

특집/'95 전국 대동물임상수의사 연수교육 ②

소 수정란의 채취

황 우 석

1. 공란우 선발 및 관리

1. 공란우의 선발조건

최근 소의 과배란 처리기술의 발전으로 공란우 1두당 회수되는 정상란의 수가 평균 5~6개로 향상되었으며 비외과적 회수 및 이식기술의 확립과 동결융해 수정란의 수태율 증진 등으로 그 비용이 매우 절감되어 수정란이식기술의 일반축산농가 보급에 지대한 영향을 미쳤다. 일반적으로 우군의 비유능력이 상위 10~20%인 공란우를 선발이용 하여 성공적으로 수행된 경우 2~3년 내에 전체우군에 대한 우량우의 비율이 70%에 육박하게 되므로 공란우의 선발, 평가 및 시장성은 매우 중요한 요인이다.

공란우의 선발은 다양한 기준에 의해 결정되나 기본적으로 비유우는 비유능력이 높아야 하며 비육우의 경우는 육질 및 증체량이 많은 소를 대상으로 한다.

공란우의 선발시 고려하여야 할 기본요인은 다음과 같다.

- ① 유전적으로 우수한 형질을 소유하며 특별한 유전적 질환이 없어야 한다.
- ② 번식능력이 높아야 한다.
- ③ 건강하여야 하며 내병성이 뛰어나고 전염성 질환이 없어야 한다.

④ 산자의 시장가치가 높아야 한다.

위와 같은 요인으로 기본으로 번식경력이 뚜렷하며 정상적인 성주기를 나타내고 임신유지에 장애가 되는 질병이 없으며 노령우가 아닌 소를 직접 선발하여 수정란 이식계획에 이용하여야 한다.

일반적으로 미성숙우는 외인성 성선자극호르몬에 대한 민감도가 높기 때문에 자궁, 난관내 환경과 수정란의 발육상황이 달라지게 되므로 피하는 것이 좋으며 산자능력의 판정여부가 명확하지 않으며 공란우 후보에서는 제외하는 것이 좋다.

공란우 1두당 회수란수와 정상 수정란수는 공란우의 연령, 산후일수, 비유량, 체중, 품종 및 번식경력에 따라 차이가 나며 성주기중 성선자극호르몬의 종류, 제조회사, 제조일자, 투여량, 투여개시일 및 투여간격에 따른 영향과 계절, 기후 및 지역에 따른 상호연관이 복잡하게 이루어져 있으므로 극히 면밀하게 계획, 시행되어야 한다.

공란우의 선별연령은 10세 이상이 되면 원시난포가 감소하여 배란감소가 일어나게 되므로 2~10세 범위에서 선발하는 것이 좋다. 또한 분만후 약 6개월 정도에 번식기능이 활발하게 재개되므로 이 시기에 선발이용하는 것이 좋으며 장기간 공태우의 경우 반응저하가 일어나므로 주의하는 것이 좋다.

성선자극호르몬의 투여일수는 성주기 9~14일(발정일 0일 기준) 범위가 좋다. 소는 원래 계절번식동물이 아니나 여름에 고온이 지속될 경우 발정주기와

* 서울대학교 수의과대학

수정에 영향을 미치므로 하절기의 사양 및 영양상태는 철저히 고려되어야 한다. 또한 자궁내막염, 생식기 유착 및 난소낭종 등의 생식기 관련 질병 이환우와 번식장애우 및 나이 어린소 등도 공란우 대상에서 제외되어야 한다. 과배란 처리시 처리횟수에 따른 수정란수는 개체간에 따라 다양하게 나타나나 수회 반복처리시 회수란수는 감소하며 처리간격은 전회 처리후 70일정도 경과하는 것이 좋다.

공란우는 정상적인 발정주기를 보여야 한다. 과잉배란 처리전 2회 이상의 정상발정주기가 나타나야 하며 반드시 확인할 필요가 있다. 과배란처리 직전의 수송이나 급작스런 환경의 변화, 식성의 변화에 따른 성주기의 변동이 일어날 수 있으므로 극히 주의하여야 하며 이상이 생길 경우는 조기에 진단하여 치료하여야 한다.

2. 공란우의 사양관리

1) 공란우의 영양과 번식

공란우는 최상의 번식기능을 유지하여야 한다. 또한 영양상태도 정상적이어야 한다. 영양상태가 양호한 소만이 정상적인 번식과 발정을 가능하게 하므로 사료는 충분히 공급하여야 하며 체중의 감소나 저영양수준 상태가 되어서는 안된다. 영양가가 높은 건초를 공급하여야 하며 품질이 낮거나 영양가가 낮은 목초는 피하는 것이 좋다. 단백질 및 비타민, 미네랄 결핍에 유의하며 성장과정에 충분히 공급되어야 한다. 미네랄이나 P의 부족은 발정지연의 원인이 되므로 충분히 배려하여야 하며 최근 번식에 관여하는 것으로 언급되어지고 있는 vitamin A의 전구물질인 β -carotene이 포함된 생초를 급여하며 동절기의 건초급여는 특히 유의하여야 한다. 겨울철에는 영양가가 높은 건초를 준비하여야 과잉배란처리 성적향상에 도움이 된다.

