

소 수정란 이식술의 현재와 미래

김 용 준*

수정란 이식술은 인공수정 이후 가축번식의 효율을 고도로 높일 수 있는 현대의 기술로 각광을 받고 있으며 특히 산업동물인 소에 대하여 이 기술은 많은 발전을 이루어 오고 있어 가축생산에 적지 않은 기여가 되고 있다.

그러나 이 기술은 아직도 인공수정술과 같은 높은 성공율을 이루지 못하고 있고 시술경비도 고가이므로 축산농가의 높은 호응을 얻지 못함으로써 전국적인 실용화가 어려운 상태이며 그 수요도 매우 미미한 정도이다.

한편 우리나라와 축산구조가 유사한 일본의 경우에는 이 분야에 대한 왕성한 개발사업과 함께 수정란 이식술시 국가에서 그 경비의 적지 않은 부분을 농가에 지원해 주는 방법으로 이 기술을 적극 장려하고 있어 일본에서는 이미 상당한 실용화 단계에 올라서 있다.

따라서 본고는 일본국립축산연구소 가축번식과 과장인 Dr. Akira Handa의 글을 인용하여 일본 및 세계에서의 소 수정란 이식의 현재와 미래를 살펴봄으로써 이 분야에 대한 국내의 현실과 미래를 조명하고자 한다.

서 론

수정란 이식술은 포유동물에 전반적으로 응용할 수 있는 기술이다. 이 기술은 1890년 Walter Heap이 수정란 이식에 의해 토끼에서 두 마리의 생산자를 얻어내는데 성공한 이래 100년 이상의 긴 역사를 가지고 있다. 현재까지 수정란 이식술에 의해 말, 돼지, 양, 산양으로 부터 성공적으로 새끼가 생산되었으나 이 기술이 산업적으로 이용되고 있는 것은

단지 소에 대해서 뿐이다. 그 이유는 소의 경우 수정란을 비외과적으로 회수하거나 이식하는 방법이 가능하였고 따라서 이렇게 생산된 수정란을 소의 가축개량 및 생산을 위해 경제적으로 이용할 수 있게 되었기 때문이다.

소 수정란 이식의 기술을 개괄적으로 나열하면 표1과 같다.

표1의 과정중에서도 특히 중요한 것은 과배란 처리, 발정동기화, 수정란 회수, 수정란 형태 검정, 수정란의 동결보존 및 수정란 이식으로서 이 과정들에 대하여는 오래전부터 많은 연구가 수행되어 방대한 자료가 갖추어져 있다.

소 수정란이식 및 관련 기술에 대한 주요 연구보고는 표2와 같다.

표2에서 볼 수 있는 바와 같이 1965년 T. Sugie 등이 개발한 비외과적 수정란 회수 및 이식법은 소에서 수정란 이식을 실용화 하는데 커다란 기여를 하였으며, 표2의 그밖의 연구들도 매우 가치가 높은 업적들이다.

다음은 수정란 이식의 주요 과정을 소개하고자 한다.

1. 성선자극호르몬(Gonadotrophin)투여에 의한 과배란 처리(Superovulation)

소에서 과배란 처치를 위해 과거에는 PMSG (pregnant mare serum gonadotrophin)를 사용하였으나 현재는 FSH(follicle stimulating hormone)를 주로 사용하고 있다. PMSG의 장점은 1회 투여로 다배란의 효과를 나타낼 수 있다는 점이며 단점으로는 다배란이 일어난 이후에도 큰난포들이 잔존해 있는 점과 따라서 이 난포들로 부터 높은 수준의

* 전북대학교 수의과대학

표 1. 소 수정란 이식의 기본 기술

과 정	기 술 내 용
1	공란우 및 수란우의 선별
2	성주기 확인
3	공란우에 대한 과배란 처리
4	공란우에 대한 수란우의 성주기 동기화
5	공란우 및 수란우의 발정 확인
6	공란우에 대한 인공수정
7	공란우의 자궁으로부터 수정란을 비외과적으로 회수
8	회수 수정란에 대한 형태 판정 및 수정란의 동결보존
9	수란우에 대한 신선 또는 동결 수정란의 비외과적 이식
10	수란우의 임신진단 및 분만관리, 송아지 사육관리

