

한우에서 Direct Embryo Collection(DEC)을 이용한 체내 수정란의 회수율 분석

유한준¹, 박정준¹, 윤필상¹, 김기원¹, 박춘근^{2,*}
¹명품한우컨설팅, ²강원대학교 동물생명과학대학

Analysis of Embryo Recovery Rate by Direct Embryo Collection (DEC) in Korean Native Cattle (Hanwoo)

Han-Jun Yoo¹, Jong-Jun Park¹, Pil-Sang Yoon¹, Ki-Won Kim¹ and Choon-Keun Park^{2,*}

¹Developmental Biotechnology Laboratory, Myung-poomHanwooConsulting, Hoengseong 225-807, Korea

²College of Animal Life Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

ABSTRACT

This study was performed in order to determine optimum flushing solution using the direct embryo collection (DEC). Donors, at random stages of the estrous cycle, received a CIDR. 7 days later, 200 mg FSH was treated with 40, 30, 20, 10 mg FSH levels in declining doses twice daily by intramuscular injection for 4 days. On the 3rd day administration of FSH, 25 mg PGF₂α was administered and CIDR was withdrawn. After FSH injections were complete, donors were artificially inseminated twice at 12 hr intervals. The donor cattle received 250 μg GnRH at time of 1st insemination and embryos were recovered 8 days after the 1st insemination. Embryo collection from superovulated donors were performed to flushing by DEC and conventional method. As a results, the average number of recovered embryos were significantly higher as 19.1 ± 1.40 with DEC method than 12.0 ± 0.44 with conventional embryo collection method, respectively (*p*<0.05). Also, The average number of transferable embryos were significantly higher (*p*<0.05) as 15.8 ± 1.72 with DEC method than 6.9 ± 0.35 from conventional embryo recovery procedures. Meanwhile, number of recovered embryos and number of recovered transferable embryos following the number of flushing times until 6th flushing were significantly higher as 8.6 ± 0.53 and 8.6 ± 0.53 from 2nd flushing time than other groups (*p*<0.05). No. of Ear. B stage embryos were significantly higher as 3.9 ± 0.90 and 3.9 ± 0.90 with 2nd flushing time in total collected embryos and transferable embryos (*p*<0.05). Com. M stage embryos were significantly higher as 3.7 ± 1.00 in 2nd flushing time and as 2.2 ± 0.76 in 3rd flushing time for recovered embryos (*p*<0.05). In transferable embryos, Com. M stage embryos were significantly higher (*p*<0.05) as 3.7 ± 1.00 in 2nd flushing time and as 2.2 ± 0.76 in 3rd flushing time, also. No. of degradation embryos was significantly higher as 2.2 ± 0.72 in 5th flushing time, On the other hand, degradation embryos was not observed in transferable embryos (*p*<0.05). In conclusion, these results suggest that DEC method should effective methods for production of *in vivo* embryos using less flushing solution following perform until 4th flushing time than conventional embryo collecting method. Also, it might be effectively collection of transferable embryos following more less procedure times compared to conventional embryo recovery methods.

(Key words : direct embryo collection(DEC), embryo recovery, Hanwoo, superovulation)

서론

일반적으로 수정란은 생산 방법에 따라 체외 수정란과 체내 수정란으로 구분된다. 체외수정란은 체내수정란의 생산 비용보다 저렴하고 대량 생산이 가능하다는 장점을 가지고 있어 다양한 체외수정란의 생산 방법이 개발되어 보고되어 왔으며, 최근에는 혈통 및 능력이 확인된 공란우로부터 초음파 진단기를 이용한 생체 난자 채취(OPU: Ovum Pick Up) 기법

에 의해 미성숙 난포란을 반복적으로 채취하여, 채취된 난자로 부터 체외수정란을 생산하는 기술이 보고된 바 있다(Pieterse 등, 1988; Kruij 등, 1994; 박 등, 2000; Manik 등, 2003; 최 등, 2011). 그러나, OPU 기술을 통한 성공적인 수정란의 생산 체계의 확립은 OPU 시술 숙련도, OPU 보조, OPU 간격, 호르몬 처리, 그리고 동기화 등(Merton 등, 2003)에 의해 영향을 받으며, OPU를 통한 배아 생산의 효율 개선(Wagtendonk-de Leeuw 등, 2000; Merton 등, 2003; Lonergan 등, 2006), 체외-체내 성

* 본 연구는 농림수산식품부 농림기술개발사업(Grant No. 109007-03)의 지원에 의해 이루어진 것임.

