

## 생쥐 및 소초기배의 체외보존에 관한 연구

권 오 경

서울대학교 수의과대학

### 서 론

근년 생명공학의 발전과 함께 동물의 초기배가 체외에서 조작되어 여러가지 기초연구에 응용되고 있다. 이러한 체외조작과정에서 배를 더욱 발육시키기 위하여 배양하거나 또는 보존하였다가 후일 이용할 수도 있다. 한편 수정란이식시 수정란의 일령과 수란동물의 발정주기 단계가 일치되어야 수태율이 향상된다고 한다.<sup>6)</sup> 수란동물이 부족한 경우 적합한 수란동물이 나타날 때까지 수정란을 몇 일간 더 이상 발육되지 않는 상태로 보존할 필요가 있다. 배양온도(37°C)에서의 보존은 발육이 계속되기 때문에 배의 단기보존방법으로 부적당하며 영구보존방법인 동결법은 배의 동결과 융해 등의 복잡한 단계를 거쳐야 한다.<sup>5)</sup>

배의 단기보존방법으로 0°C 보존<sup>8)</sup> 및 4°C 보존<sup>4,11)</sup>과 같은 저온보존법이 보고되고 있으며 냉장고를 이용한 방법이 일반적으로 간편히 이용할 수 있는 배의 단기보존방법이다.<sup>12,15)</sup> 0°C 보존인 경우에는 sucrose 및 DMSO와 같은 냉동제를 이용하였으며 4°C 보존에는 혈청첨가 인산완충용액(PBS)만을 사용하고 있다. 0°C 보존인 경우 생쥐배의 생존성은 48시간 보존에서 72% 72시간 보존에서 62%라고 하였다.<sup>8)</sup> 토끼배인 경우 4°C 보존에서 7일까지 대조군의 생존성과 유의차가 인정되지 않았다고 한다.<sup>7)</sup>

냉장보존법을 이용하여 소수정란을 해외로 수송, 이식에 사용하여 성공하였다는 보고도 있다.<sup>10)</sup> 상기 연구자들이 단기보존법에 사용한 보존액은 인산완충용액에 혈청을 10~20%되게 첨가한 것이었으며 사용된 온도역은 0°C 혹은 4°C였다. 그러나 보존액에

첨가되는 혈청의 종류 및 농도, 보존액의 종류, 보존 온도역 등이 수정란의 보존일수에 따른 생존성에 어떤 영향을 주는지에 대해 광범위하고 자세한 연구는 아직 이루어져 있지 않다.

이에 저자는 생쥐 및 소의 초기배를 사용하여 수정란의 생존성에 미치는 보존액의 종류, 혈청첨가 농도 그리고 보존온도역의 효과를 검토하였다. 또한 냉장보존란의 동결후의 생존성에 대해서도 검토하였다.

### 재료 및 방법

수정란의 채취: 6~8주령의 ICR계 암생쥐를 사용하여 과잉배란 유기호르몬제인 PMSG(Pregnant mare's serum gonadotropin, 대성미생물, 한국) 7.5IU를 그리고 48시간후에 배란을 유도하기 위하여 HCG(Human chorionic gonadotropin, 제국장기, 일본) 7.5IU를 각각 복강내에 주사하였다. HCG주사후 즉시 번식능력이 인정된 숫생쥐와 교미를 시키기 위하여 하룻밤 동거시켰다. 교미후 3일째 밤과 4일째 아침에 상실배 및 초기배반포를 난관 혹은 자궁관류로 채취하였다.

홀스타인계 젖소 6두를 사용하여 발정동기화를 위하여 발정주기에 관계없이 PRID(Progesterone releasing intravaginal device, Sanofi Sante Animale, France)를 질내에 12일간 삽입하였다. PRID 제거 2일전에 과잉배란을 위하여 PMSG 2,000IU를 근육주사하였다. PRID제거 2일후에 발정이 관찰되었으며 이때 인공수정을 실시하였다. 수정후 7일째 경관경유법으로 상실배 혹은 초기배반포를 채취하였다.

