

한우에서 초음파 유래와 도축장 유래 난포란을 이용한 체외 수정란 생산에 관한 연구

손우진 · 강태영 · 조성근* · 심보용* · 최민철 · 최상용 · 박충생* · 이효종
경상대학교 수의학과, 동물의학연구소

Study on *In Vitro* Bovine Embryo Production with Follicular Oocytes Obtained via Ultrasound-guided Ovum Pick-up (OPU) and Slaughter- house-derived(SHD) Ovary Aspiration in Korean Native Cows

W. J. Son, T. Y. Kang, S. K. Cho*, B. W. Sim*, M. C. Choi,
S. Y. Choe, C. S. Park* and H. J. Lee

Department of Veterinary Medicine, Institute of Animal Medicine, Gyeongsang National University

SUMMARY

The present study was carried out for the comparative study on the collection of bovine follicular oocytes by ultrasound-guided ovum pick-up(OPU) and slaughterhouse-derived (SHD) ovary aspiration and *in vitro* production of bovine embryos with the follicular oocytes in Korean native cows.

Bovine follicular oocytes were observed with a 6.5 MHz convex-array ultrasound transducer designed for intravaginal use and the oocytes were collected with the aspiration equipment attached to the ultrasonograph. Bovine ovaries were collected and transported in phosphate buffered saline from the local slaughterhouse, the follicular oocytes were collected by the aspiration method. The collected follicular oocytes in good quality were matured, fertilized and cultured in the media. The total number of the visible follicles and the recovery rate of follicular oocytes were increased in ultrasonography following follicle stimulating hormone(FSH) treatment in Korean native cows. The mean recovery rate of oocytes was 66.2, 52.8 and 41.7% in the FSH-OPU, non-treatment-OPU and SHD ovaries, respectively. The mean number of recovered oocytes per cow were not significantly($P < 0.05$) different between the FSH-OPU(14.0 ± 11.54) and SHD(17.1 ± 6.21) groups, but the numbers in both groups were significantly($P < 0.05$) higher than the number in the non-treatment-OPU(3.7 ± 1.57) group. The mean number of usable oocytes in Grade I / II per ovary was 6.3, 4.8 and 1.3 in the cows of the SHD, FSH-OPU and non-treatment-OPU groups, respectively. The *in vitro* developmental rate to the blastocyst was not significantly different between the oocytes obtained via OPU(37.1%) and SHD(29.3%).

Therefore, the ultrasound-guided OPU technique can be applied to the production of ex-

본 연구의 일부는 1995-1998년 농림부 첨단기술개발과제 연구비에 의하여 연구되었음.

* 경상대학교 축산학과(Department of Animal Science, Gyeongsang National University)

cellent embryos from the high-quality cows, and for the large scale production of *in vitro* bovine oocytes and embryos, the SHD ovary aspiration method is valuable.

(Key words : ovum pick-up, ultrasound, FSH, cow)

서 론

수정란의 생산기술과 이식기술은 동물의 번식효율 향상, 생산성 증대 및 개량 등을 목적으로 초기에는 체내 수정란의 회수방법을 연구 개발하여 왔으나, 근래에는 도축장 난소를 이용한 체외 수정란의 생산기법 개발과 응용에 많은 관심을 보이고 있다. 특히, 체외 수정란의 생산에 관한 연구는 활발히 진행되어 실용화 단계에 이르렀으며 형질전환동물 및 핵이식 동물의 생산연구 등을 위하여서도 필수적으로 선행되어야 할 부분이라 하겠다. 그러나 도축 난소를 이용한 체외 수정란의 생산기법은 많이 개발되어 있으나, 종축의 개량에는 크게 기여하지 못하고 있다. 체내 수정란 이식은 유전적 능력이 우수한 암소의 선발 강도를 높혀 유전적 개량 효과를 높이고자 함에 그 주된 목적을 두고 있으나, 이식 가능한 체내 수정란의 생산 효율면에서는 한계가 있다. 그 대안의 하나로서 최근 우수한 암소로부터 가급적 많은 수의 난포란을 채취하여 체외 수정란을 생산하여, 종축의 개량에 기여하려는 연구가 활발히 수행되어지고 있다(Pieterse 등, 1988; Walton 등, 1993; Meintjes 등, 1995; Stubbings와 Walton, 1995).

