

수정란 이식에서의 과배란

손 동 수

1. 공란우의 선정

공란우란 수정란을 생산하는 소를 말하며 좋은 공란우를 선정하여야만 수정란이식 목적에 부합하는 정상적인 수정란을 많이 생산할 수 있다.

가. 공란우의 선정조건

- 1) 유전적으로 우수한 형질을 보유하고 있는 소로서 젖소에서는 유지방이나 단백질 함량이 높은 우유를 많이 생산하는 소이며 한우와 같이 고기를 생산하는 소에서는 증체량과 육질이 좋은 소를 선발한다.
- 2) 전염성 질병과 유전성 질병을 갖고 있지 않은 건강한 소로서 수정란을 통하여 전파될 수 있는 질병에 대한 검진을 실시한 개체를 선발한다.
- 3) 번식능력이 높은 소로서 번식상황이 명료하고 생식기와 발정주기가 정상적인 개체를 선발한다.
- 4) 자궁 및 자궁경관은 염증이 없고 하수되지 않은 성주기의 난포와 황체를 가진 소를 선발한다.
- 5) 미근부와 요부에 지방조직이 축적되어 비만하거나 깊이 함몰되어 영양불량상태가 아닌 Body condition score가 2.5~3.0에 있는 영양상태가 양호한 소를 선발한다.

나. 공란우의 사양관리

공란우가 최적의 건강상태를 유지하여야만 좋은 수정란을 많이 채란할 수 있으므로 비만 또는 수척되지 않도록 양질의 사료를 적절하게 급여하고 비타

민과 광물질로 부족하지 않도록 한다. 즉, 칼슘과 인의 균형을 유지하며 번식효율과 관련이 있는 아연(Zn), 망간(Mn), 구리(Cu), 철(Fe), 셀레늄(Se) 및 청예사료를 적절히 공급한다.

공란우는 분만시 난산과 후산정체가 발생되지 않도록 주의하여 관리하며 분만후에는 정기적으로 생식기를 검사하여 이상이 있을 시에는 즉시 치료함으로써 적기에 수정란을 채란할 수 있도록 하고 장기간의 치료를 요하는 소는 대상에서 제외한다.

아까바네병, 전염성비기관염, 소 바이러스성 하리 등에 대한 예방접종을 정기적으로 실시하고 소결핵, 부루셀라병, 요네병, 소 백혈병 등에 대한 검사로 전염성 질병의 발생이 없도록 한다.

2. 과배란 처리

공란우에 성선자극호르몬을 주사하여 많은 난자가 배란되게 하는 것을 과배란처리라고 하는데 공란우가 정상적인 발정주기를 반복하고 있는 것은 과배란처리 성공의 한 요인이 된다. 과배란처리는 다음의 발정주기를 예측하여 실시하기 때문에 정확한 발정주기가 반복되어야 한다.

공란우는 보통 분만 60일 이후 생식기가 회복되고 발정주기가 정상적으로 2회이상 반복된 소에 대하여 과배란처리를 한다. 과배란처리에 사용되는 성선자극호르몬은 난포자극호르몬(FSH; Follicle stimulating hormone)과 임마혈청성 생식선자극호르몬(PMSG; pregnant mare serum gonadotrophin)이다. PMSG는 1회 주사로 과배란을 유지할 수 있

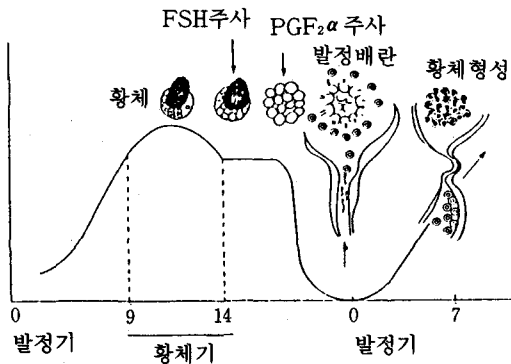


그림 1. 발정주기를 이용한 과배란처리.

