발육하여 배란전 LH 급증이 일어난 후에야 난핵포가 붕괴되는 성숙과정이 나타난다.

그러나 Goff 등(1986)이 보고한 다배란 처리를 위하여 32mg의 FSH를 투여하여 개체별로 난자의 핵성숙도를 조사한 Table 6을 살펴보면 371번 개체는 정상적으로 LH 급증후 18~20시간에 일어나야 하는 감수분열 중기 II의 상태가 단지 LH 급증 8시간 후에도 나타나고 있으며 정상적인 중기 II의 상태가 나타나야 하는 379번 및 326번 개체의 경우는 성숙분열

Table 6. Effect of interval from LH surge to time of collection the meiotic stages of bovine oocytes matured in vivo

Animal number	Interval (hr) from LH surge to collection	Stage of nuclear maturation			
		ND	GV	M I	M II
371	8	4	-	-	4
341	11	2	1	3	-
351	14	1	-	2	-
355	16	1	-	3	2
379	18	3	1	1	-
326	28	3	1	-	-
370	No surge	2	-	2	-
383	No surge	1	-	3	-
321	No surge	2	-	-	2

ND; degenerate or non-determined, GV; germinal Vesicle, M I; metaphase I, M II; metaphase II.

(Goff et al, 1986)

Table 7. Nuclear maturation of oocytes in largl (> 6mm) and small to medium size bovine follicular collected 24hr after 20mg FSH-E(equine pituitary extract)

Diameter of follicles (mm)	No. of oocytes	% each stage of nuclear maturation				
		GV	PM	M I	M II	Degt
> 6	31	19.4	6.5	64.5	6.5	3.2
3-6	100	82.0	2.0	7.0	0	19.0

GV; germinal vesicle, PM; per-metaphase, M I; metaphase I, M II; metaphase II. (More at al, 1984)

Table 8. Cytogenetic analysis of embryos produced by superovulation or natural ovulation

Ovulation	Stage (day)	Embryos analysed	Meiosis	Fertilization	Cleavage	
FSH	1*	15	6.6	20.0	0	King et al, 1985
FSH	2-3	13	0	30.7	0	King & Bettridge 1984
FSH	5-7	24	0	16.6	0	King & Picard 1985
FSH	7**	61	1.6	0	11.4	King et al, 1984
PMSG	7**	17	0	11.8	23.5	King et al, 1984
PMSG	12-18	159	0	1.9	0	McFeely et al, 1968
Nat	12-16	12	0	0	0	

*: Fertilized in vitro **: Type C(poor) embryo

Nat: Natural ovulation

(recited King, 1985)

정도가 지연되는 결과를 얻었다. 또한 정상적으로 LH 급증에 의해 자극되어 나타나는 난핵포 붕괴는 LH 급증을 보이지 않았던 370번, 383번 및 321번 개체에서도 나타나는 난자 핵 성숙의 이상을 보였다. 이러한 난자의 핵 성숙 이상은 Moor 등(1984)이 보고한 20mg의 FSH를 투여 24시간째에 난포의 크기 별로 난자의 핵 성숙도를 조사한 Table 7에서도 같은 경향이였다. 즉 6mm 이상의 난포에서 회수된 난자의 핵 성숙도는 19.4%만이 난핵포 상태에 있었으며 3.2%는 퇴행을 하고 있으며 정상적으로 10mm 이상의 난포에서 나타나는 난핵포 붕괴후 성숙 단계가 77.5%였다. 또한 3~6mm의 난포에서 회수한 난자는 19.0%가 퇴행중이며 9%가 비정상적인 난핵포 붕괴 성숙과정을 보이고 있다. 이러한 Table 6과 Table 7에서 보인 비정상적인 성숙이 성선자극 호르몬 처리에 의해 나타나므로 궁극적으로는 수정란의 질과 생산효율을 저해하는 요인이라고 사료된다. 또한 이들 성숙이 빠른 난핵포 붕괴 난자들은 이 상태에서 황체와 난포(luteinized follicle)로 되거나 배란이 되더라도 난자가 노화되어 수정이 안되거나 수정이 되더라도 퇴행을 하게 된다.

