

미성숙 및 성숙 재래 산양의 과배란 처리에 의한 난자의 회수율 비교

윤윤진¹, 박희성^{1,2,*}

¹경남과학기술대학교 동물생명과학과, ²재래유전자원연구소

Comparison of Oocyte Recovery Rates between Prepubertal and Adult Korean Native Goats

Yun Jin Yun¹ and Hee Sung Park^{1,2,*}

¹Department of Animal Science and Biotechnology, Gyeongnam National University of Science and Technology, Jinji 660-758, Korea

²Research Center of Native Gene Resource, Jinju 660-758, Korea

ABSTRACT

This study was conducted to examine whether efficiency of oocyte production from superovulated prepubertal goats. Fifteen prepubertal and twenty adult goats, maintained in a pen under natural day length and fed hay *ad libitum*, were pretreated with progestagen implanted CIDR for 10 days. Superovulation treatment of the goats received twice daily intramuscular injection of a total of 70 mg FSH for 3 days from Day 8 of CIDR. All the gonadotrophin treated goats were injected with 10 mg PGF₂α on Day 8 and 400~600 IU hCG in the afternoon on Day 10. Oocytes were recovered by follicle aspiration or oviduct flushing at 35 to 40 h after hCG injection through mid-ventral incision. The *in vivo* matured oocytes was activated by ionomycin (5 min) and 6-DMAP (3.5~4 h). The activated oocytes were cultured in mSOF medium containing 0.8% BSA at 38.5°C in an atmosphere of 5% CO₂, 5% O₂, 90% N₂ for 7~8 days.

There was no significant difference in the mean number of CL and *in vivo* matured and follicular oocytes recovered. But, quality of I+II grade follicular oocytes was lower ($p<0.05$) in the prepubertal goat (25.0%) than the adults (52.4%). The same results were also observed in the cleavage and blastocyst rate of activated oocytes. The cleavage and blastocyst rate from prepubertal derived oocytes were lower ($p<0.05$) in the prepubertal goat (54.5%, 23.3%) than the adult goat (86.8%, 46.6%). Considering overall these results, we suggest that maturation of donor goats is a major factor affecting recovered oocytes quality and *in vitro* development of activated goat oocytes.

(Key words : prepubertal, superovulation, FSH, oocyte, activation, goat)

서 론

수정란이식 기술은 주로 소를 중심으로 실시되어 왔으나, 최근에는 산양을 비롯한 돼지, 사슴 등과 같은 중·소형 동물에서도 수정란이식을 통한 개량이 시도되고 있다. 산양은 체세포 핵이식에 의한 동물 복제, 형질 전환을 통한 인간의 치료용 유용 단백질 생산을 위한 숙주 동물로서도 매우 유용할 뿐만 아니라, 첨단 생명공학 분야의 기초 연구로서도 재래 산양을 이용한 연구가 점차 확대되고 있는 실정이며, 고유의 유전자원 보존 측면에서도 산양의 수정란이식과 같은 다양한 연구를 통하여 개량 체계의 확립이 절실히 요구된다. 이를 위해서는 무엇보다도 도축장 유래 난포란의 이용과 같은 난자의 대량 확보 방안이 마련되어야 하지만, 재래 산양은 사육두

수가 적고 소나 돼지처럼 도축 체계가 확립되어 있지 못하여 일시에 난자의 대량 확보가 불가능한 실정이다. 난포란 또는 수정란을 효과적으로 확보하기 위해서는 발정동기화와 과배란 처리가 이루어져야 한다(박 등, 2004). 그러나 재래 산양은 계절 번식을 하므로 과배란 처리에 의한 난자 확보 방법도 번식 계절에 한정됨으로 제한적일 수밖에 없다. 또한 사육 규모, 사육 방법 등이 체계화되어 있지 않고, 고가의 산양 가격으로 인하여 실험 동물로서의 공급이 원활하지 못하며, 난자의 회수도 거의 대부분이 외과적 방법에 의존하므로 공란 산양으로서의 반복 사용이 불가능하다. 따라서 고가의 성숙 산양보다 가격이 저렴한 미성숙 산양을 공란산양으로 사용하는 것도 난자 확보의 효율성 제고 측면에서 한 방법이 될 수 있을 것이다.

