

## 성 감별 정자를 이용한 최소 체내수정란 생산에 관한 연구

전향아<sup>1,2</sup> · 문승주<sup>2</sup> · 이지웅<sup>2</sup> · 강만중<sup>2</sup> · 손시환<sup>3</sup> · 김남태<sup>1</sup> · 고응규<sup>1</sup> · 김성우<sup>1</sup> · 김동교<sup>1</sup> · 성환후<sup>1</sup> · 조영무<sup>1</sup> · 최창용<sup>1†</sup>

<sup>1</sup>농촌진흥청 국립축산과학원 가축유전자원센터, <sup>2</sup>전남대학교 농업생명과학대학 동물자원학부,  
<sup>3</sup>경남과학기술대학교 동물생명과학과

## The Studies on *In Vivo* Embryo Production using Sex-Sorted Sperm in Korean Brindle Cattle

Hyang-A Jeon<sup>1,2</sup>, Seung-Ju Moon<sup>2</sup>, Ji-Woong Lee<sup>2</sup>, Man-Jong Kang<sup>2</sup>, Sea-Hwan Sohn<sup>3</sup>, Nam-Tae Kim<sup>1</sup>,  
Yeoung-Gyu Ko<sup>1</sup>, Sung-Woo Kim<sup>1</sup>, Dong-Kyo Kim<sup>1</sup>, Hwan-Hoo Seong<sup>1</sup>,  
Young Moo Cho<sup>1</sup> and Changyong Choe<sup>1†</sup>

<sup>1</sup>Animal Genetic Resources Research Center, National Institute of Animal Science, RDA, Namwon 55717, Korea

<sup>2</sup>Dept. of Animal Science, College of Agriculture and Life Sciences, Chonnam National University,  
Gwangju 61186, Korea

<sup>3</sup>Dept. of Animal Science & Biotechnology, College of Agriculture and Life Sciences,  
Gyeongsang National University of Science and Technology, Jinju 52725, Korea

### ABSTRACT

The objective of this study was to investigate the result of *in vivo* embryo collection and pregnancy rate after embryo transfer using sex-sorted sperm of Korean brindle cattle. Donor Korean brindle cattle superovulation treated by decreasing dose of FSH injection. Embryos were recovered on 7 days after the third artificial insemination. Control group semen straw used artificial insemination contained 20 million sperm. Sex-sorted semen straws contained 4 million sperm or 10 million sperm. As for the result of the recovery of the *in vivo* embryos derived from sex-sorted sperm, the number of transferable embryos was significantly highly recovered to be  $6.20 \pm 2.28$ /donor from the control group and was significantly lowly recovered to be  $1.57 \pm 1.72$ /donor from the group treated at a sperm concentration of  $10 \times 10^6$  ( $p < 0.05$ ). The number of unfertilized embryo was  $0.8 \pm 1.30$ /donor in control group which was significantly lower than the group treated at a sperm concentration of  $4 \times 10^6$  ( $p < 0.05$ ). However, there was no significant difference in the number of undeveloped ova between control and treatment groups. Pregnancy rate after embryo transfer was shown to be 35.00% in control group and 12.50% in treatment group. The karyotype analysis of the calf derived from sex-sorted sperm resulted in a similar chromosomal distribution pattern ( $2n=60, XX$ ) compared to those of common Korean native cattle.

(Key words: sex-sorted sperm, superovulation, *in vivo* embryo, Korean brindle cattle)

### 서 론

최근 축산 분야에서 농업생물 다양성에 대한 관심이 높아지고 있다. 앞으로의 축산 발전을 위해서는 품종의 유전자원으로써의 가치를 증진시키고, 멸종위기에 처한 품종을 보존, 증식시키는 많은 연구가 필요하다. 국내의 가축 품종 중 유엔식량농업기구(FAO: Food and Agriculture of United Nations)에 등재되어 있는 멸종위기의 희소한우(흰소, 흑우, 제주흑우, 백

