

젖소 생체로부터 초음파기기와 간이 난자채취기를 이용한 미성숙 난포란의 채란

박성재 · 류일선 · 이동원 · 연성흠 · 서국현 · 허태영 · 백광수 · 안병석 · 김일화¹ · 손동수[†]
축산기술연구소

Comparison of the Ultrasound-Guided vs Hand-Operated Vacuum Pump Transvaginal Ovum Pick-up in Holstein

S. J. Park, I. S. Ryu, D. W. Lee, S. H. Yeon, G. H. Suh, T. Y. Hur, K. S. Back,
B. S. Ahn, I. H. Kim¹ and D. S. Son[†]

National Livestock Research Institute, R.D.A

SUMMARY

Transvaginal ovum pick-up (OPU) offers several advantages to standard embryo transfer procedures. For a systematic comparison of the ultrasound-guided (UG) and the hand-operated vacuum pump (HP) OPU method, the repeated session and mean number of heads between the UG and HP methods were 8.8 and 8.3, and 5 and 16, respectively. The efficacy of oocyte retrieval was same to long time OPU by UG vs HP for retrieval oocytes in Holstein cows. The number of retrieval oocytes was 4.14 ± 3.28 (UG) and 4.39 ± 3.61 (HP). No significant differences ($P < 0.05$) for the retrieval oocyte numbers were observed in the methods. The oocytes rates for the grade I or II oocyte for HP and UG were 51.3% and 59.9%, respectively. There was no significant difference ($P < 0.05$) in oocyte collection rate for the grade of I or II. In the long term OPU, important variation was found to ovary adhesion that was observed in two heads in the HP. In conclusion, the use of UG or HP machine for long term oocyte retrieval may be possible for cows which have inability for reproduction.

(Key words : OPU, ultrasound-guided, hand-operated vacuum pump, long term oocyte retrieval)

서 론

유전적으로 우수한 능력을 보유하고 있는 소의 과배란치리로 수정란을 생산·이식하여 송아지를 생산하는 연구가 지속적으로 이루어지고 있으며, 생체로부터 연속적으로 미성숙난자를 채란하여 수정란을 생산하는 연구가 근래에 와서 많이 보고되고 있다(Pieterse 등, 1988; Pieterse 등, 1991). 능력

이 우수한 종빈우에서 채취한 난자와 우수한 종모우의 정액을 이용한 체외수정란의 생산은 혈통과 능력을 알 수 없는 도축한 소의 난소를 이용하여 생산한 체외수정란보다 유용하게 활용할 수 있는 기술이다. 이러한 기술은 초음파기기의 모니터를 통하여 난소를 확인하고 미성숙 난자를 채란하거나 간이 난자채취기를 이용하여 시술자의 손가락 감각으로 난소를 조절하면서 미성숙난자를 채란하는 방법 (Kim 등, 1997)을 이용한다. 소에서 초음

¹ 충북대학교 수의과대학 (College of Veterinary Medicine, Chungbuk National University)

[†] Correspondence

파기기를 이용한 난포란 채취는 Callesen 등(1987)이 최초로 시도한 이래 임신우에서 난포란 채취(Meintjes 등, 1995; Joly 등, 1997; 이 등, 1998), 번식장애우를 이용한 난포란 채취 (Pieterse 등, 1992; Galli 등, 2000), 미성숙 송아지에서 난포란 채취 (Tervit, 1996; Majerus 등, 1999) 등 많은 연구자들에 의해 보고되고 있다. 또한 연속적인 장기간 채란을 위해서는 공란우에 호르몬을 처리하지 않고 채란하는 것이 유리하다고 Kruip 등(1993)은 보고하였다.

초음파기기를 이용한 난포란 채취는 난소를 모니터상에서 보면서 채란할 수 있으나 간이 난자채취기에 의한 채란시에는 시술자의 손가락 촉지에 의해 난소내에 임의로 천자하여 채란하므로 난포가 아닌 부위를 천자하는 경우도 발생할 수 있다. 장기간 연속적으로 채란하는 경우에는 난소실질에 상처를 적게 주는 초음파기기를 이용한 방법이 유리하지만 기기에 나타나는 화면상의 난포를 구분하고, 해석을 할 수 있는 기본적인 기술의 습득이 요구된다.

