

수정란 이식 기술
- 한우 체외 수정란의 생산과 이식 -

박 용 수
경상북도 축산기술연구소

수정란 이식 기술

- 한우 체외수정란의 생산과 이식 -

박 용 수

경상북도 축산기술연구소

1. 서 론

국민 경제 수준이 향상됨에 따라 종래의 곡물 중심 식생활 형태가 축산물 중심으로 변화하였으며, 또한 그 수요가 증가하면서 가축 생산성과 품질 향상을 위한 가축 개량의 중요성이 증가하고 있다. 고전적인 가축 개량은 반복적인 교배와 선발 작업을 통해 우수한 형질을 가진 개체를 선발하고, 나머지는 도태시켜 가는 것이다. 그러나 이 방법은 여러 가지 문제점을 가지고 있어 각종 생명 공학 기법을 가축 개량에 도입하였으며, 최근에는 수정란 이식 기술이 도입되었다. 특히 1970년대부터 수정란의 미세 조작 기술이 수정란 이식 기술과 접목되면서 고능력 가축의 복제뿐만 아니라 인체에 유용한 고부가 생리 활성 물질을 대량으로 생산할 수 있는 형질 전환 동물의 생산도 가능하게 되었다.

수정란 이식 기술이란 포유 동물의 체내에 존재하는 각종 발생 단계에 있는 난자를 체외로 꺼내어 인위적인 조작을 가한 후 대리모의 자궁에 이식하여 새로운 산자를 생산하는 것이다. Heap(1890)가 세계 최초로 토끼에 수정란 이식을 시도하여 산자를 생산한 이후, 가축에서 수정란 이식에 대한 연구를 행했던 결과, 면양(Warwick 등, 1934), 산양(Warwick과 Berry, 1949), 돼지(Kvansickii, 1951) 및 소(Willet 등, 1951)에서 산자를 생산하였다. 한편 소의 체외 수정란은 1980년대부터 소의 난포란을 이용하여 체외에서 성숙, 수정 및 배양 과정을 통하여 송아지 생산에 성공(Brackett 등, 1981)한 이후, 체외 수정란의 생산과 이식 분야에 많은 연구가 진행되었으며, 최근에는 이 기술을 이용하여 인간 불임의 극복과 더불어 최근 생명 공학의 핵심 분야인 복제 동물을 비롯한 인공 장기 대체 동물, 질환 모델 동물, 생리 활성 물질을 생산하는 동물, 질병 내성 동물 등의 각종 형질 전환 동물 생산 기술의 산업화가 가능하게 되었다.

국내에서 수정란 생산 및 이식 연구는 1970년대에 토끼를 중심으로 시작되어, 1980년초 정 등(1982)이 국내 최초로 체내에서 회수한 수정란을 이용하여 샤로레 송아지를 생산하였다. 1990년대에 접어들면서 체외 수정란으로부터 송아지 생산에 성공하였고(황 등, 1993), 수정란을 분할하여 일란성 쌍태 송아지(손 등, 1994), 핵치환에 의한 송아지(황 등, 1995), 형질 전환 젖소 송아지(이 등, 1994) 및 체세포 복제 송아지의 생산(황 등, 1999) 등과 같은 괄목한 성과를 이룩하였다. 이러한 연구 성과를 기초로 1997년부터 농림부는 한우의 사육두수 증가와 수정란 이식의 산업화를 위해 한우의 쌍태 유기 사업을 실시한 바도 있다.

