

한우 체외수정란이 이식된 수란우의 임신과 유산에 영향을 미치는 시술자 측 요인들

김소섭 · 박용수^{1*} · 박윤미² · 박홍대² · 심호섭³ · 김남형⁴
충북대학교 수의과대학

Effects of Technical Aspects in Practitioner on the Pregnancy and Abortion after Transfer of *In Vitro* Produced Korean Native Cow Embryos

S. S. Kim, Y. S. Park^{1*}, Y. M. Park², H. D. Park², H. S. Shim³ and N. H. Kim⁴

College of Veterinary Medicine, Chungbuk National University

SUMMARY

This study was conducted to investigate the effects of various factors of practitioner's techniques such as skill, difficulty, consumed time, implantation depth, bleeding and altering of implant location, on pregnancy and abortion after transfer of *in vitro* produced Korean Native Cow embryos. The pregnancy rate of skilled transfer (54.2%) was significantly higher than that of unskilled transfer (37.9%), of 2/3 (46.9%) location in uterus was significantly higher than in 1/2 (39.5%) or 4/5 (38.0%) uterus, and of altering implantation location (52.9%) was significantly increased. There were no difference in pregnancy among the groups of difficulty of transfer, consumed time and bleeding of uterus. The abortion rates from skill, difficulty of transfer, implantation depth, consumed time, bleeding of uterus and altering of location were not differ.

(Key words : bovine, transfer, pregnancy, abortion)

서 론

국내 양축산업에서 농가 소득원으로 중요한 위치를 차지하고 있는 한우 산업에서 번식효율의 증대와 고급육 생산은 국제 경쟁력 강화를 위해 선행해야 할 과제이다. 그러나 최근 축산업에 대한 각종 악조건으로 인한 양축가의 사육 불안과 무분별한 암소 도축으로 한우 사육 기반이 흔들리고

있다. 이러한 현실을 감안한다면 수정란이식 기술을 이용한 젖소에서 고능력 고품질의 한우 생산은 농가 소득 증대에 크게 기여할 것이다.

소 수정란의 체외생산 기술은 체외성숙, 체외수정 및 체외배양 체계의 개선과 같은 많은 연구가 진행되어, 체외에서 수정된 난자의 20~30% 정도가 이식 가능한 배반포로의 안정적인 발달이 가능하게 되었다. 그러나 수정란이식의 일차적 목표인

¹ 경상북도축산기술연구소(Kyongbuk Livestock Research Institute)

² 대구대학교 식품생명공학부(Division of Life Food and Biotech, Daegu University)

³ 단국대학교 의과대학(College of Medicine, Dankook University)

⁴ 충북대학교 농업생명환경대학(College of Agriculture, Life & Environment Science, Chungbuk National University)

* Correspondence : E-mail : pys0112@chollian.net

임신은 수정란의 종류에 따라 다소 차이는 있지만, 체외수정란을 이용하였을 경우가 20~50% 정도 (Hasler 등, 1995)로서 인공수정의 79%(Xu 등, 1995) 및 체내수정란의 64%(Schmidt 등, 1996)보다 낮으며, 또한 수란우의 선택, 시술자의 경험 및 사양 환경에 따라 그 재현성이 매우 낮다. 또한 체외수정란이 이식된 수란우의 유산율은 인공수정의 2~5%(Suzuki 등, 1986)와 체내 수정란의 4~8% (Hasler 등, 1987)보다 훨씬 높고, 송아지의 체중, 임신기간, 난산 및 기형이 증가하였다(Kruip와 den Dass, 1997). 따라서 수정란 이식의 산업화를 위해서는 수정란 생산 효율 증진과 더불어 임신을 향상, 유산, 분만 및 신생 송아지에 대한 연구가 더 필요하다.