* 이 논문은 2010년도 본 대학 기성회 연구비 지원에 의하여 연구되었음.

* Correspondence : E-mail : hspark@gntech.ac.kr

미성숙 동물을 이용한 난자의 회수 관련 연구는 소(Armstrong 등, 1992; Revel 등, 1995; Kelly 등, 2003), 산양(Martino 등, 1994; Mogas 등, 1997; Koeman 등, 2003), 면양(Armstrong 등, 1994; Earl 등, 1994; O'Brien 등, 1997; Ptak 등, 1999; Catt, 2002) 및 돼지(Marchal 등, 2000; Ikeda와 Takhashi 2003) 등 다양한 동물에서 시도되어 왔다. 성선자극 호르몬을 투여하면 난자의 체외생산 효율이 향상되지만, 미성숙 동물은 호르몬 반응이 나타나지 않는 경우가 많으며, 뿐만 아니라 호르몬 반응이 나타나는 개체들도 배란 반응의 차이가 심한 편이다(Earl 등, 1994; Ptak 1999). 성숙 동물로부터 채취한 난자와 비교하였을 때 그 발달율은 매우 낮은 실정이다(Khatir 등, 1996; Palma 등, 2001; Leoni 등, 2004). 재래 산양의 경우, 수정란 회수에 관한 보고는 소수 있어도 미성숙 산양으로부터 과배란 처리에 의한 체내 성숙 난자 및 난포란의 회수에 관한 연구 보고는 거의 없을 뿐만 아니라, 적절한 회수 방법이 확립되어 있지 못한 실정이다.

본 연구는 재래 산양의 난포란을 보다 효율적으로 확보하고자 미성숙 산양에 과배란 처리를 실시한 후 체내 성숙 난자(배란된 난자) 및 난포란을 회수하여 공란산양의 성숙 여부가 난자의 회수율과 단위 발생란의 체외 발달율에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 공시 동물

공시 동물은 생후 3~5개월령의 체중이 6~10 kg의 미성숙 재래 산양을 사용하였으며, 성숙 산양은 15개월령 이상 되고 20~30 kg 전후의 성숙한 재래 산양으로서, 미성숙 산양은 본 대학 농장에서 생산되었다. 성숙한 재래 산양으로서 진주 근교의 사육 농가로부터 임상적으로 건강하다고 인정되는 것을 구입하여 본 대학교 종합농장(위도, 35° 1')에서 사육하면서 내·외부 기생충 구제와 일정기간 동안 적응시킨 다음 본 연구에 사용하였다. 사양 관리는 일반 관행법에 따라 사육되며, 농후 사료는 추가 급여하고 식염과 물은 자유 섭취토록 하였다.

2. 과배란 유도

난자의 회수를 위한 과배란 유기는 먼저 발정 동기화를 위하여 progesterone 제제인 CIDR(Progesterone 0.3 g, Eazi Breed, InterAg, New Zealand)을 10일간 질내에 삽입하고 과배란 처리는 FSH(Folltropin-V, Vetrepharm, Canada)를 CIDR 삽입 8, 9, 10일째에 12시간 간격으로 70 mg을 감량법으로 투여하였다. PGF_{2α}(Lutalyse, Upjohn, U.S.A.)는 8일째에 FSH와 함께 10 mg 투여하고, CIDR 제거는 10일째에 제거와 동시에 hCG(Chorulon, Intervet, Netherland) 400~600 IU를 투여하여 과배란을 유도하였다. 본 연구는 산양의 번식기인 10~2월 사이에 실시하

였으며, PGF_{2α}를 투여한 다음날부터 발정 관찰을 실시하였다.

3. 난자의 회수

난자의 채취는 hCG 투여 후 35~40시간에 난관 관류법(oviduct flushing)과 난포 흡입법(follicle aspiration)으로 실시하였다. 난관으로부터 배란된 성숙 난자의 회수는 외과적인 방법으로 산양의 복정중선을 절개한 후 난관 관류 방법으로 난자를 회수하였다. 먼저 과배란 처리한 산양을 약 24시간 절식시킨 다음 2% xylazine(Rompun, Bayer, Korea)을 체중 kg당 0.2 mg씩 근육주사하여 진정마취시키고, Zoletil 50(VIRBAC Lab. France)을 정맥주사하여 마취를 유도하였다. 마취가 도입된 산양은 복정중선을 절개하여 난관과 난소를 체외로 노출시킨 다음 배란점을 확인한 후 난자의 회수를 위하여 catheter(Tom Cat, Kendall Co., U.S.A.)를 난관누두부로 삽입하여 5~10 ml의 PBS(Sigma Co., U.S.A.) 배양액을 난관 자궁접합부 쪽에서 주입하여 관류하였다. 이어서 난포 내 미성숙 난자의 회수는 성숙 난자를 회수한 다음, 난소의 난포로부터 18~20 G needle 이 부착된 5 ml 주사기로 난포액과 난포란을 흡입하여 회수하였다.