소에서 난포란의 회수방법은 주로 도축 난소를 이용한 난포절개(Moor와 Trounson, 1977)와 needle aspiration(Stubbings 등, 1990)방법을 이용하여 다수의 수정란을 저렴하게 생산하여 왔으나, Sirad 등(1985)은 생체 소로부터 외과적 방법으로 배란직전의 난포란을 채란하는데 성공하였으며, 소의 체외 수정란 생산은 Sreenan(1970)이 처음으로 체외 성숙 난자의 체내 수정을 시도한 이후 Brackett 등(1977)과 Iritani 등(1977)은 소 난포란의 체외성숙 및 체외수정의 성공을 보고하였다. Lu 등(1988)과 Goto 등(1988)은 체외 수정란에 의한 산자를 보고하였고, 국내에서도 체외수정란에 의한 산자를 생산하기에 이르렀다(황 등, 1993; 박 등,

1994; 한 등, 1994). 그러나 도축 난소로부터의 채란방법은 다수의 난포란을 회수하는 장점은 있으나, 동일한 소로부터 반복적 채란이 불가능하고, 도축 난소 유래 수란우의 유전적 형질과 개체의 정보가 불확실 등의 단점을 가지고 있으며, 외과적 방법에 의한 난포란 채란은 계속적인 수술과 마취로 인한 동물의 stress와 수술 부위의 창상과 유착으로 반복회수의 기회가 제한되어 양질의 수정란을 생산하기가 힘들다고 하였다(Holland 등, 1981). 현재 이러한 단점들을 보완한 초음파 장치를 이용한 생체 소에서의 채란 방법이 개발되어 활발한 연구가 이루어지고 있다. Pieterse 등(1988)이 소에서 초음파 유도 난포란의 채취와 이를 이용한 체외수정란 생산에 관하여 처음으로 보고한 이후, 이에 관한 연구가 다양한 방면으로 활발하게 진행되어 왔다. 이러한 일련의 연구들은 성선자극호르몬을 처리했거나 또는 처리하지 않은 소에서 (Pieterse 등, 1988, 1991a, 1991b, 1992; Kruip 등, 1993; Loony 등, 1994; Hasler 등, 1995), 난소의 기능이 활성적이지 못한 소에서 (Bols 등, 1995), 미성숙 송아지에서 (Brogliatti와 Adams, 1996; Duby 등, 1996; Presicce 등, 1997), 불임우에서 (Looney 등, 1994), 또는 임신 초기의 소에서 (Meintjes 등, 1995) 각각 난포란을 채란하는 연구를 수행한 바 있으며, 초음파진단기를 이용한 난포란의 채란에 사용할 일회용 needle의 개발 (Bols 등, 1995)과 발정후 주 1회 또는 2회 난포란 채란법의 비교 (Gibbons 등, 1994, 1995; Looney 등, 1994; Bungartz 등, 1995; Hasler 등, 1995) 및 채란시 환경온도와 습도가 채취된 난포란의 체외발달에 미치는 영향 (Broussard 등, 1996) 등에 관한 조사를 실시한 바 있다.

본 연구에서는 한우에서 초음파 유도 난포란의 채란을 위한 FSH 처리의 효과를 조사하고, 초음파 유도 및 도축 난소에서의 난포란의 채란률과 체외 수정란 생산효율을 비교 조사하여, 초음파 유도 난포란 유래의 체외 수정란의 생산 효율성을 알아보 고자 하였다.

재료 및 방법

1. 초음파 유도에 의한 한우 난포란의 채란

1) 공시동물

본 실험에 사용된 한우는 임상적으로 건강하고 번식장애가 없는 암소로서, 연령은 14~22 개월령으로, 체중은 300~400 kg 이었다.

2) 실험설계와 FSH처리

본 실험에 공시된 한우는 FSH 처리군(n=29)과 대조군(n=10)으로 무작위 배치하였으며, FSH 처리군의 한우는 FSH-p(Folltropin-V®, Vetrepharm Co., Australia)를 400 mg을 25% polyvinylpyrrolidone (PVP)용액에 용해하여 20 ml을 1회 근육 주사 하였고, 대조군은 FSH를 처리하지 않고 정상적인 상태의 한우를 사용하였으며, 처리후 48시간에 난소반응을 초음파로 조사하고 채란하였다.