따라서 본 연구는 정상적으로 번식이 불가능한 젖소를 이용하여 생체 내 미성숙난자의 장기간 채란 시에 초음파기기와 간이 난자채취기의 효율성을 검토하고, 연속적인 반복 채란의 효율, 채란 난포란의 등급, 반복채란에 의한 장애우 발생 등에 대한 영향을 조사하여 고능력 소에서 체외수정란 안정적 생산에 활용 가능성을 검토하고자 실시하였다.

재료 및 방법

1. 공시축

간이 난자채취기를 이용한 생체내 미성숙난자 채란에 공시된 공란우는 정상적인 번식이 불가능한 5~6세 젖소 16두를 선발하였고, 초음파기를 이용한 채란에 공시된 공란우는 5~6세의 장기공태우 5두를 공시하였으며, 모든 공란우는 다배란을 위한 호르몬 처리를 하지 않았다.

2. 간이 난자채취기에 의한 미성숙난자 채란

공란우는 lidicaine HCl (2% 염산리도카인, 광명

제약(화성)) 6ml 로 미추 경막외 마취를 실시하였고, 보정된 공란우의 질 주변을 70% alcohol 면으로 소독하였다. 김 등 (1997)이 사용한 간이 난자채취기를 질내에 삽입하여 자궁경관 근접부위까지 도달시킨 다음 난소를 자궁경관과 바늘끝 가까이 근접하도록 견인하고 바늘을 난소표면 및 실질을 천자하면서 보조자가 수동음압기를 작동하여 난포액을 흡인하였다. 수동음압기(Hand-Operated Vacuum Pump, Nalgene, USA)의 음압은 10mmHg를 유지하였다.

난자흡인은 채란자의 난소조작 및 채란바늘의 숙련된 감각 보조자의 순간 음압 발생을 이용하였으며, 바늘의 적절한 조절로 난소실질의 상처나 시술자의 손가락 상처 발생을 최소화 하였다. 난소실질 내로 지나치게 깊게 바늘을 주입하거나 황체조직으로 바늘이 들어가면 황체조직 내 혈관손상으로 인해 출혈이 일어나고 혈액이 흡입될 수 있으므로 주의를 하면서 난자를 채취하였다.

간이 채취기의 바늘 끝을 잘못 조절하면 직장벽을 통과하는 경우가 발생하여 채란 난포란의 오염이 일어날 수 있으므로 주의하였으며, 바늘 끝이 무디어지는 경우는 즉시 교체하였다. 난포란 채란액은 10IU/ml heparine 첨가 D-PBS액을 사용하였다.

3. 초음파기기를 이용한 미성숙난자 채란

생체 내 난자채취를 위하여 convex type의 질용 6.5MHz probe (탐촉자)가 부착된 초음파기기 (Sonovet 600, 매디슨)를 이용하였다. 난포액의 흡입은 음압조절이 가능한 micro-suction pump (WISAP[®], Germany)를 이용하였으며, 채취용 바늘은 55cm 길이의 18-Gauge 의 바늘 끝에 초음파 반향부가 있고 50ml 원심분리관과 연결된 Echo-Tip[®] (Cook Co., Australia)을 사용하였다.

공란우는 보정틀에 보정시킨 후 lidicaine HCl 5ml로 미추 경막외 마취를 실시하고, lidocaine HCl 3ml를 자궁경부 주변에 도포하여 점막마취로 주사바늘이 통과 시 통증을 줄이도록 하였다. 마취가 완료된 공란우는 외음부 주위를 깨끗이 소독한 후 탐촉자의 선단에 Sonogel (다요 의료(주), 서울)로 도포하고 직장검사용 비닐장갑을 씌운 다음 탐촉

자를 질 내로 삽입하여 자궁경부의 좌측이나 우측에 위치하도록 하였다. 직장벽을 통해서 난소를 탐촉자의 끝에 위치시킨 후 난소와 난포를 초음파기의 화면상에 정확히 나타나게 했다.