* Correspondence : E-mail : parkck@kangwon.ac.kr

속에 따른 배반포 발달률(Hendriksen 등, 2000; Rizos 등, 2002), FSH 처리(Blondin 등, 1997) 및 공란우의 OPU 시술 가능 기간(진 등, 2010) 등의 OPU 시스템의 확립을 위한 연구들이 진행되고 있는 상황이다. 뿐만 아니라, 체내수정란보다 체외수정란의 연구가 활발하지만, 높은 유산율, 낮은 수태율 및 분만율을 비롯하여 과체중 또는 기형 송아지 생산 등의 단점이 보고된 바 있다(Schmidt 등, 1996; Wagtendonk-de Leeuw 등, 1998; Numabe 등 2000; Lazzari 등, 2002). 반면, 체내수정란은 체외수정란의 단점을 극복할 수 있는 양질의 수정란을 이용할 수 있으며, 우수한 유전자원을 보유한 개체를 직접적으로 사용할 수 있다는 장점으로 인해, 형질 개량 측면에서 체외수정란보다 활용성이 높다는 연구 결과가 있다(Greve 등, 1995; 임 등, 1998; 김 등, 2002; Ax 등, 2005; 박 등, 2005; 최 등, 2005). 따라서, 소에서 체내수정란을 이용한 수정란이식은 유전적인 능력 개량의 수단으로 폭 넓게 활용되어 왔으며(Christensen, 1991), 최근에는 능력이 우수한 공란우로부터 과배란 처리를 통해 수정란을 회수하고 능력이 낮은 집단에 이식하여, 우수한 능력을 보유하고 있는 송아지를 일시에 다량 생산함으로써 집단의 능력을 조기에 개량하는 다배란 수정란이식(MOET: multiple ovulation and embryo transfer) 방법이 이용되고 있다(Seidel, 1981; Lohuis, 1997; Smith, 1988; 손 등, 2000). 그러나 체내수정란의 생산을 위해서는 고비용과 많은 노력이 요구되며, 시술 공란우에게 나타나는 부작용 등의 단점으로 인해 수정란 이식 산업이 활성화되지 못하여 수정란 공급 부족 등의 문제점을 지적받고 있다. 이와 같은 체내수정란 생산을 위한 고비용 및 고도의 노동력, 시술에 따른 부작용 등의 원인은 체내수정란 생산 방법에서 찾아볼 수 있다. 체내수정란 생산을 위한 대표적인 수정란 채란 기술로 2-way 및 3-way catheter를 이용한 수정란 채란 방법이 개발되었지만, 이 방법은 필요 장비가 많고 시술 과정이 복잡하며, 특히 금속 재질로 이루어진 3-way catheter는 자궁 내벽을 손상시킬 위험을 지니고 있다. 2-way catheter는 그 재질을 latex 또는 silicon 으로 변경하여 보완하였지만, 수정란 회수를 위해 소모되는 다량의 관류액과 장시간 소모되는 시술 시간 및 자궁 내 관류에 의한 손상 등은 공란우에게 스트레스를 유발시키는 문제점으로 여전히 남아 있으며, 고비용의 수정란 생산 단가의 문제 또한 해결되지 못함으로써, 체내 수정란을 이용한 수정란 이식 산업은 현재까지 활성화되지 못하고 있다.

그러므로, 본 연구는 종래의 수정란 채란 방법들의 문제점을 극복하기 위하여 1-way 방식의 수정란 직접 채란(direct embryo collection: DEC) 방법을 개발하여 채란 과정을 간편화하고 채란 시간을 단축시켜 공란우의 채란 시 스트레스를 최소화시키며, 저비용으로 우수한 양질의 수정란을 효율적으로 확보하기 위해 수행되었으며, DEC 방법에 의한 수정란 채란 시, 자궁 내로 유입되는 관류액의 양에 따른 체내 수정란의 회수율을 분석하여 DEC 방법의 채란 효율성을 검증하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 공란우 선발

공란우 선발을 위한 분석 대상 형질은 냉도체중, 배최장근 단면적, 등지방두께 및 근내지방도이며, 유전모수 추정 및 육종가 추정은 ASReml(Gilmour 등, 2006)을 이용하여 추정하였고, 추정 육종가를 표준화 육종가로 환산하여 집단에서 상위 5 %인 한우 암소를 후보 공란우로 선발하였다. 후보 공란우 중 이모색 및 흑비경의 유무와 체구 및 후구의 외소 여부 등의 외모 및 체형 심사를 실시하였고, 4대 질병(구제역, 우결핵, 브루셀라, 요네) 및 직장 검사를 통해 질병 유무의 판단과 번식기능이 양호한 공란우 9두를 최종 선발하여 실험에 이용하였다.