국내 수정란이식 연구는 1980년대 초반 최초로 체내에서 회수한 소 수정란을 이용하여 송아지를 생산하였고(고 등, 1981), 1990년대에 접어들면서 활발한 연구가 진행된 결과 체외수정란(황 등, 1993), 수정란 분할(손 등, 1994), 핵치환(황 등, 1995) 및 형질전환(이 등, 1994) 기법을 이용하여 송아지를 생산하였다.

한편 수정란을 이식하는 시술자의 기술적 요인에 관한 연구로는 이식 방법(Baker 등, 1983), 숙련도(Schneider 등, 1980), 이식 난이도(Boland 등, 1976; Bowem 등, 1978; Wright, 1981) 임신진단 시기(Jonker, 2004) 등이 보고되었으며, 국내에서의 임상적 접근과 관련된 보고는 거의 없다.

본 연구는 2002부터 2004년까지 3년간에 걸친 2000여 건의 수정란 이식에서 시술자의 기술적 요인들, 숙련도, 난이도, 소요시간, 이식 깊이, 위치 조절 및 출혈, 이 임신과 유산에 미치는 영향에 대하여 분석하였다.

재료 및 방법

1. 배양액

본 연구에 사용된 배양액 중 난소로부터 난포란의 세척 및 회수용은 25mM HEPES와 3mg/ml BSA(Sigma, A6003)가 첨가된 Hepes-TALP 용액, 체외성숙용은 0.2mg/ml pyruvate(Sigma, P3662), 1 μ g/ml FSH(Sigma, F8174), 10 μ g/ml LH(Sigma,

L9773) 및 10% FBS(Sigma, F0643)가 첨가된 TCM-199(Gibco, 12340-030) 용액, 체외수정용은 6 mg/ml BSA와 10 μ g/ml heparin(Sigma, H3149)이 첨가된 TALP용액, 체외배양용은 3mg/ml BSA 또는 10% FBS가 첨가된 CR1aa 용액을 각각 이용하였다. 그리고 실험에 제공되는 배양액의 미세소적은 mineral oil(Sigma, M8410)을 도포하여 39 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 배양기에서 최소한 4시간 이상 평형을 하였다.

2. 난포란의 회수 및 체외성숙

도축 한우에서 난소를 적출하여 25 μ g/ml gentamycin(Sigma, G1264)이 첨가된 0.9% 생리식염수(30~33 $^{\circ}$ C)가 들어있는 보온병에 담아 2~3시간에 실험실로 운반하였다. 수집된 난소는 penicillin G(Sigma, P3032)가 첨가된 생리식염수로 3~4회 세척하여, 18G 주사침이 부착된 10ml 주사기를 이용하여 직경 2~8mm의 가시난포로부터 난포란을 회수하였다. 회수된 난포란은 실제현미경하에서 난구세포의 부착상태가 치밀한 것만을 선별하여, 50 μ l의 체외성숙용 배지에 15개 난포란을 옮겨 22시간 동안 39 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 배양기에 배양함으로써 체외성숙을 유도하였다.

3. 체외수정

한우 동결정액 1개를 실온에서 10초간, 37 $^{\circ}$ C의 항온수조에서 30초간 처리하여 용해한 후 90% percoll(Sigma, P4937) 2ml 용액이 담겨져 있는 15ml 원심분리관(Corning, 430052)에 조심스럽게 놓은 후 700g에서 20분간 원심분리 후 하층부의 정자 괴만을 회수하여, 2ml의 신선 체외수정 용액으로 350g에서 다시 10분간 원심 분리함으로써 정자를 세척하였다. 그리고 정자농도는 25×10^6 sperms/ml가 되도록 조절하여, 15개씩의 난포란이 함유되어 있는 46 μ l의 체외수정 용액에 heparin 2 μ l와 정자 2 μ l를 각각 첨가하여(최종 정자농도 1×10^6 sperms/ml) 39 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 배양기에 20시간동안 배양함으로써 체외수정을 유도하였다.

