

을 똑같이 사용하고, 만약 황체 형성의 숫자가 작으면 그다음 높은 용량을 택해야 한다.

또 donor cow가 systic인 경우가 있었으면 3cc의 GnRH(Gonadotropin Releasing Hormone)를 superovulated heat(발정)에 주고, 12 hr, 24hrs뒤에 인공수정시킨다.

보통 평균 4~10개의 황체를 한 ovary 에서 각각 촉진할 수 있다.

(3) Donor Synchronization과 Recipients Synchronization

어떤 날이든 donor에게 6cc~7cc of prostaglandin을 주고 다시한번 11日뒤에 prostaglandin을 반복하면 3日뒤에 donor가 발정하게 된다.

예) 6月 25日 : donor에게 1st prostaglandin 주사

7月 7日 : 다시 2번째 prostaglandin 주사

7月 10日 : donor가 발정한다. 이 발정일을 day 0 이라고 부르며 이 day 0 에 recipients에게 6cc of prostaglandin을 주사한다.

그리고 7月 22日부터 위(2)에서 서술한대로 FSH를 donor에게 주입한다.

7月 22日 FSH Am Pm

23日 FSH Am Pm

24日 FSH Am Pm + 2nd prostaglandin to recipients

25日 FSH Am Pm + 8cc of prostaglandin to donor

26日 FSH Am Pm

한가지 주목해야 할 것은 donor에게 prostaglandin을 주기 하루전에 꼭 recipients에게 2번째 prostaglandin 6cc를 정오에 주어야 한다. 그러면 donor와 recipients가 7月 27日 오전이나 오후에 같이 발정하게 된다.

그리고 non surgical하게 embryo를 day 7 or day 8 에 medium으로 flush해 낸다. (발정이

day 0 이다)

• embryo를 breeze하기 위해서는 day 7 에 flush 하는것이 좋다.

• 때때로 recipients가 donor와 똑같은날 발정하지 않는때가 있기 때문에, 반드시 축주는 정확한 발정시간과 날짜를 기록해 두어야 한다.

recipient choice는(예를 들어서 donor가 1月 1日에 발정이 왔다면) 첫째는 recipients가 1月 1日 Am이나 Pm에 발정이 온것이고 2번째 Choice는 1月 2日 Am에 발정이 온것이고 마지막 choice는 12月 31日 Am에 발정이 온 것이다.

(4) Embryo를 flush하는 방법

여기서는 non surgical방법만 기술한다.

① 5cc of 2% lidocain이나 procain으로 epidusal anesthesia를 한다. tail(꼬리)를 노끈으로 묶어서 몸체에 매고 vulva area를 iodine 물로 수술하는것처럼 잘 씻는다. epidusal하기 전에 소똥을 rectum에서부터 제거하는것이 바람직하다.