4. 회수란의 검사 및 분류

회수란은 5% GS(Sigma Co., U.S.A.)가 첨가된 신선한 PBS 배양액으로 4~5회 세척한 후 난구세포의 부착 정도와 세포질의 충실도에 따라 박 등(2000)의 방법에 준하여 다음과 같이 4등급으로 분류하여 난자의 회수율을 조사하였다.

- Grade I : 난구세포가 2~3층 이상이고, 세포질이 균일한 것.
- Grade II : 난구세포가 1~2층이고, 세포질이 균일한 것.
- Grade III : 난구세포가 1층 또는 부분적으로 나화된 것.
- Grade IV : 난구세포가 나화되고 세포질이 퇴화된 것.

5. 체내 성숙 난자의 단위 발생 유기 및 체외 배양

회수한 체내 성숙 난자는 0.3% hyaluronidase(Sigma)가 첨가된 H199(Sigma)로 3~5분간 처리하여 난구세포를 제거한 다음, 5 μM의 ionomycin 용액에서 5분간 처리한 후 30 mg/ml 농도의 FAF-BSA(Sigma) 용액에서 3분간 세척하고 2 mM의 6-DMAP 용액에서 3.5~4시간 동안 처리하여 단위 발생을 유도하였다. 단위 발생란의 체외배양은 0.8% BSA(Sigma)가 첨가된 mSOF 배양액(5% CO₂, 5% O₂, 90% N₂, 96~88% humidity, 39°C)에서 7~8일간 배양을 실시하였다.

6. 통계학적 분석

실험 결과의 통계학적 분석은 SAS package를 이용하여 실시하였으며, GLM(General Linear Model) procedure를 적용하여 각 요인의 least square mean을 구하여 요인간의 유의차를

검정하였다.

결 과

1. 미성숙 산양의 과배란 처리에 의한 난자 회수율 및 등급 미성숙 산양의 과배란 처리에 의한 체내 성숙 난자의 회수율에 있어서 과배란 처리 후 두당 황체 수는 13.1±6.5개로서 성숙 산양의 8.8±2.4개와 차이가 없었다($p<0.05$). 회수율도 미성숙 산양이 69.5%로서 성숙 산양의 72.6%와 차이가 없었다. 산양의 두당 회수율은 미성숙 산양이 9.1±6.8개로서 성숙 산양의 9.8±2.5개와 차이가 없었다(Table 1).

공란 산양으로부터 체내 성숙 난자 회수 후 난소의 난포로부터 채란한 난포란의 회수율에 있어서 산양 두당 난포 수는 미성숙 산양이 7.9±6.5개로서 성숙 산양의 8.8±2.4개와 차이가 없었다. 이들 황체로부터 회수한 난포란 수도 미성숙 산양이 5.6±6.1개로서 성숙 산양의 6.3±2.3개와 차이가 없었다(Table 2). 회수한 난포란의 등급(Table 3)에 있어서 I+II 등급 난포란은 미성숙 산양이 25.0%로서 성숙 산양의 52.4%보다는 낮았다($p<0.05$). 4등급의 비율은 미성숙 산양이 39.3%로서 성숙 산양의 19.8%보다는 높았다($p<0.05$).

2. 미성숙 산양으로부터 회수한 체내 성숙 난자의 단위 발생 후 체외 발달을

미성숙 산양으로부터 회수한 체내 성숙 난자를 단위 발생을 유도하였을 때 분할율은 54.5%로서 성숙 산양으로부터 회수한 단위 발생 난자의 분할율 86.8%보다는 낮았다($p<0.05$). 배반포기로의 발달율에 있어서도 미성숙 산양이 23.3%로서 성숙 산양의 46.6%보다는 유의적($p<0.05$)으로 낮았다(Table 4).