우)는 개체 수가 적어 증식에 어려움을 겪고 있다(축산기술연구소, 2003). 이러한 희소 가축의 품종과 품종 내 개체간의 유전적 다양성을 보존하는 것은 구제역 및 고병원성 조류인플루엔자와 같은 악성질병의 발생이나 기후변화와 같은 예측할 수 없는 미래 축산의 변화에 대비하는데 그 목적이 있다(농촌진흥청, 2014). 소의 경우, 인공수정(AI: Artificial Insemination) 기술의 확립으로 적은 수의 수소만으로도 집단의 증식이 가능하지만, 암소는 더 많은 개체의 확보가 필요한 상황이다. 최

본 연구는 2015년도 농촌진흥청(국립축산과학원) 학연협동 석박사학위 과정 운영사업으로, 농촌진흥청 연구사업(세부과제명 : 소의 성조절 기술개발을 통한 희소한우 조기증식, 세부과제번호 : PJ01096701)의 지원에 의해 이루어진 것임.

† Correspondence : cychi@korea.kr

근 번식 기술의 발달로 가축 후대의 성을 조절하기에 이르렀고, 정자의 성 감별이 그 중 하나이다. 정자의 성 감별은 Johnson (1989)의 연구에서 정자 막의 투과가 가능한 Hoechst 33342 염색을 이용해 성공한 이후로 정자의 생존성을 높이고, 수정능력을 유지할 수 있도록 개선되어왔다.

Flowcytometry(유세포분석기)를 이용한 정자의 성 분리기법은 1991년에 USDA(미국 농무부; United States Department of Agriculture)에 의해 미국 특허로 출원, 등록되었으며, 현재 기술의 발달로 초 당 30,000마리의 정자를 성 감별하기에 이르렀다(Seidel, 2014). 국내에서는 Flowcytometry를 이용한 한우 정자의 성 감별(유, 2011)과 성 감별 시 희석체에 첨가되는 첨가제에 관한 연구(이 등, 2011), 성 감별 정자를 이용한 ICSI (Intracytoplasmic Sperm Injection)(조, 2013) 등 정자의 성 감별 기술에 대한 연구는 진행 중이나, 실제 가축의 증식 특히 희소한우에 적용한 연구사례는 아직 부족한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 국립축산과학원 가축유전자원센터 내에 사육 중인 희소한우 품종 중 최소의 보다 효율적인 증식을 위하여 최소공란우 개체를 선발하고, 성 감별 처리된 최소 정자를 과배란처리된 암컷에 인공수정 한 뒤 다수의 수정란을 회수하여 한우 수란우에 이식함으로써 최소 암컷의 반복적인 활용과 회수되는 이식가능 수정란의 수, 수정란의 발달 단계, 수정란 이식 후 수태율에 대해 조사하고, 염색체 핵형분석을 실시하여 생산된 산자의 염색체 이상 여부에 대해 분석하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 공시축

본 연구는 국립축산과학원 가축유전자원센터에서 보유하고 있는 최소와 한우 개체 중 번식 장애가 없고, 외모 특성이 우수한 개체를 선발 후 실험에 공시하였다. 과배란처리 과정 중 인공수정을 위해 대조구는 성 감별 과정을 거치지 않은 최소 동결정액을 이용하였고, 처리구는 성 감별 과정을 거친 최소 동결정액을 이용하였다. 공시된 한우의 사양관리는 가축유전자원센터 사양표준에 따라 실시하였다. 연구에 사용된 동물관리 및 절차는 국립축산과학원 동물복지위원회(Suwon, Korea)의 승인(승인번호: 2014-078)을 얻었다.

### 2. 정자의 성 감별

정자의 성 감별은 가축유전자원센터에 보유 중인 최소 1두의 원정액을 채취하여 제조하였다. 성 분리는 MoFlo XDP Cell Sorter(Beckman Coulter, California, United states) 장비를 이용하였고, 실험에 공시된 정액의 총 정자 수는 스트로우당 400만 마리와 1,000만 마리 농도로 XX성별의 동결정액을 이용하였다. 성 분리 방법은 Tubman 등(2004)의 방법에 준하여 분리

하였다.