3) 초음파기기와 채란 기구

난포발육의 초음파상 관찰은 SONOACE-1500® 및 SONOVET- 600® (Medison Co., Korea)을 사용하였으며, 탐촉자는 6.5 MHz convex scanner를 사용하였고, 채란은 17-gauge, 55 cm needle(Cook Co., Australia)을 탐촉자에 장착하여 실시하였다.

4) 난포란의 채란

초음파 유도에 의한 난포란의 채란은 이 등(1997)이 앞서 기술한 바와 같이 공시동물을 보정틀에 보정시킨 후 직장벽의 이완을 위해서 체중 100 kg 당 1 mg 의 detomidine hydrochloride (Dormosedan®, Canada)를 미정맥에 주사하고, 2% lidocaine 용액 4~6 ml을 미근부의 제 1 미추간에 주사하여 경막의 마취를 유도한 후, 채란용 needle의 내강에 0.2% heparin이 첨가된 PBS를 채운 다음 탐촉자에 장착된 needle guide에 장착하였다. 탐촉자를 질을 통해서 질벽 가까이에 위치시킨 후 난소와 탐촉자의 위치를 가능한 가까이 밀착시키고 모니터를 통해서 채란 가능한 난포가 모니터상으로 나타나면 난포내로 needle을 진입시킴과 동시에

vacuum pump의 압력을 75~85 mm Hg(분당 흡입량: 27~29 ml)로 유지하여 조심스럽게 회수하였다(Gibbons 등, 1994). 모니터상에서 난포가 완전히 흡입되는 것을 확인하고 needle을 다음 난소로 이동시켜 반복적인 방법으로 채란하였다.

2. 도축 한우의 난소로부터 난포란의 채란

도축 한우의 난소로부터 난포란의 채란은 조 등(1996)이 앞서 기술한 바와 같이 도축장에서 도살된 한우 암소에서 난소를 적출하여 penicillin G (100 units / ml)와 streptomycin(100 µg / ml)이 함유된 생리식염수(25~30℃)가 들어 있는 보온병에 담아 3~4 시간 내에 실험실로 운반하였고, 5% FBS가 첨가된 Ham's F-10을 이용하여 18-gauge needle이 부착된 10 ml 주사기로 2~7 mm 의 난포에서 음압을 이용하여 난포란을 채란하였다. 흡입된 난포액은 13 ml의 시험관에 담아 5~10 분간 정지시킨 후 침전된 하부액을 5 ml의 피펫으로 흡입하여 직경 60 mm 배양접시에 옮기고 40×배율의 도립현미경(Olympus Co., Japan)에서 난포란을 수집한 후 기본배양액(Ham's F-10 + 10% FBS)으로 4~5회 세척하면서 선별하였다.

3. 난포란의 등급분류

회수한 난포란의 등급분류는 Wiemer 등(1991)의 방법에 준하여 난구세포와 세포질의 충실도에 따라서 4등급으로 분류하였으며, Grade I, II 만을 선별하여 공시하였다.

4. 체외 수정란의 생산

1) 난포란의 체외성숙

난포란의 체외성숙은 10% FBS 첨가된 Ham's F-10 배양액을 culture-dish(Nunc Co., Denmark)에 100 µl 소적을 만들고 소적당 15~20 개의 난포란을 넣고 39℃, 5% CO₂ incubator에서 24시간 동안 체외성숙을 실시하였다.

2) 체외성숙 난포란의 체외수정

난포란의 체외수정을 위하여 m-TALP 배양액을 사용하였으며, 체외수정은 체외성숙된 난포란을

수정용 m-TALP 배양액으로 3~4 회 세척하고, 수정용 배양액에 100 μ l 소적당 10~15 개의 난자를 옮긴 다음, $1 \sim 2 \times 10^6$ sperms/ml 농도의 수정능이 획득된 활력도가 높은 정자를 첨가하여 24 시간 동안 39°C, 5% CO₂ incubator에서 수정을 유도하였다. 정자의 최종농도는 hemocytometer로 정자의 수를 계산하였다.

3) 체외 수정란의 체외배양

체외수정 24시간 후에 수정란을 10% FBS가 첨가된 TCM-199 배양액으로 4~5회 세척하여 난구 세포와 정자를 제거시킨 후, 10% FBS가 첨가된 TCM-199 배양액 내에서 monolayer cells이 형성된 난관 상피세포와 공배양을 시키면서 48시간마다 신선한 배양액으로 교환했으며, 5일이 경과한 monolayer cells은 신선한 monolayer cells로 교환하였다. 각각의 배양액으로 배양하면서 수정 후 48시간에는 2-세포기 이상으로 발달한 수정란의 수정률을 조사하였으며, 7~10 일 동안에는 배반포기로의 발달률을 조사하였다.