한편 지방 자치 단체에서는 농가의 소득원 중 가장 큰 비중을 차지하고 있는 한우의 사육 두수를 늘리는데 많은 노력을 기울이고 있다. 또한 한우의 품질 개선을 위하여 수정란 이식 기술의 산업화를 경쟁적으로 시도하고 있다. 그러나 체외수정란은 수정란의 품질, 기준 없는 수란우의 선발, 전문 수정란 이식사의 양성 부족, 농가에서의 수정란 이식 기술의 이해 부족 등으로 낮은 수태율, 높은 유산율, 송아지의 조기 폐사 등 여러 가지 부작용이 문제점으로 제기되었다. 이와 관련하여 지금까지 국내의 수정란 이식은 소규모로 실험실에서 이루어졌기 때문에 대규모 한우 수정란의 생산과 이식에 대한 비교 분석이 거의 없어 수정란 이식의 산업적 확대는 물론 첨단 기술을 이용한 각종 송아지 생산 효율도 지극히 낮다. 따라서 본 보고에서는 지난 2002~2005년까지 경북 지역에 이식된 3,000여 건의 체외 수정란 생산 및 이식 경험을 바탕으로 1) 실험실에서 체외 수정란의 생산 효율 및 품질 향상, 2) 임상적 조건하에서 수란우 선발 및 이식 기술 향상, 3) 체외 수정란 유래 송아지의 분만 문제점들을 중심으로 검토하였다.

2. 본 론

1) 체외 수정란 생산

1980년대부터는 도축된 소의 미성숙 난포란으로부터 체외 생산된 배반포를 이식하여 송아지 생산에 성공한 이래 소 수정란의 체외 생산 기법에 대한 많은 연구가 진행되어져 왔다(Brackett 등, 1981). 소 난포란의 체외 성숙 기술은 도살장으로부터 난소 운반 시간 및 온도(Yang 등, 1990), 체외 성숙 시간(Park

등, 2005), 난포의 크기(Blondin과 Sirard, 1995), 난포란의 발육 단계(Hagemann 등, 1999), 성숙 배양액의 조성(Fukuda 등, 1990), 호르몬(Zuelke와 Brackett, 1990) 및 혈청(Avery 등, 1998) 등의 많은 요인들이 영향을 미친다. 성숙된 난자의 체외 수정을 위해서는 소 동결 정자를 이용한 swim-up 법과 percoll 법이 개발되었으며, 또한 난자내 정자의 빠른 침입을 위한 BO 액과 안정된 체외 수정을 획득을 위한 TALP 액이 개발되었다. 체외 배양 기술은 일반적으로 체세포 배양용 배지에 함유되어져 있는 glucose와 phosphate가 배 발생에 유해하다는 것이 밝혀져 이들 물질이 함유되지 않은 비교적 조성이 간단한 배지(CR1aa, SOF 및 CZB), 8-cell block을 극복하기 위한 여러 종류의 체세포와 공동 배양, 혈청의 첨가 시기 조절을 통한 “two-step” 배양 그리고 drop 배양법 등이 개발되었다.

2) 수란우

수정란 이식의 수태율 향상을 위해서는 수정란 측의 요인과 더불어 수란우의 선발 및 관리가 중요하지만, 단순한 관리만으로는 우수한 수란우를 확보하기가 어렵다. 따라서 지금까지 수정란 이식을 위한 수란우의 선정 기법에 대한 연구와 더불어 수란우의 발정 주기와 관련된 여러가지 조건들을 효과적으로 제어하기 위한 연구가 행해져 왔다. 수란우의 황체는 선발에 중요한 지표가 되고, 혈장 progesterone 농도로서 그 상태를 짐작할 수 있다(Remsen과 Rousull, 1982). 황체가 존재하는 난소 측의 자궁각에 이식하였을 경우 수정란 이식 후 수태율이 높았으며(황 등, 2004), 또한 황체가 존재하는 난소 측의 자궁각에 이식시에는 자궁각의 좌우 위치와 관계없이 수태율에는 차이가 없었다(Wright, 1981). 수정란을 이식하는 부위는 자궁각내에서의 기부 또는 중앙부에 이식하는 것보다 난관 접속부의 2~4cm 위치에 이식하는 것이 임신율이 높다는 보고(Boland 등, 1976)와 이식하는 자궁각의 위치가 임신율과는 차이가 없다는 상반되는 보고도 있다(Sreenan, 1976). 황체 등급에 따른 수태율도 1등급과 2등급, 즉 crown을 가지고 있는 경우가 3등급, 즉 crown이 없는 경우보다 수태율이 높았다는 보고(Kim 등, 1995)가 있는 반면, Remesen과 Roussel(1982)과 Donaldson(1985)은 황체의 등급에 따른 임신율의 차이가 없었다고 하였다. 그리고 발정 유도 방법에 따른 수태율에 있어서 Wright(1981)는 발정 유도 방법에 따라서는 차이가 없었다고 보고하였던 반면, Sreenan 등(1976)은 PGF₂α로 발정 유

