

大家畜에 있어서 受精卵移植의 現況과 展望

鄭吉生 · 崔炳相
建國大學校畜產大學 · 蓮庵畜產專門大學

Recent Studies on the Embryo Transfer in Farm Animals

K. S. Chung · B. S. Choi

College of Animal Husbandry, Kon-Kuk University, Yeon-Am Junior College of Animal Science

I. 緒 論

1. 定 義

體內(in vivo) 또는 體外(in vitro)에서 受精된 哺乳動物의 卵子 즉, 受精卵를 同種內의 同品種 또는 異品種의 他個體에게 移植하여 受胎시키는 것을 受精卵移植이라 한다.

2. 歷 史

哺乳動物에 있어서의 受精卵移植은 소, 말, 綿羊, 산양, 돼지등과 같은 家畜으로부터 토끼, 흰쥐, 생쥐 및 hamster 등의 實驗動物에 이르기까지 널리 실시되고 있다.

哺乳動物의 受精卵移植에 최초로 성공한 사람은 Heape(1890)로서 그는 토끼의 受精卵를 他個體에 移植하여 4마리의 仔甁를 生産하는데 성공하였다. 그후부터 이 분야에 대한 관심도 높아지고, 연구자도 늘어나 1950년 이후에는 綿羊(Warwick등, 1949; Lopyrin등, 1950), 산양(Warwick등, 1949), 돼지(Kvansmickii, 1951) 및 소(Willett등, 1951)등의 家畜에서 受精卵移植에 의한 仔畜이 태어나기에 이르렀다. 이러한 實驗的 研究結果를 기초로 하여 受精卵移植을 家畜의 繁殖技術로 활용하기 위한 연구가 진행되었고, 최근에는 綿羊과 산양에서는 受精卵移植에 의하여 70~80%의 受胎率을 얻기에 이르렀다. 소에 있어서의 受精卵移植技術도 현저한 進展을 보아 최근에는 凍結保存된 受精卵으로부터 犢牛가 태어나기에 이르렀다. 뿐만 아니라 미국, 호주, 뉴질랜드 및 캐나다 등지에서는 受精卵移植技術을 大家畜의 生産分野에 導入하여 그것만을 專業으로 하는 企業이 多數 등장하였으며, 肉類不足이라

는 世界的 趨勢에 힘입어 受精卵移植 技術을 소의 雙胎誘起에 利用하려는 試圖가 各國에서 計劃되고 있다.

3. 理論的 背景

生後 2~3個月齡의 송아지는, 個體에 따라 차이는 있으나, 卵巢 1個當 1~10만개의 卵子를 가지고 있다. 그러나 이처럼 많은 卵子의 대부분은 性成熟期前, 發情週期中의 發情休止期 및 妊娠期나 泌乳期中에 대부분 退行하게 되어, 生後 12~13세가 된 老齡牛의 卵巢는 불과 수천개의 卵子를 含有하고 있음에 불과하다. 더욱 한마리의 牝牛가 生涯를 통하여 分娩할 수 있는 송아지는 12~15頭를 넘어설 수 없다는 사실을 勸察할 때 한마리의 牝牛가 원칙적으로 保有하고 있는 卵子生産能力의 99%는 송아지 生産과 결절되지 못하여 喪失되고 있음을 알 수 있다. 이러한 生理的 制約이 牝畜의 側面에서도 家畜改良을 促進하려는 試圖를 出害하는 결정적 要因이 되고 있음은 周知하는 바이다.

오늘날까지 家畜改良을 위한 諸般試圖는 人工受精을 주된 武器로 하여 雄畜을 中心으로 추진되어 온 것이 사실이다. 그러나 人爲的 操作에 의하여 牝畜이 保有하고 있는 잠재적 卵子生産能力을 現實적으로 活用할 수만 있다면 한마리의 優秀한 牝畜으로부터 現在보다 훨씬 많은 仔畜을 生産할 수 있을 것이고 그만큼 家畜改良도 促進될 수 있을 것이다. 오늘날 受精卵移植技術이 多樣하게 利用되고 있지만, 적어도 畜産의 경우에는, 牝畜의 卵子生産에 관한 潛在能力을 最大로 活用하여 優秀한 母系의 遺傳形質을 이어받은 仔畜을 일시에 多數生産함으로써, 家畜改良을 신속하게 촉진할 수 있다는 論理的 背景에 根據를 두고 이 技術이 導入되었다고 볼 수 있다.

本論에서는 大家畜 특히 소를 中心으로 하여 受精卵移植技術의 現況과 그 展望을 살펴보고 同技術의 國內

정착의 가능성 如否에 대하여 檢討하기로 한다.

II. 受精卵 移植技術의 現況

1. 技術의 概要

소에 있어서 受精卵移植을 성공적으로 수행하기 위해서는 그림 1에서 보는 바와 같은 數個의 過程을 段階的으로 실시하지 않으면 안된다. 이들 過程은

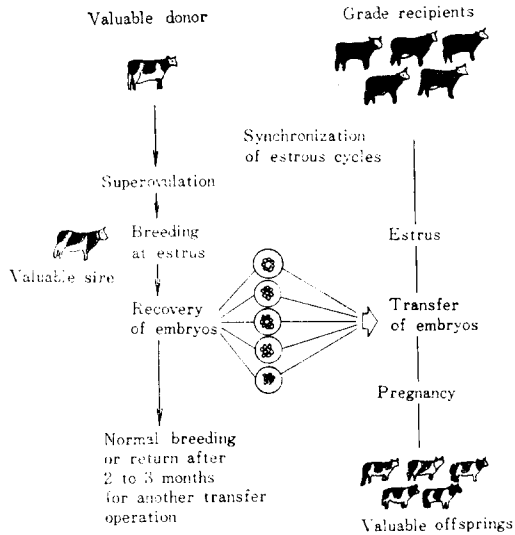


Fig. 1. Procedures and significance of egg transfer (金川 1976).

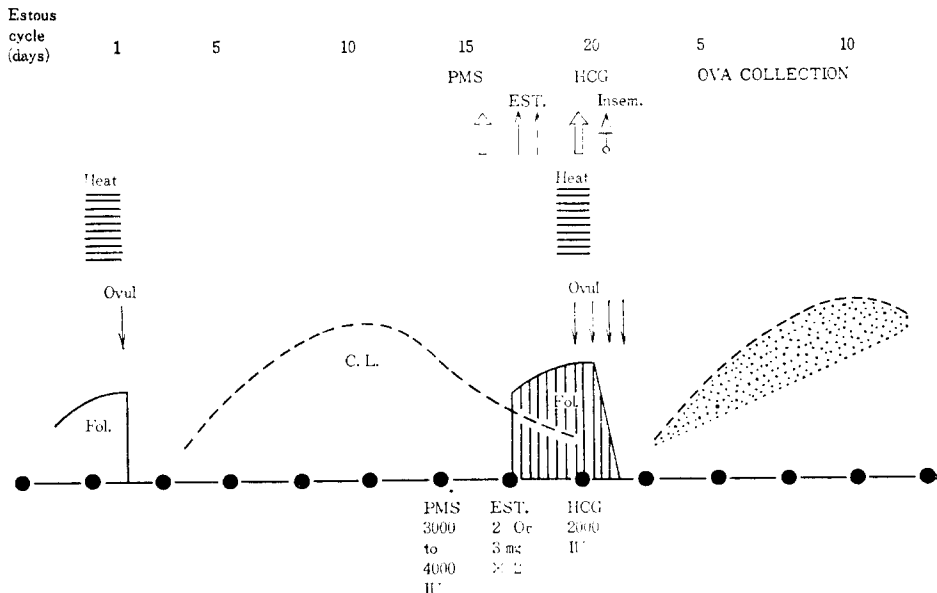


Fig. 2. Hormonal treatments to induce superovulation in cattle(杉江等, 1972)

(1) 移植에 必要한 多數의 卵子를 生産하기 위한 多排卵 誘起 過程

(2) 排卵된 卵子를 體內 혹은 體外에서 受精시키는 過程

(3) 受精된 卵子를 體外로 回收하는 採卵過程

(4) 採卵된 卵子의 使用如否를 결정하는 檢卵過程

(5) 使用可能한 受精卵을 體外에서 保存하는 過程

(6) 供卵牛와 受卵牛의 發情을 同期化시키는 過程

(7) 受精卵을 他個體에 移植하는 過程

등으로 나누어 생각할 수 있다. 이하 이들 各過程에 關하여 좀더 具體的으로 살펴 보기로 한다.

2. 多排卵誘起

自然條件下에서 한 發情期에 成熟하는 卵胞의 數는 牝牛의 경우 1~2개에 지나지 않는다. 그러나 體外로

부터 性腺刺戟호르몬을 투여하면 일시에 多數의 卵胞가 發育하며 그만큼 排卵되는 卵子數도 增加하게 된다

몇가지 方法에 의하여 소에서 多排卵을 誘起할 수가 있다. 처음에는 그림 2에서 보는 바와 같은 方法이 채용되었다. 즉 發情週期의 16日째에 3,000~4,000IU의

PMSG를 1回 皮下에 주사하고 그로부터 3日째와 4日째에 2~3mg의 estradiol을 각 1회씩 주사한다. 이어서 發情이 오면 배란을 促進시키기 위하여 2,000IU의

HCG를 靜脈에 注射하고 바로 人工受精을 실시한다. 이 方法은 比較的 安定된 結果를 가져오므로 한때 日本等地에서 많이 채택된 적도 있으나, 發情週期의 15~