5. 통계학적 분석

실험결과의 통계학적 분석은 SAS(Statistical Analysis System) package를 사용하여 Chi-square test를 실시하여 각 처리군간의 유의적 차이를 검정하였다.

결 과

1. 초음파 유도과 도축장 유래 한우 난소에서 난포란 채란성적

FSH 처리의 유무에 따른 초음파 유도에 의한 난포란의 채란 결과 및 도축장 유래 난소에서 난포란 채란 결과는 Table 1에서 보는 바와 같다.

난포란의 채란률은 FSH 처리에 의한 초음파 유도 채란군이 66.2%로서 FSH 무처리에 의한 초음파 유도군의 52.8%와 도축장 유래 난소군의 41.7% 보다 높게 나타났다. 각 군에서의 한우 1 두당 채란된 난포란의 수는, FSH 처리에 의한 초음파 유도군과 도축장 유래 난소군은 각각 14.0 ± 11.54 및 17.1 ± 6.21 개로 유의적 차이를 보이지 않았으나, FSH 무처리에 의한 초음파 유도군의 3.7 ± 1.57 개에 비하여 유의적($P < 0.05$)으로 높게 나타났다.

2. 초음파 유도과 도축장 유래 한우 난소에서 채란된 난포란의 등급별 분포

FSH 처리의 유무에 따른 초음파 유도에 의한 난포란의 채란 결과 및 도축장 유래 난소에서 채란된 난포란의 등급별 분포는 Table 2에서 보는 바와 같다.

정상 한우에서 초음파 유도로 채란된 난포란은 37개로서 그 등급별 분포 비율은 G I, G II 및 G III /IV가 24.3, 45.9 및 29.8%를 나타내었고, FSH 처

Table 1. Recovery rates of follicular oocytes recovered by OPU and SHD aspiration from the Korean native cows

Treatment groups	Replication no. of cows used	No. of ovaries aspirated	No. of follicles aspirated	No. of oocytes recovered(%)	No. of oocytes per cow*
Non-treatment	10	20	70	37(52.8)	3.7 ± 1.57^b
FSH-treatment	14	28	296	196(66.2)	14.0 ± 11.54^a
SHD	20	40	820	342(41.7)	17.1 ± 6.21^a

Non-treatment Group : Non-hormonal treatment. Follicular oocytes were collected by OPU aspiration.

FSH-treatment Group : Injection with the FSH(Folltropin -V®) 400mg.

Follicular oocytes were collected by OPU aspiration.

SHD group : Slaughterhouse-derived(SHD) ovary aspiration.

* Mean \pm S.D.

The different superscripts within the column denote significant ($P < 0.05$) difference.

Table 2. Grade of follicular oocytes recovered by OPU and SHD from the Korean native cows

Treatment groups	No. of oocytes recovered	No. (%) of oocytes by grade		
		G I	G II	G III / IV
Non-treatment	37	9(24.3)	17(45.9)	11(29.8)
FSH-treatment	196	22(11.2)	45(23.0)	129(65.8)
SHD	342	95(27.3)	155(45.3)	92(26.9)

Non-treatment Group : Non-hormonal treatment. Follicular oocytes were collected by OPU.

FSH-treatment Group : Injection with the FSH(Folltropin-V®) 400 mg.

Follicular oocytes were collected by OPU.

SHD Group : Slaughterhouse-derived(SHD) ovaries.

리한 한우에서 초음파 유도로 채란된 난포란은 196 개로서 그 등급별 분포 비율은 G I, G II 및 G III / IV가 11.2, 23.0 및 65.8%를 나타내었다. 도축장 유래 난소에서 채란된 난포란은 342개로서 그 등급별 분포 비율은 등급별 G I, G II 및 G III / IV가 27.3, 45.3 및 26.9%를 나타 내었다. 채란된 난포란의 분포중 FSH 무처리에 의한 초음파 유도군에서는 G II가, FSH 처리에 의한 초음파 유도군에서는 G III / IV 가, 도축장 유래 난소군에서는 G II가 가장 높은 비율을 나타내었다.