② foley catheter를 그림 1 과 같이 주입한뒤

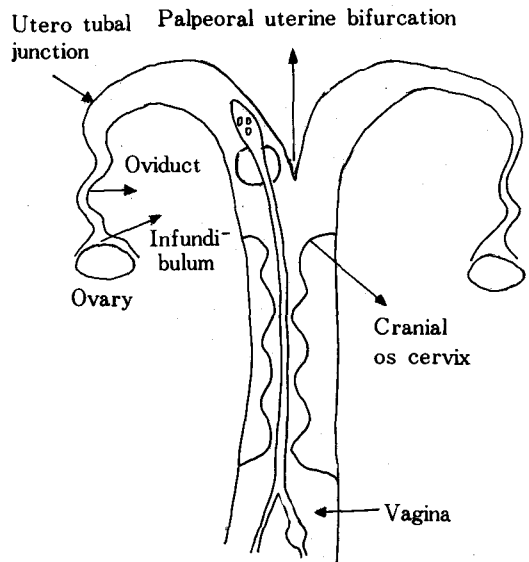


그림 1. Catheter가 위치하는 곳

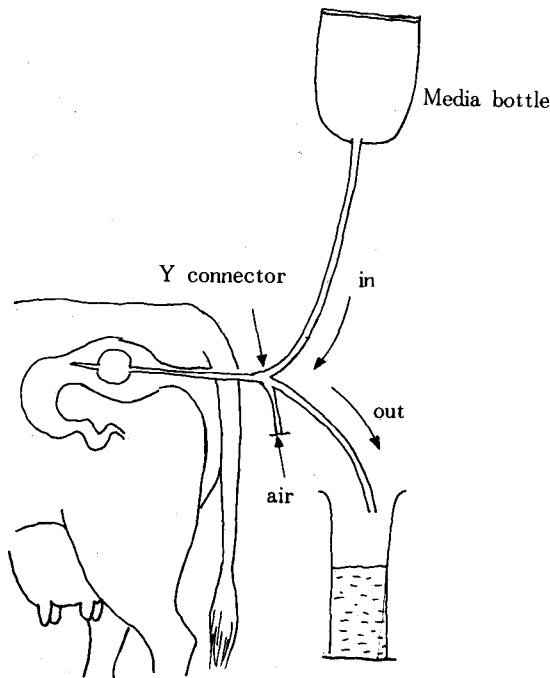


그림 2. Non surgical embryo recovery

그림 2와 같이 gravotation flow를 이용하셔서 flush해낸다.

한 uterus horn에 대개 약 800ml의 Dulbecco's phosphate Buffered Saline과 1% Bovine Serum을 쓴다. 온도는 약 35°C 정도로 해서 주입한다.

Modified Dulbecco's Phosphate-Buffered Saline (PBS)

To make 10 liter

CaCl₂, 2H₂O 1.32gm

MgSO₄, 7H₂O 1.21gm

미리 무게를 측정해서 sterile병에 넣어서 냉장고에 둘 수 있다.

NaCl	80gm
KCl	2gm
Na ₂ HPO ₄	11.5gm
KH ₂ PO ₄	2gm
Glucose	10gm
Streptomycin sulfate	.5gm
Na Pyruvate	.36gm
Na penicillin G	1million unit

→미리 무게를 재어서 sterile병에 넣어두고 냉장고에 1달가량 저장할 수 있다. 그러나 CaCl₂와 MgSO₄는 쓰기전까지는 섞지 말아야 한다.

쓰기전에

①. NaCl, KCl, Na₂HPO₄, KH₂PO₄, glucose, streptomycin, Na pyruvate와 penicillin을 8 liter의 distilled water에 넣어서 녹인다.

②. CaCl₂와 MgSO₄·7H₂O를 2liter의 distilled water에 넣어서 녹인다.

③. ①과 ②를 magnetic stirring을 사용하여 같이 섞는다.

④. 그리고 사용하기 전에 1%의 bovine serum을 섞어서 사용한다.

(5) Isolation of Embryo

약 50분정도 embryo가 밑에 가라 앉을 때까지 기다렸다가 마지막 80cc 정도의 medium을 물체 현미경에 비추어서 embryo를 찾아낸다. flushing하는 방법과 embryo구별법은 조금의 연습과 숙련이 필요하다. 보통 day 7, 8에서는 tight morula나 early blastocyst나, blastocyst를 찾는것이 정상이나 때때로는 16 cell이나 혹은 expanded blastocyst를 발견할 수도 있다.

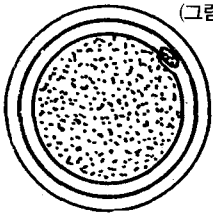
그림 3과 4를 참조하면 대강 embryo의 quality를 알수가 있다. embryo를 분류하는데는 정해진 방법은 없으나 가장 중요한 것이 day 7 or 8의 flushing에서는 compact morula와 early blastocyst를 가진 embryo를 많이 얻어야 한다. 실제로는 조금 나쁜 quality의 embryo라도 recipient가 있으면 transfer하는것이 상례이다.