성선자극 호르몬 처리시 난자의 성숙, 수정 및 배 발달에 따른 난자(수정란)의 세포 유전학적 조사를 Table 8에서 살펴보면 보고자에 따라 이상율에 있어서는 다소의 차이가 있지만 성선자극 호르몬을 투여한 결과 난자의 성숙 분열중에 나타나는 염색체 이상이 0~66%, 수정시 나타날 수 있는 다정자 침입 및 제2극체 방출의 이상이 0~30.7% 그리고 다배수성 핵(polyplloid nuclei) 또는 다핵세포(poly-nuclear cell)와 같은 난 분할 이상이 0~23.5%로서 자연 발정시의 경우 0%에 비하여 상당히 높았다. 이러한 다배란 처리시 나타나는 난자의 성숙, 수정 그리고 배 발달의 이상이 Table 1에서 본 바와 같이 회수된 난자가 모두 수정이 되어 이들 수정된 난자가 모두 이식가능한 수정란으로 발육하지 못하는 원인으로 사료된다. 따라서 금후 이러한 비정상 원인에 대한 연구가 추진되어야 하겠다.

3. 수정란 생산 효율 증진 방안

다배란 처리에 따른 난소 반응 및 수정란 생산에 영향을 주는 요인으로는 공란우의 품종, 연령 및 건강상태 등 공란우 자체의 요인(Donaldson, 1984^{ab};

Greve 등 1979), 사용하는 호르몬제의 종류, 제조회사 및 제조공장 등 호르몬에 의한 요인 그리고 계절 및 지역 등 기타요인으로 나눌 수 있다.

공란우의 요인 즉 품종과 같은 유전적인 요인은 제거하기가 곤란한 경우이나 번식기능과 같은 건강상태는 우리가 제거할 수가 있다. 즉 공란우를 선정할 때 그 능력이 우수하여야 하겠지만 무엇보다도 번식능력이 정상이어야 한다.

다시 말하자면 공란우는 다배란 처리를 하기 전에 최소한 2회의 정상 발정주기를 관찰한 후에 공시하여야 하는데 그 이유로는 Hasler 등(1983)이 보고한 바와 같이 번식능력이 정상인 개체와 비정상적인 개체 총 984두를 이용 다배란 처리를 한 결과를 보면 평균 체란수는 각각 10.3 및 6.1개, 수정된 난자수는 각각 6.4 및 2.4개 그리고 난자의 수정율은 각각 66 및 42%로서 번식능력이 정상인 것이 좋았다는 결과로 알 수 있다. 이와 같이 공란우는 번식능력이 정상인 것을 선정하고 발정 관찰을 하며 성선자극 호르몬의 처리는 발정주기중의 황체기인 8~14일(일반적으로 9~12일)에 실시하는데(Greve 등, 1974; Donalson, 1984; Hasler 등, 1983; Heath, 1984) 발정관찰은 일반적으로 승가허용 발정(standing estrous)을 관찰한다. 그러나 이러한 육안적인 발정관찰법은 그 정확도가 떨어지므로 직장검사법에 의한 황체축진을 병행 실시하여 공시축을 선정하는 실정이나 Dowson(1975)에 의하면 숙련된 기술자에 의하여도 직장검사법에 의한 황체축진시 정확도는 89%에 지나지 않는다고 하였으며 奥田(1988)에 의하면 황체를 형성기, 개화기 및 퇴행기 황체로 구분을 하여 축진시 오진율은 각각 30, 15 및 45%라고 하였다. 이러한 직장검사에 의한 황체 축진의 오진은 수정란

생산 효율 저하와 관계가 있다. 즉, Table 9에서 보는 바와 같이 성선자극 호르몬 처리일에 우유 및 혈액내 progesterone 수준과 수정란 생산과의 관계를 조사한 결과를 살펴보면 우유중 progesterone 수준은 8 ng/ml, 혈액내 progesterone 수준은 3/ml 이상인 개체, 즉 기능황체가 존재하는 개체들이 난소반응 및 수정란 생산 효율 모두에서 그렇지 않은 개체들에 비하여 유의적으로 높았다. 따라서 수정란 생산 효율을 높이기 위해서는 공란우 선정시 정상 번식기능을 가진 개체로서 육안적인 발정관찰과 호르몬 처리시 직장검사에 의한 황체 유무 확인과 병행하여 progesterone 수준을 측정 기능황체의 존재 유무를 확인하는 것이 좋을 것으로 사료된다.