수정란의 세척액: 관류 및 세척에는 Dulbecco's P-

\* 이 연구는 89년도 한국과학재단 연구비 지원에 의한 결과임.

BS(DPBS) 용액에다 1%되게 송아지 혈청(CS)을 첨가한 것을 사용하였다.

수정란의 보존액: 보존액은 DPBS을 기초보존액으로 하였다. 보존액에 첨가하는 혈청의 종류 및 농도의 효과를 알아보기 위하여 CS와 소태아혈청(FCS)을 사용하였다. 첨가혈청의 농도는 40%, 20%, 10% 그리고 5%에 대하여 검토하였다. 보존액 종류에 따른 효과를 알아보기 위하여 DPBS에다 CS를 10%되게 첨가한 것(DPBS+10%CS); DPBS에다 10% C-S, sodium lactate(5mM), sodium pyruvate(0.25mM)를 첨가한 것(modified PBS I); DPBS에다 BSA(2.5%), sodium lactate(20mM), sodium pyruvate(0.5mM), glucose(5.56mM)를 첨가한 것(Modified PBS II) 이상 3 종류의 보존액을 사용하였다. 대사억제물질인 sulfanilamide의 첨가효과를 관찰하기 위하여 DPBS+10%CS에 10mM되게 첨가하여 사용하였다.

수정란의 보존온도: 생쥐의 상실패 및 초기배반포를 2°C, 4°C, 10~15°C 그리고 20~25°C의 4개 온도역에서 1~10일간 15ml용의 원심분리용 시험관에 넣어 보존하였다. 2°C와 4°C 보존은 냉장고에서, 10~15°C와 20~25°C 보존은 밀폐된 방에서 온도를 자동조절함으로써 행해졌다.

동결보존 및 융해: 냉동제로는 1.5M의 ethylene glycol을 사용하였으며 희석액은 DPBS에다 20%의 FCS을 첨가한 것이었다. 냉동제로의 평형은 3단계 및 5단계법으로 실시하였다. 5단계법은 0.3M, 0.6M, 0.9M, 1.2M, 1.5M 순으로 수정란을 5분간 침지함으로써 행해졌으며 3단계법은 0.3M, 0.9M, 1.5M 순으로 침지하였다. 평형이 끝나면 0.5ml용 정액 스트로에 수정란을 주입하여 바로 동결을 실시하였다. 동결기는 전기식 자동동결기(SX-100, TIAC system Co., U.S.A.)를 사용하였으며, 프로그래밍은 다음과 같다. 20°C에서 시작하여 -6°C까지 1°C/분씩 저하시킨 다음 -6°C에서 5분간 seeding하였다. seeding후 0.3°C/분씩 -35°C까지 저하시킨후 액체질소에다 보관하였다.

보관후 1일에서 10일사이에 37°C 온수에다 급속 융해시켰다. 냉동제의 제거는 5단계법으로 즉, 1.5M부터 0.3M까지 5단계로 5분간격으로 침지하면서 ethylene glycol을 제거하였다.

생존성 평가: 보존예정일이 지나면 보존액에서 수정란을 회수하여 BMOC-III 배양액에 24~48시간 배양시켰다. 확장 배반포 혹은 탈출 배반포로 성장한 것

을 생존된 것이라 평가하였다.

통계학적 분석: 보존일수별에 따른 배의 생존성을 백분율로 표시하였으며  $\chi^2$ 검정으로 그 유의차를 검토하였다.

## 결 과

보존액의 효과를 검토하기 위하여 생쥐 상실패를 보존액에 넣어 4°C 보존한 경우의 보존일수에 따른 생존성을 Table 1에 표시하였다.