초음파 유도와 도축장 유래 난소에서 채란된 난포란 중 배양 가능한 G I / II의 분포는 Table 3에서 보는 바와 같다.

정상 한우에서 초음파 유도군과 도축장 유래 난소군에서 G I / II의 분포비율은 각각 70.2와 72.6%로서, FSH 처리에 의한 초음파 유도군의 34.2%에 비하여 다소 높게 나타났으며, 각 군에서의 한우 1 두당 채란된 G I / II의 수는 초음파 유도군, FSH 처리에 의한 초음파 유도군 및 도축장 유래 난소군에서 각각 1.3, 4.8 및 6.3 개를 나타내었다.

3. 초음파 유도와 도축장 유래 한우 난소에서 채란된 난포란의 체외 수정률 및 배반포 발달률

초음파 유도와 도축장 유래 난소에서 채란된 난포란의 수정률 및 배반포 발달률은 Table 4에서 보는 바와 같다.

Table 3. Collection efficiency of follicular oocytes in good quality by OPU and SHD from the Korean native cows

Treatment groups	No. of ovaries used	No. of collected oocytes in G I, G II / Total(%)	No. of usable oocytes per ovary
Non-treatment	20	26 / 37(70.2)	1.3
FSH-treatment	14	67 / 196(34.2)	4.8
SHD	40	250 / 342(72.6)	6.3

Non-treatment Group : Non-hormonal treatment. Follicular oocytes were collected by OPU.

FSH-treatment Group : Injection with the FSH(Folltropin -V®) 400 mg.

Follicular oocytes were collected by OPU.

SHD Group : Slaughterhouse-derived(SHD) ovary aspiration.

Table 4. *In vitro* developmental rates of bovine follicular oocytes collected by OPU and SHD following IVM, IVF and IVC

Groups	No. of oocytes used	No. of oocytes cleaved(%)	No. of blastocysts(%)
OPU	81	70(86.4) ^a	26(37.1) ^a
SHD	130	99(76.2) ^a	29(29.3) ^a

OPU Group : Injection with the FSH(Folltropin -V[®]) 400 mg. Follicular oocytes were collected by OPU.

SHD Group : Slaughterhouse-derived(SHD) ovary aspiration.

The values with same superscripts in the column denote no significant difference.

초음파 유도와 도축장 유래 난소군에서의 체외 수정률은 각각 86.4와 76.2%를 나타내었으며, 배반포 발달률은 37.1와 29.3%로서 두 군간에 유의적 차이를 나타내지는 않았다.

고 찰

한우 체외 수정란의 생산 효율을 향상시키기 위하여 FSH를 투여한 후 48시간에 초음파로 난포의 발달을 확인하고 채란하여, 채란된 난포란의 채란률과 체외 발달률을 조사하였고, 이의 성적을 FSH를 투여하지 않은 정상 한우에서의 성적 및 도축장 유래 난소에서의 성적과 비교 검토하였다.

초음파 유도 및 도축 난소에서의 채란률은 FSH 처리에 의한 초음파 유도 채란군이 66.2%로서 대조군의 52.8%와 도축장 유래 난소군의 41.7%보다 다소 높게 나타났으며, 이러한 결과는 Bungartz 등의 (1995)도 과배란 처리군이 대조군보다 채란된 난자의 수가 높게 나타났다는 보고와 일치하는 경향을 보였다. Bols 등(1995)의 과배란 처리시의 채란률은 42%로 보고되었고, Brogliatti와 Adams(1996)는 미성숙 송아지에서 과배란 처리군과 대조군의 채란률은 48%와 46%로 보고하였다. 이러한 결과는 Pieterse 등(1992), Kruij 등(1993), Fry 등(1994), Gibbons 등(1994), Bols 등(1995) 및 Becker 등(1997)들의 초음파유도 채란률과 비슷한 수준이었으나, Van der Schans 등(1991)과 Looney 등(1994)의 채란률 60~70%보다는 약간 낮은 성적을 나타내었다.