표 2. 소 수정란이식 주요 연구 보고

년 도	보 고 내 용	저 자
1951	외과적 수정란이식에 의한 송아지 생산 성공	E. L. Willett등
1965	자궁경 후회 비외과적 수정란 이식에 의한 송아지 생산 성공	T. Sugie등
1973	동결수정란 이식에 의한 송아지 생산 성공	I. Wilmut등
1976	자궁경 통과 비외과적 수정란 이식에 의한 송아지 생산 성공	A. Brand등
1981	수정란 이분할 후 이식에 의해 일란성 쌍태의 성공적인 생산	S. M. Willadsen등
1982	체외수정 방법에 의한 수정란을 외과적으로 이식하여 송아지 생산 성공	B. G. Brackett등
	동결 수정란 스트로내 Glycerol 제거 방법	S. P. Leibo등
1984	수정란 Vitrification 성공	G. M. Fahy등
1986	난자의 체외성숙 및 체외수정에 의한 수정란을 비외과적으로 이식하여 송아지 생산 성공	A. Hanada등 E. P. Cister등
1987	핵이식에 의한 수정란을 이식하여 송아지 생산 성공	R. Prather등 J. M. Robi등
1990	PCR 방법으로 수정란 성 감별	C. M. Herr등

estrogen이 분비된다는 점들이다. 또한 일부 국가에서는 PMSG의 사용을 법으로 금지하고 있다.

한편 FSH는 과배란을 일으키기 위해 1일 2회 오전·오후로 3~4일간 투여되어야 하며, 사용량도 시작일 5mg으로부터 최종일 2mg으로 점차 줄여가야 한다. 이와같이 FSH 투여는 PMSG보다 투여방법이 훨씬 번거롭지만 보다 확실한 과배란의 성공율을 나타낸다.

1970년도에 Prostaglandin(PG)₂α는 황체소실 작용 및 발정유기의 작용이 있다는 것이 증명되었다. 이 발견으로 인해 소의 발정주기를 인공적으로 동기화시킬 수 있는 것이 가능해졌다. 현재 공란우에서 발정을 일으키기 위하여는 FSH투여 3일째 PGF₂α 또는 그 유사물을 주사한다. 이때 FSH 투여는 황체기중인 발정후 10일째 시작한다.

과배란처리후 공란우로부터는 평균 4~5개의 수정란을 회수하게 되는데 수정란수는 개체에 따른 변이가 매우 크다.

과배란처리에서 좋은 반응을 보인 바 있는 공란우는 일반적으로 반복처리(1년 3~4회)에서도 좋은 결과를 나타낸다. 이러한 공란우로부터는 매회 10개 이상의 수정란도 회수할 수 있다.

과배란처리시 약한 반응을 보이거나 비외과적으로 수정란 회수가 불가능 한 소의 비율은 약 20%가 된다. 이러한 소에 대하여는 수정란 이식은 이용될 수 없다.

2. 인공수정

과배란된 난자의 전부가 수정되어 수정란 발달을 보이는 것은 아니며 약 40%는 수정이 되지 않는 것으로 인정된다. 초기 수정란 이식에서는 정액은

4°C에 보관된 액상정액을 이용하였으나 현재는 발정개시 후 12시간 및 24시간의 2회에 걸쳐 2~4 개의 스트로내 동결·융해시킨 정액을 주입한다. 과배란 처리되는 소는 일반 발정우보다 더 많은 수의 정자가 주입되어야 한다.

또한 수정율과 수정란 발달율은 슛소정자의 수정 능력에 따라 다른 것으로 알려져 있어 우수한 종모우를 선택하는 것이 번식효율을 높이거나 수정율 및 수정란 발달율을 높이는데 중요한 요인이 된다.

3. 수란우(Recipients)

수란우는 건강해야 하고 정상적인 성주기를 가지며 명백한 발정증상을 보여야 한다. 수란우의 발정 주기는 공란우의 발정주기와 동기화 되어야 한다. 공란우와 수란우의 발정주기가 동기화 되어야 하는 중요성은 1969년 L.E.A. Rowson 등이 지적한 바 있으며, 이 발정동기화 기술은 PGF₂ α의 이용과 함께 용이하게 이루어졌다.