나 채란된 수정란중 정상 수정란의 수가 FSH보다는 낮기 때문에 FSH를 선호하고 있다. 그러나

FSH는 투여를 4~5일동안 1일 12시간 간격으로 2회 주사를 하여야 하기 때문에 번거롭고 고가의 약품으로 국내에서는 쉽게 구하기가 어려운 점 등의 단점이 있다.

FSH나 PMSG의 투여시기는 발정발현후 9~14일째에 시작을 하는데 FSH는 32~40mg을 1일 2회 감량분할하여 4~5일간 주사하고 FSH주사 개시후 3~4일째에 PGF₂α 45mg을 2회 분할주사하며 PMSG의 경우에는 2,500~4,000mg을 주사하고 2일후 PGF₂α 45mg을 주사하여 발정을 유지한다.

3. 공란우의 발정과 수정

표 1. 공란우 과배란처리 일정표

일 자	시 간	공란우 처리	비 고
1	06:00	FSH 6mg	발정후 9-13일째 젖소 공란우 체중 600kg
	18:00	FSH 6mg	
2	06:00	FSH 5mg	
	18:00	FSH 5mg	
3	06:00	FSH 4mg	(수란우 PGF ₂ 30mg)
	18:00	FSH 4mg	
4	06:00	FSH 3mg & PGF ₂ α 30mg)	카마르부착
	18:00	FSH 3mg & PGF ₂ α 15mg)	
5	06:00	FSH 2mg	발정관찰
	18:00	FSH 2mg	
6	06:00	발정발현	발정관찰
	18:00	정액 2straw 수정 LHRH 200mcg	
7	06:00	정액 2straw 수정	자궁내주입
	18:00	세파졸린 500mg	
8	09:00		채란기구 소독
12	14:00	채란액 제조	채란액 제조, 기구준비
13	10:00	채란 & PGF ₂ α 30mg	수정란 검사 (주정란이식)수정란 동결
	11:00		
	12:00		

과배란처리된 공란우는 PGF₂α 투여후 2일째의 아침에 발정이 대부분 나타난다. 2일째의 아침에 다른 소를 허용하는 발정상태를 보이는 소에는 오후에 2스트로의 정액으로 인공수정을 하고 다음날 아침에 2스트로의 정액으로 재수정을 실시한다. 정액이 아주 비싼 값일 때에는 첫날 오후 2스트로, 다음날 아침 1스트로로 수정한다.

공란우의 인공수정시에는 아직 배란이 개시되지 않고 난관체가 팽대되어 난소를 싸고 있는 상태이다. 따라서 이 시기에 난소를 촉진하면 배란 또는 수정을 저해할 우려가 있기 때문에 주의하여야 한다.

인공수정시에는 공란우의 외음부를 알콜 등으로 소독한 후 수정하고 수정후 자궁내에 항균제 등을 주입하여 세균의 오염을 방지한다.

4. 수정란 채란

배란후 수정된 난자 즉, 수정란은 4~5일후에 자

궁각 선단에 도달하게 되므로 수정란 채란은 일반적으로 발정후 6~8일에 실시하게 된다.

채란에 필요한 기자재는 세척, 건조, 멸균하여 준비하여 두고 자궁내 수정란을 씻어낼 관류액은 일반적으로 2% 소혈청과 항균제가 첨가된 Dulbecco's phosphate buffered saline(D-PBS)을 사용하는데 채란에 앞서 미리 32~34℃의 항온수조에 넣어서 보온시켜야 하며 관류액을 회수하는 메스실린더도 항온수조에 넣어 보온해 둔다.

공란우를 보정들에서 앞다리 부분이 약 20cm 높게 하여 경사지게 보정시키고 2% Lidocaine 5~7ml의 주사로 미추 경막외마취를 한 다음, 직장내 분변을 제거하고 외음부 주의를 깨끗이 닦고 알콜로 소독한다.

카테타(2 way foley catheter)를 자궁각 선단에 넣고 카테타내 풍선(catheter ballon)에 15~18ml의 공기를 주입하여 고정시키고 나서 관류액을 넣어 자궁을 가볍게 마사지 하면서 메스실린더에 회수한다.