### 3. 공란우의 과배란처리 및 인공수정

시험축은 공란우의 발정주기와 관계없이 0일째 Progesterone Releasing Intravaginal Device(CIDR-plus, Inter-Ag, New Zealand)를 질내 삽입하고, 4일째부터 FSH(Antorin, KYORITSU SEIYAKU CO., Kawasaki Mitaka, Japan) 28 AU(1 AU=0.5 ml)를 12시간 간격으로 4일간 점감 주사하였으며, CIDR 삽입 후 7일째 PGF<sub>2α</sub>(Lutalyse™, Phamacia Co., Belgium)를 오전 25 mg, 오후 15 mg을 12시간 간격으로 근육주사 후 CIDR를 제거하였다. 인공수정은 PGF<sub>2α</sub> 주사 후 48시간 전후 발정을 확인하고, 100 µg GnRH(Fertagyl™, Intervet, Holland)를 근육주사 후 12시간 간격으로 동결정액을 이용하여 인공수정을 3회 실시하였다. 실험에 공시된 정액의 총 정자 수는 대조구인 일반 최소 정액이 스트로우당 2,000만 마리, 처리구인 성 감별된 최소 정액은 400만 마리와 1,000만 마리로 3회 인공수정을 실시하였다.

### 4. 수정란 회수 및 평가

마지막 인공수정 후 7일째에 3-way catheter(IMV Technologies, France)를 이용하여 비외과적인 방법으로 수정란을 회수하였다. 채란 전 공란우는 2% Lidocaine HCl(DAIHAN Pharm. Co., Ltd., Korea) 5.0 ml로 경막의 마취를 한 후, 수정란의 채란을 원활하게 하기 위해 점액제거기를 이용하여 자궁경관 내 점액을 제거하였다. 회수를 위한 관류액은 Embryo Collection Medium(Agtech, Manhattan, USA)를 이용하였고, 수정란 회수가 완료되면 PGF<sub>2α</sub>를 주사하여 자궁 내에 잔류하고 있는 수정란이 수태되지 않도록 황체를 퇴화시켰다. 채란이 완료된 수정란을 실체현미경을 이용하여 회수한 후, 수정란의 평가는 Manual of the International Embryo Transfer Society(Stringfellow와 Seidel, 1998)의 기준에 따라 Code 1(excellent or good)과 Code 2(fair)로 평가된 수정란은 이식가능 수정란, Code 3(poor)과 Code 4(dead or degenerated)로 평가된 수정란은 이식 불가능 수정란으로 구분하였다.

### 5. 수정란 이식 및 임신진단

수정란의 이식은 공란우로부터 회수한 수정란을 발정 후 7일의 수란우 자궁 내에 이식하는 비 외과적인 이식방법(직장 절법에 의한 자궁경관 경유법)으로 실시하였다. 임신 여부는 수정란 이식 후 약 2~3개월 사이에 직장검사에 의한 임신감정을 실시함으로써 판단하였다.

### 6. 전 혈액 배양으로부터 염색체 핵형 분석

국립축산과학원 가축유전자원센터에서 보유하고 있는 개체

중 성 감별 정자 유래 최소 송아지와 동일 연령(8개월)의 일반 한우 암컷을 대조군으로 분석을 실시하였다. 각 개체의 경정맥으로부터 일회용 주사기를 이용하여 약 5 ml의 혈액을 채취한 뒤 헤파린이 함유된 진공채혈관에 보관하였다. 혈액 배양은 90% RPMI 1640, 10% Fetal Bovine Serum(JRH Biosciences, West Lenexa, USA), 1% Penicillin & Streptomycin(Gibco, Invitrogen Corp. Grand Island, N.Y, USA)과 2% Lectin(Sigma, StLouis, MO, USA)이 배합된 완전 배양액에 1 ml의 전 혈액을 첨가하고, 37°C, 5% CO<sub>2</sub>의 배양기 조건에서 72시간 동안 배양하였다. 배양을 종료하기 1시간 전에 배양액 10 ml 당 0.1 ml의 colcemid(10 µg/ml) (Gibco, Invitrogen Corp. Grand Island, N.Y, USA)를 첨가하여 중기 상을 유도하였다. 배양이 종료된 세포들은 0.06M KCl을 이용하여 실온에서 15분간 저장 처리하였다. 저장 처리가 끝난 세포들은 고정액(3 methanol : 1 acetic acid)을 10방울 첨가하여 원심분리 후, 고정처리를 실시하였다. 고정처리는 상기 고정액을 이용하였으며, 3회 반복 처리한 후 냉장 보관된 슬라이드의 가장자리에 3~4방울을 떨어뜨려 염색체 표본을 제작하였다. 1번 염색체부터 성 염색체(XX)까지를 배열, 대조하여 성 감별 정자 유래 송아지의 핵형 분석을 실시하였다.