특히 과배란처리 성적의 하강은 사료급여에 있어서 영양관리상태는 항상 점검하여야 된다. 물은 1일 약 37~38ℓ 정도 급수하여야 하며 수질이 양호해야 한다. 생리적으로 하절기에는 음수량이 약간 증가하고 동절기에는 약간 감소하는 경향이 있다.

2) 공란우의 체란 전후의 사양관리

공란우가 과비되거나 쇠약해지는 경우 만족할만한 결과를 얻을 수 없게 된다. 최적 건강상태유지와 함께 청결해야 하며 신선한 물, 염분, 비타민 및 미네랄이 급여되어야 한다. 부족한 경우에는 더 보급하며 과밀집사양은 피하고 노령우나 신경과민인 경우에는 격리사양하는 것이 좋다.

2. 과잉배란 처리

갓 태어난 송아지의 경우 앞으로 성숙되거나 배란될 난포수에 비해 1,000배나 더 보유하고 있다. 전 번식장애를 통해 난자와 함께 난포들은 항상 퇴행하고 있다. 과배란은 이와같이 배란되지 못하는 난포들을 최대도 이용하는데 주 이점이 있다. 과배란용 호르몬제의 기전은 잘 밝혀져 있지 못하나 퇴행되버릴 몇몇 난포들을 구해낼 수 있다.

난포발육의 과정에서 많은 수의 난포들을 성숙시키기 위해 성선자극호르몬을 발정주기의 황체기 동안에 투여한다. 이 처치는 반드시 혈중내 progesterone 농도가 떨어지기 전에 시작되어야만 한다. 만약 비정상적인 발정주기를 보이는 경우 처치전에 공란우의 발정주기를 적어도 한주기 이상 면밀히 검사하여야 한다. 또한 생식계통의 병리적 소인여부도 함께 검토하여야 한다.

수년동안 과배란을 위한 일반적인 약제는 PMSG가 사용되어져 왔다. 아직까지도 전세계에서 광범위하게 이용되고 있으나 FSH가 보다 더 많은 수의 황체를 유지시키며 이용가능한 수정란을 많이 얻을 수가 있다. 그러나 용량에 대한 개체반응의 정도변화가 매우 심하여 전혀 무반응으로 나타나거나 난소의 크기가 오렌지 크기 이상으로 되는 과민반응이 나타나기도 하며 한 난소당 20~30개 정도의 배란이 유도되기도 하나, 이용가능한 수정란의 수가 매우 희박해진다. 위와 같은 난소의 경우 난관체로의 난자의 유입이 기계적으로 방해받기 때문에 회수율이 매우 떨어진다. 더구나 다수의 황체와 황체화된 난포로 인해 progesterone의 과량분비로 난관내에서의 정자와 난자의 수송이 장애를 받게 된다. 가장 이상적인 과배란반응은 난소의 크기가 계란만하게 되고 각

난소당 5~10개의 배란이 되는 것이다.

FSH는 난포의 성숙을 자극하는 것으로 발정주기 9~14일 사이에 처치를 시작하여 FSH 2~6mg을 12시간 간격으로 8회 투여한다. 이 과정에서 충분한 혈중내 농도를 유지시켜 난포들의 발육을 돕게 되는 것이다. 또한 높은 에스트로젠 때문에 그대로 두면 약 3일 정도후에 발정이 오므로 PGF₂α와의 병용으로 48시간 이내에 발정을 유도시킨다. 예를 들면 발정주기 10일째부터 주사하고 13일째에 PGF₂α 처리하면 15일경에 발정이 오게 된다. 이 PGF₂α 주사로 휴일을 피하거나 원하는 날짜에 발정을 유도시키는 유동적인 장점이 있다.

FSH는 ml당 2mg 정도가 취급이 용이하며 멸균된 생리식염수에 용해하여 냉장보관해서 사용한다. 이 경우 주사침의 재사용으로 인해 미생물의 오염으로 불활화되기도 하므로 주의하여야 한다. FSH에 LH의 첨가는 불필요하다. 사실 실제 사용되는 것들의 대부분이 필요이상의 LH를 함유하고 있으나 과배란처리시 외인성 LH는 필요하지 않다. 그러므로 발정시 GnRH의 사용으로 내인성 LH의 급증을 유도시키는 것이 더 좋다. 때때로 배란이 24시간 보다 길게 진행되기도 하는데 이 경우 많은 수의 난자수정이 이루어지지 않게 된다.