2. 공란우의 과배란 처리

공란우의 과배란을 유도하기 위해 CIDR-plus(InterAg, Hamilton, New Zealand)를 질 내에 삽입한 후 7일째부터 FSH 제제인 Folltropin[®]-V(Vetrepharm, Canada)를 투여하였다(Fig. 1). 총 FSH 200 mg을 40 mg, 30 mg, 20 mg, 10 mg의 용량으로 1일 오전, 오후 각 2회씩 점감적으로 주사하여 4일간, 총 8회에 걸쳐 12시간 간격으로 근육 주사를 실시함으로써 공란우의 발정을 개시하였다. FSH 3회째 투여 후, 실험군에 PGF₂α 제제인 Lutalyse(Pharmacia & Upjohn, USA)를 25 mg 1회 투여하고 공란우로부터 CIDR-plus를 제거하였다. FSH 투여 개시 후 5일째에 GnRH 제제(Fertagyl; Intervet Inc., Millsboro, NJ, USA)를 250 μg 투여하고, 12시간 간격으로 인공수정을 2회 실시하였다. 인공수정 7일 후에 2% lidocaine hydrochloride(리도카인, 제일제약) 5 ml를 투여하여 경부의막의 국소 마취를 실시하고, balloon catheter를 자궁 내로 주입 및 장착하여 수정란

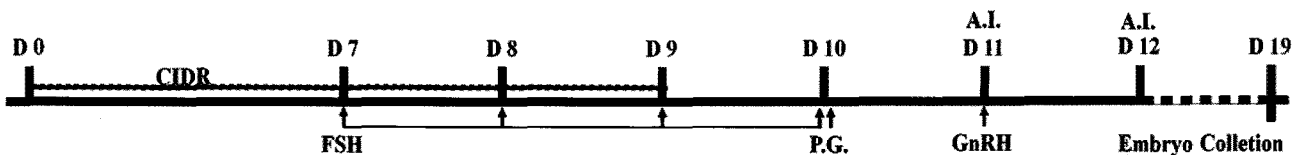


Fig. 1. Superovulation method with CIDR treated 200 mg of FSH level in Hanwoo.

채란을 실시하였다.

3. 수정란 채란

DEC(direct embryo collection) 방법을 사용한 수정란의 채란은 foley balloon catheter(Rusch, Kern, Germany)를 공란우의 자궁각에 장착시킨 후, catheter의 끝부분에 50 ml 주사기용 어댑터를 제작하여 연결하고 종래의 2-way 방식에 이용되는 Y-tubing(Agtech, Manhattan, KS, USA) 대신 50 ml 주사기를 사용하여 실시한다. 50 ml의 complete flush solution (Bioniche Animal Health, Canada)이 채워진 일회용 50 ml 주사기를 어댑터에 연결하여 주사기를 통해 직접적으로 자궁 내로 관류액을 주입하고, 다시 주사기로 흡입시키는 방법을 사용하여 관류액을 회수하였으며, 회수된 관류액은 EmCon-filter(Kruuse, Marslev, Denmark)를 통해 여과시켜 수정란을 수집하였다. 공란우 1두 수정란 채란 시, 왼쪽 및 오른쪽에 위치한 난소로부터 수정란을 회수하기 위해 관류액 50 ml가 채워진 12개의 50 ml 주사기를 사용하여 각 난소로부터 6회의 관류를 실시하고 자궁내 관류액을 회수하였으며, 각 주사기별로 회수된 관류액은 분류되어 EmCon-filter를 통해 여과되고 수정란을 수집하는데 이용하였다.

