

육질이 우수한 한우의 난소에서 회수한 난포란의 체외 발생 능력

설현석 · 정연길 · 송해범[†]
대구대학교 동물자원학과

Developmental Competence of Oocytes Collected from the Ovaries of the Carcass of the High Meat Quality after IVM, IVF and IVC in Korean Native Cattle

H. S. Sel, Y. K. Jung and H. B. Song[†]

Department of Animal Science, Daegu University, Gyeongbuk, Korea

SUMMARY

These studies were conducted to monitor developmental competence of follicular oocytes collected from the carcass of the high meat quality in Korean native cattle using each individual protocol of IVM, IVF and IVC. The follicular oocytes that were collected from the ovaries of the cow yielded 1, 1⁺ and 1⁺⁺ meat quality were matured, fertilized and cultured using each individual protocol of IVM, IVF and IVC. As results, the number of follicular oocytes collected from individual fundamentally-registered cows yielded 1, 1⁺ and 1⁺⁺ meat grade were 28.9, 28.8 and 29.6 per head, respectively. The rates of blastocyst formation after IVM, IVF and IVC were 27.2, 28.7 and 32.9% in the cows yielded 1, 1⁺ and 1⁺⁺ meat quality, respectively. The rate of blastocyst formation was 8.4 per head. The number of follicular oocytes collected from pedigree registered cows yielded 1, 1⁺ and 1⁺⁺ meat quality were 25.8, 27.1 and 27.0 per head, respectively. The rates of blastocyst formation were 23.0, 33.7 and 42.6% in the meat quality of 1, 1⁺ and 1⁺⁺ after *in vitro*-manipulation, respectively ($p < 0.05$). The rate of blastocyst formation was 8.5 per head. In conclusion, these results suggest that *in vitro* embryo production system using individual culture system including IVM, IVF and IVC can make good use of the gene from the carcass of the high meat quality in Korean native cattle.

(Key words: individual culture system, high meat quality, follicular oocytes, blastocyst)

서 론

축산물의 시장 개방 압력으로 한우는 고급육의 생산과 브랜드화에 많은 관심을 갖고 있으나 종축의 선발지수가 육량보다 육질 위주로 되어 있으므로 한우의 육질 개량이 저조한 실정이다(박 등, 2001; 조 등, 1992).

국내에서 소에 대한 수정란 이식은 1979년부터 1980년까지 비의과적으로 수정란의 회수를 시도하여 성공하였다고 보고하였고(임 등, 1998; 고 등, 1981), 샤를레의 체내 수정란을 한우에 이식하여 송아지의 생산에 성공하였다는 보고(정 등, 1983)와 체외 수정란을 이식하여 성공하였다는 보고가 있다(김 등, 2005 김 등, 1992; 오 등, 1986).

* 이 논문은 2005학년도 대구대학교 학술연구비 지원에 의한 논문임.

[†] Correspondence : E-mail : goatsong@daegu.ac.kr

지금까지 수정란 이식을 위한 체외 수정란의 생산 기법(황 등, 2004; 조 등, 2000; Yoshioka 등, 1997; Heeres 등, 1996; Carolan 등, 1996; Blondin과 Sirard, 1995; Wurth 등, 1994; Kato와 Tsunoda, 1994; Hasler 등, 1994; Gardner, 1994; Mermillod 등, 1992; Kane 등, 1992; Kajihara 등, 1992; Wiemer 등, 1991; Rosenkrans 등, 1990)은 도축된 소의 난소를 무작위로 이용하였으므로 암소가 갖고 있던 육질과 관련된 유전 형질을 알 수가 없는 단점이 있었다.

축산물등급판정소(한우등급판정결과보고서, 2006)의 발표에 의하면 육질 등급이 1 등급 이상인 한우가 50% 이상이지만 도축장에서 한우의 난소를 무작위로 채취하여 왔으므로 육질 등급이 우수한 암소의 난소를 재활용할 수 없는 실정이었다. 도축장에서 사라져 가는 육질 등급이 우수한 유전 인자를 갖고 있는 한우의 난소를 최대한으로 활용하기 위해서는 육질 등급, 혈통 등록 등을 확인한 암소의 난소에서 회수한 난포란을 개체별로 배양하여 수정란을 생산하는 것이 적은 비용으로 육질이 우수한 유전 인자를 확보하여 한우의 개량을 촉진하는 유일한 방안이 될 수 있을 것이다.