사용되는 성선자극 호르몬의 요인중 PMSG 사용시 발생하는 문제점을 살펴보면 PMSG는 다량의 sialic acid를 함유하고 있어 FSH에 비하여 반감기가 상대적으로 길기 때문에 ($t_{1/2} = 118-123$ 시간) 한번의 처리만으로 다배란 처리가 가능하다. 그러나 PMSG를 사용할 경우에는 발정이 오래 지속되며 체란시에도 긴 반감기 때문에 난포가 발육되며 배란이 안된 난포도 존재를 하게 된다(Dhondt 등, 1978). 따라서 이들 배란이 안된 다수의 난포에서는 estradiol이 계속 분비되어 초기 수정란의 발육을 저해 시킴으로서 이식가능한 양질 수정란 생산 효율에 나쁜 영향을 미친다. 이러한 PMSG의 긴 반감기에 의한 수정란 생산 손실은 발정일에 PMSG에 대한 항혈청 또는 항체(anti-PMSG)를 투여하면 발정후 PMSG의 작용을 중화시켜 주어 발정후 24시간 이내에 혈중 estradiol 수준을 급격히 감소시켜 줌으로서 외부로 나타나는 발정증상을 짧게하여 줄 뿐만 아니라 수정율도 증가시켜 주며 수정란 생산 효율도 증가

Table 9. Effects of progesteron (P₄) levels on the first treatment day on superovulatory response

P ₄ level (ng/ml)	No. of cows	P ₄ (ng/ml)	No. of CL	Ova and embryos	Transferable embryos	Reference
Milk						
< 8	21	3.7 ± 0.5	6.8 ± 1.4	3.9 ± 1.2	1.4 ± 0.4	Herrier et al, 1990
> 8	69	18.5 ± 0.8	12.5 ± 0.6	7.4 ± 0.9	3.0 ± 0.4	
Total	90	15.0 ± 0.9	10.5 ± 0.6	6.0 ± 0.7	2.7 ± 0.3	
Plasma						
< 3	20	—	8.4 ± 1.7	6.5 ± 1.2	2.0 ± 1.6	Goto et al, 1988
> 3	20	—	17.7 ± 2.9**	15.6 ± 3.1**	9.4 ± 2.2**	

시켜 준다(Bouters 등, 1983; Wang 등, 1987). 따라서 금후 PMSG를 사용하여 다배란 처리를 할 경우에는 anti-PMSG를 사용하는 것이 수정란 생산 효율을 증진시켜줄 것으로 사료되나 anti-PMSG의 가격이 비싸므로 이 문제도 같이 해결 해야 하겠다.

또한 FSH를 사용하는 경우에는 사용하려는 제제의 제조회사 및 batch와 같은 정보를 미리 알아야 한

다. 왜냐하면 FSH는 뇌하수체로 부터 추출을 하는데 FSH와 LH는 뇌하수체의 호염기성 세포(hasophilic cell)에서 같이 생성되므로 LH도 같이 함유되어 있으며 같은 회사 제품이라도 Table 10에서 보는 바와 같이 batch에 따라 FSH의 양은 3.42~6.82mg 약 2배의 차이를 보이며 함유된 LH의 양은 0.024~0.075mg으로 약 3배의 차이를 보인다.

Table 10. Batch variation of FSH

Batch #	FSH / mg	LH / mg	FSH / LH	FSH / bottle	% Armour std
A32202	3.42	0.024	142	92	65
550D86	6.25	0.066	94	168	55
552E86	4.23	0.075	56	77	50
574A89	6.82	0.057	119	178	54

(Donaldson, 1990)

이러한 시판 FSH가 LH에 의한 오염도의 차이는 Table 11에서 보는 바와 같이 채란된 총 난자수에서는 큰 차이가 없지만 수정된 난자의 수, 이식가능 양질 수정란수 및 그 비율에 있어서 LH 함유량이 적은 FSH 순도가 높은 제제가 수정란의 생산이 양호하다는 것을 알수 있다. 또한 FSH의 제조회사에 따라서도 LH의 함량이 차이가 나고 이에 따른 수정란 생산 효율도 변이가 있으므로(Del Campo 등, 1990) 금후 국내 수입 FSH의 LH 함유 정도를 측정 제조회사 및 batch 선정을 한다면 국내 수정란 이식 연구에 큰 도움이 될 것으로 사료된다.