4. 수정란 평가

자궁 내를 관류하여 회수된 관류액은 EmCon-Filter(Kruuse, Marslev, Denmark)로 여과하여 실체 현미경(Olympus, Japan) 하에서 수정란을 수집하였다. 1~6회의 각 관류 횟수군별로 수정란을 분류하여 총 회수 및 이식 가능한 수정란 개수를 조사하고 각 수정란들의 발달 단계를 확인하였다. 이식 가능한 수정란은 국제수정란이식학회(IETS)의 수정란 평가 기준(Stringfellow와 Seidel, 1998)에 따라 1등급(excellent or good)과 2등급(fair)으로 분류된 수정란으로 조사되었다.

5. 통계 분석

관류 횟수별로 조사된 총 회수 수정란 및 이식 가능한 수정란 수와 각 회수군별 수정란들의 발달 단계에 대한 결과는 SAS 9.1(SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)을 이용하여 ANOVA

분석과 Duncan's multiple range test에 의하여 유의차($p < 0.05$)를 검정하였다.

결 과

Table 1은 DEC 방법을 이용한 수정란 채란 결과를 기존의 채란 방법과 비교한 결과표이다. 총 회수 수정란 및 이식 가능한 수정란에 대한 조사를 하였으며, 그 결과로 DEC에 의한 수정란 채란 방법에서 19.1±1.40개의 총 회수 수정란과 15.8±1.72개의 이식 가능한 수정란 수가 관찰되었다. 종래의 채란 방법에서 얻어진 12.0±0.44개의 총 회수 수정란과 6.9±0.35개의 이식 가능한 수정란 수와 비교하여 유의적으로 높은 결과라는 것을 보여준다($p < 0.05$). 또한 수정란 채란 효율을 분석한 결과, DEC 방법에 의한 수정란 채란이 82.6%로 종래의 방법인 57.4%보다 높다는 것을 알 수 있다.

Table 2와 Table 3은 DEC에 의한 수정란 채란 방법에서의 적정 관류액 양을 알기 위해 실시한 실험의 결과로서, 수정란 채란 시에 총 6회의 관류 횟수로 실험을 수행하였다. 총 회수된 수정란 개수의 경우 2회째에 회수된 관류액에서 8.6±0.53개로 유의적으로 높게 관찰되었고, 3회째 관류시에는 5.3±0.65개로 나타나 2회째를 제외한 다른 관류액 회수군보다 유의적으로 높게 수정란이 회수되었다($p < 0.05$). 반면, 6회째에 회수된 관류액에서는 0.0±0.00개로 수정란이 회수되지 않았다(Table 2). Table 3에 나타난 이식 가능한 수정란도 2회째 회수된 관류액에서 8.6±0.53개로 유의적으로 높은 회수율을 보여주었으며, 3회째에 회수된 관류액 또한 5.3±0.65개로 2회째를 제외한 다른 회수군보다 유의적으로 높게 관찰되었다($p < 0.05$). 반면, 5회 및 6회째에 회수된 관류액에서는 모두 0.0±0.00개로 이식 가능한 수정란이 관찰되지 않았다.

순서대로 회수된 관류액에서 관찰 가능한 수정란들의 발달 단계 또한 Table 2와 Table 3에 나타내었다. Table 2의 총 회수된 수정란들을 각각 관류된 회수군별로 나누어 수정란 발달 단계를 살펴보면, 확장배반포 단계의 수정란은 모든 관류액 회수군에서 유의적인 차이가 발견되지 않았으며, 초기상실배 단계의 수정란과 상실배 단계의 수정란은 모두 2회째 회수된

Table 1. Embryo collection methods using DEC(1-way) for No. of recovered embryos and transferable embryos

Methods	No. of donor (n)	No. of recovered embryos (n)	No. of transferable embryos (n)	Efficiency of method ¹⁾ (%)
Control ²⁾	9	12.0 ± 0.44 ^b	6.9 ± 0.35 ^b	57.4
DEC	9	19.1 ± 1.40 ^a	15.8 ± 1.72 ^a	82.6

¹⁾ % = (No. transferable embryos/No. recovered embryos) × 100.

²⁾ Control: conventional method of embryo collection.

Values with different superscripts differ significantly (Mean ± SEM, $p < 0.05$).