난소를 움직여서 채란하고자 하는 난포가 초음파기 화면상의 바늘유도 감지선에 위치하게 하고 주사바늘을 전진하여 화면상의 난포 (흑점) 로 삽입하였다. 난포 내로 주사바늘이 들어가 주사바늘 선단의 반항부에 의하여 화면상에 약한 흰점으로 나타났을 때 전동음압기를 70mmHg로 작동시켜 난포액을 흡입하였다. 화면상에 흑점이 없어질 때까지 난포액을 흡입한 후 주사바늘을 후진하고 난소를 조작하여 다른 난포에서 난포액을 흡입하였다.

난포의 채취는 1%(v/v)의 소태아 혈청(FBS; Gibco)과 0.2%(v/v) heparin sodium(녹십자, 용인)이 첨가된 Dulbecco's phosphate buffered saline (D-PBS; Gibco) 액을 주사바늘내와 50ml 시험관에 약간씩 채워서 채란된 난자를 보호하고 분실을 예방하였다.

채취한 난포액은 2시간 이내에 실험실로 옮겨 채란액으로 씻은 다음 수정란 회수용 필터(Embryo collector, Fujira Inc., Japan)에서 반복 세척하여 실제 현미경하에서 미성숙난자를 회수하였다.

회수한 미성숙난자의 등급은 de Loos 등 (1989)의 방법에 준하여 다음과 같이 구분하였다. I 등급은 난구세포층이 여러 겹이고 세포질이 균일하고 맑고 선명한 형태의 것, II 등급은 난구세포층이 1~3층이고 세포질이 일부 거칠어 보이거나 어두

워 보이는 세포질과 부착물을 보이는 것, III 등급은 난구세포가 덜 치밀하고 나화된 부분이 있으며 세포질이 불규칙적으로 어두운 덩어리 형태의 것, IV 등급은 난구세포층이 팽화되거나 노화된 형태의 것이나 세포질이 어둡고 불규칙한 경우이었으며, 그 중 I 등급과 II 등급의 난포란을 체외성숙배양 가능한 난포란으로 공시하였다.

한편, 난포란 채취전에 난소내 난포 크기를 대 난포는 8mm 이상, 중난포는 4~7mm, 소난포는 3mm 이하로 정하여 크기와 수를 조사하였다.

4. 통계학적 분석

모든 자료는 SAS program의 T-Test법으로 분석하였다.

결과 및 고찰

1. 난포란 채취 기기의 차이에 따른 채란 효율
생체내 미성숙난자를 채취하기 위해 간이 난자 채취기와 초음파기기를 이용한 기기별 채취결과를 비교한 성적은 Table 1과 같다.

공란우당 채취회수는 간이 난자채취기 8.3회였고, 초음파기기는 8.8회였으며, 공란우당 평균 회수된 난포란은 각각 4.39개와 4.14개로 채취기간에 차이는 없었다($P < 0.05$). 회수된 난포란중 체외 성배양이 가능한 I~II 등급의 난포란 비율은 각각 51.3%와 59.9%로 채취기간에 유의적인 차이는 인정되지 않았다($P < 0.05$). 그러나 초음파채취기를 이용하였을 때는 난소의 유착이 없었으나 간

Table 1. Efficiency of retrieval oocyte collection by different method

	Hand-operated vacuum pump	Ultrasound guided
No. of cows	16	5
No. of OPU session	132	44
No. of OPU session/cows	8.3	8.8
No. of oocytes collected	574	178
No. of oocytes collected/OPU session	4.39±3.61	4.14±3.28
No. of collected I-II grade oocytes / OPU session (%)	2.25±2.24 (51.3)	2.48±1.59 (59.9)
No. of cows of ovary adhesion	2	0
Vacuum pressure	10 mmHg	70 mmHg

이 난자채취기를 이용하였을 때에 2두에서 유착이 발생하여 반복적인 채취가 불가능하였다.

조 등 (1999)은 번식장애가 없는 건강한 젖소 육성우 10두에 FSH투여하여 초음파난자채취기를 이용하여 난포란을 채취한 결과 회수난포란 중 체외성숙배양이 가능한 II등급 이상이 59.6%라고 하였다.

간이 난자채취기를 이용하여 난포란을 흡입하는 음압은 10mmHg로 하였는데 이는 채취기가 난소와 가까운 거리에 있기 때문에 초음파기기를 사용할 때의 음압 70mmHg과 유사한 양을 흡입할 수 있었다.