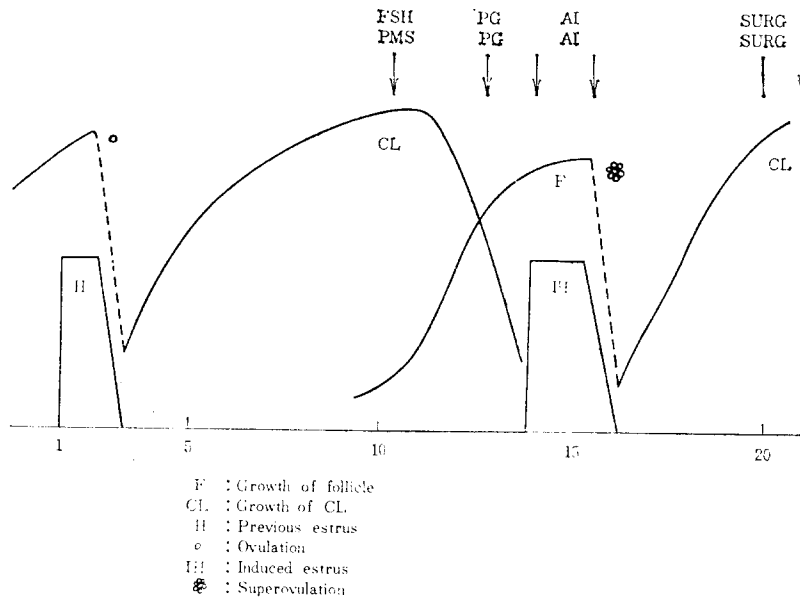


Fig. 3. Induction of superovulation with PMS and $PGF_{2\alpha}$ (Chung, 1976)

16日째라는 제한된 시기에 해당하는 個體밖에는 供試할 수 없다는 弱點이 있다. 이러한 弱點을 補完하기 위하여 性腺刺戟호르몬과 黃體退行劑인 prostaglandin $F_{2\alpha}$ (以下 $PGF_{2\alpha}$ 라 略함)를 併用하는 方法이 開發되었다. 이 方法은 그림 3에 표시된 바와같이, 發情週期の 5~14日사이(排卵當日을 0日로 함), 즉 黃體期의 어느 시기를 택하여 2,000~3,000IU의 PMSG를 筋注射한 후, 그로부터 48시간째에 25~30mg의 $PGF_{2\alpha}$ 를 筋注射한다. $PGF_{2\alpha}$ 投與後 대체로 48±12시간에 발정이 오므로 排卵을 촉진시키기 위하여 2,000IU의 HCG를 靜注射한 다음 즉시 人工受精을 실시한다. 대체로 standing estrus의 시기에 第1次 受精을 실시하고 그로부터 12시간마다 2次와 3次의 人工受精을 실시하여 未受精卵의 發生을 줄인다. 단 최근에 와서는 HCG의 投與는 省略하는 경향이 있는데, 그것은 소의 경우 PMSG에 의하여 發育된 다수의 卵胞에서 분비되는 estradiol이 Feedback Mechanism에 의하여 排卵에 필요한 充分量의 LH를 分泌시킨다는 사실이 밝혀졌기 때문이다. 이 方法에 의하여 소나 산양의 경우, 대략 15~20개의 排卵이 誘起된다. 또 發情週期の 5~14日사이에 있는 개체는 다같이 同時에 供試할 수도 있으므로 일시에 다수의 供試牛를 確保할 수 있다는 利點도 있다.

多排卵誘起에 있어서 가장 큰 難點은 同一한 方法을 채택해도 處理에 대한 反應이 個體에 따라 현저하게 다르다는 사실이다. 이러한 個體別 變異를 最少化하기 위하여 最近에는 性腺刺戟호르몬으로서 FSH와 LH를 併用하거나 또는 FSH만을 부여하여 좋은 成果를 올리

고 있다. FSH를 單用하는 경우, 發情週期の 5~14日사이의 적당한 시기를 택하여 오전과 오후에 一定量의 FSH를 4~5日間 投與한다. 오전과 오후의 投與量은 같으나 대체로 初日에는 5mg으로 부터 시작하여 每日 減量하여 2~1mg으로 끝낸다. 최초의 FSH投與後 48시간에 25~30mg의 $PGF_{2\alpha}$ 를 投與하는 것은 前述한경우와 같다(표1 참조). FSH와 同時에 LH를 併用하기도 한다. 이런 경우 FSH와 LH의 比率는 4:1이다.

黃體退行劑인 $PGF_{2\alpha}$ 를 性腺刺戟호르몬과 併用하면 黃體週期の 5~14日 사이에는 어느 時期에나 多排卵誘起가 가능하지만, 표 2에 의하여 알 수 있는 바와같이 發情週期の 第8日부터 第12日사이가 處理에 대한 卵

Table 1. Procedure of superovulation by treatment with FSH and $PGF_{2\alpha}$

July 27	July 28	July 29	July 30	July 31	Aug 1	Aug 2	Aug 3	Aug 4
1	2	3	4	5	6	7	8	9
FSH	FSH	FSH	FSH					
AM	AM	AM	AM	H	Br			
5	4	3	2mg					
			$PGF_{2\alpha}$					
PM	PM	PM	PM	Br	Ov			
5	4	3	2mg					

(Chung, unpublished)

Table 2. Ovarian responses in cattle treated with PMSG at various times of the estrous cycle and with PGF₂α days later

Criterion of response and/or additional treatment	Day of cycle at time of PMSG treatment						Beterener
	38		8 12		13 18		
	No. animals	% responding	No. animals	% responding	No. animals	% responding	
8 or more ovulations	32	31.3	58	74.1			Phillippo and
6 or more eggs recovered	32	34.4	58	60.3			Rowson 1975
6 or more fertilized eggs recovered	32	6.3	58	34.5			
3 or more ovulations	16	17.5	58	77.6	9	55.5	
		Av ovulation rate		Av ovulation rate		Av ovulation rate	

Table 3. Analysis of superovulation, recovery and fertilization rates in gonadotropin-treated prepubertal calves

Treatment ^a group	Ovulations X±S.D.	Recovered X±S.D.	Fertilized X±S.D.	Unfertilized X±S.D.
PMSG	2.0±2.9	1.1±2.2	0.3±0.5	0.9±1.9
PMSG+LH	11.3±23.0	8.0±16.0	5.6±11.0	2.4±5.1
FSH	2.0±2.5	1.4±2.7	0.3±0.8	1.1±2.6
FSH+LH	21.9±28.0	10.9±13.1	3.6±4.1	7.3±3.7

^a Seven animals per treatment group (Mickelsen et al., 1978)

Table 4. Effect of repeat superovulation on the number of mature follicle and the rate of ovulation

Superovulation of	Average days from previous treatment	No of cow	Total No of mature follicle	No of mature follicle per cow	Total No of corpus luteum estimated	Rate of ovulation
1st treatment		15	310	20.7±8.60	295	95.16
2nd treatment	98.8	15	301	20.1±8.42	286	95.02
3rd treatment	137.3	12	175	14.6±4.24	165	94.28
4th treatment	84.7	10	154	15.4±7.45	141	91.55
5th treatment	109.5	8	109	13.6±36.4	97	88.99

(Chung and Carmichael, unpublished)

巢의 反應이 가장 良好한 것으로 알려져 있다. 또 未經産牛의 경우는 PMSG나 FSH와 같은 性腺刺戟호르몬의 單獨投與보다는 이들 호르몬중의 어느 하나와 LH를 併用하는 편이 排卵成績이 良好한 것으로 알려져 있다(표 3 참조).

同一個體에 대하여 多排卵處理를 반복할 경우 處理間의 期間이 짧으면 호르몬에 대한 卵巢反應이 弱化되어 發育하는 卵胞數가 急減한다. 그러나 處理間隔을 90~100日 以上으로 擴大하면 反復處理에서 오는 卵巢反應의 弱化는 현저하게 방지된다(표 4 참조).

3. 受 精

多排卵處理를 실시한 다음 發情이오면 소위 standing estrus의 時期를 잡아 自然交配나 人工受精을 실시한다. 단 多排卵을 誘起시켰을 경우 最初의 排卵과 最後의 排卵 사이에는 24時間前後의 時間的 隔差가 있으므로 未受精卵의 發生을 防止하기 위하여 대략 8~12時間 間隔으로 연속 3회의 受精을 실시한다. 그러나 發情狀態가 長期間 持續될 때는 4회까지라도 精液을 注入하는 것이 안전하다. 이렇게 해도 20%前後의 卵子

는 未受精狀態로 回收되는 것이 보통이다.

性成熟에 도달하지 않은 幼若牝牛도 生後 1.5~2個月 以後부터는 投與하는 性腺刺戟호르몬에 反應하여 多數의 排卵이 일어난다. 그러나 精液을 子宮腔內에 까지 注入하지 않는 한 卵자의 受精은 전혀 이루어지지 않는다. 精液을 子宮腔內에 注入해도 受精率은 20%를 넘지 못한다는 報告가 있다.

한편 卵巢에서 體外로 回收된 卵자를 體外(in vitro)에서 受精시키려는 試圖도 實驗的으로는 성공을 거두었으나, 牛精자의 受精能力을 體外에서 獲得시킬 수 있는 簡便한 方法이 確立되지 않아, 今後의 研究에 期待할 수 밖에 없는 실정이다.

4. 採 卵

排卵된 卵자를 回收하는 方法에는 外科的 方法과 非外科的 方法이 있다.

(1) 外科的 方法

供試牛를 屠殺하여 卵자를 採取하면 卵자의 回收率은 높으나 供卵牛의 再利用이 不可能하므로 特殊한 경우를 제외하고는 이 方法을 피하고 있다. 그러나 供卵牛를 屠殺하지 않고 開腹手術을 실시하여 卵管이나 子宮을 灌流시키는 方法은 현재도 各種家畜에서 널리 利用되고 있다.

흔히 실시하는 開腹手術의 術式은 供卵牛를 仰臥位로 保定하여 全身麻醉를 시킨 다음 下腹部의 乳房前方正中線을 따라 10~15cm를 切開, 生殖器를 引出한 다

음 卵管이나 子宮을 灌流한다. 卵管灌流法에는 上向式과 下向式이 있으며 어느 方法에 의하든, 子宮灌流보다는 卵자의 回收率이 높으나 排卵後 4~5日後에는 卵자가 子宮內로 下降하므로, 이 期間 以後에 採卵코자 할 때에는 子宮灌流法을 채택해야 한다.

子宮灌流法에도 上向式과 下向式이 있으나, 어느 方法에 의하든 子宮內膜에 대한 損傷이 심한 데다가 卵자回收率도 卵管灌流法에 미치지 못한다.

外科的 方法에 의하여 卵자를 回收했을 경우의 回收率은 표 5에 표시된 바와 같이 36.9%로부터 77.7%에 이르기까지 報告者에 따라 차이가 있으나 최근 기술적인 改善이 이루어져 60~70%의 回收는 무난한 것으로 報告되고 있다.