이외에도 수정란 생산 효율을 증진시키는 방법로서는 다배란 처리전의 발정주기 초기(발정후 3~4일)에 소량의 PMSG 또는 FSH로 전 처리하고 발정주기 9~12일에 다배란 처리를 하는 방법이며 이 방법을 이용하여 다배란 반응 및 수정란 생산 효율을 증진시켰다는 보고가 있다(Rajamahendrian 등, 1987; Petr 등, 1990) 이러한 성선 자극 호르몬의 전처리에 의한 수정란 생산 효율 증진 효과는 발정주기 초기에 난포를 자극하여 비폐쇄 난포의 수를 증가 시킴으로서 다배란 처리시 성선자극 호르몬에 대한 반응을 증진시키는 것이다. 그러나 이 방법에 의하여 비폐쇄 난포의 수 뿐만 아니라 크기도 증가 시켜 줌으로써 다배란 처리 반응이 나빠진다는 보고가 있는 것으로 보아(Grasso 등, 1989) 다배란 처리시 직장검사 뿐만 아니라 초음파 진단기에 의하여 황체

와 난포를 검사하는 것이 수정란 생산 효율을 증진시킬 것이라고 사료 된다.

또한 다배란 처리에 의한 발정일에 GnRH를 투여하여 인위적인 LH 급증을 일으켜서 다수의 수정란을 얻는 방법으로서 Wubishet 등(1986)은 예상발정일에 GnRH를 투여하여 황체수, 회수난자수 및 수정란수에서 무처리구에 비하여 유의적으로 증가하였다고 보고 하였으나 Savage 등(1987)에 의하면 회수 수정란수와 이식 가능 수정란수에서 다소의 증가는 있었으나 유의적인 차이는 없었다는 보고와 같이 보고자들 간에 다소의 차이가 있었다. 이러한 차이는 이들 연구자들이 10~15두의 적은 두수의 공란우를 이용한 결과이므로 적은 공시두수 공시품종 및 투여제제 및 투여 시기의 차이에서 기인된 것으로 사료된다. 그러나 이들 모두가 수정란 생산 효율에 있어서는 증가 경향을 보였으므로 금후 GnRH 투여에 대한 더욱 집중적인 연구도 필요하다고 사료된다. 또한 다배란 처리 발정동기화를 위해 투여하는 PGF₂α 제제는 단용 투여하는 것 보다 1일 2~3회 나누어서 투여하는 방법(Donaldson, 1983; 鈴木 등 1981)도 수정란 생산 효율을 증진 시킬 수 있으며 최근에는 다배란 처리시 일찍 나타나는 LH 급증을 LH antagonist 를 이용 억제한 후 정상 LH 급증시에 HCG 를 투여하는 방법(Rieger 등, 1990^b)과 사람의 체외수정을 위한 다배란 처리시 사용되는 somatotroption 을 소에서도 재조합 bovine somatotrophin을 FSH

와 같이 이용하는 방법(Rieger 등, 1990^a)도 연구되고 있다. 그러나 아직까지는 이들 모든 방법에 의하여 수정란 생산 효율은 증진시킬 수 있었으나 개체간의 차이는 줄이지 못한 실정이므로 금후 수정란 생산에 대한 내분비 기전등 기초연구에 더욱 매진해야 할 것으로 사료된다.

결 론

소의 수정란 이식에 있어서 처음 단계이자 가장 큰 문제점으로는 다배란 처리에 따른 개체만의 변이가 크며 양질의 수정란을 안정적으로 생산하지 못하는 점으로 사료된다. 이러한 개체간의 반응 차가 심하고 회수된 난자중 양질의 수정란의 비율이 낮은 이유로는 다배란 처리에 따른 내분비 양상의 이상, 난포내 steroid 호르몬 생성 이상, 난자의 핵 성숙 이상 및 수정과 난분할 이상 등 여러 요인이 있으나 아직까지 이러한 이상을 일으키는 요인에 대하여는 밝혀지지 않았다. 그러나 현재까지 연구되어온 수정란 생산효율을 증진시키는 방법으로는 PMSG를 이용할 경우에는 anti-PMSG의 사용, FSH를 사용할 경우에는 LH의 함량이 적은 순수한 FSH의 사용, 발정주기 초기에 성선자극 호르몬으로 전처리 하는 방법 및 GnRH를 이용하는 방법등 여러 방법들이 시도되어 왔으나 이들 모든 방법들도 수정란 생산 효율에 있어서는 좋은 효과를 얻었으나 개체간의 변이는 줄여들지 못하였다. 따라서 금후 수정란 생산에 대한 기초 연구를 수행하여야 하겠다.