각 군에서의 한우 1 두당 채란된 난포란의 수는, FSH 처리에 의한 초음파 유도군과 도축장 유래 난소군의 채란된 난포의 수는 각각 14.0 ± 11.5 및 $17.$

1 ± 6.2 개로 유의적 차이를 보이지 않았으나, 과배란 처리를 하지 않은 초음파 유도군의 3.7 ± 1.5 개에 대해서는 유의적($P < 0.05$)으로 높게 나타났으며, Gibbons 등(1994)은 6.2 ± 1.1 개, Looney 등(1994)은 8.6개, Goodhand 등(1996)은 5.7~6.2개의 난포란을 채란하여 본 연구의 FSH 처리군에서의 난포란수보다는 약간 낮은 경향이었으나, Bungartz 등(1995)은 10.6 ± 0.7 개의 난포란을 얻어 본 연구의 FSH 처리군과 비슷한 결과를 보고하였다.

본 연구에서의 초음파 유도 채란 난포란중 체외 배양 가능한 난포란은 대조군에서는 70.2%를 나타내어, Gibbons 등(1994)의 75.8~91.5%, Looney 등(1994)의 83.7%, Bungartz 등(1995)의 65.2%, Hasler 등(1995)의 82.0%와는 비슷한 경향을 나타내었으나, 과배란 처리군에서는 34.2%를 나타내어 다소 낮은 채란률을 나타내었다. 이러한 차이는 FSH의 처리 방법이나 반응정도, 초음파 채란시의 시간이나 음압의 정도, 적용한 등급기준, 채란기술의 숙련도 및 공시 동물의 보정의 차이 등에 의하여 약간의 차이가 있을 것으로 생각되며, FSH의 처리시 난포액이 많은 것은 존재하는 중난포 이상의 난포가 대조군보다 많아, 초음파 채란시 음압에 의한 소용돌이 현상 등으로 난구세포층의 손실이 더 많을 것으로 생각된다.

본 연구에서의 초음파 유도 난포란의 체외 수정률과 배반포 발달률은 각각 86.4%와 37.1%를 나타내었으며, Looney(1994) 등은 44.7%의 수정률과 30.3%의 배반포 발달률을 보고하였으며, Kruij (1994) 등은 69%의 수정률과 16%의 배반포 발달률을 보고하여, 연구자 간에 다소간의 차이를 보였다. 이들이 보고한 배반포 발달률은 이식 가능한 체외발달 배반포를 기준으로 하였기 때문에, 본 연구

의 결과보다 발달률이 낮았다고 여겨진다.

적 요

본 연구는 한우에서 초음파 유도 난포란의 채란을 위한 FSH 처리의 효과와 초음파 유도 및 도축 난소에서 난포란의 채란효율 및 체외 수정란 생산효율을 비교 조사하고, 초음파 유도 난포란 유래의 체외 수정란의 생산과 효율성을 향상시키고자 실험을 실시하여, 다음의 결과들을 얻었다.

1. FSH 처리후 초음파 유도와 도축장 유래 난소에서 난포란 채란수는 각각 14.0 ± 11.5 및 17.1 ± 6.2 개로 두 군간에 유의적 차이를 보이지 않았으나, 비처리 초음파 유도군의 3.7 ± 1.57 개에 비하여는 유의적($P < 0.05$)으로 높게 나타났다.
2. FSH 처리후 초음파 유도와 도축장 유래 난소에서 채란된 난포란중 배양 가능한 G I / II에 속하는 난포란의 수는 각각 4.8 및 6.3개를 나타냈고, 비처리 초음파 유도군보다는 다소 높은 경향을 보였다.
3. 초음파 유도와 도축장 유래 난소에서 채란된 난포란의 체외 수정률 및 배발달률의 결과는 두 군간에 유의적 차이를 나타내지 않았다.

이상의 결과로 효율적인 초음파 유도 채란을 위하여서는 FSH를 처리를 하는 것이 보다 채란 난자수를 많이 확보할 수는 있으나, FSH 투여에 소요되는 경비와 인력 및 시간에 대하여는 불리한 점이 있다. 그러나, 초음파 유도 체외 수정란의 생산 효율은 도축 난소 유래 체외 수정란의 생산 효율과 같은 수준을 보여, 그 효율성이 높은 것으로 생각되며, 초음파 유도에 의한 체외 수정란의 생산 기법은 도축 난소 유래의 체외 수정란에서는 기대하기 어려운 고능력우나 반복적 채란에 의한 양질의 체외 수정란의 생산에 유리할 것으로 기대된다. 다량의 체외 수정란의 생산을 위하여서는 도축 난소를 이용한 체외 수정란의 생산 방법이 보다 유리할 것으로 본다. 초음파 유도 체외 수정란의 생산 기술과 수정란 이식 기술을 같이 활용하면 유전적 특이성 또는 번식 장애의 요인이 있는 공란우로 부터의 부가적인 생산성을 확보할 수 있을 것으로 사려된다.

