

초음파유도 난포채란기의 개발과 이의 검증

최민철 · 이효종* · 조성근** · 강태영* · 원현희*

서울대학교 수의과대학
경상대학교 수의과대학*, 농과대학**
(1999년 9월 7일 접수)

Development of needle guidance system and its evaluation for ultrasound-guided follicular aspiration

Min-cheol Choi, Hyo-jong Lee*, Seong-keun Cho**, Tae-yung Kang*, Hyun-hui Won*

College of Veterinary Medicine, Seoul National University
College of Veterinary Medicine*, College of Agriculture**,
Gyeongsang National University

(Received Sep 7, 1999)

Abstract : This study was carried out to develop a newly designed ovum pick-up(OPU) instrument for ultrasound-guided transvaginal follicular aspiration in cows. This new instrument consists of out- & inner-layer stainless pipes and a grip with a trigger(hand) switch. Some gauge types of disposable needles and tubes can be attached to this inner pipe. With this instrument, while grasping an ovary with one hand, the other hand can handle in aspiration and vacuum on/off with the least assitant's help.

With this instrument the mean recovery rate of bovine follicular oocytes was 45.2%. In recovered oocytes, usable oocytes(Grade I & II) were 30.4% and this rate meant 1.4 oocytes per ovary.

For 30 days after initial aspiration with this instrument, some adverse effects such as adhesion, hemorrhage, hematoma and other mass formation in/with ovaries were also examined by rectal examination, ultrasonographic and endoscopic images. Adhesion was found in one ovary 1 week after aspiration, and hemorrhagic lesion was found 1-2 days and petechia were found 3-5 days after aspiration and there was no remarkable adverse effects. It was found that this instrument could be applicable and safe for ovum pick-up in cows.

Key words : ultrasound-guided follicular aspiration, ovum pick-up(OPU), cows, needle guidance system.

이 논문은 1997년도 한국학술진흥재단의 학술연구조성비(지역개발연구과제)에 의하여 연구되었음.

Address reprint requests to Dr. Min-cheol Choi, Veterinary Medical Teaching Hospital, College of Veterinary Medicine, Seoul National University, 56-1 Shinlim-dong Kwanak-ku, Seoul 152-742, Republic of Korea.

서 론

초음파진단장치가 수의산과학 및 축산번식학에서 사용되기 시작하면서 초음파진단장치는 단순히 생식기의 정상상태나 질환상태의 구분, 임신진단 뿐만 아니라 난포란의 채란(ovum pick-up) 등에 응용되어 기능적 역할을 하게 되었다. Pieterse *et al*¹이 처음으로 초음파를 이용하여 생체 소의 난포란에서 난자채란에 성공을 보고한 뒤 1990년대에 들어서 Pieterse *et al*^{2,3}, Vos *et al*⁴, Hasler *et al*⁵, Bols *et al*⁶ 및 Meintjes *et al*⁷ 많은 연구자들에 의하여 이에 대한 연구가 오늘에 이르기 까지 활발하게 진행되어 오고 있다. 최근에는 국내에서도 이 등⁸, 이 등⁹, 최 등¹⁰, 손 등¹¹이 초음파를 이용한 소의 난포란 채란기술 개발에 관하여 연구한 바가 있다. 이러한 연구는 가축의 개량촉진, 핵이식에 있어서 우수한 난자의 공급 및 형질전환 소의 생산기술 개발 등에 유용하게 활용될 수 있다. 이와같이 우수한 소로부터 난포란의 채란기술에 사용되는 초음파기기는 국내에서도 우수하게 제작 보급되고 있으나 채란기구는 대부분이 외국의 수입품에 의존하고 있으며 대부분이 일회용이고 또한 단순사용임에도 불구하고 기구당 상당히 고가이어서 많은 비용이 드는 것이 결점이다. 본 연구는 이런 현실에서 단지 주사바늘만 1회용으로 사용하고 보다 저렴한 가격으로 사용을 할 수 있는 채란기를 만들어 경제적인 난포란채란기를 개발하고자 본 연구를 시행하였다.