FSH 투여 시작후 5일째에 난소의 크기와 난포의 발육반응을 기록하여야 한다. 난포의 수를 측정하는 것은 정확한 지표가 되지 못하나 난소의 크기여부는 매우 좋은 지표로 활용된다.

발정시기와 배란시기의 직장검사는 피하는 것이 좋으나 수정란 회수 1~2일전의 직장검사로 반응을 진단하고 회수여부를 검토하는 것이 좋다. 반응이 좋은 경우 이 시기에 난소의 크기가 상당히 커져 있으며 황체가 잘 느껴진다.

중중 반응이 없는 난소의 경우 FSH 처치전의 직장검사 소견과 별 차이가 없으며 난소의 경도가 상당히 증가된 양상을 나타낸다. 또한 때때로 FSH 처리 1~2일째에 발정증상을 보이는 경우가 있는데 만약 이 시기에 수정을 시키면 수정란의 회수율이 매우 저하되므로 값비싼 정액은 이 시기에는 사용하지

않는 것이 좋다.

3. 발정검사

과배란 처리후 공란우의 발정증상은 매우 면밀히 검사되어야 한다. 전체 우군의 약 10% 정도가 발정증상을 나타내지 않으므로 이 경우는 인공수정 대상에서 제외시켜야 한다. 뇌하수체에서의 성선자극호르몬에 의하여 혈중 estrogen 농도가 상승하여 최고치에 도달하게 되면 발정증상을 나타내는데 육안적 관찰을 매우 주의깊게 실시하며 보조적인 발정검출기구 등을 사용하기도 한다.

가장 믿을만한 발정증상으로는 승가나 용모성 발정(standing estrus)이며 보조적 증상으로는 불안정, 흥분, 안충혈, 포효, 식욕감퇴, 유량감소, 외음부 냄새맡기, 외음부 충혈, 외음순 종대 및 점액의 배출 등이 있으며 일반적으로 용모성 발정(standing estrus) 증상은 평균 12~16시간정도 짧게 지속되므로 유의하여야 한다.

가장 많이 사용하는 육안적 관찰법이 매우 중요하며 검출자의 숙련정도에 따라 발정검출율의 심한 차이가 나므로 유의하여야 한다. 하루에 적어도 2~3번 이상 오전, 오후에 각각 약 20~30분 동안 관찰하여야 하며 야간에는 구분하기 어려운 점이 있다. 발정증상을 나타내는 소의 경우 맑고 높은 점도의 질점액이 외부생식기나 꼬리 및 궁둥이 부위에 묻어 있거나 견부위에 진흙이나 분변이 묻어 있기도 하며 미근부의 탈모나 마모 그리고 음순의 종대 등이 특징적이므로 자세히 관찰하여야 한다. 소의 경우 특징적인 발정후기 출혈을 보이기도 하나 교미, 번식력과는 무관하다.

보조적 발정검출방법으로 압력에 민감한 장치들 소의 등뒤에 매달아 승가허용시 흔적이 남도록 유도하거나(mount detector) 발정기 동안의 보행증가로 Pedometer(보수계) 등도 유용하다. 또한 질점액 전기저항의 변화로 질점액내의 chloride 양의 증가로 전기저항이 감소되므로 발정전과 비교, 측정하여야 하나 비싼 것이 단점이다. 그리고 혈중내 및 유즙내의 progesterone 농도측정과 teaser bull 등의 이용도

유용한 방법이다.

4. 인공수정

발정주기의 적절한 시기에 정확한 기술을 이용한 정액의 주입이 인공수정의 성공여부에 가장 필수적인 요소이다.

1. 인공수정의 적기

과배란 처리시 인공수정은 정상 발정시의 인공수정과 차이가 없다. 일반적으로 인공수정은 발정중기나 발정종료후 6시간을 넘기지 않고 실시되어야만 한다. 이 시기에 발정증상을 나타내며 생식도관내 세포활성도가 호르몬에 의해 변화되어 정자의 이동에 많은 도움을 주게 된다. 소의 발정기의 길이가 12~36시간(평균 18시간)정도 되며 용모성 발정(standing estrus)을 보인후 약 24~30시간내(발정종료후 10~12시간후)에 배란이 일어나므로 만약 오전에 발정증상을 보인다면 같은날 오후 및 다음날 오전에 걸쳐 2회 수정시키는 것이 좋으며, 오후나 밤에 발정을 보인다면 다음날 오전 및 오후에 수정시키는 것이 좋다. 이러한 통상적인 방법은 "AM-PM breeding"이라 한다.