본 연구는 유전적으로 우수한 경제 형질을 가진 한우의 체외 수정란을 대량 생산하여 농가에 보급하기 위해 육질 등급이 1 등급(1, 1⁺, 1⁺⁺) 이상인 공란우의 난소에서 개체별로 채취한 난포란을 각각 체외 성숙, 체외 수정 및 체외 배양하여 체외 발생 능력을 개체별로 조사하였다.

재료 및 방법

1. 공시 난소

울산시 소재 삼와산업에서 도축된 한우의 난소를 개체별로 채취하여 난소 표면의 혈액과 이물질을 제거하고 개체별로 Fig. 1과 같이 번호를 붙이고 케이스에 담아 생리식염수가 들어있는 보온병(20℃)에 침지하여 2~3시간 이내에 실험실로 운반하였다.

익일 축산물등급판정소의 소 도체 등급 판정기록표에 의거 채취한 난소의 도축 번호와 대조하여 도체의 육질 등급이 1 등급(1, 1⁺, 1⁺⁺) 이상인 암소



Fig. 1. The ovaries in each individual case.

의 난소만을 공시하였고, 한국종축개량협회의 한우 개체 정보 조회를 이용한 바코드로 개체별로 추적하여 기초 등록우, 혈통 등록우, 미등록우로 구분하였다.

2. 배양액

본 실험에 사용한 배양액은 난포란 회수용은 0.3% bovine serum albumin(BSA)가 첨가된 tissue culture medium-199(TCM-199)이고, 미성숙 난자의 체외 성숙용은 IVMD 101(Research Institute for the Functional Peptides, Japan), 체외 수정용은 IVF 100 (Research Institute for the Functional Peptides, Japan), 체외 배양용은 IVD 101과 IVMD 101(Research Institute for the Functional Peptides, Japan)로 완전 무혈청 배양액이었다(Yamashita 등, 1999).

정자의 세정 및 체외 수정을 위한 IVF 100 배양액은 BO 배양액(Brackett와 Oliphant, 1975)에서 25 mM sodium pyruvate, 0.5 mM cysteine, 5 mg/ml BSA, 5 mM caffeine(Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Osaka, Japan), 7.5 mg/ml heparin 등 구성 성분을 일부 수정하여 사용하였고, 체외 배양을 위한 IVD 101과 IVMD 101 배양액의 조성은 Table 1과 같다.

각 배양액은 사용하기 2주 전에 제조하여 0.22 μm membrane filter(Gelman Scienc, Ann Arbor, MI)로 여과하고, 4℃ 냉장고에 보관하였으며, 사용하기 전에 반드시 5% CO₂ 배양기에서 4~5시간 평형한 후 사용하였다.

3. 난포란의 회수

도축장에서 개체별로 채취한 난소는 생리식염수로 2~3회 개체별로 세척한 후, 난소 표면의 혈액과 이물질을 제거하고 2~6 mm 직경의 난포에서 18 G 주사바늘이 부착된 10 ml 주사기로 난포란을 개체별로 회수하여 TCM-199 용액으로 2~3회 개체별로 세척한 후 상층액을 제거하고, Pasteur pipette으로 실체 현미경하에서 Wiemer 등(1991)의 방법에 따라 Fig. 2와 같이 난구세포가 잘 부착되어 있는 난포란만을 35 mm petri dish에 개체별로 분주하였다.

4. 난포란의 체외 성숙

개체별로 회수한 난포란은 IVMD 101 배양액으로 1~2회 세척한 후 5 well dish에 IVMD 101 배양

액을 800 μ l씩 분주하고, 각 개체별로 1 well당 난포란 20~40개씩 넣어 39°C, 5% CO₂ incubator에서 22~24시간 동안 각각 체외 성숙을 유도하여 Fig. 3과 같이 난구세포가 잘 확산된 난포란만을 선별하여 체외 수정에 공시하였다.