한쪽 자궁각의 채란이 끝나면 같은 방법으로 나머

표 2 채란액(D-PBS) 조성성분

성분		용량(/L, 3차 증류수)
Sodium Chloride ¹	NaCl	8,000mg
Potassium Chloride ¹	KCl	200mg
Disodium Phosphate ¹	Na ₂ HPO ₄	1,150mg
Monopotassium Phosphate ¹	KH ₂ PO ₄	200mg
Magnesium Chloride ¹	MgCl ₂ ·6H ₂ O	100mg
Calcium Chloride ¹	CaCl ₂	100mg
Sodium Pyruvate ¹		36mg
Glucose ¹		1,000mg
Phenol Red ¹		5mg
Potassium Penicillin G ²		100,000Iu
Dihydrostreptomycin Sulfate ²		100,000 μg
Fungizone ²		250 μg
Fetal Bovine Serum ³		20ml

¹Dulbecco' sphosphate buffered saline(D-PBS) : GIBCO, Cat. NO. 11500-022

²Antibiotic-Antimycotic : GIBCO, Cat. No. 600-5240PE

³Fetal Bovine Serum : GIBCO, Cat. No. 200-6140AJ

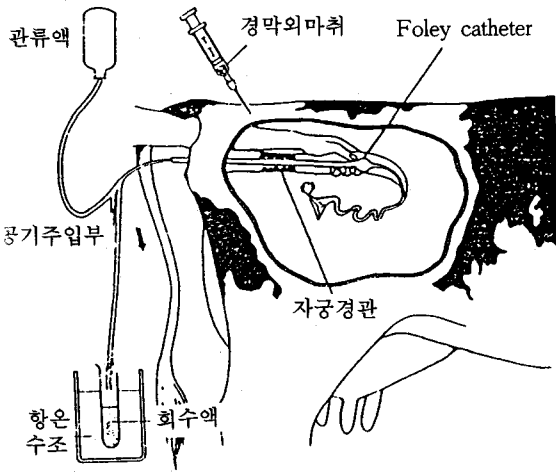


그림 2 수정란 채란방법.

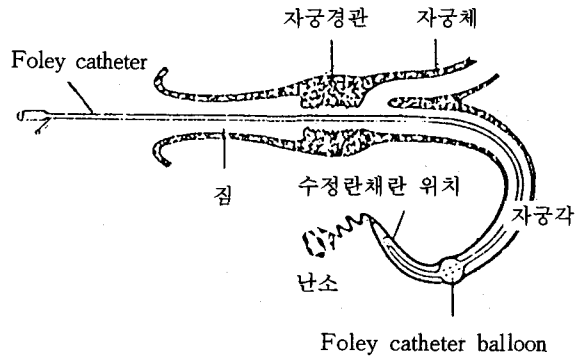


그림 3. 수정란 채란위치.