REFERENCE

- Bouters, Von, R., I. Moyaert, M. Coryn and M. Vandeplassche. 1983. The use of a PMSG antiserum in superovulated cattle: endocrinological changes and effects on timing of ovulation. *Zychnthyg* 18:172-177.
- Calleson, H., T. Greve and P. Hyttel. 1986. Preovulatory endocrinology and oocyte maturation in superovulated cattle. *Theriogenology* 25:71-86.
- Calleson, H., T. Greve and P. Hyttel. 1987. Premature ovulations in superovulated cattle. *Theriogenology* 28:155-166.
- Dawson, F. L. 1975. Accuracy of rectal palpation in the diagnosis of ovarian function in the cow. *Vet. Rec.* 96:218-220.
- Del Campo, M. R., F. Becerra, M. Gomez, B. D. Murphy and R. J. Mapletoft. 1990. Superovulation in three different commercial pituitary extracts in the cow. *Theriogenology* 33:308 (Abstr.)
- Dhondt, D., R. Bouters, J. Spincemille, M. Coryn and M. Vandorplasse. 1978. The control of superovulation in the bovine with a PMSG-antiserum. *Theriogenology*. 9:529-534.
- Donaldson, L. E. 1983. The effect of prostaglandin F₂ alpha treatments in superovulated cattle on estrus response and embryo production. *Theriogenology*. 20:279-289.
- Donaldson, L. E. 1984a. Effect of age of donor cows on embryo production. *Theriogenology*. 21:963-967.
- Donaldson, L. E. 1984b. Cattle breed as a source of variation in embryo transfer. *Theriogenology*. 21:1013-1018.
- Donaldson, L. E. 1984c. The day of estrous cycle that FSH is started and superovulation in cattle. *Theriogenology*. 22:97-99.
- Donaldson, L. E. and D. W. Ward. 1986. Effects of luteinizing hormone on embryo production in superovulated cows. *Vet. Rec.* 79:625-626.
- Donaldson, L. E. 1990d. FSH-P \oplus batch variation. *Theriogenology* 33:215 (Abstr.)
- Fortune, J. E. and W. Hansel. 1985. Concentrations of steroids and gonadotropins in follicular fluid from normal heifers and heifers primed for superovulation. *Biol. Reprod.* 32:1069-1079.
- Goff, A. K., T. Greve, D. Bousquet and W. A. King. 1986. Progesterone and luteinizing hormone profile in heifers used as oocyte donor. *Theriogenology*. 26:577-586.
- Grasso, F., L. A. Guilbault, G. L. Roy and I. G. Lussier. 1989. Ultrasoundographic determination of ovarian follicular development in superovulated heifers pretreated with FSH-P at the beginning of the estrous cycle. *Theriogenology*. 31:1209-1220.
- Greer, T., H. Lehn-Jensen and N. O. Rasbech. 1979.