(2) 非外科的 方法

소와 말과 같은 大動物에서 開腹手術을 실시하기 위해서는 特殊한 設備과 努力을 要求할뿐 아니라, 手術後生殖器가 癒着하여 同一個體에 대한 反復處理가 곤란하다는 難點이 있다. 이러한 難點을 克服하기 위하여 최근에는 手術을 하지 않고 子宮內에 下降한 受精卵을 回收하는 方法이 開發되었다. 즉, 採卵을 위하여 考案된 採卵器를 使用하여 子宮을 洗滌하는 方法으로, 採卵器에는 Two way式, three way式等 여러가지가 있다. 最近에는 人間の 膀胱洗滌器와 같은 構造를 가진 Foley Catheter를 使用하여 좋은 成績을 올리게 되었다(그림 4 참조). 이 方法의 概要를 說明하면 다음과 같다.

Table 5. Recent recoveries of embryos from superovulated cattle at surgery or slaughter

No donors flushed	Collection		Ovulations Total	Av/ flushed donor	Embryos and unfertilized ova recovered			Embryos recovered			References	
	Day	Method			Total	% Total ovulations	Av/ flushed donor	Total	% total recovered	% ovula- tions		Av/ flushed donor
44	2-11	Surgery and slaughter	454	10.3	210	46.3	4.8	154	73.3	33.9	3.5	Betteridge and Mitchell. 1974
10	3-6	Surgery	141	14.1	97	68.9	9.7	85	87.6	60.3	8.5	Elsden et al.1974
25	3-6	Surgery	462	18.5	184	39.8	7.4	166	90.2	35.9	6.6	Booth et al.1975
90	2-9	Slaughter	549	6.1	364	66.3	4.0	243	66.8	44.3	2.7	Testart 1975
98(cows)	2-5	Slaughter	347	3.5	254	73.2	2.6	201	79.1	57.9	2.1	Moore 1975
23(heifers)	2-5	Slaughter	157	6.8	122	77.7	5.3	116	95.1	73.9	5.0	Moore 1975
147			2308	15.7	1411	61.1	9.6	1235	87.5	53.5	8.4	Gordon 1976
21	2-7	Slaughter	182	8.7	91	50.0	4.3	38	41.8	20.9	2.3	Gordon 1976
34	10-16	Surgery	331	9.7	122	36.9	3.6	85	69.7	25.7	2.5	Gordon 1976
34	10-16	Slaughter	384	11.3	226	58.9	6.6	124	54.9	32.3	3.6	Gordon 1976
582	Usually	Surgery	—	10.15	—	59.67	—	—	58.78	—	—	Shea et al. 1976
27	7-12	Slaughter	264	9.8	165	62.5	6.1	114	69.1	43.2	4.2	Brand et al.1977

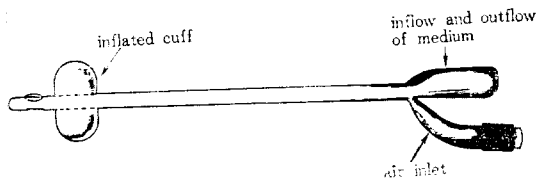


Fig. 4. Twoways Foley catheter(chung. unpublished)

家畜을保定한다. 4~7ml의 2% procaine을 脊髓에注射함으로써 直腸의蠕動을抑制한 다음 宿便을除去한다. 子宮頸擴張棒을使用하여 子宮頸管을擴張, Foley Catheter를子宮腔內에삽입한다. 이때삽입을 용이하게하기 위하여 Catheter內에가는鐵棒을삽입하여 Catheter를지지한다. Catheter의先端이 한쪽子宮角의基部에서 4~5cm 떨어진 위치에 도달하면空氣注入口를 통하여 20~30cc의 공기를 cuff에 넣어 팽창시킴으로서 Catheter를 고정시킨다. 鐵棒을 빼내고 그림 5에서 보는 바와 같이 洗滌液과 採取管으로 동시에 연결된 Vinyl Catheter管과 연결시킨다. 採取管으로

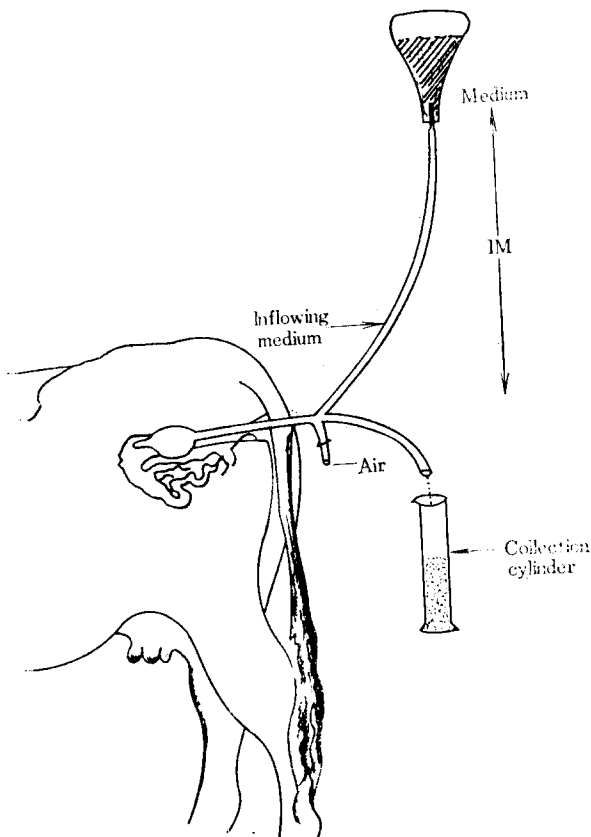


Fig. 5. Non-surgical embryo recovery(Elsden et al., 1976)

로 연결된 管을 차단한 다음, 洗滌液과 연결된 管을 洗滌液이 子宮角內에 注入된다. 子宮角에 가벼운 按摩를 가한 다음, 洗滌液과 연결된 管을 차단하고 採取管과 연결된 管을 開口하면 卵子를 含有한 子宮角內의 洗滌液이 流出되어 採取管에 고인다. 이液을 一定時間(30分以上) 放置한 다음 管의 低面에 있는 液으로부터 一定量 Peri dish에 취하여 Stereomicroscope下에서 40~60배로 확대하여 卵子를 찾아 保存液으로 옮겨 移植時까지 保存한다.

이 方法에 의하여 卵子를 回收할 때에는 排卵後 5日以上 경과한 다음이 아니면 안된다. 그것은 그림 6에 의하여 알 수 있는 바와 같이 排卵된 卵子의 대부분이 卵管을 통과하여 子宮內에 進入하는 때에는 5日以上 걸리기 때문이다. 대체로 排卵後 5~6日째에 이 方法으로 卵子를 採取하면 好結果를 期待할 수 있다.

이 方法에 의하여 卵子를 採取하였을 때의 成績은 표 6에 의하여 알 수 있는 바와 같이 外科의 方法에 의했을 때보다 다소 떨어지는 경향이 있으나, 그 차이는 근소할 뿐 아니라, 綜合的으로 考察할 때 후자보다 簡便하고 效率的인 方法이라 하겠다.

5. 採取된 卵子의 檢査

採取된 卵子를 모두 移植에 活用할 수 있는 것은 아니다. 未受精卵을 除去해야 함은 勿論이요, 形態的으로 異狀이 있는 受精卵도 移植에 活用하지 않는 것이

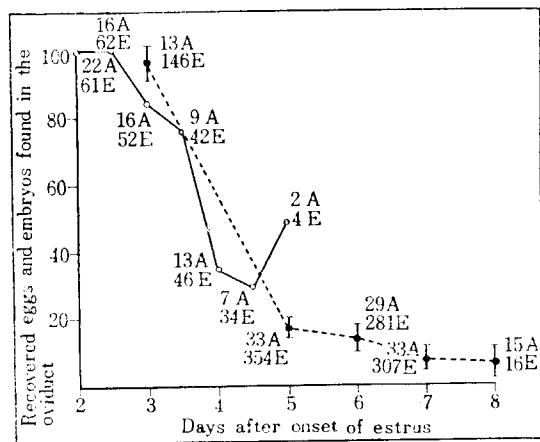


Fig. 6. The location of eggs and embryos flushed from cattle 2~8 days after estrus.

Data from Moore, 1975(○—○); and Newcomb, Rowson and Trounson, 1976(●—●) Numbers of animals (A) and eggs/embryos (E) from which each point is derived are indicated. Vertical bars indicate SE of mean.

Table 6. Recovery rates for ova and fluid from superovulated heifers

Item	Nonsurgical recovery (15) ^a			Surgical recovery (29)		
	Mean	S.D.	Range	Mean	S.D.	Range
No. ova recovered/heifer	6.3	±4.4	1-14	6.2	±5.5	0-21
No. corpora lutea/heifer ^b	12.2	±4.9	1-22	9.9	±6.3	1-29
Index of recovery of ova/ heifer(%) ^c	54	±29	13-100	58	±29	0-100
Fluid inserted/heifer(ml)	933	±280	543-1390	—	—	—
Fluid recovered/heifer(%)	92	±6	78-99	—	—	—
% Of recovered ova/heifer which were in:						
1st flush	31	±31	0-100	—	—	—
2nd flush	27	±20	0-60	—	—	—
3rd flush	17	±23	0-75	—	—	—
4th flush	4	±8	0-22	—	—	—
5th flush	21	±22	0-67	—	—	—

(Rowe et al., 1976)

^a No. of heifers in parenthesis.

^b No. of corpora lutea estimated by laparoscopy in 11 heifers and by recta palpation in 4 heifers for nonsurgical recovery and by visual inspection for surgical recovery.

^c No. ova recovered ÷ estimated no. corpora lutea × 100.