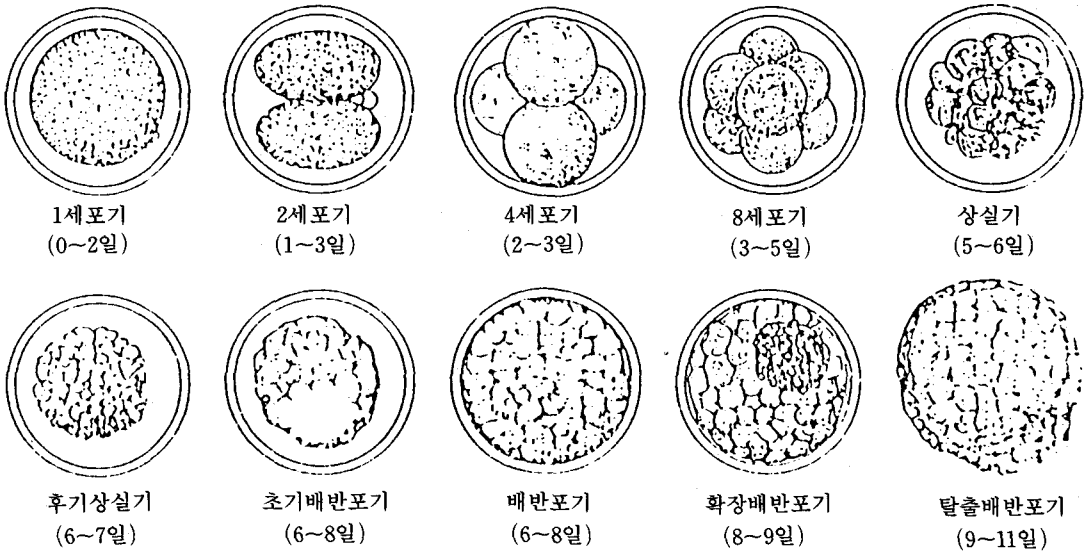


그림 4. 배란후 수정란의 발육단계.

지 자궁각을 채란하는데 시술자의 숙련도 등에 따라 다르지만 한쪽 자궁각의 관류액은 400~500ml 정도면 충분하다.

5. 수정란 검사

메스실린더에 회수한 관류액을 30분간 실온에서 정지한 후 상층액을 천천히 제거하여 남은 액이 100ml 정도되었을 때 메스실린더를 가볍게 흔들어 액을 부유시키면서 3~4개의 유리샤래에 나누어 붓는다.

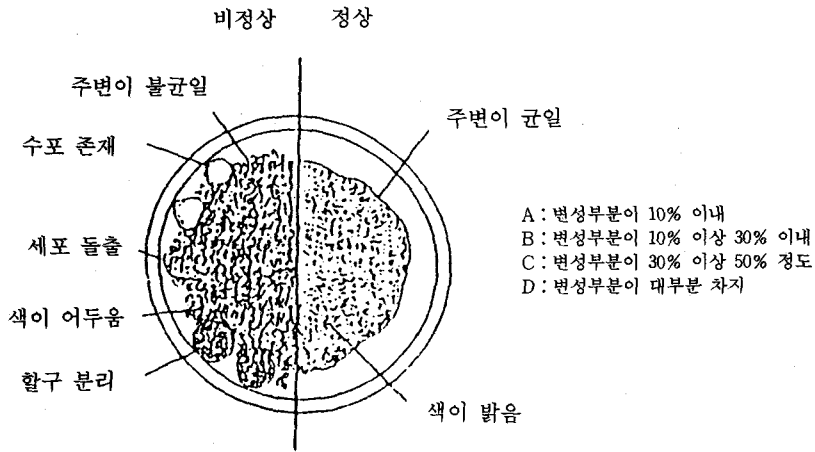


그림 5. 수정란의 품질판정.

소 수정란의 크기는 직경 150~190 μ m으로 관류액에서 수정란을 찾을 때는 실체 현미경의 배율을 14배로 하여 보는 것이 좋다. 사례의 우측 상단으로부터 좌측으로 주의깊게 수정란을 검색하고 관류액으로부터 수정란을 발견하였을 때는 20% 소 혈청이 첨가된 D-PBS 보존액 샬레로 마이크로 피펫 등과 같은 것을 이용하여 옮긴다.

회수된 수정란은 형태에 따라 발육단계와 질을 판정하여 기록하는데 형태학적 관찰에 의한 수정란의 질과 수태율은 거의 일치하는 것으로 알려져 있다. 발정후 6~8일째에 회수되는 수정란의 발육단계는 상실기와 배반포기의 수정란이 회수되고 질은 1등급에서 불량란까지 매우 다양하게 나타난다.

소 수정란의 등급분류는 표 3과 같이 구분하며 1

등급에서 3등급까지는 이식이 가능하고 4등급 수정란은 이식을 하지 않는다.

표 3. 소 수정란의 등급

등급	구분
1(우수란)	우량 수정란으로 정상적으로 발육하고 형태에 이상이 없는 수정란
2(우량란)	양질 또는 보통의 수정란으로 난세포에 경미한 불균형이 있는 수정란
3(보통란)	난세포에 중 정도의 불균형 또는 변성이 있고 발육이 약간 늦은 수정란
4(불량란)	정상적인 난세포는 적고, 형태에 이상이나 변성이 있으며, 발육이 현저히 늦은 수정란