참고문헌

- Adams GP, Matteri RL, Kastelic JP, Ko JCH and Ginther OJ. 1992. Association between surges of follicles-stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. *J. Reprod. Fert.* 94:177-188.
- Bols PEJ, Vandenheeds JMM, Van Soom A and de Kruif A. 1995. Transvaginal ovum pick-up(OPU) in the cow:A new disposable needle guidance system. *Theriogenology*, 43:677-687.
- Brogliatti GM and Adams GP. 1996. Ultrasound-guided transvaginal oocyte collection in prepubertal calves. *Theriogenology*, 45:1163-1176.
- Broussard JR, Rocha A, Lim JM, Blair RM, Roussel JD and Hansel W. 1996. The effect of environmental temperature and humidity on the quality and developmental competence of bovine oocytes obtained by transvaginal ultrasound-guided aspiration. *Theriogenology*, 45:351. abstr.
- Bungartz L, Lucas-Hahn D, Rath D and Niemann H. 1995. Collection of oocytes from cattle via follicular aspiration aided by ultrasound with or without gonadotrpín pretreatment and different reproductive stages. *Theriogenology*, 43:667-675.
- Duby RT, Damiani P, Looney CR, Fissore RA and Robl JM. 1996. Prepuberal calves as oocyte donors:Promises and problems. *Theriogenology*, 45:121-130.
- Fry RC, Simpson TL, Squires TJ, Parr RA and Damanik RM. 1994. Factors affecting transvaginal oocyte pick-up in heifers. *Theriogenology*, abstr., 41:197.
- Gibbons JR, Beal WE, Krisher RL, Faber EG, Pearson RE and Gwazdauskas FC. 1994. Effect of one versus twice weekly transvagi-

- nal follicular aspiration on bovine oocyte recovery and embryo development. *Theriogenology*, 2:405-419.
- Gibbons JR, Krisher RL, Carlin SK, Pearson RE and Gwazdauskas FC. 1995. *In vitro* embryo production after microinjection and ovarian dynamics following transvaginal follicular oocyte aspiration. *Theriogenology*, 43:1129-1139.
- Goodhand KL, Broadbent PJ, Hutchinson JSM, Watt RG, Staines ME and Higgins LC. 1996. *In-vivo* oocyte recovery and *in-vitro* embryo production in cattle pre-treated with FSH, progestogen and estradiol. *Theriogenology*, Abstr., 45:355.
- Goto K. 1988. Pregnancies after Co-culture of cumulus cells with bovine embryos derived from *in vitro* fertilization of *in vitro* matured follicular oocytes. *J. Reprod. Fert.*, 83:753-758.
- Hasler JF, Henderson WB, Hurtgen PJ, Jin ZQ, McCauley AD, Mower SA, Neely B, Shuey LS, Stokes JE and Trimmer SA. 1995. Production, freezing and transfer of bovine IVF embryos and subsequent calving results. *Theriogenology*, 43:141-159.
- Holland EJ, Bindon BM, Piper LR, Thimonier J, Cornish KA and Radford HM. 1981. Endoscopy in cattle: techniques for ovarian examination by the paralumbar and mid-ventral routes. *Anim. Reprod. Sci.*, 4:127-135.
- Kruij ThAM, Boni R, Roelofsen MWM, Wurth YA and Pieterse MC. 1993. Application of OPU for embryo production and breeding in cattle. *Theriogenology*, Abstr., 39:251.
- Kruij ThAM, Boni R, Wurth YA, Roelofsen MWM and Pieterse MC. 1994. Potential use of ovum pick-up for embryo production and breeding in cattle. *Theriogenology*, 42:675-684.
- Looney CR, Lindsey BR, Gonseth CL and Johnson DL. 1994. Commercial aspects of oocyte retrieval and *in vitro* fertilization(IVF) for embryo production in problem cows. *Theriogenology*, 41:67-72.
- Lu K. 1987. Pregnancy established in cattle by transfer of embryos derived from *in vitro* fertilization of oocytes matured *in vitro*. *Vet. Res.*, 121:259-260.
- Meintjes M, Bellow MS, Broussard JR, Paul JB and Godke RA. 1995. Transvaginal aspiration of oocytes from hormone-treated pregnant beef cattle for *in vitro* fertilization. *J. Anim. Sci.*, 73:967-974.
- Moor RM and Trounson AO. 1977. Hormonal and follicular factors affecting maturation of sheep oocytes *in vitro* and their subsequent developmental capacity. *J. Reprod. Fert.*, 49:101-109.
- Pieterse MC and Kappen EA. 1988. Aspiration of bovine oocytes during transvaginal ultrasound scanning of the ovaries. *Theriogenology*, 30:751-762.
- Pieterse MC, Vos PLAM, Kruij ThAM, Wurth YA, van Beneden TH, Willemse AM and Taverne MAM. 1991a. Transvaginal ultrasound guided follicular aspiration of bovine oocytes. *Theriogenology*, 35:19-24.
- Pieterse MC, Vos PLAM, Kruij ThAM, Willemse AM and Taverne MAM. 1991b. Characteristics of bovine estrus cycles during repeated transvaginal, ultrasound-guided puncturing of follicles from ovum pick-up. *Theriogenology*, 35:401-413.
- Pieterse MC, Vos PLAM, Kruij ThAM, Wurth YA, van Beneden TH, Willemse AM and Taverne MAM. 1992. Repeated transvaginal ultrasound-guided ovum pick-up in eCG-treated cows. *Theriogenology*, Abstr., 37:273.
- Presicce GA, Jiang S, Simken M, Zhang L, Looney CR, Godke RA and Yang X. 1997.