도된 경우와, 자연 발정(Church와 Shea, 1976) 중에서도 발정 후 7일째가 높았고, 오히려 6일째가 낮았다는 보고도 있다(Hasler, 2001). 또한 수란우 산차와 수태율에 있어서 황 등(2004)은 경산우가 높았다고 보고한 반면, Broadbent 등(1991)과 Hasler(2001)는 미경산우가 오히려 높았다는 상이한 결과를 보고하였다. 한편 Newcomb(1975) 및 황 등(2004)은 수정란의 발생 단계와 수란우의 발정일이 일치하는 경우가 높았다고 보고하였으나, Putney 등(1988)은 수란우의 발정일과 수정의 발생 단계가 -1일 때 수태율이 가장 높았다고 보고하였다.

3) 기술적 요인

효율적인 수정란 이식을 위하여 수정란을 이식하는 실질적인 기술적 요인으로서 시술자의 숙련도는 많은 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 이식하는 배반포의 주입 위치에 대하여 Boland 등(1976)은 자궁각에서 기부 또는 중앙부에 이식하는 것보다 난관 접속부에서 2~4cm 위치의 자궁각에 이식하는 것이 임신율을 향상시키고, 이식시에 자궁 내막의 손상을 감소시키기 위하여 이식 부위의 조절이 수태율을 높인다(Yamasina, 2002). 그리고 Sreenan(1976)과 Newcomb 등(1980)은 이식하는 배반포의 자궁각 위치에 따른 차이가 없다고 하였다. 그러나 Rowe 등(1980)은 이식 주입기를 자궁체까지 삽입해서부터 이식 부위인 자궁각 심부까지 삽입하는데 걸린 시간이 짧을수록 임신율이 높았다고 하였으며, 이식 소요 시간이 15분 이내에 완료하는 것이 15분 이상에 비하여 임신율은 높았다(황 등, 1988). 또한 Boland 등(1976), Bowen 등(1978) 및 황과 조(1988)는 자궁 경관 통과가 용이할수록 수태율이 증가하였다고 보고한 반면, Wright(1981)는 이식 난이도와 Suzuki 등(1982)은 숙련도에 따른 수태율에는 차이가 없다고 하였다. 또한 수정란 이식 시 수란우의 보정을 위하여 진정제(xylazine) 투여도 수태율 향상에 효과적이었다(Nishigai, 2003).

4) 수란우의 사양 환경

가축에서 영양과 대사는 번식에 매우 중대한 영향을 미치며, 특히 혈액 내에 존재하는 여러 생리적 대사 산물에 영향을 미치기 때문에 번식의 개선을 위해서는 수란우 사양 환경의 개선이 필수적이다(Ferguson 등, 1993; Hawkins 등, 1995). 그리고 효율적인 수정란 이식을 위하여 수정란, 수란우 및 기술적 측면