4. 체외배양

체외수정 후 실제 현미경하에서 형태적으로 정

상이라고 판단된 수정란만을 회수하여, 15개씩의 수정란(배양 1일)을 3mg/ml BSA가 첨가된 CR1aa 용액 20 μ l에 넣고, 39 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 배양기에서 배양하였으며, 배양 3일째와 5일째에는 10% FBS가 첨가된 CR1aa 용액으로 교환하여 배양하였다.

5. 배반포의 이식

수란우는 2003년 3월부터 2004년 9월까지 경상북도 경산, 영천, 성주, 달성, 청도, 칠곡, 대구 및 상주 지역의 젓소 사육농가에서 사육중인 홀스타인을 이용하였다. 수정란이식은 준비된 한우 배반포(2개/straw)를 비외과적 이식기(MVE, France)에 장착하여 황체가 존재하는 자궁각에 이식하였다.

6. 시술자 요인 분석

1) 숙련도

수정란이식 시술자의 경력은 이식 횟수와 이식 난이도 발생률에 따라 숙련(시술경력 500회 이상 및 고난이도 발생률 5% 미만)과 미숙련(시술경력 500회 미만 및 고난이도 발생률 5% 이상)으로 구분하였다.

2) 난이도

수정란이식 시술자가 자궁경관을 통과할 때의 난이도는 Easy(E; 저항감 없이 쉽게 통과), Moderate(M; 2~4회의 조작을 한 후에 통과), 그리고 Difficult(D; 5회 이상의 조작 또는 추가적인 처치를 요할 경우)로 구분하였다.

3) 소요 시간

수정란이식에 소요된 시간의 측정은 수정란 주입기를 자궁외구에 위치시키는 시각부터 자궁내 이식을 완료한 후 주입기를 제거한 시각까지로 2분 미만, 2~10분 및 10분 이상으로 구분하였다.

4) 이식 깊이

수란우 자궁에 수정란을 이식시의 깊이는 1/2 후방(자궁경관과 자궁만곡부 사이), 2/3(자궁만곡부에서 자궁난관연접부 사이), 그리고 4/5(자궁난관연접부로부터 4~6cm 지점)로 구분하였다.

5) 위치 조절

이식용 주입기를 자궁경관 통과후 이식할 적정 부위까지 진입시켜 축진된 주입기 선단을 최종적으로 1~2 inch 위치를 조절한 후에 수정란 주입을 완료하였으며, 수정란이식기의 위치 조절 여부에 따른 효과는 미조절과 1 inch 이상 조절한 경우로 각각 구분하였다.

6) 자궁 출혈

수정란이식이 완료된 후 수정란 주입기 선단을 검사하여 핑크색 혹은 적색 점액(혈액)의 검출 유무에 따라 출혈(+)과 미출혈(-)로 판정하였다.

7. 임신 및 유산 검정

한우 수정란을 이식한 후 60일에 직장검사로 임신을 판정하였다. 임신이 확인된 수란우가 재발정 및 태아 또는 태반의 배출이 확인된 경우에 직장검사를 다시 실시하여 태아의 존재 유무와 자궁변화의 소견을 기초로 유산을 판정하였다.

8. 통계처리

실험 결과에 대한 통계학적 분석은 χ^2 -test를 이용하였고, $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검정하였다.

결 과

한우 체외수정란의 이식에 있어서 시술자의 숙련도가 수란우의 임신과 유산에 미치는 영향을 검토한 결과는 Fig. 1과 같다. 임신율은 숙련군이



Fig. 1. Effect of skill of practitioner on pregnancy(□) and abortion(■) after transfer of *in vitro* produced bovine embryos to Holstein heifer. ^{a,b}, Values with different superscripts were significantly different($p < 0.05$).

54.2% (110두/203두)로서 미숙련군의 37.8%(95두/251두)보다 유의하게 높았다($p<0.05$). 한편 숙련군과 미숙련군에서의 유산율은 각각 8.2% 및 13.7%로서 미숙련군이 높았으나, 유의차는 인정되지 않았다.