재료 및 방법

초음파유도 난포란채란기의 개발 :

1) 초음파 진단기 : 초음파 진단장치로서는 국내 Medison사에서 대동물 전용으로 개발된 Sonovet-600 및 이에 맞는 긴 6.5 MHz의 수의전용 질내삽입 탐촉자를 사용하였다.

2) 채란기구(Fig 1) :

재 질 : 국내에서 생산된 stainless steel 파이프강(외구경 8~10mm)을 구입하여 사용하였다.

구 성 : 채란기는 Sonovet-600 질내삽입 탐촉자의 윗부분에 의고정형으로 개발되었으며 외통과 tube와 연결되는 내통과 1회용 주사부위를 끼우는 접합부분과 suction기 on/off 스위치 및 연결코드선 및 손잡이로 구성되

었다.

보조기구 : 진공펌프 및 진공펌프와 채란기의 연결되는 채란용 centrifuge tube(50ml)를 이용하였다.

재료 및 실험동물 :

1) 도축유래 난소에서의 채란실험 : 도축장에서 떼어온 한우난소를 이용하여 위의 채란기구를 가지고 succion기에 연결하여 10~50mmHg의 압력을 조정하면서 채란하였다.

2) 채란기구를 이용한 생체에서의 채란 : 채란실험에 사용된 소는 한우를 이용하였으며 소의 과배란 처리에서는 FSH(follicular stimulating hormone ; Folltropin-V®, Vetrepharm Co., Australia)을 사용하였으며 Meintjes 등 (1995)의 방법에 준하여 multiple decreasing doses로 400mg FSH를 12시간 간격으로 1일 2회씩 3일간 근육주사한 후 12시간만에 위의 채란기구로 채란하거나 single dose로 400mg FSH를 25% PVP에 첨가하여 1회 근육주사한 후 60시간에 채란하였다.

실험동물의 마취 : 마취방법으로는 2% xylazine(Rompun®, 바이엘화학, Korea)을 0.1ml/100kg 용량으로 정맥주사한 후 경막외마취로 lidocaine을 10ml 주사하여 사용하였다.

난포란의 채란 : 실험용 소를 보정틀안에 고정시킨 뒤 위의 마취방법으로 준비하여 진정시키고 이어서 직장내의 변을 제거한 뒤 회음부와 외음부의 오물을 깨끗하게 씻어내고 소독용 알코올과 povidone iodine 희석액으로 세척한 후 채란기구가 장착된 탐촉자(6.5MHz convex scanner)에 초음파용 gel을 바른 뒤 질내에 삽입하고 이어서 초음파 진단기구(Sonovet-600®, Medison Co., Korea)의 monitor상의 난소 및 난포의 상태를 관찰하였다. 이어서 채란기구를 질을 통과하여 monitor를 보면서 vacuum pump의 압력을 75~80mmHg(분당 흡입량 : 30ml)로 유지하여 조심스럽게 난포를 천자하여 난포액과 난자를 채취하였다. 이어서 heparin이 섞인 배양액(TCM-199+10% FCS)으로 세척하여 needle 속에 남아있는 난포액을 완전히 흡입하였다.

난포란의 회수 및 등급 : 난포액이 들어있는 tube는 채란후 실온에서 약 30분간 정치시킨 뒤 침전된 하층액을의 피펫으로 흡입하여 구획이 그어져 있는 60mm 배양접시에 옮겨서 40배율의 도립현미경(Olympus Co., Japan) 하에서 난포란을 회수한 후 배양액(TCM-199+10% FCS)으로 세척한 후 난포란을 채집하여 채란율을 조사하고

아래와 같이 등급별로 분류선별하였다.

Grade I : 4층 이상의 난구세포층이 충만하면서 균일한 세포질을 가진 것.

Grade II : 2-3층의 난구세포층을 가진 것.

Grade III : 1층 혹은 부분적으로 나화(denude)된 것.

Grade IV : 평운 내지 완전 변성된 것.

Denude : 완전히 나화된 것.