Table 1. Survival Rates of Mouse Embryos in Relation to the Days of Preservation at 4°C

Days	Storage medium		
	DPBS+10%CS	Modified PBS I	Modified PBS II
1	100.0(36/36) <sup>a</sup>	100.0(30/30) <sup>ab</sup>	74.0(24/27) <sup>a</sup>
2	92.0(23/25) <sup>a</sup>	88.0(22/25) <sup>ab</sup>	90.0(27/30) <sup>a</sup>
3	83.3(25/30) <sup>a</sup>	72.4(21/29) <sup>bc</sup>	83.3(25/30) <sup>a</sup>
4	60.0(18/30) <sup>ab</sup>	70.0(21/30) <sup>bc</sup>	45.0(9/20) <sup>b</sup>
5	40.0(8/20) <sup>b</sup>	45.0(9/20) <sup>c</sup>	10.0(1/10) <sup>b</sup>

Percentages with different superscripts in the column are significantly different in the level of 5%.

보존액이 DPBS+10%CS와 modified DPBS I인 경우에 보존일수에 따라 생존성이 저하되는 경향을 보였으며 보존 5일째는 각각 40% 및 45%로 반 이상이 사멸되었다. 특히 Modified PBS II인 경우에는 5일째의 생존율이 10%밖에 안되었다. 한편 보존일수 별 보존액의 종류에 따른 생존성이 유의적인 차이는 인정할 수 없었지만 Modified PBS II가 다른 두 종류의 보존액보다 보존 4일째 이후에는 생존율이 보다 더 저하되었다.

생쥐 상실패를 4°C 보존한 경우 보존액에 첨가한 CS 농도에 따른 생존성을 Table 2에 표시하였다. C-S농도가 20%이상인 경우 보존 3일째의 생존율이 유의적으로 저하되었으며 혈청농도가 40%인 경우 보존 2일째부터 생존배를 관찰할 수 없었다. CS대신 FCS를 첨가하여도 생존율에 차이를 인정할 수 없었다.

생쥐 상실패를 4°C에서 PBS+10% CS에 보존시 대사억제물질인 sulfanilamide를 첨가한 경우의 생존율을 Table 3에 표시하였다. 보존액에 sulfanilamide를 첨가한 경우 4°C 보존에서는 보존 1일째부터 급격한 생존율의 저하를 인정할 수 있었으며 3일 이후에는 생존배를 전혀 관찰할 수 없었다.

**Table 2. Survival Rates of Mouse Embryos in Relation to Concentrations of Calf Serum in Storage Medium**

Days	Conc. of calf serum			
	40%	20%	10%	5%
1	81.8( 9/11)	81.8( 9/11)	100(11/11)	81.8( 9/11)
2	0.0( 0/12) <sup>a</sup>	66.7(16/24) <sup>b</sup>	91.7(22/24) <sup>b</sup>	90.0(18/20) <sup>b</sup>
3	0.0( 0/30) <sup>a</sup>	16.6( 5/30) <sup>a</sup>	83.3(25/30) <sup>b</sup>	80.0(18/30) <sup>b</sup>

Percentages with different superscripts in the row are significantly different in the level of 5%.

**Table 3. Effects of Sulfanilamide on the Survival of Mouse Embryos in the Storage at 4°C**

Days	Medium	
	PBS+10% CS	PBS+10% CS+ sulfanilamide
1	100.0(21/21)	42.9(9/21)
2	91.3(21/23)	11.1(2/18)
3	95.2(20/21)	0.0(0/21)

었다.

보존온도역 : 생쥐 초기배반포를 2°C, 4°C, 10~15°C 그리고 20~25°C에 보존한 경우의 보존일수에 따른 생존성을 Table 4에 표시하였다.