고 찰

미성숙 동물을 이용한 연구는 다양한 동물 중에서 연구가 이루어졌으며, 실험 동물로서 세대 간격이 짧아짐으로 선발효율을 향상시킨다(Kelly 등, 2005; Morton, 2008). 미성숙 동물을 공란 동물로 사용하면 수정란의 생산 효율은 호르몬의 처리 반응, 다수의 난자의 생산 등의 측면에서 보면 성숙 동물보다 효율적이다(Morton 등, 2005). 하지만 회수한 난자의 질적인 면에서는 성숙 동물을 이용한 연구에 비하여 저조한 경향을 나타낸다. 미성숙 산양의 난자는 발달이 지연되며, 과립피질과 미토콘드리아와 같은 세포질 소기관의 기능이 비정상적으로 되지만 그 원인은 명확하지 않다(Velilla 등, 2004). 이러한 요인

Table 1. Effect of prepubertal goat on recovery of *in vivo* matured oocytes

Donors	No. of goats	No. of CL/goat (mean ± SE)	No. of oocytes collected (%)	No. of oocytes/goat (mean ± SE)
Adult	20	13.5 ± 2.5	196 (72.6)	9.8 ± 2.5
Prepubertal	15	13.1 ± 7.3	137 (69.5)	9.1 ± 6.8

*Values in the same column are not significantly different ($p<0.05$).

Table 2. Effect of prepubertal goat on recovery of follicular oocytes

Goats	No. of goats	No. of follicles/goat (mean ± SE)	No. of oocytes collected (%)	No. of oocytes/goat (mean ± SE)
Adult	20	8.8 ± 2.4	126 (70.4)	6.3 ± 2.3
Prepubertal	15	7.9 ± 6.5	84 (66.7)	5.6 ± 6.1

* Values in the same column are not significantly different ($p<0.05$).

Table 3. Effect of prepubertal goat on yield and grade of follicular oocytes

Goats	No. of collected oocytes	No. of oocytes by grade (%)		
		I + II	III	IV
Adult	126	66 (52.4) ^a	35 (27.8) ^a	25 (19.8) ^b
Prepubertal	84	21 (25.0) ^b	30 (35.7) ^a	33 (39.3) ^a

* Values with different superscripts in the same column are significantly different ($p<0.05$).

Table 4. Development of activated oocytes by prepubertal and adult goats derived from *in vivo* matured oocytes

Goats	No. of activated oocytes (%)	No. of cleaved oocytes (%)	No. of blastocyst (%)
Adult	220	191 (86.8) ^a	89 (46.6) ^a
Prepubertal	165	90 (54.5) ^b	21 (23.3) ^b

* Values with different superscripts in the same column are significantly different($p < 0.05$).

들 때문에 체외성숙과 체외수정 유래 미성숙 산양 난자는 체외 수정율이나 체외발달율이 낮으며, 다정자 침입율은 높게 나타난다(Urdaneta 등, 2004). Ptak 등(2003)은 p34(cdc2), Cyclin B1 발현, MPF의 활성화 등이 미성숙 산양난자를 변성시키는 중요한 요인이며, 세포질과 핵의 결손으로 인하여 불완전한 성숙이 일어남으로써 배반포기로의 발달율이 낮고 수정란의 질도 떨어진다고 하였다.