발정이 시작되는 정확한 시간을 결정하는 것은 매우 어려운 일이므로 일반적으로 첫 발정증상을 보인

후 24시간 이내에 실시하는 것이 좋다. 또한 과배란 처리에 의해 형성된 다수의 난포의 배란시간이 일정하지 않으므로 2회이상 수정시키는 것이 보다 좋은 결과를 얻을 수 있다. 일반적으로 배란된 난자의 수정가능시간이 약 10시간정도 밖에 되지 않으므로 적어도 배란 수시간전에 정액을 주입하여 충분한 정자의 수정능 획득과정이 암소의 생식도관내에서 유도되어야 높은 수정율을 기대할 수 있게 된다.

2. 인공수정

사용되는 기구로는 인공수정용 gun, 직장검사용 장갑, 정액용해용 보온병, 질소탱크, straw cutter, paper towel, 세제, sheath 및 소독액 등이 있으며 모든 기구 및 소모품은 멸균되어 오염원을 철저히 제거시켜야 한다.

일반적으로 가장 많이 사용되는 방법이 직장질법(recto-vaginal method)이다. 상당한 기술적 숙련도가 필요하며 더불어 동결정액의 적절한 용해와 취급이 매우 중요하다. 먼저, 대상우를 잘 보정한 후 개체 기록을 작성하며 외음부와 그 주위를 운수로 잘 세정한다. Paper towel로 물기를 제거한 후 인공수정용 gun에 동결용해정액이 들어있는 straw를 장착시킨 후 sheath를 씌운다. 직장검사용 장갑을 왼손에 끼운채 독성이 없는 윤활제를 바른후 직장에 위치시킨 후 분변을 완전히 제거한다. 대상우의 꼬리를 왼




시간	너무이름	적기	최 적 기	너무늦음
0	6	9	18	24 28 배란
				
발정전 (6~10시간)	발정 (18시간) 1. 송가려움 2. 거동불안정, 흥분 3. 식욕, 유량감소 4. 외음부 충혈, 종대 점액배출		발정후 (10시간)	난자의 생존 (6~10시간)

그림 1. 인공수정의 적기.

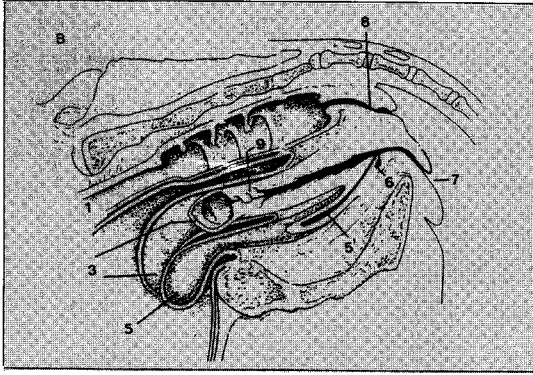


그림 2 소의 복강내 생식기관의 위치.

1. 하행결장; 2. 난소; 3. 자궁각; 4. 자궁팽인대; 5. 방광; 6. 요도; 6. 요도하계설; 7. 음문; 8. 직장; 9. 자궁경관.

손바깥쪽으로 위치시키고 자궁경부를 촉진하여 확인한다.

발정시에는 자궁경부가 어느정도 열려 있으므로 엄지와 두번째 손가락을 이용하여 자궁경부를 잡는다. 그후 조심스럽게 AI gun을 음순을 벌리고 요도 개구부로 들어가지 않도록 약 30° 정도 위쪽으로 향하여 밀어 넣는다. 그후 경관입구에 위치시켜 조심스럽게 자궁경관개구부를 통과하여 자궁경관주름을 피하여 무리하지 않게 통과시킨다(자궁경관개구부가 중앙에 있지 않은 경우가 많으므로 경관 앞부분에서 gun의 선단부를 확인한다).

자궁경관을 통과한 후 자궁체 3/4부위에 위치시킨

후 적어도 약 5초동안 서서히 나누어 정액을 주입한다. 정액주입이 완료된 다음, 직장검사를 실시하는 손으로 gun을 조심스럽게 잡아 누르면서 서서히 뒤로 빼내는 것이 좋다.

5. 수정란의 회수

1. 수정란의 발육에 따른 경시별 위치

2. 비외과적 회수법

1) 수정란의 회수준비

인공수정후 5~6일째에 난소검사를 실시한다. 황체를 확인한 후 반응을 확인하여 수란우를 준비한다. 수정란 회수는 인공수정 개시후 7일 이후에 비수술적으로 행한다. 사용되는 모든 기구(표 1 참조)는 사전에 세정, 건조, 멸균후 소정의 장소에 보관하며 관류액은 수정란 회수전 37~38°C 항온수조내에서 보온시킨다. 관류후액도 위와같이 보존한다.