Table 7. The effect of embryo quality on pregnancy rate

Embryo Quality	Number of embryos transferred	Number of Pregnancies	Percent
Good	1809	1272	70 ^a
Fair, Poor	694	380	55 ^b
Totals	2503	1652	66

^{a, b} Pregnancy rates with different superscripts are significantly different ($P < .05$) (Schneider et al., 1980)

Table 8. The effect of embryo stage on pregnancy rate

Stage	Number of embryos transferred	Number of Pregnancies	Percent
Early Morula	586	359	61 ^a
Late Morula	1178	792	67 ^b
Early Blastocyst	600	402	67 ^b
Late Blastocyst	139	99	71 ^b
Totals	2503	1652	66

^{a, b} Pregnancy rates with different superscripts are significantly different ($P < .05$) (Schneider et al., 1980)

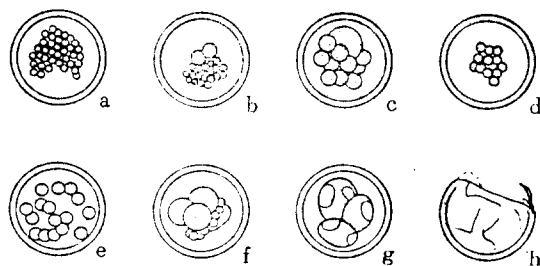


Fig. 7. Morphologically abnormal embryos. a' Tight morula with oval zona; b, morula with excluded blastomeres; c, irregular blastomeres; d, morula with debris; e, loose blastomeres; f, irregular cell mass; g, vacuoles in cytoplasm; h, cracked, empty zona pellucida. (Sugie et al., 1980)

중다. 受精卵의 形態의 異狀은 移植後의 妊娠率을 低下시키는 決定的 要因이 되기 때문이다(표 7 참조). 각종 形態의 異狀을 圖示하면 그림 7과 같다.

한편 受精卵의 發達段階도 移植後의 妊娠率에 影響을 미친다. 一般的으로 2~16細胞期나 桑實期보다는 胚盤胞期까지 發達한 受精卵을 移植하였을 때의 妊娠率이 높은 것으로 알려져 있다.

以上과 같은 점을 勘案할 때 機能的으로나 形態의으

로 正常的인 受精卵을 選別하여 移植하는 것은 受精卵 移植技術의 성공을 위해서 매우 중요한 作業의 하나임에 틀림없다. 그러나 이러한 作業을 완벽하게 실시할 수 있는 方法은 아직 確立되어 있지 않다. 移植用 卵자를 損傷하지 않고 그 受精卵의 生死如否를 단시간에 判明할 수 있는 간단한 方法은 없기 때문에 卵자의 生存에 惡影響을 미치지 않도록 주의하면서 顯微鏡下에서 形態의으로 正常的인 受精卵을 선발하여 移植하는 것이 현재의 실정이다. 그러나 형태적으로 正常的인 卵자라고 하여 모두 正常的인 受精卵이라고 볼수는 없다 凍結處理를 받은 受精卵은 形態의으로는 하등의 異狀이 없음에도 불구하고 이미 死滅했거나 發達能力을 喪失한 것도 많기 때문이다.

6. 受精卵의 體外保存

受精卵을 移植하는 受精卵의 日齡과 受精卵을 받아 들이는 母體의 排卵後의 經過日數가 一致하지 않으면 안된다. 그러나 受精卵을 採取當時의 狀態로 體外에서 長期的으로 保存할 수 있다면 受卵牛의 排卵後의 經過日數가 受精卵의 日齡과 같아질 때까지 待期하였다가 移植할 수 있기 때문에 供卵牛와 受卵牛의 發情週期를 同期化시키기 위한 특별한 處理를 하지 않아도 되고 또 卵자의 國際的 輸送도 가능하여지기 때문에 受精卵 移植技術의 產業的 利用價値는 그만큼 높아질 것이다.

(1) 37°C에서 保存

採取된 受精卵은 生理的 適溫인 37°C에서 保存하였을 때 保存期間의 經過에 隨伴되는 移植後 受胎率의 變化는 表 9에서 보는 바와 같다. 적어도 保存 7時間까지는 受胎率의 有意한 低下가 인정되지 않는다. 그러나 아무리 주의를 해도 37°C에 있어서의 受精卵 保存時間이 24시간을 經過하면 移植後의 受胎率은 低下한다. 따라서 受精卵을 37°C에서 保存할 수 있는 時間上의 上限은 소 24時間, 산양 7時間, 돼지 48時間, 면

Table 9. Effect of duration of storage on the fecundation rate

Duration of storage	No. eggs transferred	No. pregnancy	Rate of fecundation
1	19	10	52.6
2	243	122	50.2
3	237	96	40.5
4	145	61	42.1
5	57	16	28.1
6	21	8	38.1
7	8	4	50.0
Total	730	317	43.4 (average)

(金川, 1976)

양 120時間으로 비교적 짧다. 그러나 소의 受精卵은 結紮된 토끼 卵管內에 넣어 保存하면 72시간 保存한 다음에도 80%의 卵자는 受胎能力을 保存한다.

(2) 低溫保存

卵자의 代謝를 억제하여 그 生存을 연장시킬 목적으로 生理溫度인 37°C보다 낮은 溫度에서 長期間保存하려는 努力도 상당히 良好한 結果를 얻고 있다. 受精卵을 15~20°C에서 保存하면 24시간 以內에서는 移植後의 受胎能力에 큰 影響을 미치지 않는다. 그러나 保存溫度를 0°C로 낮추면, 移植後의 受胎率은 다소 떨어지나 數日間 保存이 가능해진다. 그러나 돼지의 受精卵은 15°C以下에서는 生存이 불가능하다.

소의 胚盤胞를 0°C에서 2分부터 48時間까지 保存하였을 때, 이러한 冷却處理가 胚發達에 미치는 影響은 表 10에서 보는 바와 같다.

(3) 凍結保存

受精卵을 마치 凍結精液처럼 -196°C의 超低溫에 保存하여 受胎能力을 永續化시키려는 研究는 1970年代초 반부터 시도되었다. 그러나 低溫衝擊에 의한 受精卵의

Table 10. Development of cow blastocysts in culture for 24 hours after cooling to 0°C.

Age of embryo	Stage development before cooling*		Storage time at 0°C	Development in culture after cooling		
	Early	Expanded		No. degenerate	No. partly developed	No. normal(%)
Day 6	6	6	2 min	5	1	6(50)
Day 7	12	2	30 min	0	1	13(92)
Day 7	8	10	24 hr	3	3	12(67)
Day 7	11	12	48 hr	6	6	11(48)

(Trounson et al., 1976)

* In the four groups, 12, 2, 10 and 13 embryos, respectively, had been cultured for 24 hours to the blastocysts stage before cooling.

Table 11. Results of bovine embryo transfer following freeze storage at -196

Stage of embryo	No. embryo transferred	No. of transfer	No. of pregnancy	No. of calving	References
Blastocyst	21	11	1	1	Wilmot & Rowson(1973)
Morula & blastocyst	23	17	6	—	Bilton & Moore(1977)
Morula blastocyst	8	5	1	1	Moore & Bilton(1977)
	8	6	4	4	
Blastocyst	23	11	8	10	Willadsen(1977)
Blastocyst	46	35	13	—	Willadsen et al.(1977)

低抗性은 精子의 그것에 비하여 훨씬 微弱하기 때문에 현재까지도 技術上의 完全한 성공을 보지 못한 채 완만한 改善이 이루어지고 있는 실정이다. Whittingham (1971)이 생쥐 卵子의 凍結保存에 성공한 이래 技術의 進展이 급속도로 이루어져 소의 受精卵를 凍結保存하는데 성공했다는 事例도 계속 報告되었다(표 11 참조)

受精卵의 凍結保存을 위하여 Computer를 장치한 凍結器가 開發되었으며 Jensen等(1980)은 자신들이 제작한 凍結器를 사용하여 소의 受精卵를 -196°C 에서 凍結保存한 다음, 이것을 移植하여 75%라는 良好한 成績을 얻고 있다(표 12, 13, 14 참조). 그러나 표 14에

Table 12. Cattle blastocysts frozen in 1.5M DMSO/PBS. Cooling/freezing: $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ to -7°C , seeding $0.3^{\circ}\text{C}/\text{min}$ to -36°C , 0.1°C to -60°C , LN2 -196°C . Thawing: $4^{\circ}\text{C}/\text{min}$ from -50°C to -10°C . Direct water at 20°C . Addition and dilution of DMSO: Room temperature

	Frozen	Thawed	Survived*	%	Transferred**	Pregnant	%
Ampoule	41	41	30	73	19	9	42

* Evaluation after 4–8h culture in PBS+20% FCS at 37°C .

** Surgical transfers. Flank incision(Lehn-Jensen, 1980)

Table 14. Cattle blastocysts frozen in 1.5M DMSO/PBS. Cooling/freezing: $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ to -7°C , seeding $0.3^{\circ}\text{C}/\text{min}$ to -30°C , $0.1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ to -40°C , LN2 -196°C . Thawing A: $80^{\circ}\text{C}/\text{min}$ from -35°C to -10°C . Direct water at 37°C , or B: Direct water at 37°C . Addition and dilution of DMSO: Room temperature

	Frozen	Thawed		Survived*		%		Transferred**		Pregnant	%
		A	B	A	BB	A	B	A	A		
Ampoule	31	20	11	13	3	65	26	4	3	75	
Straw	14	3	11	2	2	66	18	—	—	—	
Total	45	23	22	15	5	65	23				

* Evaluation after 4–8h culture in PBS+20% FCS at 37°C

** Surgical transfers. Flank incision. (Lehn-Jensen, 1980)

Table 13. Cattle blastocysts frozen in 0.5M DMSO/1.0M glycerol/PBS. Cooling/freezing: $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ to -7°C , seeding $0.3^{\circ}\text{C}/\text{min}$ to -30°C , 0.1°C to -40°C , LN2 -196°C . Thawing: $8^{\circ}\text{C}/\text{min}$ from -35°C to -10°C . Direct water at 37°C . Addition and dilution of DMSO/glycerol: Room temperature

	Frozen	Thawed	Survived*	%
Ampoule	21	20	9	43
Straw	8	8	3	38
Total	29	28	12	41

* Evaluation after 12–24h culture in PBS+20% FCS at 37°C . (Lehn-Jensen, 1980)

의하여 알 수 있는 바와 같이, 75%이라는 成績은 供試動物頭에서 얻은 成績이기 때문에 信賴性이 낮고 아직 追試한 成績도 報告되고 있지 않아, 그들의 성공을 再確認하기 까지는 다소 시간이 필요할 것 같다.