7. 통계처리

정자 성 감별에 따른 회수된 이식가능 수정란의 개수와 발달단계의 유의성 분석은 SAS program을 이용하였다.

결과 및 고찰

1. 수정란 회수

Table 1은 최소 정자가 성 감별 과정을 거치지 않은 경우와

성 감별 과정을 거친 경우, 체내수정란의 회수성적과 이식가능 수정란의 비율에 대해 조사한 것이다. 공란우의 과배란처리 후 성 감별 처리를 하지 않은 최소 동결정액을 인공수정한 대조구의 경우, 두 당 회수된 이식가능 수정란의 개수는 6.20±2.28개로 전체 회수란의 67.39%이었다. 처리구의 경우, 스트로우 당 4×10<sup>6</sup> 농도의 처리구에서 이식가능 수정란은 4.33±5.39개, 10×10<sup>6</sup> 농도의 처리구가 1.57±1.72개로 이식가능 수정란의 비율은 각각 26.53%와 24.44%이었다. 두 당 이식가능 수정란의 개수는 대조구가 유의적으로 가장 높은 값을 나타냈으며, 10×10<sup>6</sup> 농도의 처리구가 유의적으로 가장 낮은 값을 나타내었다. 위의 결과는 본 연구와 동일한 농도(스트로우 당 4×10<sup>6</sup> 마리)의 성 감별 정액을 이용한 Kaimio 등(2013)의 결과인 4.9개와 An 등(2010)의 4.8개와도 비슷하였다. Hayakawa 등(2009)의 연구에서 5×10<sup>6</sup> 농도와 10×10<sup>6</sup> 농도의 성 감별 정액 스트로우로 체내수정란 생산을 실시하였으나, 두 당 5.1개와 5.0개의 이식가능 수정란을 회수하여 두 처리구 간의 유의차가 나타나지 않아 10×10<sup>6</sup> 농도 처리구에서는 본 연구와 상이한 결과를 나타내었다. 미수정란의 경우, 대조구가 0.8±1.30 개로 전체 회수란 중 8.70%에 불과한데 비해 처리구의 경우 4×10<sup>6</sup> 농도의 처리구가 8.50±6.95개, 10×10<sup>6</sup> 농도의 처리구가 3.71±2.50개로 4×10<sup>6</sup> 농도 처리구에서는 대조구에 비해 유의적으로 높은 미수정란율을 나타내었다. 발달중지란의 경우, 처리구 간의 유의차가 없었다. Kaimio 등(2013)의 연구에서는 4×10<sup>6</sup> 농도의 결과, 미수정란이 33%, 발달중지란이 22%, Hayakawa 등(2009)의 연구에서는 5×10<sup>6</sup> 농도에서 미수정란이 29.7%, 발달중지란이 26.2%로 발달중지란의 경우 본 연구와 유사한 결과를 보였으나, 미수정란의 경우 본 연구에서 높은 수치를 나타내었다. 반면에 10×10<sup>6</sup> 농도의 경우, 미수정란이 14.4%, 발달중지란이 44.6%로 본 연구의 결과인 미수정란 57.78%, 발달중지란 17.78%

Table 1. Embryo production by sex-sorted sperm insemination

Treat contraction of sperm	No. of donor	No. of			
		Recovered embryo (Mean±S.D.) (%)	Transferable embryos (Mean±S.D.) (%)	Uf <sup>1</sup> (Mean±S.D.) (%)	Deg <sup>2</sup> (Mean±S.D.) (%)
Control 2×10 <sup>7</sup>	5	46 (9.20±1.92 <sup>b</sup> ) (0.0)	31 (6.20±2.28 <sup>a</sup> ) (67.39)	4 (0.8±1.30 <sup>b</sup> ) (8.70)	11 (2.20±1.10) (23.91)
Sexing	4×10 <sup>6</sup>	98 (16.33±6.28 <sup>a</sup> ) (0.0)	26 (4.33±5.39 <sup>ab</sup> ) (26.53)	51 (8.50±6.95 <sup>a</sup> ) (52.04)	21 (3.50±3.73) (21.43)
	10×10 <sup>6</sup>	45 (6.43±1.90 <sup>b</sup> ) (0.0)	11 (1.57±1.72 <sup>b</sup> ) (24.44)	26 (3.71±2.50 <sup>ab</sup> ) (57.78)	8 (1.14±1.46) (17.78)

<sup>a,b</sup> Values with different superscripts differ significantly (Mean±S.D., *p*<0.05).