표 1. 수정란의 비외과적 회수시 사용되는 기구 및 소모품

- ① 수정란 회수매지(PBS medium 1500ml/1회)
- ② Separating funnel
- ③ Tygon tube set
- ④ Fohley catheter 2set
- ⑤ Steel core(내심)

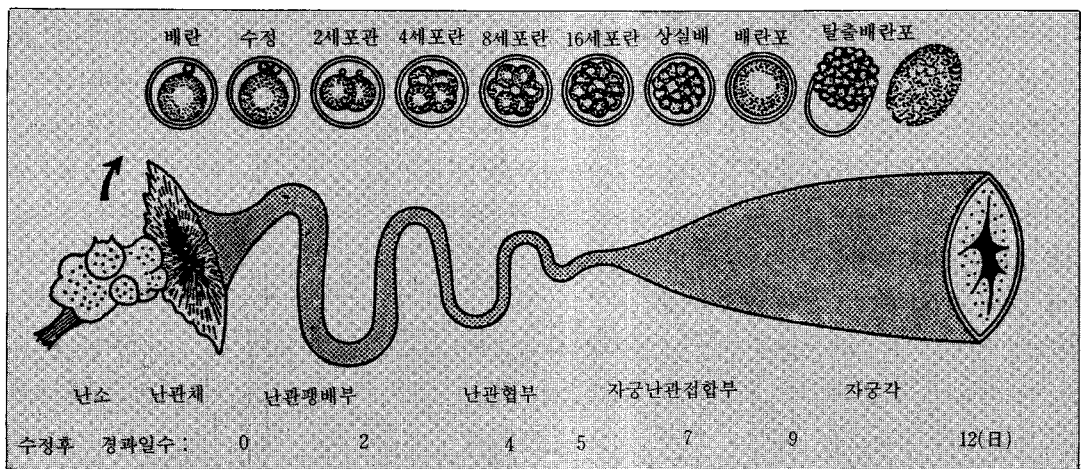


그림 4. 수정란의 발육에 따른 경시별 위치.

- ⑥ 공기주입주사기
- ⑦ 자궁경관 확장봉, 자궁경관 점액제거기
- ⑧ 멸균종이타올, 접지, 가위, 소독액, 직장검사용 장갑, 국소마취제, 전신마취제 (rompun), 꼬리 압박봉대, 비누, 비닐주머니, 호일, 1회용 주사기
- ⑨ 장화, 기록용지
- ⑩ 향온수조

2) 공란우의 보정마취

공란우의 보정은 확실하게 실시하며 청결한 상태에서 소의 앞부분을 약 20cm정도 높게 유지시켜야 채란하기에 용이하다. 보정이 끝난 후에 직장내 분변을 깨끗이 제거하고 미부에 알코올 솜으로 소독하고 10ml 주사기로 2% lidocaine 5~7ml를 주사하여 미추경막의 마취를 실시한 후 꼬리를 보정한다. 미추경막의 마취효과를 볼 수 없는 민감한 소에서는 부교감신경차단제 10ml를 정맥내나 미정맥내 주사하여 전신마취 및 안정을 유도한다.

3) 자궁경관 점액제거

카테타를 삽입하기 전에 자궁경관내 점액을 제거한다. 난회수술의 향상에 관계여부는 불분명하나 자궁경관 점액의 대부분을 제거하여야 난검색시 유리하다.

4) Balloon catheter 삽입 및 관류기구 장착

외음부를 다시 잘 세정한 후 자궁경관확장봉을 먼저 이용한다. 미경산우의 경우 제일 먼저 가느다란 확장봉부터 사용하며 그후 점점 큰 것을 이용한다. 확장봉의 사용은 자궁경관의 상태를 미리 아는데 도움을 주어 catheter의 통과를 용이하게 한다. 자궁경관의 형태는 다양하여 상, 하, 좌, 우로 조심스럽게 조작하여 삽입하며 무리한 조작이 이루어지는 경우 점막에 손상을 입혀 출혈이 일어나게 되면 자궁점막이 비후되어 작업이 어려워지므로 주의한다.

미경산우의 경우 자궁경관이 가늘어서 가느다란 확장봉을 이용하여 자궁체에 삽입되었는지의 여부는 확장봉선단의 촉진으로 확인한다. 이 시기에 자궁점막에 천공이 일어날 수 있으므로 유의한다. 단계별로 확장봉을 사용하여 충분히 확장시킨 후 삽입

한다. 둘째로 미리 소분된 배지를 20ml 주사기에 뽑아 카테타의 내부와 외부에 넣어 세척한다. 그 후 내심을 넣어 결합시킨다. 술자는 내심과 카테타를 자궁경관을 경유하여 자궁각분지부에서 약 5cm정도에 삽입한다. 무리할 조작을 가하지 말고 카테타를 계속해서 자궁심부에 삽입한다. 카테타의 선단이 자궁각분지부 약 5cm에 중격에 다다르면 30ml 정도의 공기를 주사기로 주입한다. 카테타 끝부분에 balloon이 형성될 것이다. 공기는 최초에 약 10ml정도 넣고 그 후 11, 12, 13... 하면서 술자의 지시에 따라 주입한다. 공기양은 미경산우는 약 11~16ml정도 경산우는 18~25ml정도이며 그후의 과정은 자궁각선단부를 세척해내는 원리와 동일하다.