한우 체외수정란의 이식에 있어서 이식 난이도가 임신과 유산에 미치는 영향을 검토한 결과는 Fig. 2와 같다. 임신율은 이식 난이도 E군이 36.4% (12두/33두), M군이 43.2%(29두/68두) 및 D군이 34.6%(27두/78두)로서 각 군 간에 유사한 경향이였다. 한편 유산율은 E군, M군, D군에서 각각 18.2%, 11.3%, 7.7%로서, E군이 높은 경향이였으나 유의차는 인정되지 않았다.

한우 체외수정란의 이식에 있어서 수란우 자궁 내에 배반포의 이식 소요시간이 임신과 유산에 미치는 영향을 검토한 결과는 Fig. 3과 같다. 임신율은 5분 이하 군이 34.6%(9두/26두), 5~10분 군이 43.0%(86두/200두) 및 10분 이상군이 33.9%(21두

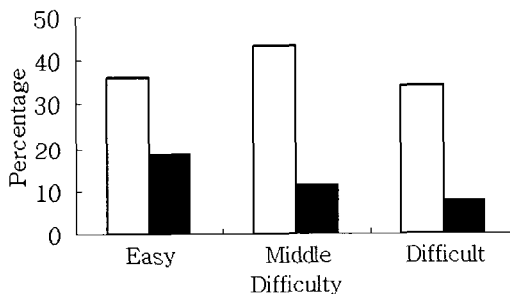


Fig. 2. Effect of difficulty during transfer on pregnancy (□) and abortion (■) after transfer of *in vitro* produced bovine embryos to Holstein heifer.

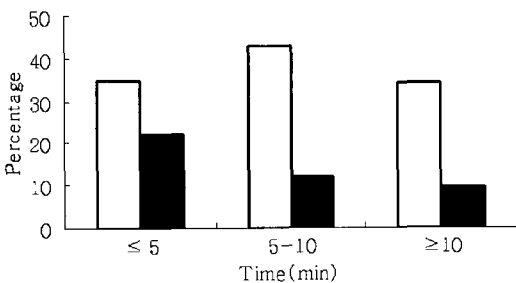


Fig. 3. Effect of consumed times in transfer on pregnancy (□) and abortion (■) after transfer of *in vitro* produced bovine embryos to Holstein heifer.

/62두)로서 5~10분 군이 가장 높은 경향이였으나 유의차는 인정되지 않았다. 유산율은 각각 22.2%, 11.6% 및 9.5%로서, 5분 이하 군이 가장 높았으나 유의차는 인정되지 않았다.

한우 체외수정란의 이식에 있어서 배반포의 자궁내 이식 깊이가 임신과 유산에 미치는 영향을 검토한 결과는 Fig. 4와 같다. 임신율은 2/3군의 46.9%(136두/290두)가 1/2이하 군의 39.5%(167두/423두) 및 4/5군의 38.0%(30두/79두)보다 유의하게 높았다($p<0.05$). 유산율은 1/2이하군, 2/3군 및 4/5군에서 각각 10.2%, 12.5% 및 20.0%로서, 4/5군이 가장 높았으나 유의차는 인정되지 않았다.

한우 체외수정란의 이식 후 자궁 내에서의 출혈이 임신과 유산에 미치는 영향을 검토한 결과는 Fig. 5와 같다. 임신율이 비출혈 군에서는 42.6% (319두/749두)이었으며, 출혈 군은 32.6%(14두/43두) 로서 유사한 경향이였다. 유산율은 비출혈 군

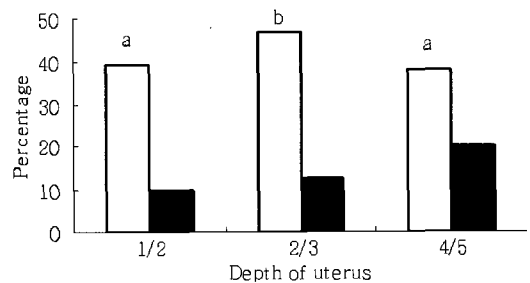


Fig. 4. Effect of implantation depth intra uterus on pregnancy (□) and abortion (■) after transfer of *in vitro* produced bovine embryos to Holstein heifer. ^{a,b}, Values with different superscripts were significantly different ($p<0.05$).