발정동기화의 중요성은 수정란 발달을 위한 적합한 자궁환경을 동기화 시킨다는 의미가 된다. 수란우가 공란우보다 하루 늦은 것도 가능한 하지만 수란우가 공란우보다 일찍 발정에 도달한 때 더 높은 수태율을 얻을 수 있다. 수정란이식 당시 황체기능의 역할은 절대적이어서 좋은 수란우를 선택하기 위하여는 때때로 혈중 progesterone 농도를 측정하는 것이 필요하다.

4. 수정란의 회수

수정란을 회수하기 위하여는 발정후 7~8일경 공란우의 자궁각을 혈청이 첨가된 PBS (phosphate-buffered saline)로 관류시킨다.

수정란이식 초기에는 외과적 수술과 함께 각각의 자궁각에서 자궁각을 관류하여 관류배지를 회수하는 기구가 고안되어 이용되었으나 일본에서는 1981년 이러한 목적으로 balloon catheter를 사용하게 되었다. 이 balloon catheter를 기술적으로 사용하기 위해서는 충분한 경험이 있어야 하며 이 기술을 숙달하게 되면 30분 정도에 수정란 회수작업을 마칠 수가 있다. 또한 관류된 배지를 따뜻하게 보존할 수 있는 기구와 많은 양의 관류배지로부터 수정란을 회수할 수 있는 기구도 개발되었다.

5. 수정란의 형태 판정 및 동결보존

수정란이식술에서 수태율은 수정란의 등급에 따라 크게 좌우된다. 이런 점때문에 현미경하에서 수

정란의 형태 및 발달상태를 정확히 판정내리는 것을 매우 중요하다. 판정기준은 여러가지가 있으나 일반적으로 A급(우수), B급(양호), C급(불량) 또는 D급(변성 수정란)으로 분류하고 일반적으로 A급과 B급으로 분류되는 수정란을 수정란이식에 사용한다. 수정란이 우수한 개체로부터 회수된 경우는 그 가치때문에 수태율이 낮을 것이 예측되더라도 때때로 C급 수정란도 이식한다. 수정란의 형태 판정은 주관적인 것이지만 수정란을 평가하는데 있어서 가장 실용적이고 믿을만한 방법이다.

수정란의 동결에 대해서는 마우스 수정란이 성공적으로 동결되어 보존된 1971년이후 소 수정란의 동결보존에 대해 많은 연구가 수행되었고 이 기술은 1980년 초기에는 실용화 되었다.

이 기간중 동결보존시 동해방지제의 종류 및 농도, 동결속도, 융해일도 및 융해후 동해방지제의 제거방법에 대해 밀도 있는 실험들이 수행되었다.

과거 동결수정란은 비동결수정란인 신선수정란보다 이식후 약 10%정도 수태율이 낮은 것으로 간주되었고 현재 이 간격은 점차 좁혀져가고 있다. 1982년 S.P.Leibo 등은 동해방지제를 용이하게 제거할 수 있는 one-step straw method를 개발하여 수정란이식을 보다 신속히 수행할 수 있도록 하였다. 한편 최근 일본에서 수행된 연구보고에 의하면 스트로중 내용물을 수정란과 함께 자궁각내 주입하는 zero-step straw method의 사용 가능성이 시사되고 있다.

또한 Vitrification에 의한 수정란 보존의 성공적인 사례도 1984년 G.M.Fahy에 의해 보고되었다. 이 기술이 동결화 과정을 단순화 하고 있으나 동해방지제를 용이하게 제거하지 못하기 때문에 이 방법의 실용성은 제한되고 있다.

소 수정란 동결 기술이 수립됨에 따라 수정란의 구제간 무역도 많이 이루어지고 있으며 특히 수많은 우수 종축을 보유하고 있는 미국과 캐나다를 중심으로 많은 수정란 수출이 이루어지고 있다. 이와 관련 수정란에 대해 철저한 위생조치가 취해진다면 투명대가 있는 배반포까지의 수정란은 생물학보다 안전하게 수입될 수 있을 것이다.

6. 수정란 이식

자궁경을 우회하여 수정란을 자궁각내 비외과적으로 이식하는 방법은 일본에서 처음 응용되었으나

이 방법은 고도의 기술이 필요하였다.