관류액에서 3.9±0.90 및 3.7±1.00개로 관찰되어 가장 유의적으로 높은 회수율이 관찰되었다($p<0.05$). 3회째에 회수된 관류액에서는 상실배 단계의 수정란과 초기상실배 단계의 수정란이 각각 2.2±0.76 및 1.8±0.68개로 유의적으로 높은 회수율을 보여주었다($p<0.05$). 반면, 5회째에 회수된 관류액에서는 퇴행란만이 2.2±0.72개로 유의적으로 높게 관찰되었다($p<0.05$). 각 관류 횟수에 따라 회수된 이식 가능한 수정란의 경우 초기배반포 단계의 수정란은 2회째 회수된 관류액에서 3.9±0.90개로 가장 유의적으로 높게 회수되었고, 상실배 단계의 수정란은 2회 및 3회째에 회수된 관류액에서 가장 유의적으로 높게 회수되

었다($p<0.05$). 초기상실배 단계의 수정란은 3회째에 회수된 관류액에서 유의적으로 높은 회수율을 보여주었다($p<0.05$). 반면, 퇴행 단계의 수정란은 모든 회수된 관류액에서 관찰할 수 없었다(Table 3).

고 찰

본 연구는 direct embryo collection(DEC)를 이용한 수정란 채란 방법에서 적정 관류액의 양을 확인하여 수정란 채란 시, 효율성을 검증하고 수정란의 회수 시기를 확인하고자 실시되

Table 2. The number of flushing times for No. of total recovered embryos and each embryo cell stages using DEC method

Flushing times	No. of recovered embryos	Embryo cell stages				
		Exp. B ¹⁾	Ear. B ²⁾	Com. M ³⁾	Ear. M ⁴⁾	Deg. ⁵⁾
1 st	1.2 ± 0.46 ^{cd}	0.3 ± 0.24 ^a	0.8 ± 0.32 ^b	0.1 ± 0.11 ^b	0.0 ± 0.00 ^b	0.0 ± 0.00 ^b
2 nd	8.6 ± 0.53 ^a	0.6 ± 0.44 ^a	3.9 ± 0.90 ^a	3.7 ± 1.00 ^a	0.4 ± 0.18 ^b	0.0 ± 0.00 ^b
3 rd	5.3 ± 0.65 ^b	0.0 ± 0.00 ^a	1.3 ± 0.90 ^b	2.2 ± 0.76 ^a	1.8 ± 0.68 ^a	0.0 ± 0.00 ^b
4 rd	1.8 ± 0.40 ^c	0.0 ± 0.00 ^a	0.0 ± 0.00 ^b	0.6 ± 0.38 ^b	0.6 ± 0.34 ^b	0.7 ± 0.37 ^b
5 rd	2.2 ± 0.72 ^c	0.0 ± 0.00 ^a	0.0 ± 0.00 ^b	0.0 ± 0.00 ^b	0.0 ± 0.00 ^b	2.2 ± 0.72 ^a
6 rd	0.0 ± 0.00 ^d	0.0 ± 0.00 ^a	0.0 ± 0.00 ^b	0.0 ± 0.00 ^b	0.0 ± 0.00 ^b	0.0 ± 0.00 ^b

¹⁾ Exp. B: Expanded blastocyst.

²⁾ Ear. B: Early blastocyst.

³⁾ Com. M: Compact morula.

⁴⁾ Ear. M: Early morula.

⁵⁾ Deg.: Degradation.

Values with different superscripts differ significantly within row (Mean ± SEM, $p<0.05$).

Table 3. The number of flushing times for No. of transferable embryos and each embryos cell stages using DEC method

Flushing times	No. of transferable embryos	Embryo cell stages				
		Exp. B ¹⁾	Ear. B ²⁾	Com. M ³⁾	Ear. M ⁴⁾	Deg. ⁵⁾
1 st	1.2 ± 0.46 ^{cd}	0.3 ± 0.24 ^a	0.8 ± 0.32 ^b	0.1 ± 0.11 ^b	0.0 ± 0.00 ^b	0.0 ± 0.00 ^a
2 nd	8.6 ± 0.53 ^a	0.6 ± 0.44 ^a	3.9 ± 0.90 ^a	3.7 ± 1.00 ^a	0.4 ± 0.18 ^b	0.0 ± 0.00 ^a
3 rd	5.3 ± 0.65 ^b	0.0 ± 0.00 ^a	1.3 ± 0.90 ^b	2.2 ± 0.76 ^a	1.8 ± 0.68 ^a	0.0 ± 0.00 ^a
4 rd	0.7 ± 0.37 ^{dd}	0.0 ± 0.00 ^a	0.0 ± 0.00 ^b	0.2 ± 0.22 ^b	0.4 ± 0.34 ^b	0.0 ± 0.00 ^a
5 rd	0.0 ± 0.00 ^d	0.0 ± 0.00 ^a	0.0 ± 0.00 ^b	0.0 ± 0.00 ^b	0.0 ± 0.00 ^b	0.0 ± 0.00 ^a
6 rd	0.0 ± 0.00 ^d	0.0 ± 0.00 ^a	0.0 ± 0.00 ^b	0.0 ± 0.00 ^b	0.0 ± 0.00 ^b	0.0 ± 0.00 ^a

¹⁾ Exp. B: Expanded blastocyst.