2°C 보존에서는 2일째부터 생존율의 유의적인 저하를 보였으며 3일 이후 특히 5일째에는 모두 사멸하였다. 4°C 보존에서도 3일째부터 저하의 경향을 보였으나 3, 4일째의 생존율은 각각 82.5% 80.0%로 유의성이 인정되지 않았다. 5일째에는 38.6%로 유의적으로 저하되었으며, 10일째에는 3.0%만이 생존하였다. 10~15°C 그리고 20~25°C에서는 3일째부터 생존율이 저하하는 경향을 부여, 5일째에는 각각 50%

**Table 5. Survival Rates of Frozen-thawed Embryos after Preservation**

Storage days	Equilibration		Total
	3-Step	5-Step	
0	82.1%(23/28) <sup>a</sup>	86.1%(31/36) <sup>a</sup>	84.1%(54/64)
1	58.3%(35/60) <sup>b</sup>	51.7%(30/58) <sup>b</sup>	55.1%(65/118)
3	16.1%( 9/56) <sup>c</sup>	19.4%(14/72) <sup>c</sup>	18.0%(23/128)
5	3.4%( 1/29) <sup>c</sup>	5.7%( 2/35) <sup>c</sup>	4.7( 3/64)

Percentages with different superscripts in the column are significantly different in the level of 5%.

**Table 6. Survival Rates of Bovine Embryos in Relation to Days of Preservation at 4°C**

Days	Survival rates
1	100%(2/2)
3	60.0%(3/5)
5	33.3%(1/3)

그리고 70%가 생존하였다. 그러나 특히 20~25°C 보존인 경우 보존기간중 발육이 계속되어 생존란 모두가 확장 배반포 혹은 탈출 배반포였다.

**Table 4. Survival Rates of Early Blastocyst of Mouse Embryos in Relation to Temperature of Preservation**

Days	Temperature			
	2°C	4°C	10~15°C	20~25°C
1	96.4%(27/28) <sup>a</sup>	100(28/28) <sup>a</sup>	100(20/20) <sup>a</sup>	96.7(29/30) <sup>a</sup>
2	70.6(48/68) <sup>b,B</sup>	96.4(27/28) <sup>a,A</sup>	100(28/28) <sup>a,A</sup>	100(30/30) <sup>a,A</sup>
3	13.7(14/102) <sup>c,B</sup>	82.5(47/57) <sup>a,A</sup>	70.0(21/30) <sup>a,b,A</sup>	73.3(22/30) <sup>a,b,A</sup>
4	4.0( 2/50) <sup>c,B</sup>	80.0(24/30) <sup>a,A</sup>	57.1(16/28) <sup>b,A</sup>	70.0(21/30) <sup>b,A</sup>
5	0.0( 0/57) <sup>c,C</sup>	38.6(22/57) <sup>b,B,C</sup>	50.0(14/28) <sup>b,A,B</sup>	70.0(21/30) <sup>b,A</sup>
6	—	40.9(12/30) <sup>b</sup>	—	—
7	—	35.3(12/34) <sup>b</sup>	—	—
8	—	21.1( 4/19) <sup>b</sup>	—	—
9	—	16.0( 4/25) <sup>b</sup>	—	—
10	—	3.0( 1/40) <sup>b</sup>	—	—

Percentages with different superscripts of the capital letters in the row and of the small letters in the column are significantly different in the level of 5%.

수정란을 냉장보존후 동결시켰을 경우의 생존율은 Table 5에 표시하였다. 신선란을 동결하였을 경우의 생존율은 84.4%(54.64%)다. 하루 냉장보존후 동결시켰을 경우의 생존율은 55.1%로 신선란 동결시의 생존율보다 유의적으로 저하되었다. 특히 3일 및 5일 보존인 경우에는 각각 18.0%, 4.7%로 급격한 생존율의 저하가 인정되었다. 1.5M의 ethylene glycol을 평형시키는 방법에 따른 효과는 인정되지 않았다.

소수정란을 하루 냉장보존한 경우 2개중 2개 모두 생존하였으나 3일 보존시에는 60.0%만이 특히 5일 보존시에는 3개중 1개(33.3%)만이 생존하였다(Table 6).