5. 정자의 준비와 체외 수정

체외 수정을 위한 정자는 농협중앙회 가축개량 사업소에서 조제한 종모우(KPN369)의 동결 정액

Table 1. Composition of media for *in vitro* maturation and *in vitro* embryo culture*

Components	IVD 101	IVMD 101
D-glucose (mM)	2.22	5.56
Sodium pyruvate (mM)	0.27	0.91
Sodium lactate (mM)	2.48	-
L-cysteine (mM)	0.05	-
GSH (μ M)	200	-
Taurine (mM)	5	5
Selenium (nM)	5	5
Insulin (μ g/ml)	-	5
TGF- α (ng/ml)	-	10
Apo-transferrin (μ g/ml)	10	10
bFGF (ng/ml)	10	-
TGF- β 1 (ng/ml)	1	-
TIMP-1 (μ g/ml)	0.5	-
Aprotinin (μ g/ml)	0.5	-
BSA (mg/ml)	1	1
HEPES (mM)	5	5
Gentamycin sulfate (μ g/ml)	10	10

* Basal medium of IVD 101 and IVMD 101.

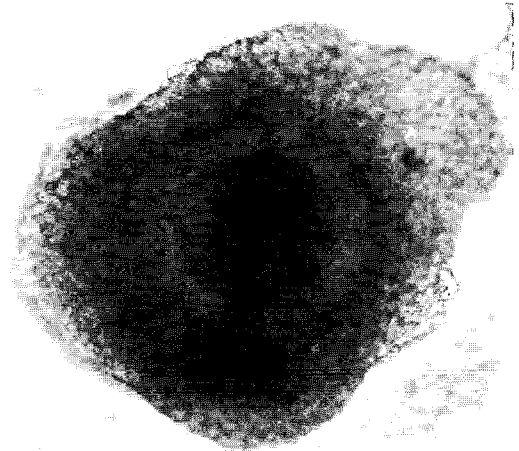


Fig. 2. The oocyte before *in vitro* maturation ($\times 200$).

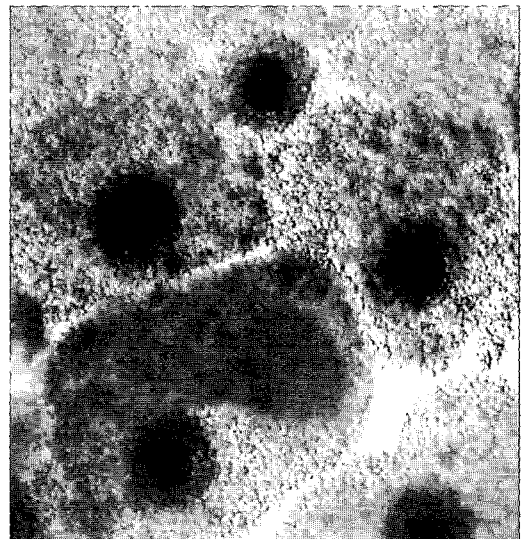


Fig. 3. The oocytes after 22-24 h *in vitro* maturation ($\times 100$).

(-196℃ LN₂)을 상온에서 10초간 방치한 후 39℃의 물에서 20초간 용해하고, straw 양끝을 소독한 가위로 자르고 미리 준비해둔 15 ml 원심분리관(Falcon, 2097)에 4ml의 IVF 100 용액에 정액을 넣고 pipetting한 후 700 rpm으로 5분간 원심분리하여 상층액을 제거하고, 조심스럽게 pipetting하고 재차 4 ml의 IVF 100 용액에 희석한 후 700 rpm으로 5분간 원심분리하여 상층액을 제거하고, 최종 정자 농도가 1×10⁷정자/ml가 되도록 조절하였다.

체의 수정은 60 mm petri dish에 mineral oil로 피복된 100 μl drop의 IVF 100 배양액에서 22시간 동안 체외 성숙시킨 난포란을 1~2회 세척한 후 정자를 넣고, 39℃, 5% CO₂ incubator에서 6시간 동안 개체별로 체외 수정을 유도하였다.