²⁾ Ear. B: Early blastocyst.

³⁾ Com. M: Compact morula.

⁴⁾ Ear. M: Early morula.

⁵⁾ Deg.: Degradation.

Values with different superscripts differ significantly within row (Mean ± SEM, $p<0.05$).

시되었다. 공란우 1두로부터 수정란 채란 시, 총 6회로 나누어 관류를 실시하였고, 1회 관류시에는 총 50 ml의 관류액을 사용하였다. 공란우 1두 채란 시에 소모된 총 관류액의 양은 600 ml이었으나, Table 2의 결과로 미루어 보아 수정란의 대부분은 2회 및 3회째에 회수되었음을 알 수 있었다. 특히, 6회째에 이루어진 관류에서는 9번의 반복 실험 동안 회수된 수정란이 관찰되지 않았다. 5회째에 이루어진 관류에서는 9번의 반복 실험 중 6번의 실험에서 총 회수된 수정란 개수가 2.20 ± 0.72 개로 관찰되었지만, 이식 가능한 수정란은 관찰되지 않았다. 가장 많은 수정란이 회수된 2회째 및 3회째를 제외한 1회 및 4회째에 관류하여 회수된 수정란은 총 회수된 수정란의 경우 1.2 ± 0.46 및 1.8 ± 0.40 개로 관찰되었고, 이식 가능한 수정란의 경우에는 1.2 ± 0.46 및 0.7 ± 0.37 개로 관찰되었다. 이러한 결과들로부터 이식 가능한 수정란의 경우는 1~4회째 관류시에 모두 회수가 가능하며, 3~6회째에 회수되는 수정란에는 이식 불가능한 수정란이 포함되고, 특히 5회째에 회수되는 수정란들은 모두 퇴화가 진행 중이거나 미수정란의 경우라고 판단되어진다. 즉, 공란우 1두 채란에 400 ml의 관류액을 사용하여 이식 가능한 수정란을 모두 회수할 수 있었다. 일반적인 3-way 및 2-way를 사용한 채란 방법은 balloon catheter를 장착시킨 후, DEC 방법과는 달리 Y-tubing을 catheter에 연결하고 Y-tubing의 관류액 유입 및 유출관을 각 관류액과 여과를 위한 EmCon-filter에 연결하여 자궁 내 순환 관류법에 의한 반복적인 채란 작업으로 수정란을 회수하게 된다(Donaldson, 1983; Rowe 등, 1980). 이러한 과정에서 관류액이 평균 1~2 L를 소모하는 것과 비교하였을 때, DEC 방법의 적은 관류액 소모량은 대단히 큰 이점이라고 할 수 있다. 또한 적은 양의 관류액 소모는 채란 시술에 필요한 작업 시간을 단축시킬 수 있음을 고려한다면 더욱 그 효과가 증가될 것이라고 생각된다.

한편, 1회, 2회 및 3회째에 회수되는 대부분의 수정란 발달 단계는 배반포에서 상실배 단계로 나타나는 경향이 관찰되었고, 이후의 수정란 회수에서는 초기상실배 단계 또는 이하의 수정란 단계가 관찰되는 경향이 나타났다. 즉, 상실배 이하의 수정란 또는 퇴화되거나 미수정된 수정란들은 4회째 이후의 관류액에서만 관찰되었다. 1회째에 회수된 관류액이 처음으로 자궁 및 난관 내로 유입되므로 세척 및 유회의 역할로 작용하고 첫번째의 관류를 통해 자궁 및 난관 내에서 이동 중이거나 내막에 부착된 수정란들을 부유시킴으로써 이후의 2회 및 3회째의 자궁 내 관류에서 수정란의 회수가 증가된다고 생각된다. 또한, 2회 및 3회째의 자궁 내 관류 이후 회수되는 수정란의 개수는 감소된 결과가 관찰되었고, 대부분의 초기상실배 단계 및 퇴화가 진행 중인 수정란의 경우는 4회째 관류 이후에 관찰되므로 발달이 느리거나 퇴화가 진행 중인 수정란들은 채란 전 자궁 또는 난관 내에서 더 깊숙한 위치에 머물러 있거나 내막에 더 깊게 파묻혀 있다고 판단된다.