## 고 찰

보존액의 효과를 검토하기 위하여 인산완충용액에 혈청만을 첨가한 경우(PBS+10%), 혈청과 함께 sodium lactate, sodium pyruvate와 같은 초기배의 대사에 필요한 물질을 첨가한 경우(Modified PBS I) 그리고 혈청대신 BSA를 사용한 경우(Modified PBS II) 이상 3종류의 보존액을 사용하여 배의 생존율을 확인한 결과 3일째까지는 보존액의 종류에 관계없이 유의적인 저하는 인정되지 않았다. 혈청을 첨가한 보존액인 경우에는 보존 5일째부터 유의적인 저하를 보였으나 Modified PBS II인 경우에는 4일째부터 생존율의 유의적인 저하를 보여 BSA를 보존액의 첨가물질로 사용한 경우 4일 이후의 보존에는 부적합하다고 생각된다. Utsumi<sup>17)</sup>는 동결보호물질로써 BSA가 혈청보다 좋지 않다고 하였으며 이는 혈청중의 어떤 인자가 동결보호물질의 작용효과를 증강시켜주기 때문이라고 하였다. 그러나 소 수정란의 동결에 있어서 동결보호물질로써 BSA가 혈청을 대신할 수 있다고 한다.<sup>3,9,13)</sup> 이번 실험의 결과로 보아 생쥐란의 저온에 대한 보호제로서 BSA도 사용할 수 있지만 5일 이후에는 생존율의 급격한 저하가 관찰되어 BSA에는 혈청성분에는 존재하는 보호인자가 어느정도 결핍된 것으로 사료된다.

생쥐배의 저온보존시 혈청의 종류에 따른 생존성의 차이는 인정되지 않았지만 혈청첨가농도에 따른 생존성의 차이는 인정되었다. 20%이상의 혈청을 첨가한 경우 3일째부터 급격한 생존율의 저하가 관찰되었으며 특히 40%인 경우 2일째부터 생존배가 존재

하지 않았다. 동결에서는 20~50%까지 동결보호물질로서 혈청을 첨가하고 있지만 혈청첨가의 나쁜 영향에 관한 보고는 없다. 저자의 예비실험에서 PBS에 CS첨가농도가 20% 이상인 경우의 pH가 7.8이상으로 되었으며 이와같은 pH상승은 수정란의 생존에 부적합하다고 사료된다.

Sulfanilamide는 탄산탈수효소활성의 억제물질로서 배양액에 첨가시 배의 성장을 억제시킬 수 있다고 한다.<sup>14)</sup> 상실배 이후의 배는 CO<sub>2</sub>를 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>로 전환시킬 수 있는 탄산탈수효소를 가지고 있기 때문에 배양액에 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>가 없어도 혈청 혹은 대기중의 CO<sub>2</sub>를 이용하여 성장을 지속할 수 있다. 이번 실험에서는 배양이 아닌 4°C 보존에서의 성장억제 효과를 검토하였으나 보존 1일째부터 생존율이 급격히 저하되었다. 저온에 의한 성장억제효과와 상승작용을 일으켜 배의 사망을 초래하였다고 생각된다.