6. 수정란의 체외 배양

6시간 동안 체외 수정을 유도한 난포란은 200 μl의 micropipette으로 pipetting하여 난구세포를 3층만 남기고 제거하고 실체 현미경하에서 난자에 존재하는 제2극체 유무와 관계없이 형태적으로 정상이라고 판단되는 수정된 난자를 개체별로 회수하였다. 회수된 수정란을 미리 준비해둔 60 mm petri dish에 mineral oil로 피복된 100 μl drop의 IVMD 101 용액으로 2~3회 washing한 후 60 mm dish(Falcon, 3002)에 100 μl drop의 IVMD 101 배양액에 수정란을 개체별로 20~40개씩 분주하고 24시간 동안 체외 배양을 하였다.

30시간 체외 배양한 후 수정란에 부착된 3층 정도의 난구세포를 완전히 제거하여 6 well dish에 IVD 101 배양액을 well당 200 μl씩 넣고 mineral oil을 도포한 다음 개체별로 5%의 저산소 incubator에서 배양하였다. IVD 101 배양액은 수정한 후 5일째에 200 μl중 100 μl를 교환하고, 7~8일째까지 계속 배양하여 Fig. 4와 같이 배반포배를 확인하였다.

육질 등급별로 난포란의 회수율과 수정란의 체외 발생 능력을 조사하기 위해 육질 등급을 기초 등록우의 1, 1⁺ 및 1⁺⁺와 혈통 등록우의 1, 1⁺ 및 1⁺⁺로 구분하여 회수된 난포란과 배반포배 형성율을 조사하였다.

7. 통계처리

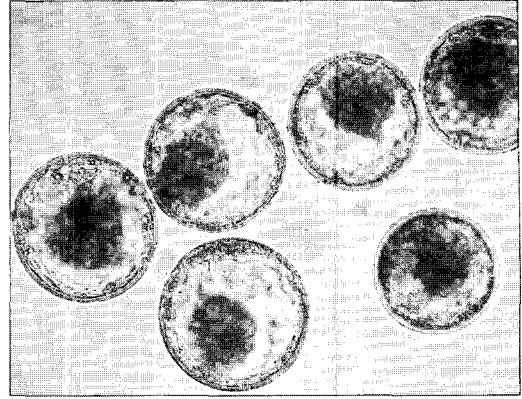


Fig. 4. The embryos of the blastocyst after 7~8 days in vitro culture (×200).

통계적 유의성 검정은 SAS package program(version 8.0)의 GLM(General Linear Model)을 이용하여 분석하였고, 처리 평균간 비교는 최소 유의차 검정(LSD-test)을 통해 5%($p<0.05$)일 때 유의하다고 판정하였다(Steel과 Torrie, 1980).

결 과

기초 등록우의 육질 등급을 1, 1⁺ 및 1⁺⁺로 구분하여 회수된 난포란과 개체별 체외 수정란의 배반포배 형성율을 조사한 결과는 Table 2와 같다.

기초 등록우의 육질 등급별로 회수된 난포란은 1 등급 14두에서 난포란 404개가 회수되어 평균 28.9개, 1⁺ 등급 8두에서 난포란 230개가 회수되어 평균 28.8개, 1⁺⁺ 등급 7두에서 난포란 207개가 회수되어 평균 29.6개, 합계 29두에서 난포란 841개가 회수되어 평균 29.0개였다.

기초 등록우의 육질 등급별 배반포배 형성율은 1 등급 14두에서 27.2%(110/404)로 평균 7.9개, 1⁺ 등급 8두에서 28.7%(66/230)로 평균 8.3개, 1⁺⁺ 등급 7두에서 32.9%(68/207)로 평균 9.7개, 합계 29두에서 29.0%(244/841)로 평균 8.4개의 배반포배가 생산되었으며, 배반포배 형성율은 육질 등급간에 유의적 차이가 없었다.

혈통 등록우의 육질 등급을 1, 1⁺ 및 1⁺⁺로 구분하여 회수된 난포란과 개체별 체외 수정란의 배반포배 형성율을 조사한 결과는 Table 3과 같다.