에 대한 많은 연구에도 불구하고 수정란 이식의 성공률이 담보 상태인 것과, 수란우의 발정 제어와 임신 유지를 위한 지금까지 연구의 상반된 결과로 미루어 볼 때 오히려 수란우의 사양 환경과 깊은 관계가 있을 것이다(Betteridge와 Loskutoff, 1993). 수정란 이식에 의해 수태가 비교적 되지 않는 소들은 발정 주기의 초기, 중기 그리고 황체기에 혈중 progesterone의 농도가 낮으며(Bulman과 Lamming, 1978), 황체 기능의 이상이 정상적이지 못하다(Wilmot 등, 1985). 이러한 황체기능의 이상을 초래하는 요인 중에서 사양 관리 측면에서는 부적절한 영양 관리가 그 원인으로 지적되었다(Ashworth, 1995). Elord와 Butler(1993)는 과도한 분해성 단백질의 공급은 혈장내 urea nitrogen의 농도를 증가시켜 발정 주기중의 황체기 동안에 자궁액의 pH가 저하됨에 따라 번식 능력이 감소한다고 보고하였다. 사양 환경 중에서 급여하는 사료의 중요성은 Sasser 등(1988)의 보고와 같이 단백질 급여가 부족하면 인공 수정시 수태율이 정상치의 약 70%에서 약 30%로 낮아진다는 것에서 입증되었다. 또한 사료내 단백질의 부족은 LH 분비 기능이 저하되어 황체 형성이 부진함으로써 progesterone의 분비가 저하되며, 나아가서 수정란에서 분비되는 항황체 퇴행 인자인 interferon τ 의 분비가 감소되어(Kerbler 등, 1997) 조기 배 사멸이 발생된다고 한다. 따라서 수정란이식에 있어서 수란우의 사양 환경은 수란우의 혈장 또는 우유에서의 요소태 질소 농도로서 판단할 수 있다(Park 등, 2000). 즉 혈중 요소태 질소의 수준이 낮은 경우 사료내 에너지의 과잉 공급으로 수란우는 과비 상태이거나 사료내의 단백질 부족 등을 의심할 수 있다.

5) 임신율

지난 10년간 체외 수정란의 수태율이 평균 $30 \pm 10\%$ 정도라고 하였고(Peterson과 Lee, 2003), 체내 배반포의 수태율이 체외의 것보다 높다고 보고하였으나(Hasler 등, 1995; Enright 등, 2000), 차이가 없다는 보고도 있다(Lonergan 등, 1999). 이식하는 배반포의 생산 조건에 따라 다소의 차이는 있다. 예를 들면 체외 배반포의 등급을 형태학적으로 3등분할 때 Good 등급 이상이 fair 또는 poor 등급보다 높았다(Linder와 Wtight, 1983; Hasler, 2001). 또한 이식하는 배반포의 발생 단계는 확장 포배기 배가 확장 포배기 이전의 배반포 또는 부화 배반포에 비하여 수태율이 높았지만(Halser 등, 2003; 황 등, 2004), Lonergan 등(1999)

은 배반포의 발생 단계와 수태율과의 차이가 없었다고 하였으며, Wurth 등(1994)은 상실기 배의 발생 단계가 오히려 포배기 배보다 수태율이 높았다고 하였다.

유산율은 인공 수정이 5% 미만, 체내 수정란이 8% 미만인 것에 비하여 체외 수정란은 20~30%로서 아주 높다(Roberts 등, 1986; Sakaguchi 등, 2002). 특히 발생한 유산 중에서 양막의 부재, 기형 등 원인 규명이 가능한 경우는 약 20% 정도에 불과하다(이 등, 2004). 또한 체외 수정란의 경우 이식 후 early embryonic death가 인공 수정인 경우에 비하여 현저하게 높다(McEvoy 등, 1995). 그리고 이식하는 수정란의 수량과 유산율과의 관계에 있어서 1개를 이식한 경우에는 체내 및 체외 수정란의 종류와 관계없이 유산율에는 차이가 없었으나, 2개를 이식한 경우에는 체외 수정란이 약 20% 이상으로 높았다(Numabe 등, 2000). 이와 같이 체외 수정란이 체내 수정란에 비하여 유산율이 높은 것은 태아로의 발생시 태반 분엽수가 적은 것이 한 원인이다(Bavister 등, 1983; Hasler 등, 1995). 또한 유산 시기는 체외 수정란의 경우 대부분이 임신 100일 이전에 발생하였으며, 전체 유산의 약 60% 이상을 차지한다(Sakaguchi 등, 2002). 그러나 체외 수정란에 의한 쌍자 임신인 경우는 임신 중기 이후에 유산율이 높았다(Suzuki 등, 1994; Sakaguchi 등, 2002).