결 과

개발된 채란기구의 특징 : 본 채란기구의 특징은 종전의 외통을 잡고 채란튜브와 바늘이 있는 부분을 한 손으로 전진, 후퇴하여서 난소를 천자하여 채란한 것이 일반적인 것인데에 비하여 내통에 손잡이를 부착하였고 내통의 후미부에 전진, 후퇴의 부분을 스프링을 달고 손잡이를 잡아당김으로써 내통의 전진 및 후진을 용이하게 할 수 있다. 또한 손잡이의 방아쇠부분을 진공펌프의 개폐 스위치로 만들어서 손잡이 하나로 바늘이 달린 내통의 전진, 후퇴와 함께 수시로 진공압을 개폐할 수 있게 하였다. 이로서 초보자라도 채란기구의 조작만에서는 조수의 큰 도움이 없이 채란을 할 수 있게 하였으며 제작비도 크게 들지 않는 것이 주요 특징이다(Table 1 및 Fig 1).

도축유래 난소에서 채란기구의 채란성적 : 도축장에서 획득한 난소로부터 새로 고안된 채란기구로서 채란된 성적을 주사기 흡입법과 비교하였다. 주사기로 채란한 경우에는 난소 761개에서 회수된 난자는 6,507개 이었고 새로 고안된 채란기구에서는 난소 117개에서 481개의 난자가 회수되었다. 이는 각각 난소 1개당 8.6개 및 4.1개를 나타내었다.

이는 난소 1개당 Grade I 및 Grade II의 난포란 분포비율을 비교할 때 주사기로 채란시에는 1.16개이며, 개발된 채란기로 채란하였을 때는 0.84개 이어서 주사기로 채란할 때 보다는 난소 1개당 우수한 난자의 채란비율은

Fig 1. A new-designed device for OPU.

(a) view of front part, (b) view of rear part, (c) a transvaginal probe with a new-designed device and other accessories.

낮게 나타났다(Table 2).

생체 소에서 채란기구의 채란성적 : 개발된 채란기를

Table 1. Characteristics of OPU instruments

OPU instruments	Hand grip & trigger	Vacuum switch type	Movement of needle	Needle types	Cost	Necessity of assistants
New-designed device	yes	hand-type	hand-gripping & spring force	short, disposable	low	0~1
Sonovet-600 type	no	foot-type	hand-pushing & pulling	long, disposable	high	0~2

Table 2. Recovery rate of follicular oocytes recovered by a new needle guidance device and syringe aspiration from slaughterhouse-derived ovaries

OPU instruments	No. of ovaries aspirated	No. of oocytes recovered	No. of oocytes recovered/ovary	No. of collected oocytes by grade		No. of usable oocytes/ovary
				Grade I	Grade II	
Syringe aspiration	761	6,507	8.6	568	313	1.16
New needle guidance device	117	481	4.1	43	55	0.84

Table 3. Recovery rate and grade of follicular oocytes from Korean native cows by a new needle guidance device

Replication No. of cow used	No. of ovaries aspiration	Total No. of follicles observed	No. of collected oocytes by grade						Recovery rate(%) (mean±SD)	No. of usable oocyte per ovary	
			GI	GII	GIII	GIV	Denude	Total			
9	20	197	10	18	22	23	22	92	30.4	45.2±21.2	1.4

사용하여 호르몬을 처리하여 미경산 한우 9두에서 채란하였을 때 채란성적은 Table 3과 같다. 초음파상 관찰된 난포의 수는 양쪽 난자수를 합하여 197개이었으며 채란에 사용한 난포의 크기는 직경이 15mm 이상인 대난포는 제외하고 중, 소 난포(직경 : 5~15mm 미만)를 채란하였고 이때 채란된 난자수 92개로서 46.7%의 비율을 보였다. 또한 등급별로 보았을 때 Grade I 및 Grade II의 비율은 각각 10.9%, 19.5%으로 이들을 합한 치는 30.4% 이었고 또한 난소 1개당 Grade I과 Grade II의 비율은 1.4개 이었다(Table 3).