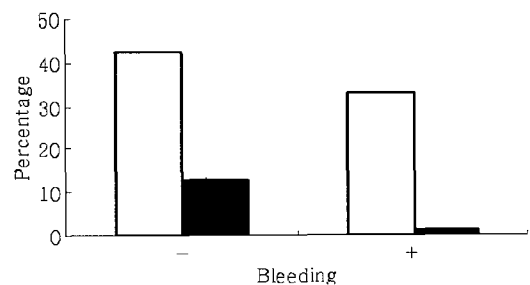


Fig. 5. Effect of bleeding from uterus on pregnancy (□) and abortion (■) after transfer of *in vitro* produced bovine embryos to Holstein heifer.

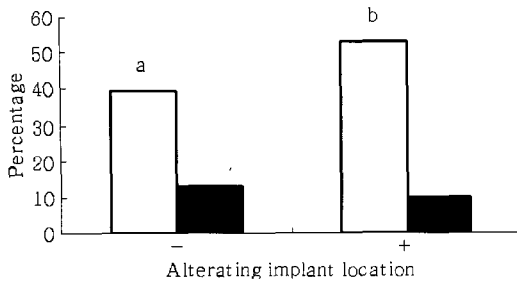


Fig. 6. Effect of altering of implant location on pregnancy(□) and abortion(■) after transfer of *in vitro* produced bovine embryos to Holstein heifer. ^{a,b}, Values with different superscripts were significantly different($p < 0.05$).

과 출혈 군에서 각각 12.5% 및 0.0%로서 비출혈 군에서만 유산이 일어났으나 유의차는 인정되지 않았다.

한우 체외수정란의 이식에 있어서 수란우 자궁 내 배반포의 이식 위치 조절이 임신과 유산에 미치는 영향을 검토한 결과는 Fig. 6과 같다. 임신율은 조절군이 52.9%(73두/138두)로서 미조절군의 39.8%(260두/654두)보다 유의하게 높았다($P < 0.05$). 한편 미조절군과 조절군에서의 유산율은 각각 12.7% 및 9.6%로서 유사한 경향이었다.

고 찰

본 연구는 2002년부터 2004년까지 3년간에 걸친 2,000여 건의 수정란 이식에서 시술자의 기술적 요인들, 즉 숙련도, 난이도, 소요 시간, 주입 깊이, 자궁의 출혈 및 위치 조절이 체외수정란이 이식된 수란우의 임신과 유산에 미치는 효과를 검토하였다.

이식 시술자의 숙련도에 따른 임신율이 김 등(2003) 및 황과 조(1988)는 숙련된 시술자의 수태율은 60% 정도였으나, 미숙련 시술자는 35%임을 보고하여 본 연구(Fig. 1)와 유사한 경향이었다. 한편 시술자의 숙련도에 따른 유산율도 유의성은 없었으나 미숙련된 시술자의 것이 높은 경향이었다. 이와 같이 미숙련된 시술자의 수태율이 낮고 유산율이 높은 것은 이식기의 부적절한 조작 등으로 수란우의 자궁내막 손상과 자궁 수축을 조기 유발하기 때문인 것으로 생각되며, 이식 성공률의 향상

을 위해서는 수란우에 최소한의 자극으로 이식할 수 있는 능숙한 이식기술이 요구된다.