Lenz 등(1987)과 Hashimoto 등(1999)은 초음파기기를 이용한 난포란 채취시 음압을 150mmHg 이상 높일 경우에 1~2등급에 속하는 난포란의 회수율이 많아진다고 보고하였다.

Chian 등(1994)은 난포의 크기가 작으면 난포액의 양이 적으므로 적당한 시간에 적당한 음압으로

채란을 해야 난포란의 난구세포가 벗겨지거나 탈락되는 것을 막을 수 있다고 하였으며, 난구세포에 손상을 주면 체외성숙을 및 체외수정율이 감소한다고 했다.

정상적인 번식이 불가능한 젖소에서 간이 난자채취기를 이용하여 미성숙 난자를 회수한 결과는 Table 2에서 보는 바와 같다.

공시축 16두에 대하여 1~2주 간격으로 공란우당 1~23회 난포란을 채취하여 1회 평균 회수난포는 4.39개였고, 회수된 난포란 중 체외배양 가능한 난포란은 2.25개였다. 개체에 따라 채취되는 난포란과 체외배양가능 난포란의 변이가 매우 많았다. 공란우의 산차가 높은 개체가 초산차의 공란우보다 대체적으로 채란회수가 많았으며, 공란우의 산유량은 채란회수와 상관관계가 없는 것으로 추정된다. 간이 난자채취기를 이용하여 반복 채취한 결과 No. 9번 공란우는 1회 이후, No. 10번 공란우는 5회 이후 난소유착이 확인되어 채란이 불가능하였

Table 2. Individual record of retrieval oocytes by hand-operated vacuum pump

Cow	Parity	Milk yield (kg) /Year	Results of collected oocytes		
			No. of OPU session	No. of collected oocytes/session	No. of collected I - II oocytes/session
1	6	8,419	23	8.17±4.38	4.30±2.47
2	5	8,932	16	2.88±1.66	1.43±1.03
3	4	8,052	21	3.42±2.22	2.09±1.89
4	4	8,953	6	4.00±1.79	2.50±0.54
5	3	11,816	17	3.23±2.23	1.41±1.27
6	2	9,731	18	2.50±1.97	0.77±0.94
7	2	8,127	3	4.00±1.73	2.00±1.73
8	2	7,769	5	4.60±2.50	1.80±1.09
9*	2	8,500	1	13.00±0.00	8.00±0.00
10*	1	8,862	5	1.60±0.89	0.40±0.54
11	1	7,977	1	10.00±0.00	5.00±0.00
12	1	8,689	1	1.00±0.00	0.00±0.00
13	1	8,828	3	1.33±0.57	0.33±0.57
14	1	8,456	2	6.00±2.82	3.00±1.41
15	1	6,601	1	2.00±0.00	0.00±0.00
16	1	7,856	9	7.00±4.54	4.40±3.27
Total			132	4.39±3.61	2.25±2.24

* The cow were diagnosed ovary adhesion.

다. 난소유착의 발생은 주사바늘이 황체조직에 손상을 주어 출혈이 나타나 것으로 추정되므로 황체조직을 피하여 채란한다면 반복적으로 난포란 채취가 가능할 것으로 사료된다.

김 등은 동일한 간이 난자채취기를 이용하여 정상적인 생식기관을 가진 젖소에서 1차 채취시 평균 채취난포란과 최소 1층 이상의 난구세포층으로 둘러싸인 난포란수는 각각 5.9개와 3.6개였고, 2차 채취시에는 각각 5.0개와 3.3개로 1차 채취 10일 후에 채취한 것이 다소 낮은 성적을 나타내었다고 하였다.

Table 3은 초음파기기를 이용하여 미성숙난자를 반복 채란한 결과이다. 3~4산의 장기 공태우 5두에 대하여 주 1회 반복채란하여 공란우당 1회 평균 4.14개의 난포란을 회수하였고, 그 중 체외성숙배양 가능난포란은 2.48개였다. 초음파난자채취기를 이용한 난포란 채취는 간이난자채취기보다는 안정적으로 난포란을 채취할 수 있었다.