<sup>1</sup> Uf: Unfertilized embryo.

<sup>2</sup> Deg: Degenerated embryo.

와는 상반된 결과를 나타내었다.

## 2. 발달단계별 수정란 회수

Table 2는 회수된 수정란 중 이식가능 수정란의 발달단계에 대한 결과로 성 감별 처리구의 낮은 체란성적의 원인을 검토하고자 조사를 실시하였다. 대조구의 경우, 상실배 단계의 수정란이 전체 회수란의 17.39%, 초기배반포배 단계가 30.43%, 확장배반포배 단계가 19.57%로 초기배반포배 단계의 수정란이 가장 높은 비율을 차지하였다. 처리구의 경우, 스트로우 당  $4 \times 10^6$  농도의 처리구에서 상실배 단계가 15.30%, 초기배반포배 단계가 5.10%, 확장배반포배 단계가 6.12%로 상실배단계의 수정란이 가장 많았으며, 스트로우 당  $10 \times 10^6$  농도의 처리구에서는 상실배 단계의 수정란만이 이식가능수정란으로 회수되었다. 스트로우 당  $4 \times 10^6$  농도의 성 감별 정자로 생산된 체내 수정란의 발달단계에 대해 조사한 전 등(2014)의 연구에서는 전체 회수된 수정란 중 확장배반포배가 21.92%로 가장 많은 비율을 차지하였으며, 배반포배가 17.56%, 초기 배반포배가 11.79%, 상실배가 13.33%인데 반해, 성 감별 정자 처리구의 경우 상실배 단계의 수정란이 16.98%로 가장 많았으며, 그 다음이 초기 배반포배로 5.66%였고, 배반포배가 4.72%, 확장배반포배는 0.94%에 불과했다. 성 감별 정자를 체내수정란 생산에 이용한 경우, 일반 동결정액을 이용한 경우에 비해 상실배 단계의 수정란이 배반포배나 확장배반포배 단계의 수정란보다 높은 비율로 관찰되는 것으로 보아, 정자의 성 감별 과정에서 받는 손상으로 인해 수정의 시기가 달라지는 것으로 사료된다. 본 실험에서는 인공수정 후 8일째 되는 날에 수정란 회수를 실시하였지만, 추가적인 연구를 실시하여 최적의 수정란 회수 시기를 확립하여야 할 것으로 사료된다.

Table 2. Rates of embryo development by sex-sorted sperm insemination

Treat	contraction of sperm	Total recovered embryo	Total transferable embryo	Transferable embryo (Mean±S.D.) (%)			
				Mo <sup>1</sup>	Ear BL <sup>2</sup>	Exp BL <sup>3</sup>	Hat BL <sup>4</sup>
Control	$2 \times 10^7$	46	31	8 (1.60±1.52) (17.39)	14 (2.80±1.79 <sup>a</sup> ) (30.43)	9 (1.80±1.48 <sup>a</sup> ) (19.57)	-
	$4 \times 10^6$	98	26	15 (2.50±3.89) (15.31)	5 (0.83±0.98 <sup>b</sup> ) (5.10)	6 (1.00±1.10 <sup>ab</sup> ) (6.12)	-
Sexing	$10 \times 10^6$	45	11	11 (1.57±1.72) (24.44)	-	-	-

<sup>a,b</sup> Values with different superscripts differ significantly (Mean±S.D.,  $p < 0.05$ ).

<sup>1</sup> Mo: Morula.

<sup>2</sup> Ear BL: Early blastocyst.

<sup>3</sup> Exp BL: Expanded blastocyst.

<sup>4</sup> Hat BL: Hatched blastocyst.