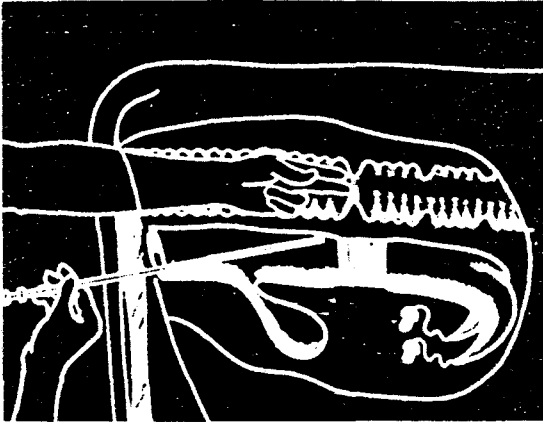
사용하는 카테타의 경우 2way는 관류액의 유입과 유출이 동일한 관에서 이루어지는 것이며 3way는 유출관이 별도로 있는 것으로 관류효율이 증가된다. 시판되는 카테타는 길이가 45cm, 16, 18, 20φ 크기가 있다. 미경산우는 16φ가 좋으며 흑모화종은 18φ가 적당하다. 유용경산우는 18~20φ가 좋으며 길이가 짧은 경우도 있다. 또한 수정란 회수용으로는 다공식카테타가 많이 이용되며 선단부위에 직경 2mm 크기의 구멍이 12~16개 있어 난회수술 용이하게 사용된다.

카테타가 완전히 삽입되어 공기를 주입한 후에는 Y자형관, 수액 set를 연결시키고 외부에서 연결한다. 다 장착시키고 난후 38℃의 관류액을 통과시키고 관류액은 외음부에서 약 1m정도 높은 부위에 고정시켜 매달아 놓는다. 회수되는 관부분은 겹자로 잡아놓고 mass cylinder를 호일로 덮어 낙하세균을 방지한다.

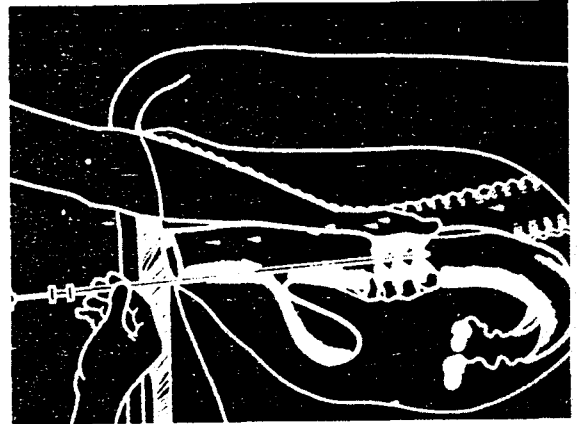
5) 관류액의 보온

관류액은 사용전에 37~38℃의 향온수조에서 보온시킨다. 사용시에는 실온을 유지시키고 동절기의 외부기온에 대하여 기온이 저하되는 것을 방지하여야 한다. Cold shock는 세포의 생존성에 영향을 미치므로 온도의 급변화는 가급적 피하여야 한다(그러므로 겨울에는 실내조작이 유리하다).

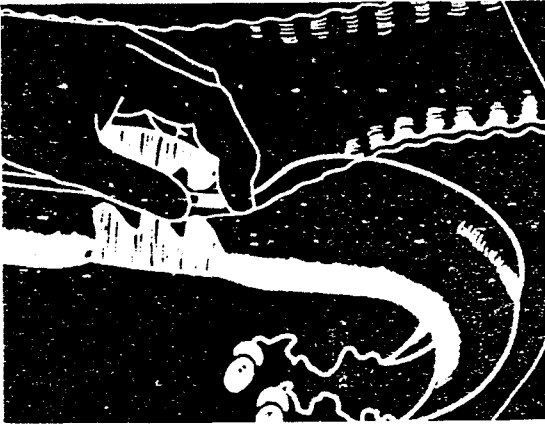
6) 관류방법



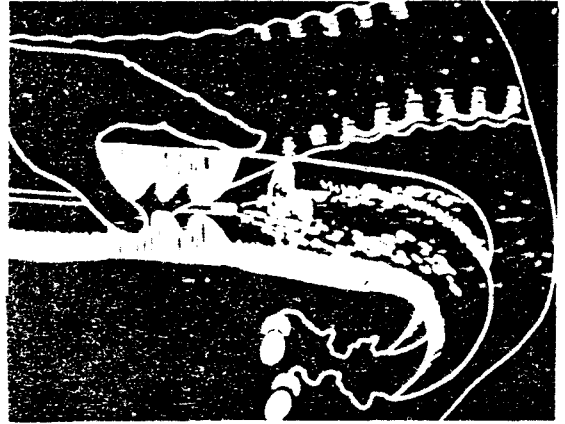
1단계 : 직장벽의 수축구는 두 손가락을 이용하거나, 혹은 앞 뒤로 부드럽게 마사지하여 이완시킨다. 주입기는 질로 삽입한다.