- Morphological evaluation of bovine embryos recovered non-surgically from superovulated dairy cows on 6½ to 7½: A field study. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.* 19:1599-1611.
- Hahn, 1984. Personal comm. cited from Greve, T. and M. Del Campo, 1986. Embrya loss following embryo transfer in cattle and swine. In: Embryonic mortality in farm animals by Sreenan, J. M. and M. G. Diskin, Martinus Nijhoff publishers, pp. 179-194.
- Hasler, J. F., A. D. McCaley, E. C. Schermerhorn and R. H. FooDe. 1983. Superovulatory responses of Holstein cows. *Theriogenology*. 19:83-99.
- Hasler, J. F., A. D. McCauley, W. F. Lathrop and R. H. Foote. 1987. Effect of donor-embryo-recipient interations on pregnancy rate in a large-scale bovine embryo transfer program. *Theriogenology*. 27:139-168.
- Heath, T. D. 1984. Selection and preparation of donors and recipients In: Bovine embryo transfer workshop. univ. Sydney 70:35-37.
- King, W. A. 1985. Intrinsic embryonic factors that may affect survival after transfer. *Theriogenolays*. 23: 161-174.
- Kweon, O. K., Kanagawa, H., Y. Takahachi, A. Miyamoto, J. Masaki, M. Umezu, S. Kagabu, Y. Iwqazumi and Y. Aoyagi. 1987. Plasma endocrine profiles and total cholesterol levels in superovulated cows. *Theriogenology*. 27:841-857.
- Maurer, R. R. and S. E. Echternkamp. 1982. Hormonal asynchrony and embryonic development *Theriogenology*. 17:11-22.
- Monniaux, D., D. Chupin and J. Saumande. 1983. Superovulatory responses of cattle. *Theriogenology*. 19 :55-81.
- Moor, R. M., Th. A. M. Kruip and D. Green. 1984. Intraovarian control of folliculogenesis: limit to superovulation. *Theriogenology* 21:103-116.
- Petr, J., Mika and F. Jilek. 1990. The effect of PMSG-priming on subsequent superovulatory response in dairy cows. *Theriogenology*. 33:1151-1155.
- Rajamaberdran, R. S. Canseco, C. J. Denbow, F. C. Gwazdauskas and W. E. Vinson. 1987. Effect of low dose of FSH given at the beginning of the estrous cycle and subsequent superovulatory response in Holstein cows. *Theriogenology*. 28:59-65.
- Rieger, D., J. S. Walton, M. L. Goodwin and W. H. Johnson. 1990a. The effect of co-treatment with recombinant bovine somatotrophin (r BST) on the superovulatory response in Holstein heifer. *Theriogenolagey*. 33:306 (Abstr.)
- Rieger, D., J. S. Walton, W. H. Johnson and D. H. Coy. 1990b. The effect of treatment with an LH RH antagonist on the quality of day-7 embryos collected from supuovulated Holstein heifer. *Theriogenology*. 33:307 (Abstr.)
- Savage, N. C., Howell, W. and R. J. Mapletoft. 1987. Superovulation in the cow using estradiol-17 betor or GnRH in conjunction with FSH-P. *Theriogenology* 27:383-394.
- Schenider, H. J. Jr., R. S. Castleberry and J. L. Griffin. 1980. Commercial aspects of bovine embryo transfer 13:73-85.
- Stotts, J., T. Stumpf, M. Day, M. Wolfe, P. Wolfe, R. K. ttok, M. Nielsen, G. Deutscher and J. Kinder. 1987. Luteinizing hormone and progesterone concentrations in serum of heifers administered a short half-life prostaglandin (PGF₂α) on long half-life prostaglandin analogue (Fenprostalene) on days six or eleven of the estrus cycle. *Theriogenology* 28: 523-529.
- Wang, H., M. Wu, K. Xu, W. C. Hagele and R. J. Mapletoft. 1987. Control of superoulation in the cow with a PMSG antiserum *Theriogenology*. 27:291 (Abstr.).
- Wubishet, A., Graves, C. N., Spahr, S. L., Kesler, D. J. and R. J. Favero. 1986. Effect of GnRH treatment on superovulatory response of dairy cows. *Theriogenology* 25:423-427.
- Yang, B. S., S. J. Oh, S. H. Yoo, H. S. Lee, K. S. Im and D. S. Sul 1990a. Embryo transfer in Korean native cattle. 5th AAAP, Taipei, Val 3.: 373.
- 梁甫錫, 吳成宗, 金熙錫, 李根常, 1990b. 未發表 資料.
- 奥田 深. 1988. 直腸検査によるウシの 卵巣検査の 問題點. 畜産の研究. 42:1123-1126.
- 佐藤英明, 入谷 明, 西リ義正, 1978. ウシ卵胞卵の體外成熟お

よび 活性化 現象 にへいて, 日畜會報, 49:236-242.
鈴木 達行, 下平乙夫, 松田修一, 三浦秀夫, 伊藤一伸, 1985

. PGF₂ の 分割 投與がウシの 過剰排卵にちえる影響.
日家畜繁殖誌, 31:216-217.