결론적으로, 본 연구의 1-way 방식을 채택한 DEC를 이용한 수정란 채란 방법은 기존의 수정란 채란 방법보다 적은 양의 관류액으로도 보다 효과적으로 수정란을 채란할 수 있는 기술이다. 즉, 400 ml의 관류액으로도 이식 가능한 수정란을 충분히 회수할 수 있으며, 적은 양의 관류액으로 효과적인 채란이 가능함에 따라 채란 시간도 기존의 2-way 또는 3-way 방식에 비해 효과적으로 단축시킬 수 있다. 뿐만 아니라, 수정란 채란을 위한 경비 또한 절감시킬 수 있다는 장점을 가지고 있다. 이러한 점은 수정란 생산에 필요한 고비용, 고도의 노동력 등의 문제점을 극복할 수 있도록 해줄 것으로 기대된다. 또한 DEC에 의한 수정란 채란 과정은 지속적으로 공란우의 자궁 선단부를 자극할 필요가 없어 채란 시 스트레스를 감소시킬 뿐만 아니라, 채란 시설이 필요 없는 간편한 방법이기 때문에 현장에서와의 활용가치는 더욱 높다고 생각된다.

감사의 글

강원대학교 동물자원공동연구소의 기술적 지원에 감사를 표합니다.

참고문헌

- Ax RL, Armbrust S, Tappan R, Gilbert G, Oyarzo JN, Bellin ME, Selner D and McCauley TC 2005. Superovulation and embryo recovery from peripubertal Holstein heifer. *Anim. Reprod. Sci.* 85:71-80.
- Blondin P, Guibault LA and Sirard MA. 1997. The time interval between FSH-P administration and slaughter can influence the developmental competence of beef heifer oocytes. *Theriogenology* 48:803-813.
- Christensen LG. 1991. Use of embryo transfer in future cattle breeding schemes. *Theriogenology* 35:141-149.
- Donaldson L. 1983. The effect of prostaglandin F₂ alpha treatments in superovulated cattle on estrus response and embryo production. *Theriogenology* 20:279-285.
- Gilmour AR, Gogel BJ, Cullis BR and Thompson R. 2006. ASReml User Guide Release 2.0 VSN. International Ltd, Hemel Hempstead, HP1 1ES, UK.
- Greve T, Callesen H, Hyttel H, Høier R and Assey R. 1995. The effects of exogenous gonadotropins on oocyte and embryo quality in cattle. *Theriogenology* 43:41-50.
- Hendriksen PJ, Vos PL, Steenweg WN, Bevers MM and Dieleman SJ. 2000. Bovine follicular development and its effect on the *in vitro* competence of oocytes. *Theriogenology* 53: 11-20.