두당 회수 난자수는 연구자들에 따라서 차이가 많이 난다. Koeman 등(2003)은 3~5개월령의 미성숙 산양에 과배란 처리를 하여 LOPU 방법으로 난자를 채란하였을 때 난포수는 39 ± 4.5 개로서 성숙 산양의 19 ± 1.4 개보다 많았으며($p < 0.01$), 회수란 수도 28.4 ± 3.5 개로서 성숙 산양의 15.9 ± 1.5 개보다 월등히 많았다. 그러나 회수율은 성숙 산양이 84%로서 미성숙(73%) 산양보다 높았으며, 본 연구의 난포란 수보다 많았다. 본 연구에서는 정상적으로 배란된 난자 외에 적정 시점에 배란되지 못한 미 배란 난포란 수를 조사한 것으로서 방법상에 차이에 기인한다. Baldassarre 등(2004)은 미성숙 산양의 연령을 60~90일령과 90~150일령으로 세분하여 조사하였던 바 난포 수(59.3 ± 28 vs 34.4 ± 20 개)와 회수란 수(49.7 ± 24 vs 27.4 ± 14 개) 모두 60~90일령 공란 산양이 많았다고 보고하였다. Ptak 등(1999)은 번식기에 생후 4~5주된 미성숙 면양에 과배란 처리를 하여 외과적으로 미성숙 난포란을 회수하였을 때 회수율은 49.8%로서 성숙 면양의 74.5%보다 매우 낮았다($p < 0.05$). 체외수정 후 배반포기로의 발달율도 22.9%로서 성숙 면양의 35.8%보다 낮았다. 뿐만 아니라 배반포기 수정란을 이식하였을 때 산자 생산율도 미성숙 면양 유래 난자의 경우 16.7%로서 성숙 면양 유래 난자의 40.9%보다 낮았다. 이러한 결과는 산양의 품종, 사육 조건, 실험 계절 등의 차이에 의한 것으로 생각된다.

Leoni 등(2009)은 미성숙 Sarda 산양에서 과배란 처리 후 LOPU (oocyte-pic-up) 방법으로 채취한 난자의 체외 성숙율은 65.1%로서 성숙 산양의 85.3%보다 낮았으며, 체외 수정율(76.6 vs 90.9%), 분할율(55.6 vs 70.3%), 배반포기로의 발달율(24.2 vs 33.9%)도 모두 성숙 산양보다 낮았다($p < 0.05$). 뿐만 아니라 미성숙 산양은 과배란 처리를 하였을 때 개체 간에 난소 반응의 차이가 많았으며, 두당 회수난자수가 최소 22개에서 최대 229개까지 차이가 난다고 하였다. Romaguera 등(2010)은 생후 1개월된 산양 유래 난자의 체외수정 후 분할율은 64.4%였고, 배반포기

로의 발달율은 21.0%라고 하였다. Kochhar 등(2002)은 도축 장유래 미성숙 면양의 체외수정란의 분할율은 60.8%로서 성숙 면양의 69.2%와 차이가 없었으며, 배반포기로의 발달율은 미성숙 면양이 13.9%로서 성숙 면양의 26.8%보다 낮았다고 하였다($p < 0.05$). Izquierdo 등(2002)도 도축장 유래 2개월령의 미성숙 산양의 체외수정란의 분할율은 66.3%로서 성숙 산양의 42.8%보다 높았으며, 배반포기로의 발달율은 각각 12.1 및 14.1%로서 차이가 없다고 하였다.

회수란의 질적인 면에서 보면 미성숙 산양으로부터 회수한 난자는 성숙 산양으로부터 회수한 난자에 비하여 퇴화되는 비율이 높다고 하였다(Leoni 등, 2009). 뿐만 아니라 미성숙 산양은 100 μ m 이하의 비정상적인 난자의 비율이 높다. 난자의 크기가 125 μ m 이하의 난자는 8~16세포기 단계에서 20% 이상이 사멸된다(Jimenez-Macedo 등, 2007). 그러나 성숙한 산양에서는 5 mm 이상의 크기에서 회수한 난자는 배반포기로의 발달율이 증가하며, 미성숙 산양에서는 2.5~3 mm의 소 난포수가 더 많았다고 하였다(Martino 등, 1994). Baldassarre 등(2004)은 공란 산양이 100일령 이하와 180일령 이상으로 구분하여 회수란 수를 조사하였을 때 각각 41.0 ± 9 및 25.8 ± 5 개였으며, 이들 난자들의 체외수정 후 이식 가능한 난자 수는 67.8 및 81.4%로서 180일령 이상의 미성숙 산양이 높게 나타났다. 이식 후 임신율에 있어서도 40% 및 80%로서 180일령 이상 산양의 난자를 이용하였을 때가 높았으며, 미성숙 산양이라도 생후 일령에 따라서 차이가 많이 난다고 하였다. 미성숙 면양 난자 유래 배반포기 수정란은 ICM이나 형태적으로 성숙 면양 유래 난자와 아무런 차이가 없다. 그러나 미성숙 면양 유래 수정란은 성숙 면양에 비해 발달이 지연되며, 성숙 면양 유래 수정란은 대부분이 6일째 배반포기에 도달하지만 미성숙 면양 유래 수정란은 이 보다 1~2일 늦게 도달하고 4-세포기에서 발달이 지연된다(Ptak 등, 1999).