(6) Embryo transfer to Recipient

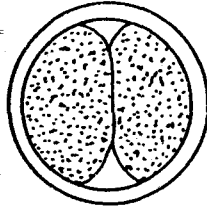
① Non Surgical Method

artificial insemination (인공수정)과 같은 방법으로 황체가 있는쪽의 uterine horn에 Embryo를 주입하는데 되도록이면 uterine horn 반 이상 ovary에 가깝게 하는것이 임신율을 증가시킨다. 그러나 pipet을 넣을때 되도록이면 e-

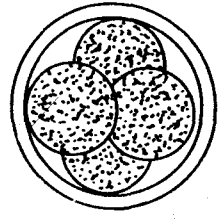
(그림 3) Zona Pellacida; 바깥막



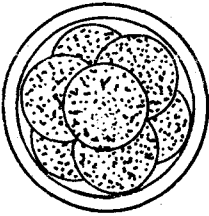
1
1 cell
0-2day after estrus



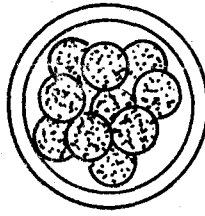
2
cell
1-3day



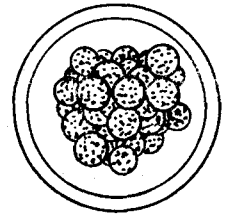
3
4cell
2-3day



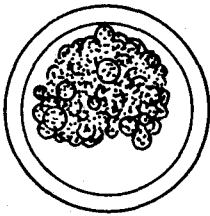
4
8cell
3-5day



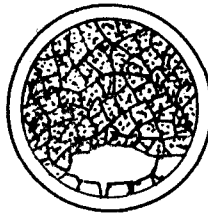
5
16cell
4-5day



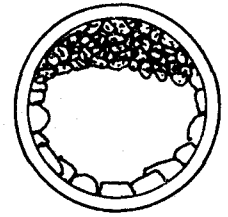
6
Morula
5-6day



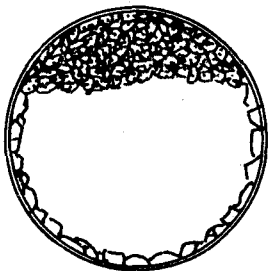
7
tight Morula
5-7day



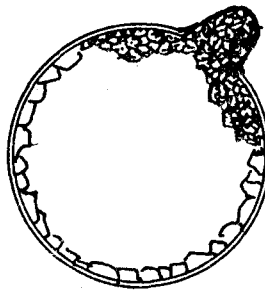
8
early Blastocyst
7-8day



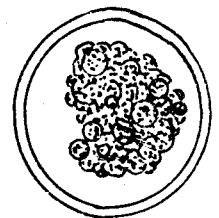
9
Blastocyst
7-9 day



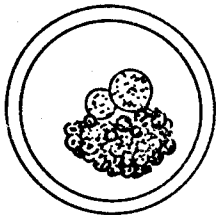
10
Expanded Blastocyst
8-10day



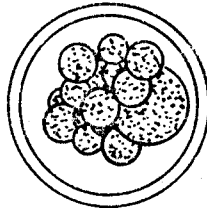
11
Hatching Blastocyst
9-11day



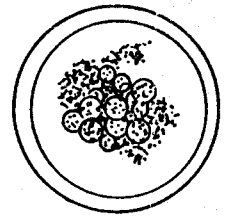
12
tight morula
c degeneration



13
Morula & Extruded
Blastomere



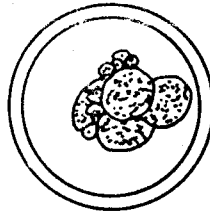
14
irregular Blastomere



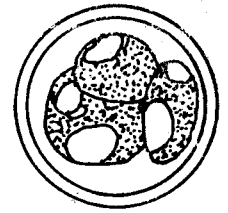
15



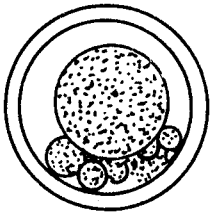
16
loose Blastomere



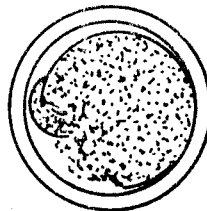
17



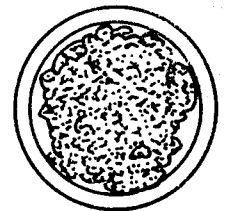
18
Vacuoles



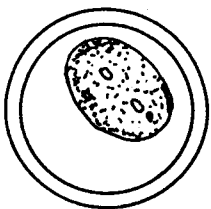
19



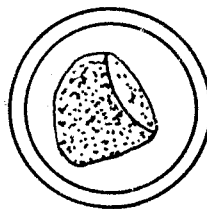
20



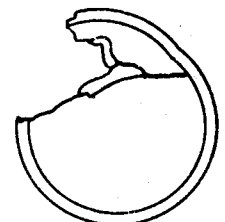
21



22
(19-23)