Table 2. Blastocyst formation rates according to meat quality in fundamental registry cow

Meat quality	No. of cows	No. (mean) of follicular oocytes	No. (%) of blastocysts	
			Developed	Mean/head
1	14	404 (28.9)	110 (27.2)	7.9
1 ⁺	8	230 (28.8)	66 (28.7)	8.3
1 ⁺⁺	7	207 (29.6)	68 (32.9)	9.7
Total	29	841 (29.0)	244 (29.0)	8.4

Table 3. Blastocyst formation rates according to meat quality in pedigree registry cow

Meat quality	No. of cows	No. (mean) of follicular oocytes	No. (%) of blastocyst	
			Developed	Mean/head
1	4	103 (25.8)	24 (23.3) ^c	6.0 ^c
1 ⁺	7	190 (27.1)	64 (33.7) ^b	9.1 ^b
1 ⁺⁺	2	54 (27.0)	23 (42.6) ^a	11.5 ^a
Total	13	347 (26.7)	111 (32.0)	8.6

^{a-c} Values with different superscripts in the same column were significantly different ($p < 0.05$).

혈통 등록우의 육질 등급별로 회수된 난포란은 1 등급 4두에서 난포란 103개가 회수되어 평균 25.8개, 1⁺ 등급 7두에서 난포란 190개가 회수되어 평균 27.1개, 1⁺⁺ 등급 2두에서 난포란 54개가 회수되어 평균 27.0개, 합계 13두에서 난포란 347개가 회수되어 평균 26.7개였다.

혈통 등록우의 육질 등급별 배반포배 형성율은 1 등급 4두에서 23.3%(24/103)로 평균 6.0개, 1⁺ 등급 7두에서 33.7%(64/190)로 평균 9.1개, 1⁺⁺ 등급 2두에서 42.6%(23/54)로 평균 11.5개, 합계 13두에서 32.0%(111/347)로 평균 8.6개의 배반포배가 생산되었으며, 배반포배 형성율은 육질 등급간에 유의적 차이가 있었다($p < 0.05$).

고 찰

난포란을 생체에서 채란할 때 회수된 난포란은 평균 4~5개인 것으로 보고(박 등, 2000)되었지만, 난포란을 도축된 암소의 난소에서 채란할 때 회수된 난포란은 평균 14.1개(Mermillod 등, 1992), 한

우와 젖소에서는 각각 평균 10.1개와 12.4개(김 등, 2005)였다고 보고되었는데, 본 연구에서는 기초 등록우 평균 24.7개와 혈통 등록우 평균 26.7개의 난포란이 회수되어 비교적 성적이 좋았다. 생체에서 난포란을 회수하는 것보다는 도축된 암소의 난소에서 난포란을 회수하는 것이 더 효율적인 것으로 사료된다.

체의 성숙한 난포란을 체외 수정한 수정란을 체외 배양하여 배반포배로의 발달을 조사한 결과 배반포배 형성율은 23.5%(오 등, 1986), 28.2%(Izadyar 등, 1996), 한우와 젖소에서 각각 27.0%와 23.4%(김 등, 2005)였다고 보고되었는데, 본 연구에서는 배반포배 형성율이 기초 등록우 평균 35.4%와 혈통 등록우 평균 32.0%로 약간 높았지만, Kajihara (1990)가 보고한 34.0%, 김 등(1992)이 보고한 39.4%와는 비슷한 결과였다.

또한 생체에서 채취한 난포란을 체외 성숙 및 체외 수정한 후 배반포배 형성율은 10~20% 정도였다는 보고(박 등, 2000 Hanenberg 등, 1997)보다는 높았지만, 생체에서 초음파기기를 이용하여 채

란한 난포란의 배반포배 형성을 37.1%(Duszewska 등, 2000)와는 비슷한 결과였다.