진 등 (2000)은 정상적인 번식기능을 갖고 있는 11~15개월령의 젖소 육성우 3두로부터 17~18회 연속적으로 초음파기기를 이용하여 채란하였을 때 채란회수당 평균 채취난자수는 7.4 ± 3.7 개, 5.2 ± 1.9 개 및 11.3 ± 6.0 개로서 개체간에 유의적인 차이가 ($P < 0.05$) 없었다고 했다. 또한 초음파기기를 이용한 반복채란에서 난소의 유착이 나타나지 않아 지속적인 난포란 채란을 위하여는 난소실질에 상처를 주지 않는 것이 매우 중요하다고 생각되며, 난소실질에 상처를 적게 줄수록 난소내의 난포발생의 장애가 줄어들 것으로 추정된다. 출혈이 심하

면 probe 선단부나 채란바늘의 입구를 막아 채란효율을 저하시키는 중요한 요인으로 작용할 수 있고, 혈액에 의해 난포란의 악영향 및 손실을 줄 수 있을 것으로 사료된다. Price 등(1995)은 반복적인 미성숙난자 채취를 위하여는 난소에 최소한 상처를 주어야만 많은 난자를 회수할 수 있다고 하였다.

따라서 생체내 미성숙난자를 장기간 연속적으로 채란할 경우에는 초음파기기를 이용하여 난소의 상처를 최소화하는 것이 바람직하며, 단기간에 집중적으로 채란할 때는 간이 난자채취기를 이용하는 것이 효과적일 것으로 사료된다.

Hasler 등(1995)은 과배란처리후 난관폐쇄, 난관 유두부 유착, 만성난소낭종 등으로 번식이 불가능한 젖소에서 초음파난자채취기를 이용하여 16~78회 반복채취한 결과 채취회수당 평균 1.5~10.9개의 난포란을 회수하였다고 하였다.

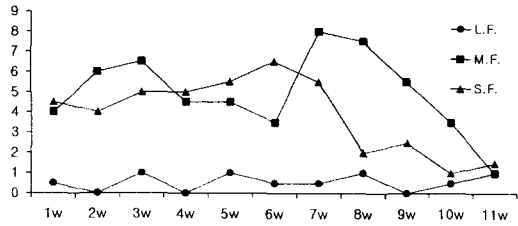
2. 연속적인 장기간 채란시 난포의 발생과 회수 난포란의 등급

초음파난자 채취기를 이용하여 난포란전에 난포의 발생상태를 확인한 결과 Fig. 1에서 보는 바와 같이 연속적으로 8주 이상 채란하게 되면 중난포와 소난포의 발생 수가 급격히 감소하는 것을 볼 수 있었다.

진 등(2000)은 반복채란시 채란회수당 회수난포란의 수는 1~20회까지 14.1개, 21~40회는 8.4개, 41~60회는 4.8개로 연속 채란회수가 증가할수록 회수율은 유의적으로 감소하였으며, 채란회수가 많아질수록 확인된 난포수도 감소하는 경향이라고 보

Table 3. Individual record of retrieval oocytes by Ultrasound Guided

Cow	Parity	Milk yield (kg)	Results of collected oocyte		
			No. of session	No. of collected oocytes / session	No. of collected I - II oocytes/session
1	4	9,010	11	6.45 ± 3.01	3.30 ± 1.70
2	3	8,961	13	3.18 ± 1.32	2.33 ± 0.86
3	3	8,651	9	1.88 ± 1.36	1.33 ± 1.32
4	3	8,181	6	3.00 ± 2.89	2.60 ± 2.19
5	3	8,142	5	6.60 ± 5.59	3.25 ± 1.25
Total			44	4.14 ± 3.28	2.48 ± 1.59



*W; week, L.F.; large follicle, M.F.; middle follicle, S.F.; small follicle

Fig. 1. Currency of oocyte development for continuous collection by ultrasound guided.

고했다. Joly 등(1997)은 반복적으로 연속채란시 회수율이 감소하므로 장기간 채란을 위하여는 부작용을 최소화할 수 있도록 2주에 한번씩 채란하는 것이 효과적이라고 보고하였다. Hasler 등(1995)도 공란우 6두를 24~111주동안에 16~78회의 난포란 채취를 실시하였을 때 처음 5회 동안은 평균 채취회수당 1.6~14.6개의 난포란을 회수하였으나 마지막 5회 동안에는 1.6~10.0개가 회수되었고, 공란우 3두에서는 채취회수가 증가할수록 회수되는 난포란수가 급격히 감소하였다고 보고하였다.