이상의 기존 연구자들의 보고를 요약하면 미성숙 산양은 낮은 체외수정율, 높은 다정자 침입율 그리고 낮은 배반포기로의 발달율 등이 문제가 된다(Anguita 등, 2007). 이러한 결과들은 본 연구와 대체적으로 일치한다. 회수한 난자와 수정란의 질은 연구자에 따라서 상당한 차이가 있다. Morton(2008)은 차이가 없다고 한 반면 Leoni 등(2009)은 미성숙 산양의 난자와 수정란은 성숙 산양 유래 난자에 비하여 질이 떨어질 뿐만

아니라 배반포기로의 발달율도 낮다고 하였다. 우리나라 재래 산양은 계절 번식을 하기 때문에 연간 실험할 수 있는 기간이 매우 짧고, 다른 개량된 축종에 비하여 실험 결과의 편차가 심하여 재래 산양을 공시동물로 이용한 연구에 어려움이 많다(정 등, 2007). 그러나 가치가 높은 유용 단백질 생산을 위한 형질전환 복제동물 생산 관련 연구에 있어서 생체 반응기로서 산양이 적합한 동물이라고 생각된다. 따라서 앞으로 생산 효율의 개선을 위해 미성숙 산양의 이용 방안도 적극적으로 검토할 필요가 있으며, 무엇보다도 양질의 난자의 대량 확보를 위한 과배란 처리 기술 확립, 산양 수정란의 배양 체계 확립, 이식기법의 개발, 이식 후 수정란 및 태아 손실의 최소화 등이 시급한 실정이다 또한 공란 산양의 실험 동물로서의 세심한 배려와 관리가 체계적인 실험 결과를 도출하는데 중요한 요인이라고 생각된다(박 등, 2006). 미성숙 재래 산양으로부터 난자의 생산은 난자의 확보 측면에서는 한 방법이 될 수 있으나, 회수란의 질 저하에 대한 문제는 공란산양의 보다 적합한 연령, 실험 시기, 성선자극 호르몬의 양 및 공시산양의 관리 등 앞으로 보다 세밀한 검토가 필요한 것으로 생각된다.

적 요

본 연구는 효율적인 재래 산양의 난포란을 확보하기 위하여 미성숙 산양에 과배란 처리를 실시하여 체내 성숙 난자(배란된 난자) 및 난포란을 회수하여 공란산양의 성숙 여부가 난자의 회수율과 단위 발생란의 체외발달율에 미치는 영향을 조사하였다.

미성숙 산양의 과배란 처리에 의한 체내 성숙 난자의 회수율에 있어서 과배란 처리 후 두당 황체수는 13.1 ± 6.5 개로서 성숙 산양의 8.8 ± 2.4 개와 차이가 없었다($p < 0.05$). 산양의 두당 회수율은 미성숙 산양이 9.1 ± 6.8 개로서 성숙 산양의 9.8 ± 2.5 개와 차이가 없었다. 공란산양으로부터 체내 성숙 난자 회수 후 난소의 난포로부터 채란한 난포란의 회수율에 있어서 산양 두당 난포 수는 미성숙 산양이 7.9 ± 6.5 개로서 성숙 산양의 8.8 ± 2.4 개와 차이가 없었다. 이들 황체로부터 회수한 난포란 수도 미성숙 산양이 5.6 ± 6.1 개로서 성숙 산양의 6.3 ± 2.3 개와 차이가 없었다. 회수한 난포란의 등급에 있어서 1+II 등급 난포란은 미성숙 산양이 25.0%로서 성숙 산양의 52.4%보다는 낮았다($p < 0.05$). 4등급의 비율은 미성숙 산양이 39.3%로서 성숙 산양의 19.8%보다는 높았다($p < 0.05$). 미성숙 산양으로부터 회수한 체내 성숙 난자를 단위 발생을 유도하였을 때 분할율은 54.5%로서 성숙 산양으로부터 회수한 단위 발생 난자의 분할율 86.8%보다는 낮았다($p < 0.05$). 배반포기로의 발달율에 있어서도 미성숙 산양이 23.3%로서 성숙 산양의 46.6%보다는 유의적($p < 0.05$)으로 낮았다. 이상의 결과를 미루어 볼 때 미성숙 재래 산양으로부터 난자의 생산은 난자의 확보 측면에서는 한 방법이 될 수 있으나, 회수란의 질 저하에 대한 문

제는 공란 산양의 보다 적합한 연령, 실험 시기, 성선자극 호르몬의 양 및 공시 산양의 관리 등 앞으로 보다 세밀한 검토가 필요한 것으로 생각된다.