자궁경관 통과에 비교적 난이도가 높은 경우에도 임신율의 감소가 없었으나(Wright, 1981), Boland 등(1976) 및 Bowen 등(1978)은 자궁경관 통과시의 난이도가 임신율에 영향을 미친다고 하였다. 한편 본 연구(Fig. 2)에서는 이식 난이도에 따른 임신율은 M 군이 가장 높은 경향이었다. 비록 이식된 수정란의 품질과 수란우의 상태 등에 따라 임신율과 유산율이 차이가 있고 시술자의 기술 정도를 객관적으로 평가하기는 곤란하지만, 자궁경관의 통과에 능숙하지 못한 경우에는 자궁경관의 손상과 강한 자궁 수축을 유발하므로 수정란이 배출되거나 착상 장애를 야기한다고 사료된다.

황과 조(1988)은 수정란 이식을 5분~15분 이내에 완료하는 것이 15분 이상에 비하여 임신율이 높다고 하였으나, 본 연구(Fig. 3)에서는 이식 시간에 따른 차이가 없었다. 이는 황과 조(1988)의 보고와 달리 본 연구의 수정란 이식은 10분 이내에 대부분이 완료하였고, 15분 이상 소요된 경우가 없었기 때문인 것으로 생각된다. 따라서 수정란이식에서 중요한 원칙 중에 하나는 가능한 자궁내막의 자극을 최소화하고 빠른 시간 내에 시술을 완료하는 것이 Fig. 4의 결과와 같이 지나치게 이식 깊이에 치중하는 것보다 더 중요한 부분이라 생각된다. Boland 등(1976)과 Christie 등(1980)은 자궁각에서 기부 또는 중앙부에 이식하는 것보다 난관접속부에서 2~4cm 위치의 자궁각 심부에 이식하는 것이 임신율을 향상시킨다고 하였다. 그러나 Sreenan과 Beshan(1976)과 Newcomb 등(1980)은 이식하는 자궁각의 위치에 따른 차이가 없다고 하였다. 한편 본 연구(Fig. 4)에서는 자궁각의 2/3 지점에 이식하는 것이 수태율이 높았으며, 4/5 지점에 이식하는 것은 임신율의 감소와 더불어 유산율이 높았다. 따라서 너무 얕은 부위에 이식하는 것은 수정란이 자궁으로부터 배출될 위험이 있고, 심부에 이식하는 것은 자궁내막에 손상을 유발하여 임신과 유산에 영향을 미치는 것으로 생각된다. 따라서 이식 깊이에 대한 판단은 시술자에 따른 주관성이 개입될 수 있지만, 적절한 이식의 깊이는 본 연구에서와 같이 2/3 지점(만곡부보다 조금 안쪽)을 목표로

하는 것이 효과적인 것으로 사료된다.

출혈에 따른 임신율은 비록 비출혈 군이 높았으나 유의성은 인정되지 않았다. 그러나 수정란 이식 시에 이식 깊이에 집착하여 무리하게 이식기를 조작함으로써 자궁내막의 출혈을 일으키는 것은 수정란의 착상에 유해하게 작용하여 임신율을 저하시킬 수 있을 것이다. 이러한 출혈이 의심되는 경우에는 이식 위치를 조절함으로써(Fig. 6) 출혈에 따른 문제점을 극복할 수 있을 것으로 사료된다.

수정란을 심부에 이식하는 경우에는 자궁내막의 손상이 유발되어 착상에 악영향을 미칠 수 있다. 본 연구(Fig. 6)에서는 이식 시에 자궁내막에 약간의 손상이 있다고 가정하여 이식부위를 적절히 조절한 경우에 임신율을 향상시킬 수 있었다. 따라서 임신율에는 수정란, 수란우 및 시술자 측의 많은 요인들이 영향을 미치지만 이식 부위가 손상이 없는 건강한 자궁내막인 경우가 효과적이며, 이상적인 이식 위치는 이식기의 선단과 접촉한 자궁내막으로부터 1인치 이상 후퇴하여 이식할 경우에 높은 임신율이 기대된다. 이와 같은 위치 조절은 출혈로 인한 자궁 손상과 같은 원인에 의한 임신율 감소도 예방할 수 있을 것이다.