## 3. 수정란 이식 후 수태율

Table 3은 생산된 체내수정란을 일반 한우 수란우에 이식한 결과이다. 대조구는 20개의 수정란을 이식한 결과, 7두가 수태하여 35.00%의 수태율을 나타냈다. 성 감별 정자 처리구의 경우, 총 16개의 수정란 이식 결과, 2두가 수태하여 12.50%의 수태율로 대조구에 비해 낮은 결과를 나타냈다. 박 등(2012)의 연구에서 체내수정란을 신선란 상태로 이식한 결과, 한우에서 40%, 최소에서 37%의 수태율을 보여 본 연구의 대조구와 유사한 결과를 나타냈다. 김 등(2006)의 연구에서는 과배란처리 후 회수된 수정란을 수란우에 이식한 결과, 한우에서 39.7%, 흑우에서 43.6%의 수태율을 나타내었다. 최 등(2011)의 연구에서는 한우 수란우의 황체 등급에 따른 수정란이식 결과, 황체 크기가 1.5 cm 이상이고, 크라운이 명확하게 형성된 1등급 황체가 존재하는 수란우의 수태율이 62.5%였고, 황체의 크기는 1.5 cm 이상이나 크라운이 명확하게 형성되지 않은 2등급 황체를 가진 수란우가 50.0%, 황체가 축진되지 않은 3등급 황체의 수란우가 0.0%의 수태율을 나타내어 수정란이식에 있어서 수란우의 황체 상태에 따라 수태율이 달라짐을 알 수 있었다. 체내수정란을 신선란 상태로 이식한 Stroud 등(2006)의 연

Table 3. Rates of conception by embryo transfer

Treat	No. (%) of		
	Transferred	Conception	Calved
Control	20	7 (35.00)	6 (30.00)
Sex-sorted	16	2 (12.50)	1 (6.25)

구에서는 농가별로 63.4%와 48.2%의 수태율을 얻었다고 보고하여 본 연구 결과에 비해 높은 값을 나타냈지만, 품종의 차이로 인해 정확한 비교는 불가능했다.

4. 성 감별 정자 유래 송아지의 염색체 핵형분석

성 감별 정자를 이용하여 생산된 최소 송아지의 염색체 개수 및 형태 등의 이상 여부를 조사하기 위해 염색체 핵형분석(karyotype)을 실시하였다. Fig. 1의 (A)는 성 감별 정자 유래 8개월령 최소 암송아지의 혈액을 분석한 결과이다. (B)는 동일 연령의 한우 암송아지의 혈액을 동일한 방법으로 분석한 것이다. 염색체의 중기(metaphase)상을 확인한 뒤 염색체의 크기와 형태에 따라 나열하여 핵형(Karyotype)을 작성하였다. 두 개체 모두 염색체상은 60개(2n), 30쌍으로 나타났다. 상동염색체 1~29번은 말단 동원체형(acrocentric)으로 동원체(centromere)가 염색체의 끝부분에 위치했다. 성 염색체(X,X)는 차중부 동원체형(sub-metacentric)이었다. 분석결과, 여(1984, 1987), 오 등(1991), 홍 등(1991), 손과 이(1998)이 발표한 한우 염색체 분석결과와 다르지 않은 염색체 분포 양상을 나타내었으며, 29개의 상동염색체와 XX 성 염색체를 가진 정상 암송아지임을 확인하였다.

본 연구는 최소한우의 증식을 위해 성 감별 처리된 정자를 체내수정란 생산 및 이식 기술에 적용하고자 정자의 농도별 수정란 회수 결과를 조사하고, 생산된 수정란은 이식을 통해 후대 생산 기술을 정립하고자 실시하였다. 가축유전자원센터에서 보유 중인 최소 암소를 선발하여 공란우로 공시하였으며, 과배란처리는 발정주기에 관계없이 CIDR-Plus(Intravaginal Progesterone Releasing Device)를 질 내에 삽입하고, 4일 후부터 FSH(Antorin)를 12시간 간격으로 4일간 총 28AU(Amour unit) 절감 주사하고, FSH 주사 3일째 CIDR-Plus를 제거함과 동시에 PGF<sub>2α</sub>(Lutalyse) 3.0 ml를 주사해 과배란을 유도하였다. 인공수정은 발정이 확인된 후 12시간 간격으로 3회 실시하였다. 대조구의 경우, 보편적으로 사용하는 인공수정용 스트로우인 2,000만 농도의 최소 동결정액 스트로우를 이용하였으며, 성 감별 처리구의 경우, 스트로우 당 400만과 1,000만의 두 실험군으로 인공수정을 실시하였다. 수정란의 회수는 인공수정 후 7일째 되는 날 실시하였으며, 이식가능 수정란은 IETS의 기준에 따라 판정하였다. 대조구에서 체내수정란 회수 결과는 이식가능 수정란이 두 당 6.20±2.28개로 전체 회수 수정란의 67.39%로 나타났으나, 성감별 정자처리구에서는 4×10<sup>6</sup> 농도에서 4.33±5.39개(26.53%), 10×10<sup>6</sup> 농도에서 1.57±1.72개(24.44%)로, 대조구에 비해 유의적으로 낮은 이식가능 수정란 결과를 나타냈다. 미수정란의 비율은 성감별 처리구가 각각 52.04%와 57.78