난소에 대한 안정성 검사 : 본 채란기를 이용하여 일단 채란기의 바늘이 실점소의 질벽을 통과한 후 수회 OPU를 실시하였고 채란후 기간별로 난소의 상해 또는 부작용을 알아보기 위해서 초음파, 복강경 및 직장검사 등으로 관찰한 결과는 Table 4와 같다. 즉, 채란 1일후 난

소에서는 채란부위에 작은 혈종이 관찰되었으며(Fig 2a), 2일 후에는 채란한 부위가 점상출혈이 남아있음을 알 수 있었다(Fig 2b). 채란 3일 후에서도 대부분의 난소에서 채란부위는 작은 점으로 나타났지만 한 난소에서는 뚜렷한 출혈부위의 혈괴를 발견하였다(Fig 2c). 이는 5일 후에서는 관찰되지 않았으며 대부분의 소에서는 초음파상으로 양쪽 난소를 쉽게 관찰이 가능하였고 이때 혈종의 이상을 관찰할 수 없었으며 다만 한마리에서 채란후 일주일에 한쪽 난소가 유착이되어 쉽게 견인되지 않아서 초음파사진을 쉽게 획득하기 어려웠다. 또한 한달이 되어도 큰 이상을 발견할 수 없었다(Fig 3). 다만 1개의 한우에서 복강경을 장착하기 위해서 복강 경부에 수술창을 만들고 복강경으로 관찰하였을 때 수술창의 복벽에 심한 출혈과 abscess 같은 것을 발견하였는데 이는 실제적인 난소채란과는 관련이 없는 것으로 사료된다.

Table 4. Side effects observed in ovaries following OPU by a new developed device

Side effects	Days after OPU				Examination by
	1~2	3~5	7~8	30	
Adhesion	-	-	+	-	Rectal palpation & ultrasonograms
Bleeding point lesions	++	+	-	-	Endoscope
Hematoma	+	-	-	-	Ultrasonogram & endoscope

+ : moderate, ++ : severe, - : negative.

*one case (cow) shows abscess at paralumbar fossa(abdominal wall due to trauma caused by a tube for laparoscopic observation.

고 찰

초음파를 이용한 난포란재란에 쓰인 채란기구는 17~18 gauge의 50~60cm의 장침을 질탐촉자와 연결되어서 채란에 이용한 장침형 이용 보고(Pieterse *et al*¹, Gibbons *et al*¹², Looney *et al*¹³, Meintches *et al*⁷)와 1회용 단침형 이용 보고(Becker *et al*¹⁴, Bungartz *et al*¹⁵)가 있다. 또한 큰 원통에다가 탐촉자와 장침을 함께 장치할 수 있으며 여기에 손잡이를 달아둔 것도 있으며(Bols *et al*⁶), 상용화되어 소개되고 있다. 이는 한 손으로 손잡이를 잡고 다른 한 손으로 난소 채란에 조작하도록 되어 있다.

본 저자가 개발한 초음파 채란기는 장침형 채란기를 이용한 연구자들의 비슷한 처음 model에 비하여 손잡이를 개량하여 단순한 지지를 할 뿐 아니라 이 손잡이를 통해서 바늘과 연결된 내통의 부위가 전후로 움직이면서 난자를 천자하거나 뒤로 뻘 수 있으며 무리하게 움직이지 않게 스프링과 움직이는 거리를 제한할 수 있다는 장점이 있다. 또한 대부분의 난소 채란기는 채란에 이용되는 진공펌프의 개폐 스위치를 채란하는 시술자가 발스위치(foot switch)를 이용하도록 되 있으나 본 저자는 이를 손잡이에 방아쇠에 해당하는 부위를 발스위치를 대신한 손 스위치(hand switch)로 하여 조작할 때 언제든지 쉽게 진공을 개폐할 수 있게 개량하였다. 이는 채란 시술자가 종래의 채란기를 이용할 때 손잡이를 옆구리로 고정하거나 한 손에 needle 및 손잡이를 동시에 잡고 할 수 있는데 본 채란기는 편리하게 한 손으로 채란바늘의 전진, 후퇴와 진공의 개폐가능 및 최소한의 조수가 필요하다는 장점이 있다. 그리고 일단 기구가 제작되면 일회용 주사침을 사용하기 때문에 채란에 드는 비용을 경감할 수 있으며 1.5~2.5mm 내경의 tube를 선택하여 바늘과 연결하여 쓸 수 있도록 고안되었다.