Fig. 2는 연속적으로 난포란을 채취하였을 때 회수된 난포란의 등급을 나타내었다.

회수된 난포란중 I등급은 31.6%, II등급은 24.3%, III등급은 17.1%, IV등급은 26.9%로 체외성숙배양이 가능한 난포란은 55.9%를 나타내었다. Hasler 등(1995)은 젖소 125두에 대해 초음파 난자채취기로 1,000회 난포란을 채취하였을 때 I등급 난포란은 34%, II등급 난포란 48%, III등급과 IV등급이 각각 9%였다고 하였다. 한편, 진 등(1999)은 회수한 난포란의 등급은 20회(12.4%)와 40회

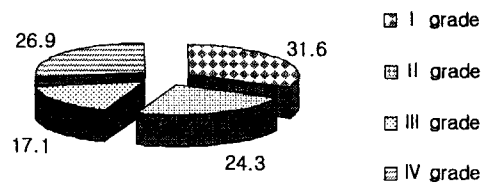


Fig. 2. Grade rate (%) of oocyte complexes for continuous OPU.

(16.7%)까지 반복적으로 채취시는 유의적인 차이가 없었으나 41~60회까지의 반복채취시에는 I등급 난포란의 회수율이 7.6%로 유의적으로 감소하였다고 했다.

적 요

유전적으로 우수한 능력을 보유하고 있으나 정상적으로 번식이 불가능한 젖소 16두를 간이 난자채취기를 이용하거나 장기공태 젖소 5두를 초음파 난자채취기를 이용하여 미성숙난자를 채취하므로서 체외수정란을 안정적으로 생산하기 위해 채취기기의 효율성과 반복채란에 미치는 영향을 조사한 결과는 다음과 같다.

1. 공란우당 채취회수는 간이 난자 채취기 8.3회였고, 초음파기기는 8.8회였으며, 공란우당 평균 회수된 난포란은 각각 4.39개와 4.14개로 채취기기간에 차이는 없었다($P < 0.05$). 회수된 난포란중 체외성숙 배양이 가능한 I~II등급의 난포란 비율은 각각 51.3%와 59.9%로 채취기기간에 유의적인 차이는 인정되지 않았다 ($P < 0.05$).
2. 간이 난자채취기를 이용하여 1~2주 간격으로 공란우 16두로부터 1~23회 난포란을 채취한 결과 체외배양 가능한 난포란은 2.25개였으며, 개체에 따라 채취되는 난포란과 체외배양 가능 난포란수의 변이가 매우 많았고 공란우 2두가 난소유착을 나타내었다.
3. 초음파기기를 이용하여 공란우 5두에서 주 1회 반복채취한 결과 체외배양 가능한 난포란은 2.48개였으며, 간이난자채취기보다는 안정적으로 난포란을 채취할 수 있었다.
4. 연속적으로 8주 이상 채란하게 되면 중난포와 소난포의 발생 수가 급격히 감소하는 경향을 나타내었다.
5. 회수된 난포란중 I등급은 31.6%, II등급은 24.3%, III등급은 17.1%, IV등급은 26.9%로 체외성숙배양이 가능한 난포란은 55.9%였다.

이상의 결과로 보아 생체내 미성숙난자의 채취기술로 정상적으로 번식이 불가능한 젖소의 재활용이 가능하며, 장기간 반복적으로 미

성숙난자 채취를 위해서는 초음파 난자채취기가 간이 난자채취기보다 효율성이 높은 것으로 추정되었다.