무혈청 배지에 배양한 배반포배의 세포수는 혈청 첨가 배지 123.5개, 무혈청 배지 169.7개로 무혈청 배지에서 생산된 배반포배가 세포수가 많고 (임 등, 2005), 배반포배의 발생이 높았다고 보고되었다(Abe 등, 2002; Yamashita 등, 1999; Shamsuddin 등, 1993; Takahashi와 First, 1992; Voelkel과 Hu, 1992). 또한 세포내 지방구 분포는 혈청을 첨가한 배지보다 무혈청 배지에서 생산된 배반포배의 지방구가 조밀하여 동결·융해한 후의 생존율이 높았다는 보고도 있다(Hoshi, 2003). 이와 같은 결과는 본 연구에서 체외 성숙, 체외 수정 및 체외 배양에 무혈청 배지인 IVD 101, IVF 101 및 IVMD 101 배양액을 사용한 것과도 관련이 있는 것으로 추정된다.

가축의 생산성 증대를 위한 개량 수단으로서 다배란과 수정란 이식에 의한 가축 개량 효과가 보고되어져 왔다. 또한, 인공수정에 의한 개량 방법은 암소의 개량이 차지하는 비중이 5~10%인데 비하여 수정란 이식 기법을 활용하면 번식률이 20% 정도 증가하고 유전적으로는 15~30%가 증대한다고 하였으며, 암소 번식 집단의 대체도 효율적이라는 보고도 있다(Hill과 Land, 1976).

본 연구에서 기초 등록우와 혈통 등록우의 각 육질 등급(1, 1⁺, 1⁺⁺)별로 회수된 난포란은 각각 평균 28.8~29.0개와 25.8~27.1개였고, 이식 가능한 배반포배는 각각 평균 7.9~9.7개와 6.0~9.1개를 생산할 수 있었는데, 이는 체내 수정란의 공란우당 이식가능한 수정란 6.2개 정도를 생산할 수 있었다고 보고(Thibier, 2003)된 것보다는 약간 많았다. 이는 개체별 체외 수정란 생산 체계가 수정란이식을 위한 수정란의 대량 생산에 상당히 효과적인 것으로 사료된다.

본 연구에서 육질 등급이 1 등급 이상인 암소의 난소에서 회수한 난포란으로 평균 8.4~8.5개의 배반포배를 생산한 개체별 체외 수정 체계의 확립은 고급육을 생산할 수 있는 한우의 개량을 위해 도축되어 사라져가는 육질 등급이 우수한 암소의 유전자를 활용하는 방안이 될 수 있을 것으로 사료된다.

적 요

본 연구는 고급육을 생산한 한우의 유전자를 재 활용하기 위해 기초 등록우와 혈통 등록우의 육질 등급이 1 등급 이상인 암소의 난소에서 개체별로 채취한 난포란을 개체별로 각각 체외 성숙, 체외 수정 및 체외 배양하였다. 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

기초 등록우의 육질 등급별로 회수된 난포란은 각각 1 등급 평균 28.9개, 1⁺ 등급 평균 28.8개, 1⁺⁺ 등급 29.6개로 평균 29.0개였다. 기초 등록우의 육질 등급별 배반포배 형성율은 각각 1 등급 27.2%, 1⁺ 등급 28.7%, 1⁺⁺ 등급 32.9%로 평균 8.4개의 배반포배가 생산되었으며, 배반포배 형성율은 육질 등급간에 유의적 차이가 없었다.

혈통 등록우의 육질 등급별로 회수된 난포란은 각각 1 등급 평균 25.8개, 1⁺ 등급 평균 27.1개, 1⁺⁺ 등급 27.0개로 평균 26.7개였다. 혈통 등록우의 육질 등급별 배반포배 형성율은 각각 1 등급 23.0%, 1⁺ 등급 33.7%, 1⁺⁺ 등급 42.6%로 평균 8.6개의 배반포배가 생산되었으며, 배반포배 형성율은 육질 등급간에 유의적 차이가 있었다($p < 0.05$).