참고문헌

- Anguita B, Vandaele L, Mateusen B, Maes S and Van Soom A. 2007. Developmental competence of bovine oocytes is not related to apoptosis incidence in oocytes, cumulus cells blastocysts. *Theriogenology* 67:537-549.
- Armstrong DT, Holm P, Irvine B, Petersen BA, Stubbings RB, McLean D, Stevens G and Seamark RF. 1992. Pregnancies and live birth from *in vitro* fertilization of calf oocytes collected by laparoscopic follicular aspiration. *Theriogenology* 38:667-678.
- Armstrong DT, Irvine BJ and Earl CR. 1994. *In vitro* fertilization of follicular oocytes from juvenile lambs and their developmental competence *in vitro* and *in vivo*. *Biol. Reprod. Abst.* 50:189.
- Baldassarre H and Karatzas CN. 2004. Advanced assisted reproduction technologies (ART) in goat. *Anim. Reprod. Sci.* 82-83:255-26.
- Catt SL. 2002. Effects of cytoplasmic transfer from adult to prepubertal derived oocytes on the *in vitro* production of ovine blastocysts. *Reproduction Abst.* 28:59.
- Earl CR, Irvine B and Armstrong DT. 1994. Development of techniques for the production of viable embryos from six to seven week old lambs. In *Proceedings of the Australian Society of Animal Production Abst.* 20:428.
- Ikeda K and Takahashi Y. 2003. Comparison of maturational and developmental parameters of oocytes recovered from prepubertal and adult pigs. *Reprod. Fertil. Dev.* 15:215-221.
- Izquierdo D, Villamediana P, Lopez-Bejar M and Paramio MT. 2002. Effect of *in vitro* and *in vivo* culture on embryo development from prepubertal goat IVM-IVF oocytes. *Theriogenology* 57:1431-1441.
- Jimenez-Macedo AR, Paramio MT, Anguita B, Morato R, Romaguera R, Mogas T and Izquierdo D. 2007. Effect of ICSI and embryo biopsy on embryo development and apoptosis according to oocyte diameter in prepubertal goats. *Theriogenology* 67:1399-1408.
- Kelly JM, Kleeman DO and Walker SK. 2003. A comparison of the *in vitro* development of cow and calf oocytes. *Theriogenology Abst.* 59:449.
- Kelly JM, Kleeman DO and Walker SK. 2005. Enhanced effi-