적 요

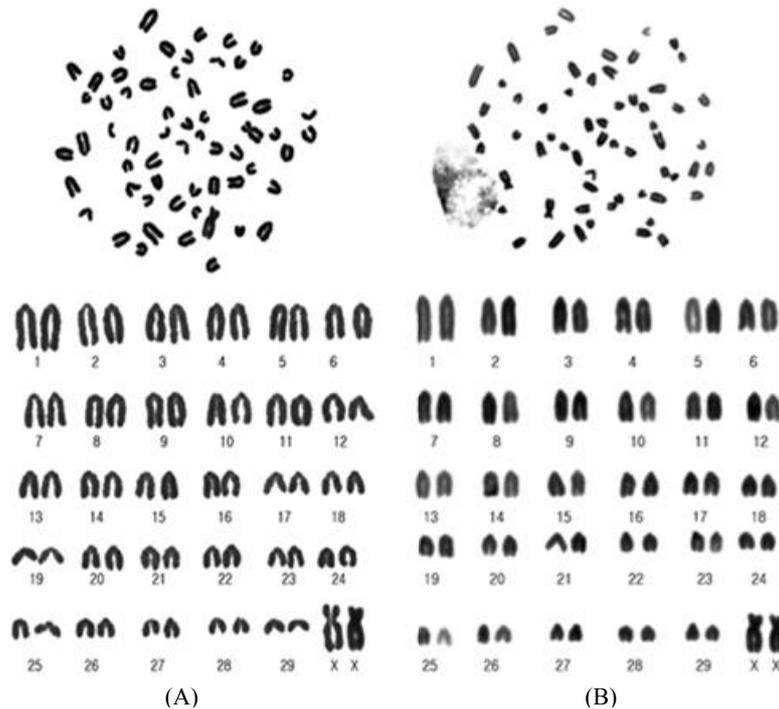


Fig. 1. The analysis of karyotype. Normal karyotypes obtained from female cattle produced from sex-sorted sperm (A), Control (B); Normal female cattle karyotype 2n=60, XX.

%로 대조구의 8.70%에 비해 유의적으로 매우 높았다( $p < 0.05$ ). 이식가능 수정란의 발달 단계에 대한 조사 결과, 대조구의 경우 초기배반포배 단계의 수정란이 30.43%로 가장 높은 비율을 차지했으며, 그 다음이 확장배반포배(19.57%), 상실배(17.39%) 단계였다. 반면에 처리구의 경우, 두 처리구 모두 상실배 단계의 수정란이 15.31%와 24.44%로 가장 높은 비율을 나타냈다. 생산된 체내수정란을 한우 수란우에 이식한 결과, 대조구의 경우 35.00%, 처리구의 경우 12.50%의 수태율을 나타내었다. 성감별 정자 유래 암송아지의 염색체 핵형분석 결과,  $2n=60$ 으로 일반 한우와 다르지 않은 염색체 분포 양상을 나타내었으며, 29개의 상동염색체와 XX 성 염색체를 가진 정상 암컷 개체를 확인하였다.