도축장에서 획득한 난소의 난포를 천자시 본 연구실에서 일반적으로 사용하는 주사기에 진공을 걸어주어서 채란하는 것과 새로 개발된 채란기를 이용하여 채란시에는 주사기 이용 보다는 낮은 성적을 보였다. 이는 채란기 개발한 뒤 초기에 맞는 tube를 구하기가 힘들어 1회용 수액 set의 실리콘 tube를 이용하였기에 적절한 압력이 이루어지지 않았기 때문에 또한 길이가 긴 채란기를 조작하려다 보니까 상대적인 불편으로 인한 것으로 사료되고 점차 익숙해지면서 채란성적이 나아지는 것을

Fig 2. Endoscopic examination of ovaries. (a): 1 day after OPU, a small hematoma(arrow) was found at the puncture site, (b): 2 days after OPU, many petechiae was found at the puncture sites, (c): 3 days after OPU, a bleeding lesion was clearly found at the puncture site.

Fig 3. Ultrasonographic examination of ovaries. (a): an ovary after OPU, (b): a same ovary at 1 week after OPU, there is no side effects found. (c) : an another ovary after OPU, there is no adhesion, (d): same ovary 1 week after OPU. As the left part o ovary is adhesioned(arrows) with surrounding connective tissues, it is difficult to retract with a hand.

경험하였다.

생체소의 채란성적에서 많은 연구자들이 여러가지 채란기를 사용하고 또한 같은 채란기를 이용할 때도 여러 가지 조건에 따라서 다양한 채란율을 보고하였다.

장침형의 채란기구를 이용한 연구자들의 채란율을 살펴보면 Meintjes *et al*⁷은 19~43%의 채란율, Pieterse *et al*¹ 은 13~66%(평균 27.4%), Vos *et al*⁴은 28%를, Pieterse *et al*³은 55%를 보고하였고 단침형의 채란기구를 이용한 연구자들의 채란율을 살펴보면 Bungartz *et al*¹⁵는 66.3~74.4%, Bols *et al*⁶은 평균 42%를 보고하였다. 또한 최 등¹⁰이 처음 개발한 model의 채란기구로서는 51.2%, 이 등⁹은 장침형의 채란기구로 52.8~57.3%, 손 등¹¹은 41.7~66.2%를 보고하였으며 이중에서 실험실에서 체외배양, 체외수정이나 체외성숙 등에 사용되는 GI 및 GII에 해당

되는 난자는 회수된 난자에서 대조군에서는 70.2%, FSH 투여군에서는 34.2%, 도축장 난소에서는 72.6%를 각각 보고하였으며 이는 난소 1개당 유용난자의 수를 각기 1.3, 4.8, 6.3으로 보고하였다. 또한 난자의 채란율에 미치는 요인으로서는 흡입빈도(Gibbons *et al*¹², van der Schans *et al*¹⁶), 흡입진공압과 바늘의 예각(Bols¹⁷), 채란우의 흐르몬의 처치(Bungartz *et al*¹⁵)등에 따라 다를 수 있으며 또한 채란자의 경험에 따라서 채란율에 미치는 영향이 크며 Scott *et al*¹⁸도 처음에 채란시에는 매우 낮은 채란율인 7%와 또한 등급이 낮은 난자이었으나 5주후의 연습후에는 채란율이 51%로 회복되고 체외성숙에 쓰일 난자를 얻었다고 하였다.