degenerating one cell



23



24
(Cracked
empty zona)

ndometrium을 상하지 않게 하여야 한다. (blood는 embryo를 죽이는 작용을 한다).

② **Surgical Method**

황체가 있는 부분쪽의 flank를 손이 들어갈 수 있는만큼 넣어서 broad ligament를 수술자가 쥐고 uterine horn을 꺼낸다. 그리고 blunt needle(끝이 뚫힌)로 uterine wall에 조그만 구멍을 내어서 그기로 embryo를 넣는데 ovary에 거의 가깝게, 최소한 앞쪽 1/3의 uterus 쪽에 embryo를 넣는다.

(7) **Flushing**을 하고 난뒤, Donor소에게 8cc의 **Prostaglandin**을 주사한다. 그 이유는 아주 값진 소에게 잘못하면 twin이나 triplet등을 야기시키는 수가 있기 때문이다. flushing할 때 우리가 embryo를 전부 꺼냈는지를 모르기 때문이다.

flushing technique은 번식장애를 일으키는 소에게 가장 중요한 치료방법으로 쓰인다.

예) 5,6,7번 인공수정을 해도 불임인소, pyometra를 치료했는데 여전히 불임인소, endometritis를 치료했는데도 여전히 불임인소 등에게 500cc의 normal saline solution을 각각 uterus horn에 넣어서 uterus content를 flush해내고 culture도 하여서 bacteria의 유무와 antibiotic sensitivity를 찾는데 쓰인다.

지금까지 62마리의 소를 (4번이상 인공수정 하면서 불임인소에게) flushing했는데 40마리가 그 다음 발정이나 혹은 2번째 발정시의 인공수정에 임신이 되었다.

Repeat Breeding Problem Cow에 대한 대책

(1) **Repeat Breeder의 정의**는 직장점사에는 아무 이상을 볼 수도 없고 소가 주기적으로 발정을 하면서 3번이상 인공수정해도 임신되지 않는 소를 repeat breeder라고 칭한다.

치료방법

① GnRH (Gonadotropin Releasing Hormone) 인공수정 6시간전이나 혹은 인공수정과 동시에 I.M주사를 한다.

② H. C. G (Human Chorionic Gonadotropin)

① glycoprotein→항체형성

② 취급주의→protein molecule이나 denature 될 가능성이 있다. 심하게 흔들거나, 열을 가하면 기능상실

5,000 IU./I.V 그리고 5,000I.M→6시간전이나 혹은 인공수정 하기전에 주사하고 인공수정한다.

위의 원리는 배란이 지연되는 경우가 있기 때문에 그것을 방지하기 위한 방법이다.

문제

정충의 생존시간은? ()시간까지

egg의 생존기간은? ()시간까지

어디서 Fertilization이 되는가? ()

언제 Uterus로 내려오는가? ()

언제 Uterus의 벽에 Embryo가 붙는가?

()

(2) **Problem Breeder 소**

① 75%의 소가 발정을 주기적으로 한다.

② 발정찾는방법→하루에 최소한 2번, 15~30분동안

③ standing heat을 농부에게 교육시켜야 한다.