2단계 : 자궁경관을 조작하여 주입기를 삽입한다.



3단계 : 손가락을 이용하여 자궁경관 내구에 주입기 끝을 위치시킨다.



4단계 : 정액을 자궁체 내에 천천히 주입한다.

5단계 : 정액주입시 주입기가 뒤로 당겨지지 않도록 주의하여 자궁체로부터 정액이 퇴출되지 않도록 한다.



그림 3. 직장질법에 의한 인공수정의 단계.

난관자궁접합부법은 그림 5와 같이 외음부에서 약 1m정도 높게 유지시키고 관류를 실시한다. 관류액의 양은 자궁각의 크기에 따라 다르므로 기술과 숙련도에 차이가 나므로 단정짓지 않는 것이 좋으나 일반적으로 좌우 자궁각 약 250ml씩 500ml면 충분하다.

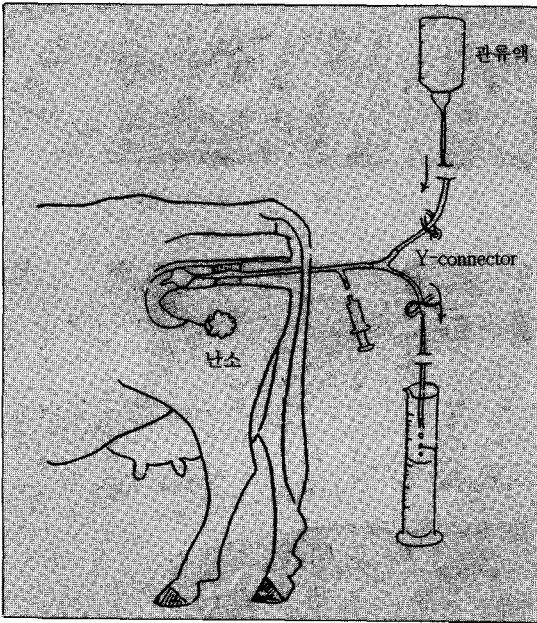


그림 5. 비외과적 회수시 관류방법.

① 관류액의 약 30ml정도를 자궁내로 주입한 후 자궁각 선단과 난관자궁접합부에서 위쪽으로 올려 받치면서 실시한다.

② 관류액 30~50ml정도를 자궁내 주입하고 자궁각 선단부 5~10cm정도에서 위쪽으로 약 2~3회 실시하여 자궁점막과 수정란이 부유되도록 한다.

③ 다음으로 자궁각 선단과 자궁각 flushing 후에 수정란을 회수한다. 우측자궁각을 할 때에는 왼손으로 하며 좌측자궁각을 할 때에는 오른손으로 하는 것이 유리하다. 카테타의 삽입부위는 자궁각 분지부에서 약 5cm 부위에 위치시킨다. 개체차가 있기는 하나 점막의 상처와 출혈이 따르게 되므로 무리한 작업을 하지 않는 것이 좋다. 1회 관류시 약 30~50ml정도가 좋으며 관류회수를 많이 하는 것이 조금

유리하다.

관류가 종료되면 공기를 제거한 후 카테타의 분변이 묻지 않도록 조심스럽게 빼내어 관내에 남아 있는 관류액을 회수한다. 그 후 카테타를 교환하여 같은 요령으로 반대측도 관류한다.

7) 회수후 처치 및 관류회수액의 보존

회수된 관류액을 mass cylinder에 받아 채란실이나 검사실로 운반하여 실온(20~25℃)에 정치시키며 정치장소는 직사광선이 없는 곳에서 실시하며 낙하세균을 방지하기 위하여 호일로 덮어 놓는다. 적어도 1시간 이상 정치시켜 회수된 수정란을 가라앉힌 후 전체 회수량의 약 80%의 상층액을 제거한다. 그 후 남은 배지를 현미경하에서 검경하여 난자를 검색한다.

한편 수정란을 검색하는 방법을 보다 간편하고 빠르게 할 수 있는 여과장치법 여과법(Filter system, Embryo isolation)은 카테타로부터 관류되어 나오는 관에 여과장치를 장착시키는 것으로 약 75μm의 크기의 망이 있어서 관류되어 나오는 배지의 대부분을 통과시키고 수정란만 남게 한다. 여과장치로 들어가는 배지의 흐름을 clamp로 조절하면서 조심스럽게 실시한다. 약 20ml의 배지가 filter 위에 있어 충분히 수정란을 덮고 있다.