참고문헌

- Abe H, Yamashita S, Satoh T and Hoshi H. 2002. Accumulation of cytoplasmic lipid droplets in bovine embryos and cryotolerance of embryos developed in different culture systems using serum-free or serum-containing media. *Mol. Reprod. Dev.*, 61:57-66.
- Blondin P and Sirard MA. 1995. Oocytes and follicular morphology as determining characteristics for developmental competence in bovine oocytes. *Mol. Reprod. Dev.*, 41:54-62.
- Brackett BG and Oliphant G. 1975. Capacitation of rabbit spermatozoa *in vitro*. *Biol. Reprod.*, 12: 260-274.
- Carolan C, Lonergan P, Khatir H and Mermillod P. 1996. *In vitro* production of bovine embryos using individual oocytes. *Mol. Reprod. Dev.*,

- 41:145-150.
- Duszevska AM, Reklewski Z, Wojdan J, Pienkowski M and Modlinski AJ. 2000. Development of bovine embryos obtained by ovum pick-up, IVM-IVF and IVC on vero/BRL cell monolayers (mixed co-culture). *Theriogenology*, 53:294.
- Gardner DK. 1994. Mammalian embryo culture in the absence of serum or somatic cell support. *Cell Biol. Int.*, 18:1163-1179.
- Hanenberg EHAT and van Wagendank-de Leeuw AM. 1997. Comparison of 3, 4 or 7 day interval between oocyte collection for *in vitro* embryo production results. *Theriogenology*, 47:158.
- Hasler JF, Stokes JE and Merton JS. 1994. Comparison of two different populations of two different populations of BRL cells in a bovine *in vitro* culture system. *Theriogenology*, 41:214.
- Heeres AA, Merton JS and Hazeleger W. 1996. Optimization of sperm/oocyte ratio during *in vitro* fertilization of bovine cumulus oocytes-complexes. *Theriogenology*, 45:266.
- Hill WG and Land RB. 1976. Superovulation and ovum transplantation in genetic improvement programmes. Proceedings of the EEC seminar on egg transfer in cattle. pp. 355-368.
- Hoshi H. 2003. *In vitro* production of bovine embryos and the application for embryo transfer. *Theriogenology*, 59:675-685.
- Izadyar F, Colenbrander B and Bevers MM. 1996. Growth hormone stimulates *in vitro* bovine oocyte maturation and subsequent embryonic development. *Theriogenology*, 45:279.
- Kajihara Y, Kometani N, Kobayashi S, Shitanaka Y, Koshiha Y, Shiraiwa K and Goto K. 1990. Pregnancy rates and births after co-culture of cumulus cells with bovine embryos derived from *in vitro* fertilization of *in vitro* matured follicular oocytes. *Theriogenology*, 3:264.
- Kajihara Y, Kometani N, Shitanaka Y, Saito S, Yamaguchi Y, Hishiyama K and Endo M. 1992. Pregnancy rates and birth after the direct transfer of frozen-thawed bovine IVF embryos. *Theriogenology*, 35:233.
- Kane MT, Carney EW and Ellington JF. 1992. The role of nutrients, peptide growth factors and co-culture cells in development of preimplantation embryos *in vitro*. *Theriogenology*, 38:297-313.
- Kato Y and Tsunoda Y. 1994. Effects of the culture density of mouse zygotes on the development *in vitro* and *in vivo*. *Theriogenology*, 41:1315-1322.
- Mermillod P, Wils C, Massip A and Dessy F. 1992. Collection of oocytes and production of blastocysts *in vitro* from individual, slaughtered cows. *J. Reprod. Fert.*, 96:717-723.
- Rosenkrans Jr CF, Zerg GZ, Schoff PK and Fist NL. 1990. A simple medium for *in vitro* development of bovine embryos. *J. Anim. Sci.*, 68 (Suppl.):430.
- Shamsuddin M, Lsrsson B, Gustafsson H and Rodriguez-Martinez H. 1993. *In vitro* development up to hatching of bovine *in vitro*-matured and fertilized oocytes with or without support from somatic cells. *Theriogenology*, 39:1067-1079.
- Steel RGD and Torrie JH 1980. Principles and procedures of statistics: A biometrical approach McGraw-Hill Book Co., New York.
- Takahashi Y and First NL. 1992. *In vitro* development of bovine one-cell embryos influence of glucose, lactate, pyruvate, amino acids, and vitamins. *Theriogenology*, 37:963-978.
- Thibier M. 2003. More than half a million bovine embryos transferred in 2002. IETS Data Retrieval Committee Annual Report. pp.12-19.
- Voelkel SA and Hu YX. 1992. Effect of gas atmosphere on the development of one-cell bovine embryos in two culture systems. *Theriogenology*, 37:1117-1131.
- Wiemer KE, Watson AJ, Polanski V, Mckenna AI, Fick GH and Shultz GA. 1991. Effects of maturation and co-culture treatments on the developmental capacity of early bovine embryos. *Mol.*