④ 발정시간

① 밤 1時~아침 6時 43%

아침 6時~정오 23%

오후 1時~6時까지 10%

오후 6時~자정 25%

⑤ 하루에 3번 발정을 관찰하면 80~90% 하루에 2번 " " 80% 는 발정을 관찰할 수가 있다.

(3) **정말로 Anestrus(발정하지 않는) Cow**

① 관절염이나 발을 저는 소나, hock infection인 소에게서 본다.

② nutritional anestrus; heefer와 젖을 많이 짜는 소

rectal palpation (직장검사)에서 아주 작은 난소를 만질수 있다. 이때에는 소에게 energy를 더 공급해 주어야 한다.

(4) Cystic Condition

① 10%가 보통 보는 cystic의 빈도수이다.

㉠ follicular cyst → 80%는 발정이 없고 20%는 nymphomania

㉡ luteal cyst → 대개는 무발정

㉢ cystic CL → 주로 배란을 한뒤에 생기니까 치료가 필요하지 않다.

치료는 HCG나, GnRH로 한다.

(문제)

발정뒤에 어떤소는 bleeding을 하는데 이것은 어디에서 오는것인가?

때때로 luteal cyst가 GnRH나 HCG의 치료에 잘 듣지 않으면 Lutalyse (prostaglandin) 7cc를 주사한다.

cystic의 원인은

① 유전적인 것이 있고

② energy deficiency (음식섭취) → L.H (L-utenizing Hormone)은 energy섭취와 관계가 깊은 hormone

(5) Cystic Cow (여러번 치료했고) 이고 repeat breeder이면 cystic condition을 발견했을때 GnRH나 10,000HCG를 주사하고 10日内지 12일 기다린뒤 7cc prostaglandin을 I.M으로 주사한뒤 발정을 72-96hrs뒤에 하면 그때 GnRH나 HCG를 주사하고 인공수정한다. 그리고 인공수정후 10일뒤부터 1cc의 HCG를 10일간 축주에게 I.M으로 주사하라고 일러준다.

(6) Post Breeding Infusion

2cc의 penicillin이나 혹은 lincosin (100mg)이나 혹은 chlorohexidine 을 50cc의 물에 타서 인공수정후 24時 뒤에 uterus에 주입시킨다.

다.

(7) 소가 40일까지는 임신되었다가 50日경에 유산될 경우

① progesterone을 200mg (longacting)씩 매주 주사한다. 약 임신 7개월이 될때까지 이러한 방법을 해도 소가 임신되지 않으면 uterus flushing을 한다.

(8) Flushing Uterus

pyometra나 endometritis때에 여러번 치료를 해도 pussy하면 각 uterus horn에 500cc의 normal saline solution과 5g의 oxytetracycline을 섞어서 flush해낸다. 이때에 한번에 약 200cc가량 넣어서 uterus의 horn을 stretch 시켜서 pus를 제거해낸다.

flushing은 발정때에 하면 foley catheter를 uterus에 주입시키기가 더욱 쉽다. 그리고 축주에게 flush하고 난뒤 12日뒤에 6cc의 Prostaglandin을 I.M으로 주사하라고 지시한뒤, 80시간뒤에 인공수정 시키라고 얘기한다.

embryo transfer에서 설명한 것과 같이 가장 큰 효과를 볼수가 있다.

(9) 때때로 Anestrus Cow를 검사해보면 ovary에는 아무런 기능이 없고, uterus는 아무런 tone도 없고 아주 해파리 같이 힘이 없는 때가 가끔 있다.

(치료)

100mg depoprogesterone을 twice a day (하루에 2번씩) 14日간 주사하고, 13日째 되는날에 1,500I.U PMSG나 혹은 30mg의 FSH를 I.M으로 주사하면 소가 3日, 4日, 5日 뒤에 발정이 온다. 이때 소는 수정시키면 임신율이 아주 낮다. 그러니까 다음 발정을 기다려서 인공수정 시키는 것이 좋다.

이유는 Progesterone hormone이 follicle에 있는 granulosa cell을 sensitized시켜서 FSH이 follicle성장을 하는데 도움을 준다.