7. 發情週期的 同期化

既述한 바와 같이 受精卵를 移植할 때에는 移植하고자 하는 受精卵의 日齡이 受卵牛의 排卵後의 日數와一致하지 않으면 안된다. 供卵牛와 受卵牛의 發情週期的 同期化程度가 移植後의 妊娠率에 미치는 影響은 표 15

Table 15. The effect of recipient synchrony on pregnancy rate

Donor/Recipient synchrony	Number of embryos transferred	Number of pregnancies	Percent
-12	475	312	66 ^a
0	1488	996	67 ^a
+12	593	362	61 ^b
Totals	2556	1670	65

^{a, b} Pregnancy rates with different superscripts are significantly different ($P < .05$) (Schneider et al., 1980)

에서 보는 바와 같다. 이 표에 의하여 알 수 있는 바

와 같이 供卵牛와 受卵牛의 發情週期는 完全한 一致가 가장 바람직하며 ± 12 時間의 差異에서 受胎率은 低下하기 시작하고 ± 24 時間 以上으로 擴大되면 受胎率의 顯著한 저하가 나타난다. 따라서 供卵牛와 受卵牛의 發情週期는 尙급적 一致시킬 必要가 있다.

受精卵을 凍結保存만 시킬 수 있다면, 受精卵의 日齡을 確認한 다음 受卵牛의 排卵後의 日數가 受精卵의 日齡과 일치하는 時期를 기다렸다가 移植하면 되므로 尙급적 發情週期를 同期化시킬 必要는 없을 것이다. 그러나 凍結處理를 받은 受精卵의 受胎能力을 確認할 수 없는 現在로서는 尙급적 供卵牛와 受卵牛의 發情週期를 人위적으로 同期化하여, 採取된 受精卵을 尙급적 빠른 時期에 移植할 수 밖에 없는 실정이다. 供卵牛와

Table 16. Time interval between injection of $PGF_{2\alpha}$ and onset of estrus

Group	No. of treatments	Interval between $PGF_{2\alpha}$ and onset of estrus (hours)							
		0-12	13-24	25-36	37-48	49-60	61-72	73-96	>96
Donors									
No estrogen	37	2.7 ^a	8.1	10.8	59.4	8.1	8.1	—	2.7
Estrogen	21	—	—	14.3	47.6	23.8	9.5	—	4.8
Total	58	1.7	5.2	12.1	55.2	13.8	8.6	—	3.4
Recipients									
No estrogen	32	18.8	—	—	40.6	9.4	12.5	12.5	6.3
Estrogen	88	—	2.3	4.5	34.1	34.1	15.9	1.1	8.0
Total	120	5.0	1.7	3.3	35.8	27.5	15.0	4.2	7.5
All treatments	178	3.9	2.8	6.2	42.1	23.0	12.9	2.8	6.2

^a Percent of animals in estrus. (Cupps et al., 1973)

Table 17. Induction and synchronization of estrus after administration of prostaglandin $F_{2\alpha}$ in dairy cattle

Treatment	Animal number	Age (month)	Reproductive history	Ovarian condition	Days to the onset of estrus						
					1	2	3	4	5	6	Negative
II	1	15	Heifer	CL*							0
	2	14	Heifer	CL							0
	3	30	Multiparous	CL			0				
	4	46	Multiparous	CL			0				
	5	32	Multiparous	CL			0				
	6	18	Heifer	CL				0			
	7	35	Multiparous	CL			0				
	8	60	Multiparous	CL		0					
	9	68	Multiparous	CL				0			
	10	53	Multiparous	CL			0				
Total	10					1	5	2			2

* CL means palpable functional corpus luteum

(Chung, 1979)

受卵牛의 發情週期를 同期化시키는 方法도 여러가지가 있으나 현재로서는 黃體退行劑인 PGF₂α를 使用하는 方法이 가장 일반화되어 있다. 즉 供卵牛에게 PMS를 投與한 時點으로부터 36~48時間後에 25~30mg의 PGF₂α를 受卵牛에 筋注하면 供卵牛와 같은 時期에 發情이 온다. PGF₂α를 投與받는 受卵牛는 發情週期の 第 5日 부터 第14日사이에 있는 個體면 어느 것이나 可能하다 PGF₂α 투여후 發情發現까지의 期間은 표 16에서 보는 바와 같이 25~60時間 前後이다. 즉 PGF₂α投與日로부터 3日째까지 80%以上에서 發情이 온다(표 17 참조). PGF₂α의 投與量은 頭當 15mg以上이면 족하다고 하나 筋注의 경우 25~30mg을 投與하는 것이 보다 確實한 結果를 招來할 수 있다.

8. 受精卵의 移植

正常的인 受精卵과 發情週期가 同期화된 受卵牛가 準備되면 가능한한 신속하게 移植할 필요가 있다. 受精卵을 移植하는 方法에도, 採卵의 경우와 같이, 外科的인 方法과 非外科的인 方法이 있다.

(1) 外科的 方法

소의 受精卵을 外科的으로 移植할 때에는 腹部正中

線을 切開하는 方法과 臍部를 切開하는 方法이 있다. 正中線을 切開할 때에는 全身麻酔와 局所麻酔를 同時에 실시하기 때문에 特殊한 시설과 人力이 必要하여, 昨今에는 이 方法은 거의 利用되지 않고 있다. 한편 臍部를 切開할 때에는 Rompun에 의한 가벼운 全身麻酔와 2%의 Procaine이나 Lidocaine에 의한 臍部局所麻酔로 충분하기 때문에 特殊한 시설도 필요없을뿐 아니라 操作이 간편하여 短時間에 移植할 수 있다는 利點이 있어, 現在 外科的으로 受精卵을 移植할 때에는 주로 이 方法에 따르고 있다. 이 方法을 좀더 具體的으로 說明하면 다음과 같다.

24時間以上 絶食과 絶水를 시킨 受卵牛를 保定한다 體重에 따라 差가 있겠으나 1~1.5ml의 Rompun으로 가벼운 全身麻酔를 실시한다. 이어 黃體가 存在하는쪽의 臍部에 2% procaine을 投與하여 局所麻酔를 실시한다. 가급적 後軀에 가까운 부위를 上下로 10~15cm 切開한다. 卵管子宮接續部를 잡아 體外에 露出시킨 다음, 子宮角先端을 血管을 피해 穿刺한다. 이어 0.2~0.25ml의 保存液과 함께 受精卵을 micro pipette으로 吸引한 다음 이미 穿刺된 곳을 통해 이 micro pipette先端을 통과시켜 卵子를 移植한다. 子宮을 原位置로

Table 18. Recent results of surgical embryo transfers in cattle in which donors and recipients were synchronous 1 day

Day of transfer (donor)	Embryos per recipient	No. recipients	Pregnancies		Transferred embryos surviving		Criteria of pregnancy and comments	Reference
			No.	%	No.	%		
4-5	2	11	10	90.9	10	45.5	Calving	Rowson et al. 1969
4-7	2	32	22	68.8	36	56.2	Calving (8 cases) Slaughter d 60-90 (13 cases) Abortion (1 case)	Rowson et al. 1971
3-7	1.2	69	46	66.7	—	—	Calving and slaughter	Rowson, Lawson, Moor and Baker, 1972
4-8	1.3	31	27	87.1	33/43	76.7	In 23 slaughtered α 40	Sreenan and Bechon. 1974
4-7	1.2	378	220	68.2	203/362 21/55	56.1 38.2	Singles { Twins {see also Table 10	Nelson et al. 1975
3-7	2		52		86	83.0	Slaughter d 27-117 (39 cases), calving (13 cases): unsuccessful transfers not enumerated	Sreenan and Beehan. 1976
10-16	1	75	36	48.0	36	48.0	Palpation α 50	Betteridge et al. 1976
10-16	2	17	13	76.5	—	—		
4-7	1	68	36	52.9	36	52.9	Palpation d 50	ADRI, unpublished
4-7	2.3	9	7	77.8	—	—		
5 (usually)	1	2016	1167	57.6	1162	57.6	Palpation; selected morulae	Shee et al. 1976
5	1	239	131	54.7	131	54.7	Palpation; flank approach. paravertebral anesthesia	Hansen. 1976
5	2	48	36	75.0	55	58.3	Palpation d 45-60	Anderson et al. 1976

還元시킨 다음, 臍部の 切開部를 縫合하면 移植이 끝난다. 熟達되면 8~13분에 모든 조각을 끝낼 수 있다.

上述한 外科의 方法에 의하여 受精卵을 移植하였을 때의 受胎率은 표 18에서 보는 바와 같다. 移植後의 胚生存率은 38.2%에서 83.0% 까지 報告者에 따라 差異가 현저하다. 이러한 差異는 移植前 卵子の 生存如否에 대한 評價基準과 技術熟練度의 差에 起因하는 것으로 생각된다. 最近 外科의 方法에 의하여 商業的으로 受精卵을 移植하여온 Rio Vita社의 成績을 보면 표 19에서 보는 바와 같이, 移植後의 妊娠率을 대체로 61~65%前後로 보아 무방할 것 같다.

(2) 非外科의 方法

受精卵移植을 위하여 受卵牛를 手術하는 것은 操作上으로도 불편할 뿐 아니라, 이 技術의 産業化 내지는 一般化를 막는 重要한 要因이 되고 있다. 따라서 이 分野에 종사하는 研究者는 非外科的으로 移植할 수 있는 方法의 開發에 진력하여 왔으며, 昨今에는 매우 좋은 結果를 얻기에 이르렀다.

非外科의 方法으로 受精卵을 移植하는 方法을 最初로 考察한 사람은 日本의 杉江였다. 그는 그림 8과 같이 腔上壁을 통하여 子宮腔內로 侵入시킨 수 있는 管針을 통하여 子宮頸을 經由하지 않고 受精卵子를 移植하는 方法을 開發하였다. 굳이 子宮頸을 跨하는 것은, 受精卵을 子宮頸을 통하여 注入하였을 경우 子宮筋層의 收縮에 의하여 注入된 受精卵이 腔內로 排出되기 때문이다. 그러나 杉江의 方法은 操作이 어렵고 移植成績도 50%를 넘기 어려운 難點이 있다. 더구나 受卵牛에서 排卵이 일어난 날자로부터 5日以上 經過하면, 새로 형성된 黃體에서 分泌되는 progesterone의 作用에 의해 子宮筋의 收縮이 抑制되어 注入된 受精卵을 排出하지 않는다는 사실이 確認되면서부터, 杉江의 方法은 注目을 끌지 못하고, 마치 人工受精과 같이 子宮頸管

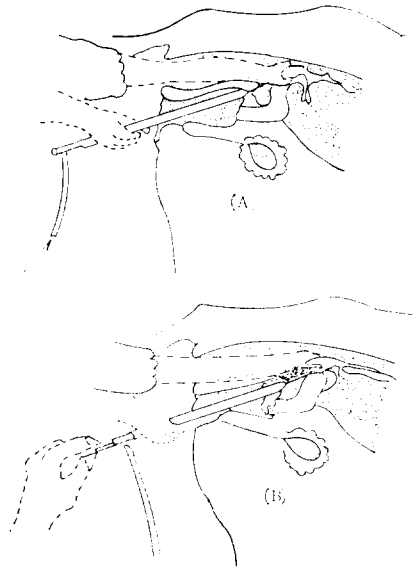


Fig. 8. Diagram of non-surgical techniques used for ova transfer in cattle (Sugie, 1980)

을 경유하여 受精卵을 移植하여 상당히 좋은 成績을 얻게 되었다. 이 方法을 좀더 구체적으로 설명하면 다음과 같다.