참고문헌

- Callesen H, Greve T and Christensen F. 1987. Ultrasonically guided aspiration of bovine follicular oocytes. *Theriogenology*, 27:217.
- Chian RC and Niwa K. 1994. Effect of cumulus cells present during different periods of culture on maturation *in vitro* of bovine oocytes. *Theriogenology*, 41:176.
- de Loos F, van Vliet C, van Maurik P and Kruip ThAM. 1989. Morphology of immature bovine oocytes. *Gamete Research*, 24:197-204.
- Galli C, Crotti G, Notari C, Turini P, Duchi R and G. Lazzari. 2000. Embryo Production by Ovum Pick Up from live donors. *Theriogenology*, 55: 1341-1357.
- Hashimoto S, Takakura R, Kishi M, Sudo T, Minami N and Yamada M. 1999. Ultrasound-guided follicle aspiration: The collection of bovine cumulus-oocyte complexes from ovaries of slaughtered or live cows. *Theriogenology*, 51:575-765.
- Hasler JF, Hendderson WB, Hurtgen PJ, Jin ZQ, McCauly AD, Mower SA, Neely B, Shuey LS, Stokes JE and Trimmer SA. 1995. Production, freezing and transfer of bovine IVF embryos and subsequent calving results. *Theriogenology*, 43:141-152.
- Joly GC, Ponchon S, Thuard JM, Durand M, Nibart M, Marquant-Le Guienne B and Humblot P. 1997. Effects of superovulation on repeated ultrasound guided oocyte collection and *in vitro* embryo production in pregnant heifers. *Theriogenology*, 47:157.
- Kruip ThAM, Boni R, Roelofsen MWM, Wurth YA and Pieterse MC. 1993. Application of OPU for embryo production and breeding in cattle. *Theriogenology*, 39:251.
- Lenz S, Lindenberg S, Fehilly C and Petersen K. 1987. Are ultrasonic-guided follicular aspiration and flushing safe for the oocyte. *J. In Vitro Fert. Embryo Transfer*, 4:159-161.
- Majerus V, De Roover R, Etienne D, Kaidi S, Massip A, Dessy F and Donnay I. 1999. Embryo production by ovum pick up in unstimulated calves before and after puberty. *Theriogenology*, 52:1169-1179.
- Meintjes M, Bellow MS, Broussard JR, Paul JB and Godke RA. 1995. Transvaginal aspiration of oocytes from hormone-treated pregnant beef cattle for *in vitro* fertilization. *J. Anim. Sci.*, 73:967-974.
- Pieterse MC, Kappen KA, Kruip ThAM and Taverne MAM. 1988. Aspiration of bovine oocytes during transvaginal ultrasound scanning of the ovaries. *Theriogenology*, 33:751-762.
- Pieterse MC, Vos PLAM, Kruip ThAM, Wurth YA, ThM Van Beneden, Willemse AH and Taverne MAM. 1991. Transvaginal ultrasound guided follicular aspiration of bovine oocytes. *Theriogenology*, 35:19-24.
- Pieterse MC, Vos PLAM, Kruip ThAM, Wurth YA, ThM Van Beneden, Willemse AH and Taverne MAM. 1992. Repeated transvaginal ultrasound-guided ovum pick-up in eCG-treated cows. *Theriogenology*, 37:273.
- Price CA, Carriere PD, Bhatia B and Groome NP. 1995. Comparison of hormonal and histological changes during follicular growth as measured by ultrasonography in cattle. *J. Reprod. Fertil.*, 103:63-68.
- Tervit HR. 1996. Laparoscope/laparotomy oocyte recovery and juvenile breeding. *Anim. Reprod. Sci.*, 42:227-238.
- 김일화, 손동수, 이호준, 양병철, 최선희, 이동원, 서국현, 이광원. 1997. 간이난자채취기를 이용한 젖소로부터 난포란의 채취와 체외수정란의 생산. *한국수정란이식학회지*, 12:111-116.

이병천, 윤기영, 김정태, 이강남, 노상호, 신태영, 박종업, 김남렬, 주석천, 백남용, 이은송, 임정묵, 이우근, 황우석. 1998. 초음파 유도에 의한 소 난포란의 채취에 관한 연구 2. 임신우 유래 난포란으로부터 산자생산에 관하여. 한국수정란이식학회지, 13:77-86.

조성근, 심보웅, 조상래, 박준규, 송상현, 박성재, 노규진, 공일근, 박희성, 정기화, 곽대오, 손동수, 이효중, 최상용, 박충생. 1999. 초음파 유도

난포란 채란에 의한 젖소 및 한우의 체외수정란과 송아지 생산. 한국수정란이식학회지, 14: 121-129.

진종인, 홍승표, 정장용, 이지삼, 박희성. 2000. 젖소에서 초음파기기를 이용한 난자 채취에 있어서 손가락 촉지를 이용한 난포란의 채란. 한국수정란이식학회지, 15:279-286.

(접수일: 2001. 6. 15 / 채택일: 2001. 8. 1)