배의 체외보존시 적정온도역을 알아 보기 위하여 2°C, 4°C, 10~15°C 그리고 20~25°C 이상 4개 온도역에서의 보존효과를 검토한 결과, 2°C 보존에서는 3일째부터 급격한 생존율의 저하를 보여 이 온도역에서는 혈청성분만으로 저온보존효과를 얻을 수 없는 것으로 사료된다. Trounson 등<sup>16)</sup>은 소초기배반포를 20% 태아혈청을 가한 DPBS에 넣어 0°C에 보존한 결과 보존 1일째의 생존율은 67%였으며, 2일째에는 48%로 이번 실험의 2°C 보존시와 유사한 결과였다. 0°C 보존시 sucrose나 DMSO와 같은 냉동제가 필요하다고 하였으며,<sup>8)</sup> 2°C 보존에서도 이와같은 냉동제가 필요한 것으로 사료된다. 20~25°C 보존에서는 5일째까지의 생존율이 70%이상으로 다른 그 이하의 온도역에서 보다 생존율이 좋았으나 생존배의 발육 단계가 모두 확장 혹은 탈출 배반포였다. 보존하는 동안 발육이 계속 진행된 것으로 보존온도역으로서 부적당하다고 생각된다. 10~15°C 보존시 생존율은 4°C 보존시의 그것과 비슷하나 발육이 어느정도 진행되어 상실배 혹은 초기배반포의 체외보존은 4°C 보존이 적합하다고 사료된다. 일반 가정용 냉장고도 4°C 정도의 온도는 자동조절이 가능하며 손쉽게 수정란의 체외보존에 이용할 수 있다. 그러나 4°C 보존에서도 4일째까지는 생존율이 80% 이상으로 이 기간까지는 체외보존이 가능한 것으로 사료되나 5일째부터는 생존율이 급격히 저하되어 그 이상의 체외보존을 위해서는 다른 방법을 강구할 필요가 있다고 생각된다.

배를 단기보존한 후에 영구보존할 필요가 있다. 이를 위해 4℃ 보존후에 냉동보존한 결과 저온보존하지 않고 바로 냉동보존한 것보다 생존율이 유의적으로 저하되었으며 3일 보존시에는 18.0%, 5일 보존시에는 4.7%로 생존율이 저하되었다. Bielanski 등<sup>2)</sup>은 1일 냉장보존의 경우 냉동보존에 큰 영향을 미치지 않는다고 하였지만 이번 실험에서는 1일 냉장보존의 경우도 냉동보존후의 생존성이 55.1%로 저하되어 상기 연구자의 결과와 상이하였다. 이번 실험의 결과로 보아 냉장보존을 3일 이상 할 경우 냉동보존의 결과는 더욱 나쁜 것으로 앞으로 이에 대한 연구가 더욱더 진행되어야 된다고 생각된다.

Aoyagi 등<sup>1)</sup>은 소의 상실패 및 초기 배반포를 4℃에 보존할 경우 1일 보존시 83.3%가 생존하였지만 1.5일 이후부터는 50% 이상이 발육을 멈추었다고 하였다. 이번 실험에서 예 수는 적었지만 1일 보존에서는 100% 생존하였으나 3일 보존에서는 60%, 5일 보존에서는 33%로 상기연구자와 유사한 결과를 얻을 수 있었다. 그러나 Linder & Ellis<sup>12)</sup>는 냉장보존후 수란우에 이식하여 임신율로 그 효과를 판정한 결과 보존 3일째까지 생존성에 유의적인 저하가 없었다고 하였다.

이상의 결과로 보아 배의 저온보존을 위해 Dulbecco's PBS에 10%되게 혈청을 첨가하여 4℃ 냉장고에 보존할 경우 생쥐배는 4일까지 소수정란은 1일까지 생존성에 유의적인 저하없이 보존이 가능하였다.

## 결 론

생쥐 및 소 초기배를 효율적으로 이용하기 위한 최적의 단기 혹은 장기 체외보존 방법을 알아보기 위하여 보존액의 종류, 혈청첨가농도 그리고 보존온도역의 효과를 검토하였다. 또한 냉장보존란의 동결후의 생존성에 대해서도 검토하였다.

Dulbecco씨 인산완충용액에 소 태아 혹은 송아지 혈청을 10%되게 첨가하여 4℃ 냉장보존할 경우 생쥐 초기배반포는 4일까지, 소의 그것은 1일까지 생존성의 유의적인 저하없이 보존가능하였다. 3일 이상 냉장보존후 냉동시 생존성이 20%이하로 저하되었다.

## 참 고 문 헌

1. Aoyagi, Y., Iwazumi, Y., Wachi, H., Furudate, M., Fuzii, K.,

Fukui, Y. and Ono, H.: Short-term storage of bovine embryos and oocytes. Jap. J. Anim. Reprod. (1986) 32 : 138~143.