- Age and hormonal dependence of acquisition of oocyte competence for embryogenesis in prepubertal calves. *Biol. Reprod.*, 56:386-392.
- Sirard MA, Lambert RD, Beland R and Bernard C. 1985. The effects of repeated laparoscopic surgery used for ovarian examination and follicular aspiration in cows. *Anim. Reprod. Sci.*, 9:25-30.
- Stubbings RB and Walton JS. 1995. Effect of ultrasonically guided follicle aspiration on estrous cycle and follicular dynamics in Holstein cows. *Theriogenology*, 43:705-712.
- Van der Schans A, Van der Westerlaken LAJ, de Wit AAC, Eyestone WH and de Boer HA. 1991. Ultrasound guided transvaginal collection in the cow. *Theriogenology, Abstr.*, 35:288.
- Walton JS, Christie KA and Stubbings RB. 1993. Evaluation of frequency of ultrasonically guided follicle aspiration on ovarian dynamics. *Theriogenology, Abstr.*, 39:336.
- Wiemer KE. 1991. Effects of maturation and co-culture treatments on the developmental capacity of early bovine embryos. *Mol. Reprod. Dev.*, 30:330-338.
- 박충생, 공일근, 노규진, 주영국, 송상현, 황영근, 박준규, 조성근, 전병균, 이경미, 윤희준, 최민철, 광대오, 이효종, 최상용. 1994. 체외성숙·수정 및 배양된 한우 체외 수정란의 유우의 이식에 의한 산자의 생산. *한국가축번식학회지*, 18:47-54.
- 이효종, 강태영, 조성근, 박준규, 손우진, 최민철, 최상용, 박충생. 1997. 과배란처리 한우에서 초음파 유도에 의한 난포란채란에 관한 연구. *한국수정란이식학회지*, 12:195-202.
- 조성근, 송상현, 정기화, 강대진, 박충생. 1996. 배양체계가 체외수정 소 난포란의 체외수정 및 배발달에 미치는 효과. *한국수정란이식학회지*, 11(1):15-26.
- 한용만, 이철상, 이정호, 김선정, 신상태, 김동훈, 이훈택, 정병현, 정길생, 김영수, 김영훈, 이곤세, 김교국, 황윤식, 이경광. 1994. 체외수정란 유래의 송아지 생산. *한국가축번식학회지*, 18:7-13.
- 황우석, 조충호, 이병천, 신태영, 노상호, 김성기, 전병준, 이강남, 신언익, 임홍순. 1993. 한우정액 유래 체외수정 송아지 생산에 관한 연구. *한국수정란이식학회지*, 8:143-149.

(접수일 : 1998. 7. 10 / 채택일자 : 1998. 8. 14)