受卵牛에 대한 特別한 조치는 필요로 하지 않는다. 氣質이 특히 敏感한 個體는 가벼운 保定을 실시하기도 한다. 受精卵을 0.2~0.25ml의 保存液과 함께 0.5~0.25ml의 straw에 吸入한 다음 이 straw를 精液注入用 cassou gun에 장치한다. 直腸檢査를 할 때와 같이 直腸에 손을 넣어 子宮頸을 把握한 다음 다른 손으로 cassou gun을 잡아 腔을 통하여 子宮頸管經由로 子宮腔內에 삽입한다. 黃體가 存在하는 쪽의 子宮角을 擇하여 cassou gun의 先端이 子宮角基部로부터 最少 5cm 이상 들어간 位置에서, 精液注入時와 같은 要領으로 straw內의 受精卵을 注入한 다음, 민첩하게 cassou gun을 뺀다. cassou gun을 子宮腔內에 삽입해서 빼기까지의 時間은 짧을수록 좋다.

이 方法이 最初로 開發되었을 때의 移植에 의한 受胎率은 표 20과 표 21에 표시된 바와 같이 比較的 低調한 것이 있다. 그러나 時間의 經過와 더불어 成績도 점차 향상되어 왔고 最近에는 75%의 높은 受胎率을 얻었다는 報告도 있다(표 22 참조).

9. 雙胎誘起

受精卵 移植技術을 活用하여 人爲的으로 雙胎를 誘起하려는 努力이 오래전부터 試圖되어 왔다.

雙胎誘起를 위하여 最初로 試圖되었던 方法은 發情

Table 19. Rio vista embryo transfer production data from 1976 through 1978

Year	Number of embryos transferred	Number of Pregnancies	Percent
1976	1959	1240	63
1977	2861	1851	65
1978 ^a	3094	1888	61
Totals	7914	4979	63

^a The 1978 results include 568 embryos transferred nonsurgically at a lower success rate(44%, 247 pregnancies/568 embryos transferred). The surgical rate was 1641/2527 for 65%. (Schneider et al., 1980)

Table 20. Results of non-surgical embryo transfer in cattle

Technique	Day of transfer	Embryos per recipient	No. recipients	Pregnancies		Transferred embryos surviving		Criteria of pregnancy	Comments	References
				No.	%	No.	%			
Simple pipette rigid or flexible	2-6	2.3	8	3	38			Calvings? and 1 abortion	CO ₂ insufflation	Rowson and Moor (1966c)
	6-9	1	20	7	35	7	35	Slaughter after	Control	Lawson, Rowson, Moor and Tervit. 1975
	3-5	1	10	1	10	1	10	3 months	Control	
	6-9	1	10	1	10	1	10		CO ₂ inflation	
	3-5	1	10	0	0	0	0		CO ₂ inflation	
	6-9	1	20	8	40	8	40		Fluothane anesthesia	
	3-5	1	10	1	10	1	10		Fluothane anesthesia	
	4-7	1.4	14	6	43	9	27	1 slaughter and 45:5 calvings		Testart. 1975
	5-10	1 added	17	(11)	(65)	3	18	Calvings and 1 abortion	Bred recipients	Testart. Godard Siour and du Mesnil du Buisson. 1975
	6-8	1 added	15	(10)	(67)	7	47	Calvings and 1 abortion	Bred recipients	Testart. Godard. Siour and du Mesnil du Buisson. 1976
	4-7	1	42	10	24	10	24			Hahn et al. 1975
	4	1	13	1	8	1	8			
	5-6	1	47	20	43	20	43			
	5-6	1 added	26	(14)	(54)	3	12	Slaughter and 30.40	Bred recipients. direct transfer	Boland et al. 1976
	5-6	1 added	22	(15)	(68)	9	41		Bred recipients. after culture in rabbit	

Table 21. Pregnancy Rates from Non-surgical Transfer of Bovine Embryos

Treatment	Numbers of Recipients ^a	%Pregnant ^b
Morula	57	18
Blastocyst	38	21
Antibiotics	24	25
No Antibiotics	71	17
CL left	43	14
CL right	49	22
Technician A	22	27
Technician B	52	13
Technician C	17	18
Problem Transfers	7	0
Normal Transfers	88	20

(Bowen et al., 1978)

^a Numbers do not always sum to 95 because sufficient information was not recorded in several instances.

^b There were no significant treatment differences (χ^2) for any comparison ($P > .05$).

Table 22. Pregnancy rates after surgical and nonsurgical transfer

Group	Transfer technique	Position of embryo placement	Pregnant at 40 days	
			No. pregnant/No. of heifers	%
A	Surgical	High*	12/20	60
B	Surgical	Mid+	9/20	45
C	Nonsurgical	Mid	15/20	75
D	Surgical (sham nonsurgical)	Mid	6/20	30††

* 2 to 3cm from uterotubal junction. + Approximate region of external uterine bifurcation. †† $\chi^2 = 9.04$, $p < 0.05$ (Rowe et al., 1980)

週期の第15~16日に PMSG를 投與하여 多排卵을 誘起하는 것이었다. 그러나 이 處理에 의하여 多數의 卵자가 排卵되고 또 受精도 이루어지며 着床까지는 진행

Table 23. Twin pregnancy rates following surgical embryo transfer in cattle

No. recipients	No. ova and site of transfer		Pregnancy rate %	Twinning rate of pregnant recipients. %	Reference
	+CL	-CL			
11	2	—	90.9	0.0	Rowson et al. 1969
15	2	—	66.6	50.0	Rowson et al. 1971
17	1	1	70.5	75.0	
9	1	1	66.6	50.0	Tervit, Whittingham and Rowson, 1972
31	1	1	87.0	68.4	Sreenan and Beehan, 1974
55	1	1	70.9	66.6	Sreenan et al. 1975
19	M ¹	1	57.9	27.3	Gordon, 1976a
21	M ²	1	66.7	64.3	Boland et al. 1976a
135	1	1	72.0	71.0	
17	1	1	76.5	—	Betteridge et al. 1976
9	1	1	77.8	60.0	
48	1	1	75.0	52.8	Anderson et al. 1976

¹ Recipients mated before transfer.

² Ova transferred to rabbits and then to mated recipient cows.

되나 單胎動物인 소의 子宮이 胎兒를 育成시킬 수 있는 能力에는 限界가 있어 胎兒는 發育途中에 대부분 退化해 버리므로 기대하는 성적을 얻을 수 없다는 사실이 알려졌다. 이러한 結果에 따라 性腺刺戟호르몬의 投與量을 적게 하여 2~3個의 排卵만을 誘起하는 最少多排卵法이 시도되기도 했었다. 그러나 호르몬에 대한 反應이 個體에 따라 相異한 뿐만 아니라, 2個의 卵子가 排卵된다해도 모두 한쪽 卵巢에서 배란되어 한쪽 子宮角에 着床하는 生理를 調節할 수가 없어서 역시 이 方法으로도 좋은 成績을 얻을 수가 없었다.

以上과 같이 호르몬處理에 의한 雙胎의 人爲的 誘起에는 限界가 있음이 규명된 후, 受精卵移植技術을 活用하여 양쪽 子宮角에 하나씩 受精卵을 移植하는 方法이 試圖되어 좋은 成績을 얻게 되었다. 표 23에 의하여 알 수 있는 바와 같이 양쪽 子宮角에 각각 하나씩 受精卵을 移植하였을 경우 妊娠率은 66.6~90.9%로 매우 높으며, 그중 雙胎率도 最高 75.0%에 달하고 있

다. 70.5%의 妊娠率에 75%의 雙胎率이면 송아지 分娩率은 약 128%가 넘기 때문에 家畜의 生産性向上에 크게 기여할 수 있는 가능성을 시사한다. 그러나 이경우 移植은 完璧한 實驗條件下에서 外科的 手術에 의해서 실시된 實驗結果이므로 農場條件下에서의 成績은 이보다 훨씬 떨어질 것으로 예상된다.

最近에는 前述한 方法과 類似하나, 受精卵을 兩側子宮角에 하나씩 移植하는 대신에 自然排卵된 卵子를 活用하는 方法이 시도되고 있다. 즉, 受卵牛가 發情이 오면 人工授精을 실시하여 하나의 受精卵을 自然的으로 만들어 둔 다음, 黃體가 있는 卵巢의 반대쪽 子宮角에 하나의 受精卵을 移植하는 方法이다. 이 方法에 의했을 때의 受精率과 雙胎率은 표 24에서 보는 바와 같다. 표의 下端에 표시된 바와 같이 妊娠率은 55%이며, 雙胎率은 44%이다. 自然排卵된 卵子 外에 추가로 移植한 卵子가 49個인데, 그중 雙胎가 된 것은 12頭이므로, 일단 移植한 卵子가 妊娠과 연결된 것은 24%로 보아야 한다. 따라서 이 方法에 의했을 경우 移植한 卵子의 生存率은 매우 낮다고 볼 수 있다. 그러나 이 成績은 표 23의 成績과는 달리 非外科的 方法에 의하여 移植이 이루어졌고, 또 農場條件下에서 實施된 結果이므로 이것과 표 23의 結果를 직접 비교할 수는 없다.