## REFERENCES

- An L, Wu ZH, Wu YF, Zhang XL, Liu X and Zhu YB. 2010. Fertility in single-ovulating and superovulated dairy heifers after insemination with low dose sex-sorted sperm. *Reprod. Dom. Anim.* 45:344-350.
- Hayakawa H, Hirai T, Takimoto A, Ideta A and Aoyagi Y. 2009. Superovulation and embryo transfer in Holstein cattle using sexed sperm. *Theriogenology* 71:68-73.
- Johnson LA, Flook JP and Hawk HW. 1989. Sex preselection in ravnits: Live births from X and Y sperm separated by DNA and cell sorting. *Biol. Reprod.* 41:199-203.
- Kaimio I, Mikkola M, Lindeberg H, Heikkinen J, Hasler JF and Taponen J. 2013. Embryo production with sex-sorted semen in superovulated dairy heifers and cows. *Theriogenology* 80:950-954.
- Seidel GE. 2014. Update on sexed semen technology in cattle. *Animal* 8:160-164.
- Stringfellow DA and Seidel SM. 1998. *Manual of the International Embryo Transfer Society*. 3rd International Embryo Transfer Society Inc Illinois 165-170.
- Stroud B and Hasler JF. 2006. Dissecting why superovulation and embryo transfer usually work on some farms but not on others. *Theriogenology* 65:65-76.
- Tubman LM, Brink Z, Suh TK and Seidel GE. Jr. 2004. Characteristics of calves produced with sperm sexed by flow cytometry/cell sorting. *J. Anim. Sci.* 82:1029-1036.
- 김영훈, 고진철, 오창언, 강승률, 양보석, 오성중, 김창능, 송중용, 김일화. 2006. CIDR를 이용한 제주 한우 및 흑우의 체내 수정란 생산과 이식. *한국수정란이식학회지* 21:191-198.
- 농촌진흥청. 2014. 가축유전자원의 국가관리 체계화 연구.
- 박해금, 김남태, 김성우, 김현, 도윤정, 염규태, 박수봉, 김재환, 김동훈, 조재현, 고응규. 2012. 과배란 처리에 따른 한우와 칩소 체내 수정란 생산 효율과 수정란 이식 수태율. *한국동물번식학회지* 36:231-235.
- 손시환, 이재익. 1998. 고분염 분석법(High-resolution banding)에 의한 한우 염색체의 표준 표지 설정. *한국동물자원과학회지* 40:467-484.
- 여정수. 1984. 한국 재래 축종인 한우의 염색체 분석. *한국축산학회지* 26:225-230.
- 여정수. 1987. 한우의 염색체 분염 분석에 의한 유전적 조성의 특징에 관한 연구. *한국축산학회지* 29:107-111.
- 오봉국, 여정수, 손시환, 홍영호. 1991. 한우 염색체의 Constitutive Heterochromatin Banding 양상. *한국축산학회지* 33:359-369.
- 유한준. 2011. Comparison of sperm sorting method based on DNA contents and head size in Hanwoo(Korean native cattle). 강원대학교.
- 이지은, 이경진, 유한준, 박정준, 정희태, 양부근, 박춘근. 2011. 한우 정자의 성 분리 시 HEPES를 첨가한 Sheath Fluid가 생존율에 미치는 영향. *한국수정란이식학회지* 26:181-186.
- 전향아, 염규태, 박해금, 김성우, 김현, 김영신, 성환후, 조영무, 조재현, 고응규. 2014. 과배란 처리에 있어 성감별 정액을 이용한 한우 체내 수정란의 생산 효율. *한국수정란이식학회지* 29:283-287.
- 조현태. 2013. Effect of intracytoplasmic injection using sex-sorted and unsorted sperms on *in vitro* developmental competence of bovine oocytes. 경상대학교.
- 최창용, 손준규, 조상래, 강다원, 연성흠, 최선호, 김남태, 정연섭, 김성재, 정진우, 복난희, 최진석, 손동수. 2011. 한우 수정란이식에 있어서 발정 동기화된 수란우의 황체 등급이 수정란이식 수태율에 미치는 영향. *한국수정란이식학회지* 26:33-36.
- 축산기술연구소. 2003. 동물유전자원 보존 및 이용방안 연구.
- 홍영호, 오봉국, 손시환. 1991. G-banding에 의한 한우 염색체 표지인자에 관한 연구. *한국축산학회지* 33:348-358.

Received February 24, 2016, Revised March 20, 2016, Accepted March 24, 2016