2. Bielanski, A., Manns, J.G., Schneider, U. and Mapletoft, R.J. : Survival of mouse embryos after refrigeration and deep freezing. Theriogenology. (1986) 25 : 139.

3. Bondioli, K.R., Brounson, C.B., Looney, C.R., Massey, J.M., McGrath, A.B., Mertes, P.C. and Oden, A.J. : *in vitro* survival of bovine embryos frozen in media supplemented with newborn calf serum or bovine serum albumin. Theriogenology. (1984) 21 : 223.

4. BonDurant, R.H., Anderson, G.B., Boland, M.P., Cupps, P.T. and Hughes, M.A. : Preliminary studies on bovine embryo survival following short-term storage at 4℃. Theriogenology. (1982) 17 : 223~230.

5. Hafez, E.S.E. : Preservation and cryopreservation of gametes and embryos. In Reproduction in Farm Animals, pp. 571~600, 5th ed., Hafez, E.S.E., Lea & Febiger, Philadelphia. (1987)

6. Hasler, J.F., McCauley, A.D., Lathrop, W.F. and Foote, R.H. : Effect of donor-embryo-recipient interactions on pregnancy rate in a large-scale bovine embryo transfer program. theriogenology. (1987) 27 : 139~168.

7. Hughes, M.A. and Anderson, G.B. : Short-term storage of rabbit embryos at 4℃. Theriogenology. (1982) 18 : 275~282.

8. Kasai, M., Niwa, K. and Iritani, A. : Productive effect of sucrose on the survival of mouse and rat embryos stored at 0℃. J. Reprod. Fert. (1983) 68 : 337~380.

9. Leibo, S.P. : Field trial of one step diluted frozen-thawed bovine embryos; An update. Theriogenology. (1985) 23 : 201.

10. Leibo, S.P. and Winninger, D. : Production of bovine pregnancies from embryos transported at 0℃ by air. Theriogenology. (1986) 25 : 165.

11. Lindner, G.M. Anderson, G.B., BonDurant, R.H. and Cupps, P.T. : Survival of bovine embryos stored at 4℃. Theriogenology. (1983) 20 : 311~319.

12. Lidner, G.M. and Ellis, D.E. : Refrigeration of bovine embryos. Theriogenology. (1985) 23 : 202.

13. Mapoletto, R.J., Bavister, B., Moker, J.S. and Hagele, W.C. : The use of a chemically defined medium, of non-biological origin, to freeze embryos. Theriogenology. (1987) 27 : 254.

14. O'Fallon, J.V. and Wright, Jr., R.W. : Suspension of mouse embryo development by the carbonic anhydrase inhibitor sulfanilamide. Theriogenology. (1985) 23 : 215.

15. Pool, S.H., Blakewood, E.G. and Rorie, R.W. : Use of a household refrigerator for short-term storage of bovine embryos. Theriogenology. (1986) 25 : 184.

16. Trounson, A.O., Willadsen, S.M. and Rowson, L.E.A. : The influence of *in-vitro* culture and cooling on the survival and development of cow embryos. J. Reprod. Fert. (1976) 47 : 367

## **Studies on *In vitro* Preservation of the Mouse and Bovine Embryos**

**Oh-Kyeong Kweon, D.V.M., Ph.D.**

College of Veterinary Medicine, Seoul National University

### **Abstract**

It was carried out to investigate the effect of the kind of medium, the concentration of serum added and the temperature of storage on the survival of mouse and bovine embryos preserved *In vitro*. The survival of frozen-thawed mouse embryos after cooling at 4°C was also investigated.

It was possible to preserve the embryos of mouse until 4 days and of cattle in a day without significant decrease of the survival rates. The survival rates of frozen-thawed mouse embryos after cooling at 4°C over 3 days were below 20%.

---