Table 24. Non-surgical transfer results

No. recipients	No. embryos	Transfer site	Preg. rate (%)	Twin rate (%)	Transferred embryo survival (%)
*10	1	+CL	6/10(60)	—	6/10(60)
**49	1	-CL	27/49(55)	12/27(44)	12/49(24)

* This group were non-inseminated

** This group were previously inseminated (Sreenan, 1978)

III. 問題點과 展望

(1) 問題點

以上에서 受精卵移植에 關한 技術의 概略을 살펴 보았다. 前述한 바와 같이 이 技術은 外國에서는 이미 産業化의 단계로 접어들고 있지만, 이 技術이 家畜增殖의 技術로서 一般化되기 위해서는 今後 解決해야 할 問題點이 많다.

첫째, 良質의 受精卵을 多數 確保할 수 있는 確實한 方法이 確立되어야 한다.

둘째, 受精卵의 質을 客觀的이고 正確하게 判定할 수 있는 簡單한 方法이 開發되어야 한다.

셋째, 受精卵을 精子와 같이 超低溫에서 受胎能力을 損傷시키지 않고 長期間 保存할 수 있는 方法이 確立되어야 한다.

넷째, 非外科的인 採卵과 移植의 成功率를 提高할 수 있는 보다 簡單한 方法이 開發되어야 한다.

(2) 今後의 展望

以上에서 지적한 問題點들은 이미 상당수준까지 改善되었거나 조만간 改善될 展望이다. 특히 最近 外國의 研究陣은 그림 8에 提示한 바와 같은 일련의 연속된 操作에 의하여, 受精卵移植技術을 오늘날의 人工受精과 같이 지극히 簡單한 家畜의 增殖技術로 발전시키고자 努力하고 있다. 즉, 生後 一定月令이 경과한 牝牛의 卵巢를 切除, 이것을 in vitro에서 消化하여 수만 수 십만개의 原始卵子를 回收한 다음 이것을 受精可能

한 段階인 卵娘細胞로까지 發達시킨다. 여기에 in vivo에서 受精能力을 獲得한 精子를 注入하여 소위 試驗管內 受精을 完成시킨다. 이어 이들 受精卵을 역시 in vitro에서 移植可能한 단계인 桑實期나 胚盤胞期까지 發達시킨 후 이것을 -196°C 의 超低溫에서 凍結保存한다. 이들 受精卵의 日齡과, 排卵後의 經過日數가 같은 受卵牛가 나타나면, 凍結된 卵子를 溶해하여 子宮頸管을 통하여 非外科的으로 移植한다는 것이다. 이러한 各 段階中, 卵巢로부터 原始卵子를 回收하거나 回收된 原始卵子를 卵娘細胞까지 발달시키는 일, 또 受精된 卵子를 桑實期나 胚盤胞까지 發達시키는 일 및 이것을 超低溫에서 保存하고 非外科的으로 移植하는 일 등은 이미 實驗的으로 성공을 보았다. 단 in vitro에 있어서의 受精도 精子의 受精能獲得이 문제가 되어 아직은 완전한 성공을 거두었다고 볼 수는 없는 단계에 있으나 조만간 完成될 것으로 보인다. 이러한 점을 勘案할 때, 아직도 改善되어야 할 문제점은 많이 있으나, 그림 8과 같은 일련의 새로운 方法에 의하여 受精卵移植技術이 지극히 平凡한 家畜의 增殖技術로서 一般化될날도 멀지 않은 것으로 展望된다.

(4) 新技術의 開發

① cloning

受精卵의 移植技術과 관련하여 最近 斯界의 관심을

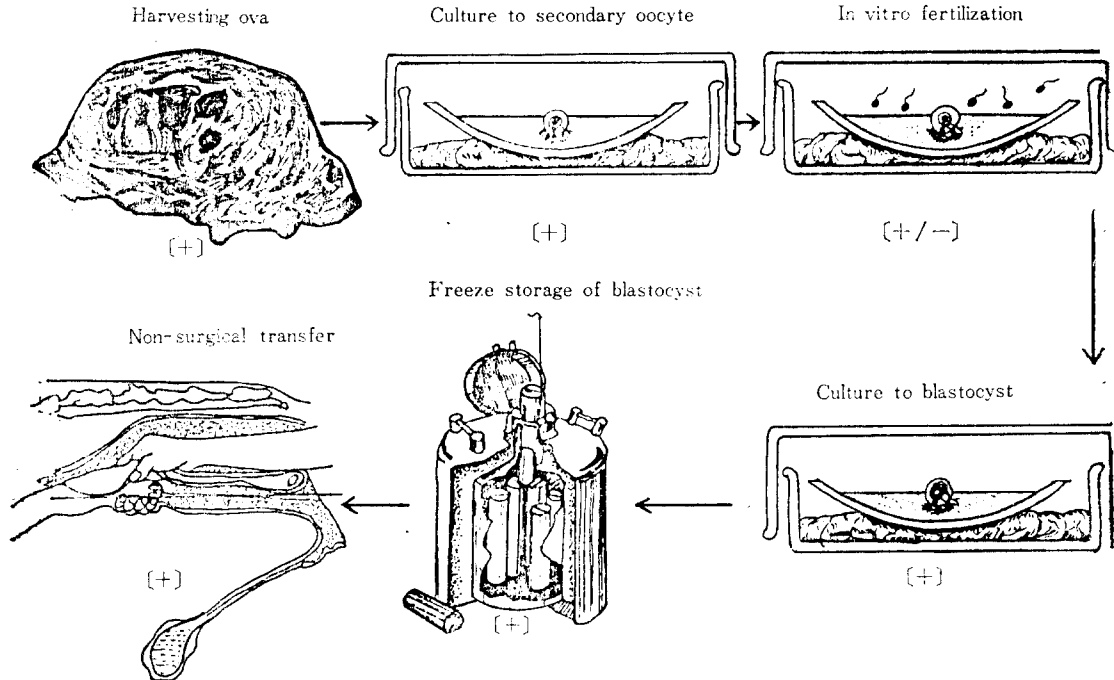


Fig. 9. Expective procedures of embryo transfer in cattle (chung, unpublished)

끌고 있는 研究分野로서 cloning, 核移植, 受精卵의 性鑑別등을 들 수 있다.

cloning은 受精卵의 分割球가 8개가 되기까지는 各分割球의 운명이 決定되지 않는다는 生理的 事實에 根據를 두고 있다. 즉, 8細胞期 以前の 受精卵의 分割球를 분리하여 in vitro에서 培養하면, 各分割球은 別個의 胚盤胞로 발달하므로 이것을 受精牛에 移植한다. 그런데 하나의 受精卵에서 分離發達된 胚盤胞로부터 태어난 個體는 모두 一卵性이므로 性を 비롯하여 其他의 遺傳的 特徵이 同一하다. 따라서 好適한 實驗材料가 될 수 있다. 또 하나의 分割球가 일정단계에 까지 발달하였을 때에 다시 분할할 수도 있으므로, 이 方法에 의하면 하나의 受精卵으로부터 永續적으로 多數의 受精卵을 確保할 수도 있게 된다.

원숭이나 생쥐를 사용한 실험에서는 cloning에 의한 仔生産에 성공한 報告가 多數提出되어 있으나 소의 卵子를 利用한 cloning은 아직 실험단계에 머물러 있으며 이 方法에 의하여 犢牛가 生産되었다는 報告는 없다. 그러나 今後 追求해 볼 만한 價値는 충분히 있는 研究課題로 생각된다.

② 核移植

核移植은 複製動物을 生産하는 技術이라 할 수 있다. 예컨대 家兔의 胚盤胞는 100개 以上の 分割球로 되어 있다. 이들 分割球는 別個로 유리시킨 다음 그들의 核을 同種動物의 受精卵의 前核과 交換하는 技術이다. 이렇게 하여 만들어진 個體는 受精卵을 生産한 母體의 遺傳的 特質과는 無關하게, 核을 提供한 個體의 遺傳形質을 이어받게 되므로, 理論的으로는 胚盤胞의 分割球의 數만큼 遺傳的으로 同一한 個體를 生産할 수 있게 된다. 이러한 方法에 의하여 하나의 家兔 胚盤胞로부터 遺傳的으로 同形인 仔兎를 100부나 生産할 수도 있다고 한다. 그러나 소의 卵子를 使用하여 이러한 實驗에 成功했다는 報告는 아직 없다.

② 受精卵의 性鑑別

産仔의 性を 人爲的으로 支配하려는 研究의 一環으로 受精卵의 性を 鑑別하려는 研究가 最近 소를 비롯한 여러 家畜에서 크게 관심을 끌고 있다. X-精子와 精子의 Y-分離가 벽에 부딪치고 있는 때인 만큼 受精卵의 性鑑別에 대한 관심은 一層 高調되고 있다. 이 方法은 受精卵의 分割球中 하나를 分離하여 그것이 가지고 있는 性染色體가 XX이나 XY이냐를 鑑別한 다음인 受精卵만을 골라서 移植하면 牝犢만이 태어나게 된다는 論理이다. 아직은 實驗段階를 벗어나지 못하고 있으나 조만간 實用化 段階에 접어들 것으로 期待된다.

以上 受精卵 移植과 관련하여 기대되는 미래의 技術

에 대한 具體的인 方法論이나 現在까지의 研究結果등은 本論의 범위를 벗어나므로 이곳에서는 省略한다.

IV. 産業的 利用性

受精卵 移植技術은 多角的인 側面에서 産業的 利用이 가능하다.

첫째, 優秀한 遺傳形質의 牝畜으로부터 多數의 受精卵을 얻어 이것들을 同品種의 劣等한 牝畜이나 또는 異品種의 牝畜에 移植함으로써, 優秀한 母系의 遺傳形質을 이어받은 仔畜을 短期間에 多數生産할 수 있으므로 그만큼 家畜改良을 促進하는 手段으로 利用될 수 있다. 둘째, 特殊品種의 增殖에 利用될 수 있다. 예컨대 순수한 Charolais나 Hereford의 品種을 신속하게 增殖시키고자 할 때는, 多排卵處理에 의하여 이들의 受精卵을 多數얻어 韓牛나 乳牛 또는 他品種의 肉牛에 移植하면 된다. 肉用種의 受精卵을 乳用種에 移植하면 단기적으로는 乳用種의 乳生産能力을 損傷하지 않으면서 肉生産을 增加시킬 수도 있을 것이다. 이와는 반대로 乳用種의 受精卵을 韓牛에 移植하면 農家에서도 저렴한 價格으로 순수한 乳牛를 보유하게 되어 農村의 保健向上에도 크게 寄與할 수 있을 것이다.