저자가 새로 개발한 채란기로 난포란의 채란율은 본 실험실의 평균보다는 약간 낮은 45.2%를 보였으며 이중

에서 GI 및 GII에 해당되는 난자비율은 30.4 %이었으며 이는 난소 1개당 1.4이어서 다소 낮은 수치를 나타내었으며 이는 처음 개발하여 많이 이용되지 않은 상태이어서 기인되며 앞으로 숙달과 함께 계속사용시에는 이런 회수율과 난자 1개당의 비율도 회복되리라 사료된다.

초음파유도 채란시의 부작용에 대해서는 연구가 매우 드물며 Becker *et al*¹⁴은 소질벽을 통한 초음파채란법과 복강경채란법의 비교에서 초음파채란법은 복강경 채란법보다 질과 질원개(fonix)에 덜 상해를 주나 난소의 실질에 더욱 손상을 준다고 하였다. 박¹⁹은 장침의 채란기구와 인의용 질내 탐촉자에 채란기구를 이용하여 공란우 20두의 난소 40개에 대해서 9회까지 반복채란하여 8개(20.0%)의 난소에서 유착이 생성을 보고하였다. 이는 반복적으로 난포란을 채란했을 경우 난소로부터 출혈 및 난포액이 유출되어 유착이 되는 것 같다고 하였다.

본 실험에서는 수의용의 질내탐촉자에 새로 개발한 채란기구를 이용하여 10두의 소에서 직장검사, 초음파 및 채란후 초기에 내시경 검사로 난소의 상태를 관찰한 경우 1개의 난소가 채란후 1주일후 유착을 형성하였으며 내시경으로 난소를 관찰 채란후 1~2일에는 채란한 곳에 출혈점과 출혈이 확실히 보였으며 3~5일에는 출혈부위가 반점으로 되는 것을 확인하였다. 그러나 1달 이 후의 검사에도 심한 출혈로 인한 혈종이나 종괴는 관찰되지 않았다. 다만 내시경 관찰을 위해서 우측 겸부에 유도용 플라스틱 주사전을 장착한 부위에서 내측복벽 부위의 농양이 있었으나 이는 채란과 직접적인 관련은 없는 것으로 사료된다. 이와같은 결과는 박¹⁹의 실험과는 달리 그다지 부작용이 나타나지 않은 것으로 생각되며 이는 실험에 사용된 소는 2~3회 정도로 반복채란하였기에 적은 유착을 보였으리라 생각되며 또한 무리한 채란을 하지 않으면 크게 난소의 실질에 출혈을 일으키지 않으므로 본 채란기의 채란후에 난소에 무리가 없고 재차 반복채란도 가능하리라 생각된다.

결 론

본 실험은 소의 난자채란을 위한 초음파 유도 채란에서 수의 전용 질식탐촉자에다 1회용 주사침을 사용하는 난소채란기를 개발하고 이의 채란성적과 안정성을 위하여 실험을 실시하였다. 먼저 새로 개발된 초음파 채란기는 1회용 주사기를 사용할 수 있게 외통과 내통으로 구

성되어 있고 내통에 주사침과 뷔브를 장착하여 이곳에 진공펌프를 이용하여 진공을 가하여 난자를 채란하게 되어 있다. 본 채란기는 종전의 채란기에 비하여 손잡이 형태를 하여 손잡이를 잡아당기므로 채란바늘이 달린 내통이 질을 통과하여 난소를 천자하여 채란하게 되어 있으며 방아쇠에 해당되는 곳으로 진공펌프의 on/off 스위치를 달아서 한손으로 조작하면서 쉽게 진공을 개폐할 수 있게 되어 있어서 최소한의 조수의 도움으로 채란을 가능하도록 하게 한 것이 큰 특징이다. 또한 이 채란기를 이용하여 실제 호르몬 치료를 한 한우의 난소에 채란하였을 경우 45.2%의 채란성적을 보였으며 이중에서 Grade I 및 II에 해당되는 난자비율은 30.4%이었으며 이는 사용가능한 Grade I 및 II의 비율은 난소 1개당 1.4이었다. 또한 이 채란기를 사용한 경우에 있어서 채란후 30일 까지 직장검사, 초음파, 채란후 초기의 내시경 검사 결과 한개의 난소에서 유착을 나타내었다.