- Reprod. Dev., 30:330-338.
- Wurth YA, Reinders JMC, Rall WF and Kruij THAM. 1994. Developmental potential of *in vitro* produced bovine embryos following cryopreservation and single-embryo transfer. *Theriogenology*, 42:1275-1284.
- Yamashita S, Abe H, Itoh T, Satoh T and Hoshi H. 1999. A serum-free culture system for efficient *in vitro* production of bovine blastocysts with improved viability after freezing and thawing. *Cytotechnology*, 31:1-9.
- Yoshioka K, Othman AM, Taniguchi T, Yamanaka H and Sekikawa K. 1997. Differential patterns of blastulation in bovine morulae cultured in synthetic oviduct fluid medium containing FCS or BSA. *Theriogenology*, 48:997-1006.
- 고광두, 정길생, 이기만. 1981. 한우의 수정란이식에 관한 연구 III. 수정란의 비외과적 채취와 이식. *한국축산학회지*, 23:331-337.
- 김용준, 김희천, 서세현, 정구남, 김용수, 이해리, 신동수, 조성우, 김수희. 2005. 한우 및 젖소에서 체외 수정란 생산과 신선 및 동결 수정란 이식 결과. *한국수정란이식학회지*, 20:79-87.
- 김정익, 한상익, 박춘근, 임석기, 김종배, 정병현, 정길생. 1992. 우수 포유동물 수정란 이용 효율 제고에 관한 연구. I. 우 난포란의 체외성숙, 수정 및 발육. *한국가축번식학회지*, 16:55-62.
- 박성재, 양보석, 임기순, 성환후, 양병철, 장원경, 정일정, 정기화, 심보웅, 박충생. 2000. 한우에 있어서 초음파기기를 이용한 생체내 개체별 난자 채취 빈도 및 수정란 생산효율에 관한 연구. *한국수정란이식학회지*, 15:1-8.
- 박희성, 이지삼, 진종인, 박준규, 홍승표, 이명열, 정장용. 2001. 유전자 분석을 통하여 선발된 한우로부터 초음파 유래 체외 수정란 이식에 의한 고품질 한우 생산기술의 실용화 II. DNA 검정우로부터 초음파 유래 체외 수정란의 생산에 관한 연구. *한국수정란이식학회지*, 16:193-201.
- 오성중, 양보석, 김희석, 이근상, 김강식, 스피어스, 아우리. 1986. 소 발정동기화 및 동결 수정란 이식에 관한 연구. *한국축산학회지*, 28:468-473.
- 임경순. 1998. 한국축산의 발달사(제2장. 가축의 번식). (사)한국낙농육우협회, pp. 884-897.
- 임여정, 김진희, 송해범, 정영길. 2004. Transfer, cryopreservation and production of bovine embryos cultured in serum-free system. *한국수정란이식학회지*, 19:133-145.
- 정길생, 윤종삼, 이훈택, 유승환, 김정익. 1983. 수정란이식에 의한 소의 쌍태유기에 관한 연구 VI. 비외과적으로 이식한 신선 및 동결 수정란의 분만 성적. *한국축산학회지*, 25:424-429.
- 조병대, 전광주. 1992. 한우의 육종체계 연구. '92년도 한국축산분야 종합학술대회, 한국축산학회.
- 조성근, 노국진, 이정국, 이효종, 최상용, 박충생. 2000. 체외 배양 조건이 소 체외 수정란의 생산에 미치는 효과. *한국수정란이식학회지*, 15:271-277.
- 한우등급판정결과보고서, 2006. 축산물등급판정소.
- 황환섭, 장현용, 김성곤, 김종택, 박춘근, 정희태, 김정익, 양부근. 2004. 한우 체외성숙·체외 수정란의 수정란 이식에 관한 연구. *한국수정란이식학회지*, 19:1-10.

(접수일: 2006. 8. 1 / 채택일: 2006. 9. 2)