셋째, 家畜導入에도 利用될 수가 있다. 受精卵의 凍結保存技術이 完成되면 種畜이나 特殊品種의 家畜을 導入하는 대신에 該當品種의 受精卵을 輸入하여 國內에 있는 牝畜에 移植할 수 있을 것이다. 이렇게 하면 同一한 能力의 家畜을 同一數만큼 輸入하면서도, 家畜 購入費輸送등은 大幅 絶減될 것이다.

넷째, 人爲的인 雙胎誘起에 利用하여 家畜의 生産性を 提高할 수 있다. 受精卵 移植技術을 活用하여 人爲的으로 雙胎를 誘起함으로써 尙아지 生産率을 100%以上으로 올리는 것은 現在の 技術水準으로도 不可能한 일이다.

다섯째, 學問研究에도 活用된다.

受精卵移植技術은 上述한 産業的 利用외에도 繁殖生理學, 動物遺傳學, 免疫學등의 研究에 크게 寄與하고 있으며, 이미 說明한 바와 같이 性比의 人爲的 調節에도 活用될 수 있다.

V. 結 論

以上에서 受精卵移植技術의 概略을 說明하고 그에 關連된 문제점과 展望 및 期待되는 新技術의 開發등을 살펴보고 아울러 이 技術의 産業的 活用價値도 檢討해보았다. 하나의 産業的 技術로서 一般化되기에는 아직 많

은 問題點들이 남아 있으나, 이러한 문제점들은 조만간 해결될 것으로 展望된다. 따라서 우리나라에서도 이 技術을 하루바삐 受容하여 우리의 技術로 再消化할 必要가 있다고 본다.

하나의 새로운 技術을 開發하는 것은 말할것도 없지만, 外國에서 開發된 技術을 導入하여 우리 것으로 消化하는 것도 결코 容易한 일이 아니다. 問題의 本質을 바르게 理解하고, 人力을 養成하면서 일할 수 있는 條件을 造成하여야 한다. 이러한 準備없이 성급하게 좋은 結果만을 노린다면 이 技術은 끝내 우리의 것으로 土着化되지 못하거나 아니면 破行的인 成長이 불가피하게 될 것이다. 關係當局이나 有關分野의 研究人 그리고 産業體가 技術과 熱意를 結集하여 이 技術의 國內土着化에 進력함으로써, 家畜의 改良과 増殖을 위한 새로운 轉機가 마련되기를 바라는 마음 간절하다.

引 用 文 獻

- 1) Anderson, G.B., J.N. Baldwin, P.T. Cupps, M. Drost, M.B. Horton and R.W. Wright. 1976. *J. Anim. Sci.*, 43 : 272.
- 2) Betteridge, K.J., D. Mitchell, M.D. Eaglesome and G.C.B. Randall, 1976. *proc. 8th. Int. Congr. Anim. Reprod. A.I. Krakow*, 3 : 237.
- 3) Bilton, R.J. and N.W. Moore, 1977. *J. Reprod. Fertil.*, 50 : 363.
- 4) Boland, M.P., L.L. Crosby and L. Gordon, 1976. *proc. 8th. In. Congr. Anim. Reprod. A.I. Krakow*, 3 : 241.
- 5) Booth, W.D., R. Newcomb, H. Strange, L.E.A. Rowson and M.B. Socher, 1975. *Vet. Rec.*, 97 : 366.
- 6) Bowen, J.M., R.P. Elsdén and G.E. Seidel, Jr. 1978. *Thess'ogenology*, 10(1) : 89.
- 7) Cupps, P.T., M. Drost. and G.H. Stabenfeldt. 1974. *J. Anim. Sci.*, 39 : 204.
- 8) Elsdén, R.P., S. Lewis, L.A. Cumming and R.S.A. Lawson, 1974. *J. Reprod. Fertil.*, 36 : 455.
- 9) Elsdén, R.P., J.F. Hasler and G.E. Seidel, Jr. 1976. *Theriogenology*, 6(5) : 523.
- 10) Gordon, I. 1976. Cattle Twinning by the Egg Transfer Approach, In *Egg Transfer in Cattle*. Ed. L.E.A. Rowson. Commission of the European Communities. Luxembourg, p. 305.
- 11) Hahn, J., R Hahn, G. Baumgärtner, W. Lorrman and H.F. Zoder, 1975. *Dtsch. Tieraerztl Wochenschr*, 82 : 429.
- 12) Hansen, H.B. 1976. pregnancy rate in cattle in relation to estrous synchronization and cell stages. In *Egg Transfer in Cattle*. Ed. L.E.A. Rowson, Commission of the European Communities, Luxembourg. EUR. 5491. p 223.
- 13) Heape, W. 1890. *Proc. Roy. Soc. Br.*, 48 : 457.
- 14) Kvangnickii, A.V. 1951 *Sovetsk, Zootech.*, 1 : 36.
- 15) Lapyrin, A.I., N.V. Loginova, P.L. Karpov. 1950. *Sovetsk, Zootech.*, 8 : 50.
- 16) Lawson, R.A.S., L.E.A. Rowson, R.M. Moor and H.R. Tervit, 1975. *J. Reprod. Fertil.*, 45 : 101.
- 17) Lehn-Jensen, H. 1980. *Saertryk of Nordisk Veterinarmedicin*, Bd. 32.
- 18) Mickelsen, W.D., R.W. Wright, Jr., A.R. Menino, C.S. Zamora and L.G. paisley, 1980, *Theriogenology*, 10(2-3) : 167.
- 19) Moore, N.W. 1975. *Aust. J. Agric. Res.*, 26 : 295.
- 20) Moore, N.W. and R.J. Bilton, 1977. The freezing of Mammalian embryos. *Ciba Foundation Symposium 52*. Eds. K. Elliott and J. whelon, p. 211. *Excerpta Medica*, Amsterdam, Netherland.
- 21) Nelson, L.D., R.A. Bowen, G.E. Seickl. 1975. *J. Anim. Sci.*, 41 : 371.
- 22) Newcomb, R., L.E.A. Rowson and A.O. Trounson. 1976. The entry of superovulated eggs into the Uterus. In *Egg transfer in Cattle*, Ed. L.E.A. Rowson. Commission of the European Communities, EUR, 5491. p. 1.
- 23) Phillippo, M. and L.E.A, Rowson, 1954. *Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys*, 15 : 233.
- 24) Rowe, R.F., M.R. Del Campo, C.L. Eilts, L.R. Freuch, R.P. Winch and O.J. Ginther. 1976. *Theriogenology*, 6(5) : 471.
- 25) Rowe, R.F., M.R.D. Coma, J.K. cuita and O.J. Ginther. *Am. J. Vet. Res.* 1980. 41(7) : 1024.
- 26) Rowson, L.E.A. and R.M. Moor, 1966. *J. Reprod. Fertil.*, (11 : 311.
- 27) Rowson, L.E.A., R.M. Moor and R.A.S. Lawson. 1969. *J. Reprod. Fertil.*, 18 : 517.
- 28) Rowson, L.E.A., R.A.S. Lawson and R.M. Moor,

1971. *J. Reprod. Fertil.*, 25 : 261.
- 29) Rowson, L.E.A., R.A.S. Lawson, R.M. Moor and A.A. Baker, 1972. *J. Reprod. Fertil.*, 28 : 472.
- 30) Shea, B.F., D.J. Hines, D.E. Lightfoot, G.W. Colle's and S.M. Olson. 1976. The transfer of bovine embryo. In *Egg transfer in cattle*. Ed. L.E.A. Rowson. Commission of the European Communities. Luxembourg, ENR. 5491. p.145.
- 31) Schneider, H.J., R.S. Cartleberry and J.L. Griffin, 1980. *Theriogenology*, 13(1) : 73.
- 32) Sreenan, J.M. and D. Beehan, 1974. *J. Reprod. Fertil.*, 41 : 497.
- 33) Sreenan, J.M., D. Belhan and P. Mulvehill, 1975. *J. Reprod. Fertil.*, 44 : 77.
- 33) Sreenan, J.M. and D. Beehan, 1976. *J. Reprod. Fertil.*, 47 : 127.
- 34) Sreenan, J.M. 1978. *Theriogenology*, 9(1) : 69.
- 35) Sugier, T., G.E. Seidel, Jr. and E.S.E. Hofey. 1980. transfer. In *Reproduction in Farm Animals*. Ed. E.S.E. Hofey. Lea & Hehiger, Philadelphia, p. 569.
- 36) Tervit, H.R., D.G. Whittingham and L.E.A. Rowson. 1972. *J. Reprod. Fertil.*, 30 : 493.
- 37) Testart, J. 1975. Thesis. University of Paris IV. 115+xii 99.
- 38) Testart, J., C. Godard-Siour and F. du Mesnildu Buisson. 1975. *Theriogenology*, 4 : 163.
- 39) Trounson, A.O., S.M. Willadsen and L.E.A. Rowson, 1976. *J. Reprod. Fertil.*, 47 : 367.
- 40) Warwick, B.L. and R.O. Berry, 1949. *J. Hered.* 40 : 297.
- 41) Willett, E.L., W.G. Black, L.E. Cosida, W.H. Stone. and P.J. Buckner. 1951. *Science (N.Y.)* 113 : 247.
- 42) Wilmut, I. and L.E.A. Rowson, 1973. *Vet. Rec.*, 92 : 686.
- 43) Willadsen, S.M. 1977. The freezing of Mammalian Embryos Ciba Foundation Symposium, Eds. K. Elliott and J. Whelan. 52. p.175. Excerpta., Medica, Amsterdam, Netherland.
- 43) Willadsen, S.M., C. Polge & L.E.A. Rowson, 1978. *J. Reprod. Fert.*, 52 : 391.
- 44) 鄭吉生, 1979. *韓國畜産學會誌* : 21(5) : 415.
- 45) 金川弘司, 1976. *カナダアメリカにおける牛の受精卵移植實用化の實際*. ジャパンホルスタインブリーディングサービス刊
- 46) 杉江(信)・相馬(正)・福光(進)・大槻(清産) 1972. 牛の受精卵移植に関する研究・特に non-surgical techniquesによる採卵・畜試研報, 25 : 77.
- 47) 杉江(信), 1978. *家畜繁殖學*・最近の歩み中家畜の受精卵移植, 文永堂 p. 365.