6) 분만 및 질병

임신된 수란우의 분만율에 있어서 Numabe 등(2000)은 체내 수정란을 이식한 수란우는 51%로서 체외 수정란이 34%로서 낮았으며, 분만 사고율도 체내 수정란의 3.5%에 비하여 체외 수정란은 14% 정도로 높은 경향이였다. 또한 사산율도 체내에 비하여 체외 수정란 유래의 송아지에서 높았으며(Takashi 등, 2001), 더욱이 이들 송아지는 생후 활력 저하와 질병에 의한 초기 폐사율도 증가하였다고 한다(Garry 등, 1996; Kruip와 den Daas, 1997, Park 등, 2004). 수정란 이식 후 임신된 수란우의 임신 기간은 이식하는 수정란의 종류(Takashi 등, 2001), 태아의 종(Guilbault 등, 1990) 및 임신한 태아의 수(Sakaguchi 등, 2002)에 따라 차이가 있다. 특히 체외 수정란이 체내 수정란에 비하여 임신 기간이 길었으며(Takashi 등, 2001; Numabe 등, 1997), 쌍자를 임신한 수란우의 경우가 단자를 임신한 수란우보다 오히려 임신 기간은 7일 가량 짧았다(Sakaguchi 등, 2002).

3. 결론

수정란 이식에 있어서 그 성공률을 좌우하는 것으로 현재까지 알려져 있는 것들은 배반포의 품질, 수란우 선발에 있어서 수란우의 황체 상태, 수정란을 이식하는 시술자의 숙련도 등이라고 생각되어져 왔지만, 수정란 이식 후 유산율과 태어나는 신생축의 관리라는 측면에서는 체외 수정란의 생산 방법보다는 오히려 수정란 이식에 종사하는 시술자의 기술과 수란우의 사양 관리가 더 중요하다고 생각된다. 체외 수정란에서 유래한 송아지는 분만과 질병 발생 양상이 인공 수정 송아지와 다소 차이가 있으므로 이 분야에 대한 지속적인 연구가 선행되어야 수정란 이식의 산업화가 가능할 것이다.

참고문헌

- Avery B, Bavister BD and Greve T. 1998. Development of bovine oocytes, *in vitro* matured in a chemically defined protein-free medium, supplemented with different amino acid formulations. *Theriogenology*, 49:306(abstr).
- Bavister BD, Leibfried ML and Lieberman G. 1983. Development of preimplantation embryos of the golden hamster in a defined culture medium. *Biol. Reprod.*, 28:235-247.
- Betteridge KJ, and Loskutoff NM. 1993. Prospects for improving the survival rate of transferred embryos. *Mol. Reprod. Dev.*, 36:262-265.
- Blondin P and Sirard MA. 1995. Oocyte and follicular morphology as determining characteristics for developmental competence in bovine oocytes. *Mol. Reprod. Dev.*, 41:54-62.
- Bowen JM. 1978. Non-surgical embryo transfer in cow. *Theriogenology*, 10:89-96.
- Brackett BG, Bousquet D, Boice ML, Donawick WJ, Evans JF and Dressel MA. 1982. Normal development following *in vitro* fertilization in the cow. *Biol. Reprod.*, 27:147-158.
- Broadbent PJ, Stewart M and Dohnan DF. 1991. Recipient management and embryo transfer. *Theriogenology*, 35:125-139.
- Bulman DC and Lamming GE. 1978. Milk progesterone levels in relation to con-