소에서의 유산율은 인공수정이 5% 미만, 체내 수정란이 8% 미만인 것에 비하여 체외수정란은 20~30%로서 아주 높지만(Sakaguchi 등, 2002), 발생한 유산 중에서 원인 규명이 가능한 경우는 약 30% 정도에 불과하다(Kirkbride, 1992). 또한 체내·외에서 생산된 수정란의 경우 이식 후 early embryonic death가 인공수정인 경우에 비하여 자주 일어나며, 특히 체외수정란의 경우는 더욱 현저하다(McEvoy 등, 1995). 이와 같이 체외수정란의 높은 유산율은 적인 태반 분열수(Hasler 등, 1995; Massip 등, 1996)가 한 원인이라고 하였다. 한편 본 연구에서 시술자 측면의 숙련도, 이식 난이도, 소요 시간, 자궁 위치, 출혈 및 위치 조절에 따른 유산율의 차이는 인정되지 않았다. 따라서 수정란이 이식된 수란우의 유산은 시술자 측의 요인보다는 수란우 또는 수정란 자체의 요인에 많은 영향을 받는 것을 사료된다.

적 요

본 연구는 임상 조건하에서 수정란이식의 효율성 증대를 위하여 이식 시술자 측면의 숙련도, 난이도, 소요시간, 주입 위치, 자궁의 출혈 및 위치 조절이 체외수정란이 이식된 수란우의 임신과 유산에 미치는 효과를 검토하였다. 임신율은 숙련된 시술자(54.2%), 자궁각 2/3 지점에 이식(46.9%) 및 위치 조절군(52.9%)이 유의하게 높은 경향이었으나, 이식 난이도, 소요시간 및 출혈에 따른 차이는 인정되지 않았다. 한편 시술자 측의 요인에 따른 유산율은 유사한 경향이였다.

참고문헌

- Baker AA, Kobayashi G and Jillella DA. 1983. Comparison of the pregnancy rate following nonsurgical and surgical transfer and visual grading of bovine embryos on farms in southeastern Queensland. *Theriogenology*, *Abst.*, 19:111.
- Boland MP, Crosby TF and Gordon I, 1976. Birth of twin calves following a simple transcervical non-surgical egg transfer technique. *Vet. Rec.*, 99:274-275.
- Bowen JM. 1978. Non-surgical embryo transfer in cow. *Theriogenology*, 10:89-96.
- Christie WB, Newcomb R and Rowson LE. 1980. Non-surgical transfer of bovine eggs: investigation of some factors affecting embryo survival. *Vet. Rec.*, 106:190-193.
- Hasler JF, Henderson WB, Hurtgen PJ, Jin ZQ, McCauley 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.
- Hasler JF, McCauley AD, Lathrop WF and Foote RH. 1987. Effect of donor-recipient interaction on pregnancy rate in a large-scale bovine embryo transfer program. *Theriogenology*, 27:139-168.
- Jonker FH. 2004. Fetal death: comparative aspects in large domestic animals. *Anim. Reprod. Sci.*,