1979년 Takahashi 등은 수정란이식시 자궁경관을 경유할 때 질내 세균이 자궁을 오염시킬 가능성을 고려하여 수정란 주입기가 자궁경내 주입될 때까지 주입기를 오염으로부터 보호할 수 있는 멸균 외막을 사용시 더 높은 수태율을 얻을 수 있다는 것을 발견하였다. 이 발견이후 1980년대 이 방법은 인공수정만큼 용이한 기술로서 수정란이식술에 도입되었다. 현재는 수정란주입기와 멸균 플라스틱막이 수중에 상품으로 나와 있다.

또한 황체기때 자궁경관으로부터 경관 점액을 제거할 수 있는 기구와 자궁각 깊이까지 수정란을 확실하게 주입할 수 있는 기구도 개발되었다. 이러한 기구들의 내부 및 외부를 소독하는 것은 중요하며 그 효과도 입증되었다.

수정란 이식시 높은 수태율을 얻기 위하여는 완전히 무균적인 상태에서 이식술을 실시하는 것이 무엇보다도 중요하다. 또한 중요한 사항으로서 수란우에 대해 불필요한 스트레스를 주지 말아야 할 것이다. 또한 수정란이식술은 신속히 그리고 부드럽게 수행되어야 한다. 아울러 갑작스러운 사료급여의 변화는 피해야 한다. 여름 계절중 고온 스트레스는 소에서 심부체온을 높이게 되므로 이것은 자궁내 수정란의 발달에 해로운 결과를 초래하게 된다.

7. 임신진단

인공수정된 소의 경우와 마찬가지로 수정란의 이식된 소에서도 번식효율을 높이기 위해 임신진단은 필수적이다.

임신진단은 태막활탈 측정 등의 직장검사 방법이 가장 실용적이나 새로운 방법들이 개발되고 있으며, 이 중에는 효소면역검정법 즉, 혈중 또는 유즙중 progesterone 농도측정법과 태아자체를 관찰할 수 있는 초음파주사방법(real-time ultrasonic scanning method)과 같은 것들이 있다.

8. 체외수정

소에서 체외수정은 상기한 수정란이식과는 완전히 다른 차원인 학술연구차원에서 시도되었다. 최초의 연구는 체외수정 자체의 성공 가능성에 초점이 맞추어졌고, 1977년 A.Iritani 등은 체외 배양조건에서 난자내 정자가 침입되는 것을 확인하였다. 그후 1982년 B.G.Brackett 등은 생체로부터 성숙한

난자를 채취하여 체외수정을 시켜 수정란의 난할이 이루어진 것을 확인하였고, 수정된 난자를 수란우의 난관내 이식함으로써 수란우가 임신이 되도록 하여 송아지를 생산하는데 성공하였다. 이 기술은 연속된 시도에 의해 가능한 방법으로 인정되었으나 난자의 회수 및 이식시 외과적 수술을 실시해야 하므로 실용성에 문제가 제기되었다.

난자의 채취 및 이식을 비외과적 방법으로 수행한 것은 1986년 A.Hanada 등과 E.S.Cuister 등에 의해 각각 별도로 개발되었다. 양자의 경우에서 미성숙 난자는 도축된 소의 난소로부터 회수되어 체외에서 성숙되었다. 체외수정된 난자에서 난할상태를 확인한 후, Hanada의 경우는 수정란을 살아있는 토끼 난관에서 배반포까지 발달을 시켰으며, Crister 등은 살아있는 양의 난관에서 발달시켰다. 그후 난관으로부터 수정란을 회수하여 소의 자궁내 이식한 결과 임신 및 분만이 이루어질 수 있었다.

이 연구가 이루어진지 2년후 일본 연구자들은 체외배양 방법만을 이용하여 체외수정된 난자를 배반포까지 발달시키는 가능성을 증명하였다. 일본의 경우 체외수정 방법이 도입되어 신속히 확산되었으며 이 방법에 의해 생산된 송아지의 수는 급속히 증가되어 1988년 160두, 1989년 475두, 1990년 621두, 1991년 47두에 이르렀다. 체외수정은 많은 양의 소수정란을 저렴한 가격으로 생산할 수 있기 때문에 소 생산에 많은 시련을 겪고 있는 일본 축산농가의 적지 않은 관심을 불러 일으키고 있다. 특히 일본 화우 생산을 높이기 위한 방법으로서 최대의 관심이 모여져 있다. 그러나 매번 서로 다른 소의 난소를 이용하여 체외수정을 이루게 하는 것은 번거로운 일이며 수정란 생산단가를 더 높이게 될 것이다. 이러한 문제를 극복하기 위하여 우리는 체외수정 기술을 더욱 발전시켜야 한다.