채취과정이 모두 끝난 후에는 filter 위의 배지를 80ml의 scored square searching dish에 쏟아 붓는다. 그 후 filter를 22gauge 주사침이 달린 주사기에 배지를 넣어 역으로 잘 세정해 낸다. 종종 수정란 채취 동안에 점액이 뭉쳐 filter를 막기도 하므로 이 경우에는 filter를 교환해주며 이러한 문제가 계속해서 발생되는 경우에는 mass cylinder를 사용하여야 한다.

3. 외과적 회수법(난관관류법)

1) 난관내 회수법

난관체쪽에서 자궁각쪽으로 또는 자궁난관접합부에서 난관체쪽으로 실시한다. 때로 높은 회수율을 나타내기도 하나 자궁, 난관 및 난소주위 유착이 발생하기도 하므로 신중하게 실시하여야 한다.

2) 자궁내 회수법

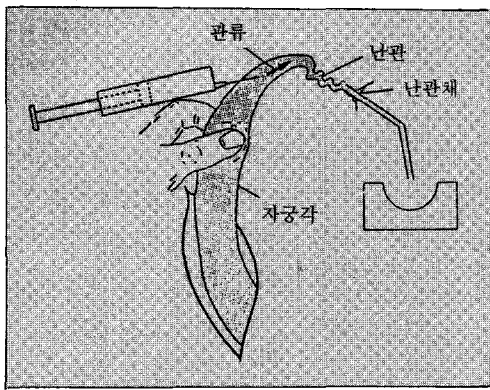


그림 6. 난관내 회수법.

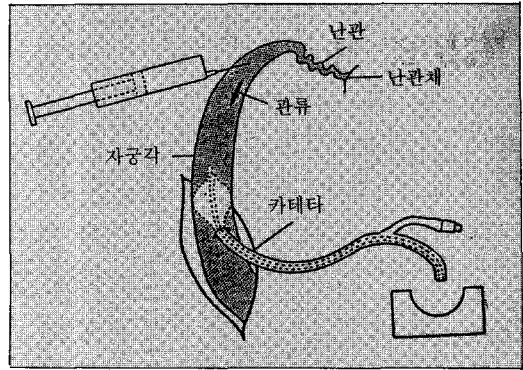


그림 7. 자궁내 회수법.

수정란은 발정후 대개 5일 이후에 난관을 벗어나기 때문에 그 이후에는 자궁각을 관류하여야 한다. 관류액을 자궁에 채부분에서 자궁각쪽으로 집어넣어 회수하며 반대로 실시하기도 한다. 난관회수법에

비해 난회수율이 저하되며 자궁유착 등의 심한 상처를 주기도 한다. 자궁의 크기에 따라 다르나 일반적으로 10ml(2~20ml)의 관류액이 소모된다.

참 고 문 헌

1. Armstrong DT, Evans G : Factors influencing success of embryo transfer in sheep and goats. Theriogenology. 1983; 19 : 31~42.
2. Armstrong DT : Recent advances in superovulation of cattle. Theriogenology. 1993; 39 : 7~24.
3. Huhtinen M, Raino V, Adlto J et al : Increased ovarian responses in the absence of a dominant follicle in superovulated cows. Theriogenology. 1992; 37 : 457~463.
4. Herman HA, Mitchell JR, Doak GA : The artificial insemination and embryo transfer of dairy and beef cattle. : A handbook and laboratory manual 8th edition. Interstate publishers, Inc. 1994; pp. 143~207.
5. Cupps PT : Reproduction in domestic animals 4th edition. Academic press Inc. 1991; pp. 251~274, 445~466, 577~597.
6. Hafez ESE : Reproduction in farm animals 6th edition. Lea & Febiger, Philadelphia. 1993; pp. 405~503.
7. Elsdon RP, Seidel GE, Jr : Procedures for recovery, bisection, freezing and transfer of bovine embryos. 1985; pp. 1~11.
8. 이홍식외 12인 : 수의학부학. 정문각. 1994; pp. 758~760.
9. 金川弘司 : 牛의受精卵(胚)移植 第2版. 近代出版. 1988; pp. 25~126.
10. 菅原七郎 : 圖說 哺乳動物의 發生工學實驗法. 學會出版センター. 1986.
11. 日本家畜人工受精師協會 : 家畜人工受精講習會テキスト(家畜受精卵移植編). 社團法人 日本家畜人工受精師協會. 1990; pp. 122~166.
12. 長嶋比呂志 : 動物의 人工生殖-未來의 動物生産技術-. 裳華房. 1990.