- 82:415-430.
- Kirkbride CA. 1992. Etiologic agents detected in a 10-year study of bovine abortions and stillbirths. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 4:175-180.
- Kruip TAM and den Dass JHG. 1997. *In vitro* produced and cloned embryos: effects on pregnancy and offspring. *Theriogenology*, 47:43-52.
- Massip A, Mermillod P, Van Langendonck A, Reichenbach HD, Lonergan P, Berg U, Carolan C, De Roover R and Brem G. 1996. Calving outcome following transfer of embryos produced *in vitro* in different conditions. *Anim. Reprod. Sci.*, 44:1-10.
- McEvoy JD, Mayne CS and McCaughey WJ. 1995. Production of twin calves with *in vitro* fertilised embryos: effects on the reproductive performance of dairy cows. *Vet. Rec.*, 136: 627-632.
- Newcomb R, Christie WB and Rowson LE. 1980. Fetal survival rate after the surgical transfer of two bovine embryos. *J. Reprod. Fertil.*, 59:31-36.
- Sakaguchi M, Geshi M, Hamano S, Yonai M and Nagai T. 2002. Embryonic and calving losses in bovine mixed-breed twins induced by transfer of *in vitro*-produced embryos to bred recipients. *Anim. Reprod. Sci.*, 72:209-221.
- Schmidt M, Greve T, Avery B, Beckers JF, Sullon J and Hansen HB. 1996. Pregnancies, calves and calf viability after transfer of *in vitro* produced bovine embryos. *Theriogenology*, 46: 527-539.
- Schneider HJ, Castleberry RS and Griffi JL. 1980. Commercial aspects of bovine embryo transfer. *Theriogenology*, 13:73-85.
- Sreenan JM and Beshan D. 1976. Embryonic survival and development at various stages of gestation after bilateral egg transfer in the cow. *J. Reprod. Fert.*, 47:127-128.
- Suzuki T, Shimohira I, Sakai Y, Matauda S, Miura H and Itoh K. 1986. Twinning in bovine by ipsilateral embryo transfer. *Jpn. J. Anim. Reprod.*, 32:44-47.
- Wright JM. 1981. Non-Surgical embryo transfer in cattle: embryo-recipient interactions. *Theriogenology*, 15:43-56.
- Xu ZZ, Burton JR, Burton LR and Macmillan KL. 1995. Reproductive performance of synchronized lactation dairy cows. *Proc. NZ. Soc. Anim. Prod.*, 55:242-244.
- 고광두, 정길생, 이기만. 1981. 한우의 수정란이식에 관한 연구 제1보. GTH 단독투여에 의한 한우의 쌍태 유기. *한국축산학회지*, 23:315-321.
- 김소섭, 최석화, 김재명, 이재협, 김재영, 박흥대. 2003. 한우 유래의 체외수정란의 이식후 임신에 관한 연구. *한국수정란이식학회지*, 18:237-242.
- 손동수, 김일화, 이동원, 최창열, 윤상보, 류일선, 서국현, 이광원, 유충현, 조윤연, 정상원, 최상용. 1994. 수정란 분할에 의한 일란성 한우 쌍둥이 송아지 생산. *한국수정란이식학회지* 1.
- 이경광, 이정호, 한용만, 이철상, 김선정, 박정선, 유대열, 김동훈, 이훈택, 정병현, 정길생, 신상태, 김영수, 김영훈, 이근세, 김교국, 황윤식. 1994. 유용 생리활성 물질을 분비하는 형질전환 젖소 개발에 관한 연구. *한국동물자원과학회*, 122.
- 황우석, 조충호. 1988. 소의 비외과적 수정란이식에 있어서 수태률에 영향을 미치는 요인. *한국임상수의학회지*, 5:1-7
- 황우석, 조충호, 이병천, 신태영, 노상호, 김성기, 전병준, 이강남, 신언익, 임홍순. 1993. 한우정액 유래 체외수정 송아지 생산에 관한 연구. *한국수정란이식학회지*, 8:143-149.
- 황우석, 조충호, 한재용, 이병천, 신태영, 이원유, 송길영, 민순기, 김영찬, 구자홍, 이윤수, 민중식, 김기영, 김준선, 장중명, 임홍순, 이광원, 이수현, 김용길, 이후식. 1995. 소 핵이식 수정란에 의한 산자 생산에 관한 연구. *한국수정란이식학회지*, 10:83-90.

(접수일: 2004. 12. 23 / 채택일: 2005. 2. 16)