9. 소 쌍태 생산

수란우에게 둘 또는 그 이상의 수정란을 이식하여 쌍태 및 삼태(triplets)를 생산하는 것은 가능하나 많은 태아를 임신한 소는 단태임신우 보다 조기 태아 사멸, 유산 및 미숙아 분만을 할 가능성이 더 높다. 따라서 보다 현실성이 높은 방법은 새끼 생산 외에는 더 다른 가치가 없는 유우로부터 쌍태를 생산토록 하여 이 쌍태를 육식우로 판매하는 방법이다. 이 경우에 임신중 태아의 손실이 감소되어야 한다.

O. Suzuki 등은 임신 7일경의 소에 수정란 이식을 수행하였을 때 약 50%의 소가 쌍태를 생산할 수 있다고 보고하였다.

쌍태를 가진 소는 특히 분만전 한달기간중 에너지 결핍을 나타낼 수 있기 때문에 농후사료를 추가로 공급하여야 한다. 영양상태는 임신기간에 영향을 미칠뿐 아니라 분만전·후 쌍태의 생존율에도 영향을 미친다.

소의 쌍태임신에 대한 진단은 임신 약 50일경 초음파주사방법(real-time ultrasonic scanning method)에 의해 이루어질 수 있으며 이때 한 자궁 각내 쌍태가 있는 경우는 더욱 면밀한 검사가 필요하다. 쌍태의 진단은 임신이 진행될수록 양호한 영양관리 및 분만관리를 위해 중요하다. 이것은 혈중 estrogen의 측정 그리고 태아의 심전도 측정에 의해서 가능하나 이 기술들은 아직 실용화되어 있지 않다.

여러 실험에 의하면 쌍태분만 후 분만우가 좋은 영양상태에 있으면 번식능력은 양호하게 회복되며 그후 다시 쌍태를 생산할 수 있는 것으로 인정되고 있다.

10. ET와 관련된 미래의 기술

하나의 수정란을 두개로 분리시킴으로써 일란성 쌍태를 생산할 수 있으며 이 기술은 고능력, 고가의 소 수정란을 보다 효율적으로 사용하는 방법으로서 인정되고 있다.

여러 국가에서 클론 수정란(clone embryos)을 수정란 이식하여 클론 송아지의 성공적인 생산에 대한 보고가 있다. 이 방법은 수정란의 각 난할구

(blastomere)를 핵을 제거한 다른 난자 세포질내 이식하여 세포질과 융합하도록 하는 방법이다(핵이식, nuclear transfer). 이렇게 융합시킨 난을 배양시키고 발달된 수정란으로부터 다시 많은 수정란을 재조성하여 생산시킬 수 있다.

일본의 경우 한편은 생체로부터 성숙한 난자를 준비하기가 어려운 이유때문에 이 기술에 대한 재료 및 연구는 단지 실험동물에만 사용되어 왔다. 최근에는 일본에서도 소 수정란 핵이식 및 체외성숙 난자를 이용한 체외배양의 연구에 많은 발전이 있어 이러한 난자들에 대한 수정란 이식을 통하여 성공적인 송아지 생산 예가 보고되었다. 일본에서 일란성 쌍태 및 클론 송아지 생산은 아직 성공되지 않았으나 향후 기술의 개발과 함께 이 방법을 이용하여 고능력우를 생산할 것으로 기대하고 있다.

수정란의 성감별 방법으로서 수정란의 세포 일부를 취하여 Y chromosom 특이 DNA 염기를 판정함으로써 성감별이 가능한 것으로 증명하고 있다(C. M. Herr 등, 1990). 또한 수정란 이식시 수정란의 일부세포에 대한 성감별을 하여 생산된 송아지의 성은 수정란의 성감별 결과와 대체적으로 일치되는 것으로 보고되어 있으나 아직 이러한 성감별 기술은 실험실 수준에서 행해지고 있다.

상기 수정란에 대한 연구 및 기술들이 미래의 가축생산 기술을 크게 좌우할 것으로 보이나 이러한 기술 및 방법들은 수정란 이식에 의해 충분한 수준의 임신율이 확보되지 않으면 크게 실용적이지 못할 것이다.