- ception, repeat breeding and factors influencing a cyclicity in dairy cows. *J. Reprod. Fertil.*, 54:447-458.
- Donaldson LE. 1985. Matching of embryo stages and grades with recipient oestrous synchrony in bovine embryo transfer. *Vet. Rec.*, 117:489-491.
- Elrod CC and Butler WR. 1993. Reduction of fertility and alteration of uterine pH in heifers fed excess ruminally degradable protein. *J. Dairy Sci.*, 71:694-701.
- Enright BP, Lonergan P, Dinnyes A, Fair T, Ward FA, Yang X and Boland MP. 2000. Culture of *in vitro* produced bovine zygotes *in vitro* vs *in vivo*: Implications for early embryo development and quality. *Theriogenology*, 54:659-673.
- Ferguson JD, Galligan DT, Balanchard T and Reeves N. 1993. Serum urea nitrogen and conception rate: The usefulness of test information. *J. Dairy Sci.*, 76:3742-3746.
- Fukuda Y, Ichikawa M, Naito K and Toyoda Y. 1990. Birth of normal calves resulting from bovine oocytes matured, fertilized, and cultured with cumulus cells *in vitro* up to the blastocyst stage. *Biol. Reprod.*, 42:114-119.
- Guilbault LA, Roy GL, Beckers JF, Dufour JJ. 1990. Influence of breed of fetus on periparturient endocrine responses and subsequent milk production of Ayrshire dams. *J. Dairy Sci.*, 73:2766-2773.
- Hagemann LJ, Beaumont SE, Berg M, Donnison MJ, Ledgard A, Peterson AJ, Schurmann A and Tervit HR. 1999. Development during single IVP of bovine oocytes from dissected follicles: Interactive effects of estrous cycle stage, follicle size and atresia. *Mol. Reprod. Dev.*, 53:451-458.
- Hasler JF. 2001. Factors affecting frozen and fresh embryo transfer pregnancy rates in cattle. *Theriogenology*, 56:1401-1415.
- Hasler JF. 2003. The current status and future of commercial embryo transfer in cattle. *Theriogenology*, 79:245-264.
- 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.

- Hawkins DE, Niswender KD, Oss GM, Moeller CL, Odde KG, Sawyer HR and Niswender GD. 1995. An increase in serum lipids increases luteal lipid content and alters the disappearance rate of progesterone in cows. *J. Anim. Sci.*, 73: 541-545.
- Heape W. 1890. *Proc. Roy. Soc. Br.*, 48:457.
- Herd RM, Bootle BW and Parfett DC. 1993. An economic evaluation of traditional, twinning and sex-controlled systems of beef production in southern Australia. *Aust. J. Agr. Res.*, 44:1541-1556.
- Kruip TAM and den Dass JHG. 1997. *In vitro* produced and cloned embryos: effects on pregnancy and offspring. *Theriogenology*, 47:43-52.
- Linder GM and Wright RW Jr. 1983. Bovine embryo morphology and evaluation. *Theriogenology*, 20:407-416.
- Lonergan P, Khatir H, Piumi F, Rieger D, Humblot P and Boland MP. 1999. Effect of time interval from insemination to first cleavage on the developmental characteristics, sex and pregnancy rates following transfer of bovine preimplantation embryos. *J. Reprod. Fertil.*, 117:159-167.
- 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 and Rowson LEA. 1975. Conception rate after uterine transfer of cow eggs, in relation to synchronization of oestrus and age of eggs. *J. Reprod. Fert.*, 43:539-541.
- Nishigai M. 2003. The development and prevalence of the transfer technique for frozen-thawed embryos of Japanese black beef cattle in Tochigi Prefecture. *J. Reprod. Dev.*, 49:23-36.
- Numabe T, Oikawa T, Kikuchi T and Horiuchi T. 2000. Production efficiency of Japanese black calves by transfer of bovine embryos produced *in vitro*. *Theriogenology*, 154:1409-1420.
- Park YS, Kim SS, Kim JM, Park HD and Byun MD. 2005. The effects of duration of *in vitro* maturation of bovine oocytes on subsequent development,