- ciency in the production of offspring from 4- to 8-week-old lambs. *Theriogenology* 63:1876-1890.
- Kennedy JP, Worthington CA and Cole ER. 1974. The post-natal development of the ovary and uterus of the Merino lamb. *Reprod. Fertil.* 36:275-282.
- Khatir H, Lonergan P, Carolan C and Mermillod P. 1996. Prepubertal bovine oocyte: A negative model for studying oocyte developmental competence. *Mol. Reprod. Dev.* 45:231-239.
- Kochhar HPS, Wu B, Morris LHA, Buckrell BC, Pollard JW, Basurur PK and King WA. 2002. Maturation status, protein synthesis and developmental competence of oocytes derived from lambs and ewes. *Reprod. Dom. Anim.* 37:19-25.
- Koeman JK, Keefer CL, Baldassarre H, Lane M, Gardner DK and Downey BR. 2003. Developmental competence of prepubertal and adult goat oocytes cultured in semi-defined media following laparoscopic recovery. *Theriogenology* 60:879-889.
- Leoni GG, Ledda S, Bogliolo L, Succu S, Rosati I, Bebbere D, Pintus PP and Naitana S. 2004. Ovine prepubertal oocyte shows alterate gene expression and low developmental competence. *Reprod. Fertil. Dev. Abst.* 16:240.
- Leoni GG, Succu S, Satta V, Paolo M, Bogliolo L, Bebbere D, Spezzigu A, Madeddu M, Berlinguer F, Ledda S and Naitana S. 2009. *In vitro* production and cryotolerance of prepubertal and adult goat blastocyst obtained from oocytes collected by laparoscopic oocyte-pick-up (LOPU) after FSH treatment. *Reprod. Fertil. Dev.* 21:901-908.
- Marchal R, Feugang JM, Perreau C, Venturi E and Mermillod P. 2000. Developmental competence of prepubertal and adult swine oocytes: Birth of piglets from *in vitro* produced blastocyst. *Theriogenology Abst.* 53:361.
- Martino A, Mogas T, Palomo MJ and Paramio MT. 1994. Meiotic competence of prepubertal goat oocytes. *Theriogenology* 41:969-980.
- Mogas T, Palomo MJ, Izquierdo MD and Paramio MT. 1997. Developmental capacity of *in vitro* matured and fertilized oocytes from prepubertal and adult goats. *Theriogenology* 47:1189-1203.
- Morton KM, Catt SL, Maxwell WM and Evans G. 2005. An efficient method of ovarian stimulation and *in vitro* embryo production from prepubertal lambs. *Reprod. Fertil. Dev.* 17:701-706.
- Morton KM. 2008. Developmental capabilities of embryos produced *in vitro* from prepubertal lamb oocytes. *Reprod. Domest. Anim.* 43:137-143.
- O'Brien JK, Catt SL, Ireland KA, Maxwell WMC and Evans G. 1997. *In vitro* and *in vivo* developmental capacity of oocytes from prepubertal and adult sheep. *Theriogenology* 47:1433-1443.
- Palma GA, Tortorese DJ and Sinowatz F. 2001. Developmental capacity *in vitro* of prepubertal oocytes. *Anat. Histol. Embryol.* 30:295-300.
- Ptak G, Loi P, Dattena M, Tischner M and Cappai P. 1999. Offspring from one-month-old lambs: Studies on the developmental capability of prepubertal oocytes. *Biol. Reprod.* 61:1568-1574.
- Ptak G, Tischner M, Bernabo N and Loi P. 2003. Donor dependant developmental competence of oocytes from lambs subjected to repeated hormonal stimulation. *Biol. Reprod.* 69:278-285.
- Revel F, Mermillod P, Peynot N, Renard JP and Heyman Y. 1995. Low development capacity of *in vitro* matured and fertilized oocytes from calves compared with that of cows. *J. Reprod. Fertil.* 103:115-120.
- Romaguera R, Morato R, Jimenez-macedo AR, Izquierdo D, Catala M, Roura M, Paramio MT, Palomo MJ, Mogas T and Izquierdo D. 2010. Oocyte secreted factors improve embryo developmental competence of COCs from small follicles in prepubertal goats. *Theriogenology* 74:1050-1059.
- Velilla E, Izquierdo D, Rodriguez-Gonzalez E, Lopez-Bejar M, Vidal F and Paramio MT. 2004. Distribution of prepubertal and adult goat oocyte cortical granules during meiotic maturation and fertilisation: Ultrastructural and cytochemical study. *Mol. Reprod. Dev.* 68:507-514.
- Urdaneta A, Jimenez AR, Paramio MT and Izquierdo D. 2004. Cysteamine, glutathione and ionomycin treatments improve *in vitro* fertilization of prepubertal goat oocytes. *Zygote* 12:277-284.
- 박희성, 이지삼, 정장용. 2000. 한국 재래 산양의 난포란의 회수와 체외수정에 관한 연구. *한국수정란이식학회지* 15:287-293.
- 박희성, 정수영, 김태숙, 이명열, 진종인, 홍승표, 이지삼, 김충희. 2004. 재래 산양의 과배란치리에 있어서 회수시간이 난자의 회수율에 미치는 영향. *한국수정란이식학회지* 19:113-119.
- 박희성, 김태숙, 정수영, 박준규, 이지삼, 정장용. 2006. 공핵 세포 및 발정동기화가 복제 재래산양 생산에 미치는 영향. *한국수정란이식학회지* 21:137-146.
- 정수영, 박희성. 2007. 복제 산양(진순이)의 체세포 핵이식에 의한 Re-Cloning에 관한 연구. *한국수정란이식학회지* 22:89-95.