- Kruij TA, Boni R, Wurth YA, Roelofsen MW and Pieterse MC. 1994. Potential use of ovum pick-up for embryo production and breeding in cattle. *Theriogenology* 42:675-684.
- Lazzari G, Wrenzycki C, Herrmann D, Duchi R, Kruiop T, Niemann H and Galli C. 2002. Cellular and molecular deviations in bovine *in vitro* produced embryos are related to the large offspring syndrome. *Biol. Reprod.* 67:767-775.
- Lohuis MM. 1997. Strategy for dairy cattle improvement utilizing MOET in Canada. *Anim. Genetic and Breeding* 1: 224-226.
- Loneragan P, Fair T, Corcoran D and Evans AC. 2006. Effect of culture environment on gene expression and developmental characteristics in IVF-derived embryos. *Theriogenology* 65: 137-152.
- Manik RS, Singla SK and Palta P. 2003. Collection of oocytes through transvaginal ultrasound-guided aspiration of follicles in an Indian breed of cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 76: 155-161.
- Merton JS, de Roos AP, Mullaart E, de Ruigh L, Kaal L, Vos PL and Dieleman SJ. 2003. Factors affecting oocyte quality and quantity in commercial application of embryo technologies in the cattle breeding industry. *Theriogenology* 59: 651-674.
- Numabe T, Oikawa T, Kikiuchi T and Horiuchi T. 2000. Production efficiency of Japanese Black calves by transfer of produced *in vitro*. *Theriogenology* 54:1409-1420.
- Pieterse MC, Kappen KA, Kruij TA and Taverne MA. 1988. Aspiration of bovine oocytes during transvaginal ultrasound scanning of the ovaries. *Theriogenology* 30:751-762.
- Rizos D, Ward F, Duffy P, Boland MP and Loneragan P. 2002. Consequences of bovine oocyte maturation fertilization or early embryo development *in vitro* versus *in vivo*: Implications for blastocyst yield and blastocyst quality. *Mol. Reprod. Dev.* 61:234-248.
- Rowe RF, Del Campo MR, Critser JK and Ginther OJ. 1980. Embryo transfer in cattle : Nonsurgical transfer. *Am. J. Vet. Res.* 41:1024-1028.
- Schmidt M, Greve T, Avery B, Beckers JF, Sulon J and Hansen HB. 1996. Pregnancies, calves and calf viability after transfer of *in vitro* produced bovine embryos. *Theriogenology* 46:527-539.
- Seidel GE. 1981. Superovulation and embryos transfer in cattle. *Science* 211:351-358.
- Smith C. 1988. Application of embryo transfer in animal breeding. *Theriogenology* 29:203-212.
- Stringfello DA and Seidel SM. 1998. Manual of the International Embryo Transfer Society. 3rd ed., International Embryo Transfer Society Inc., Illinois, pp. 165-170.
- van Wagtenonck-de Leeuw AM, Aerts BJ and den Dass JH. 1998. Abnormal offspring following *in vitro* production of bovine preimplantation embryos: A field study. *Theriogenology* 49:883-894.
- van Wagtenonck-de Leeuw AM, Mullaart E, de Roos AP, Merton JS, Den Daas JH, Kemp B and de Ruigh L. 2000. Effects of different reproduction techniques: AI, MOET or IVP, on health and welfare of bovine offspring. *Theriogenology* 53:575-597.
- 김덕임, 서상원, 정재경, 이규승, 서길용, 박창식, 정영채, 박병권. 2002. 한우에 있어서 체내 수정란의 생산과 이식에 관한 연구: 한우 수정란 이식이 수태율에 미치는 요인. *한국수정란이식학회지* 17:33-44.
- 박성재, 양보석, 임기순, 성환후, 장원경, 정일정, 박충생. 2000. 한우에 있어서 초음파기기를 이용한 생체내 난자 채취시 채란조건 및 수태율에 관한 연구. *한국수정란이식학회지* 24: 199-208.
- 박용수, 김소섭, 박흥대, 박현정, 김재명. 2005. 한우 체외 수정란이 이식된 수란우의 임신과 유산에 영향을 미치는 수정란축 요인. *한국수정란이식학회지* 20:89-95.
- 손동수, 김일화, 류일선, 연성흙, 서국현, 이동원, 최선호, 박수봉, 이충섭, 최유립, 안병석, 김준식. 2000. 젖소 MOET Scheme의 추진을 위한 수정란 생산과 이식. *한국수정란이식학회지* 15:57-65.
- 임석기, 우체석, 전기준, 장선식, 강수원, 윤상기, 손동수. 1998. 한우에 있어서 PEG에 용해시킨 Folltropin-V의 1회 피하주사에 의한 다배란 유지. *한국수정란이식학회지* 13:207-212.
- 진종인, 권태현, 최병현, 김성수, 조현태, 공일근. 2010. OPU(Ovum Pick-Up) 채란기간이 난자 및 수정란 생산에 미치는 영향. *한국수정란이식학회지* 25:15-20.
- 최병현, 진종인, 권태현, 김성수, 조현태, 공일근. 2011. 한우와 젖소 대리모가 OPU 유래 한우 송아지의 체중과 임신 기간에 미치는 영향. *한국수정란이식학회지* 26:27-32.
- 최선호, 류일선, 손동수, 조상래, 한만희, 김현중, 최창용, 김영근. 2005. 한우의 반복 과배란 및 산차가 수정란 생산에 미치는 영향. *한국수정란이식학회지* 20:185-190.