- quality and transfer of embryos. *Theriogenology*, 64:123-134.
- Peterson AJ and Lee RSF. 2003. Improving successful pregnancies after embryo transfer. *Theriogenology*, 59:687-697.
- Putney DJ, Thatcher WW, Drost M, Wright JM and DeLorenzo MA. 1998. Influence of environmental temperature on reproductive performance of bovine embryo donors and recipients in the southwest region of the United States. *Theriogenology*, 30:905-922.
- Rowe RF, Del Campo MR, Critser JK and Ginther OJ. 1980. Embryo transfer in cattle: nonsurgical transfer. *Am. J. Vet. Res.*, 41:1024-1028.
- 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.
- Sasser RG, Williams RJ, Bull RC, Ruder CA and Falk DG. 1988. Postpartum reproductive performance in crude protein-restricted beef cows: return to estrus and conception. *J. Anim. Sci.*, 66:3033-3039.
- Selim SA, Cullor JS and Oelsner IE. 1995. Passive immunotherapy on neonatal calves-I. Safety and potency of a J5 *Escherichia coli* hyperimmune plasma in neonatal calves. *Vaccine*, 13:1449-1453.
- Suzuki O, Geshi M, Yonai M and Sakaguchi M. 1994. Effects of method of embryo production in beef cows. *Theriogenology*, 41:309.
- Takashi N, Toshinori O, Takeshi K and Toshitaka H. 2001. Birth weight and gestation length of Japanese black calves following transfer of embryos produced *in vitro* with or with co-culture. *J. Vet. Med. Sci.*, 63:515-519.
- Warwick BL, Berry RO and Horlacher WR. 1934. Results of mating rams to Angora female goats. In: Proceedings of the 27th Annual Meeting of the American Society of Animal Production, pp. 225-227.
- Warwick BL and Berry RO. 1949. Inter-genetic and intraspecific embryo transfers in sheep and goat. *J. Hered.*, 40:297.
- Willet FL, Black WG, Gasida LE, Stone WH and Buckner PJ. 1951. Successful transplantation of a fertilized bovine ovum. *Science*, 113:247.

- Wright JM. 1981. Non-Surgical embryo transfer in cattle: embryo-recipient interactions. *Theriogenology*, 15:43-56.
- Wurth YA, Reinders JMC, Rail WF and Kruij TAM. 1994. Developmental potential of *in vitro* produced bovine embryos following cryopreservation and single-embryo transfer. *Theriogenology*, 42:1275-1284.
- Yang NS, Lu KH and Gordon I. 1990. *In vitro* fertilization(IVF) and culture(IVC) of bovine oocytes from stored ovaries. *Theriogenology*, 33:352.
- Zuelke KA and Brackett BG. 1990. Luteinizing hormone-enhanced *in vitro* maturation of bovine oocytes with and without protein supplementation. *Biol. Reprod.*, 43:784-787.
- 박수봉, 임석기, 우제석, 김일화, 최선호, 이장희, 김인철, 손동수. 2000. 한우 수란우의 임신율에 대한 hCG 영향과 혈장 요소태 질소 수준과의 관계. *한국수정란이식학회지*, 15(2):115-120.
- 박용수 2004. 한우 체내, 체외 및 복제수정란이 이식된 수란우의 임신과 분만 및 산자의 생존. *한국수정란이식학회지*, 19:239-244.
- 손동수, 김일화, 이동원, 최창열, 윤상보, 류일선, 서국현, 이광원, 유충현, 조운연, 정상원, 최상용. 1994. 수정란 분할에 의한 일란성 한우 쌍둥이 송아지 생산. *한국수정란이식학회지*, 9(1):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.
- 이병천, 김대용, 장구, 조종기, 김재훈, 김민규, 강성근, 황우석. 2004. 수정란 이식에 의한 유사산 발생원인과 예방대책. *한국수정란이식학회지*, 19(1) supp: 23-35.
- 황우석, 조충호. 1988. 소의 비외과적 수정란이식에 있어서 수태율에 영향을 미치는 요인. *한국임상수의학회지*. 5(1):1-7.