내시경 관찰에서는 채란후 1~2일에는 출혈점이 관찰되었으나 3~5일에는 출혈반점만 남고 출혈과 관련된 유착, 혈종, 기타 조직반응과 관련된 종괴형성은 관찰되지 않았으므로 유의할만한 부작용이 없음을 확인하였다.

참 고 문 헌

- Pieterse MC, Kappen KA, Kruip ThAM, *et al*. Aspiration of bovine oocytes during transvaginal ultrasound scanning of the ovaries. *Theriogenology*, 30: 751-762, 1988.
- Pieterse MC, Vos PLAM, Kruip ThAM, *et al*. Characteristics of bovine estrus cycles during repeated transvaginal, ultrasound-guided puncturing of follicles for ovum pick-up. *Theriogenology*, 35:401-413, 1991.
- Pieterse MC, Vos PLAM, Kruip ThAM, *et al*. Transvaginal ultrasound guided follicular aspiration of bovine oocytes. *Theriogenology*, 35:19-24, 1991.
- Vos PLAM, de Loos FAM, Pieterse MC, *et al*. Evaluation of transvaginal ultrasound-guided follicle puncture to collect oocytes and follicular fluids at consecutive times relative to the preovulatory LH surge in eCG/PG-treated cow. *Theriogenology*, 41:829-840, 1994.
- Hasler JF, Henderson WB, Hurtgen PJ, *et al*. Production, freezing and transfer of bovine IVF embryos

- and subsequent calving results. *Theriogenology*, 43:141-159, 1995.
6. Bols PEJ, Vandenneede JMM, Van Soom A, et al. Transvaginal ovum pick-up(OPU) in the cow: a new disposable needle guidance system. *Theriogenology*, 43: 677-687, 1995.
 7. Meintjes M, Bellow MS, Broussard JR, et al. Transvaginal aspiration of oocytes from hormone-treated pregnant beef cattle for in vitro fertilization. *J Anim Sci*, 73:967-974, 1995.
 8. 이병천, 이강남, 김남렬 등. 송아지 난소에서 초음파 유도에 의한 한우의 미성숙난자 채취시에 bST-FSH 처리효과에 관한 연구. 한국수정란이식학회지, 11(2):103-109, 1996.
 9. 이효종, 강태영, 조성근 등. 과배란처리 한우에서 초음파유도에 의한 난자채란에 관한 연구. 한국수정란이식학회지, 12(2):195-202, 1997.
 10. 최민철, 강태영, 조성근 등. 초음파유도 난포란 채취를 위한 기본기술의 개발. II. 소의 마취방법과 채란기구의 개발. 한국수정란이식학회지, 12(2):211-218, 1997.
 11. 손우진, 강태영, 조성근 등. 한우에서 초음파 유래와 도축장 유래 난포란을 이용한 체외수정란 생산에 관한 연구. 한국수정란이식학회지, 13(2):107-115, 1998.
 12. Gibbons JR, Beal WE, Krisher RL, et al. Effect of once-versus twice-weekly transvaginal follicular aspira-
 - tion on bovine oocyte recovery and embryo development. *Theriogenology*, 42:405-419, 1994.
 13. Looney CR, Lindsey BR, Gonseth CL, et al. Commercial aspects of oocyte retrieval and *in vitro* fertilization(IVF) for embryo production in problem cow. *Theriogenology*, 41:67-72, 1994.
 14. Becker F, Kanitz W, Nurnberg G, et al. Comparison of repeated transvaginal ovum pick up in heifers by ultrasonographic and endoscopic instruments. *Theriogenology*, 44:1000-1007, 1996.
 15. Bungartz L, Lucas-Hahn A, Rath D, et al. Collection of oocytes from cattle via follicular aspiration aided by ultrasound with or without gonadotrophin pretreatment and in different reproductive stages. *Theriogenology*, 43:667-675, 1995.
 16. Van der Schans A, van der Westerlaken LAJ, de Wit AAC, et al. Ultrasound-guided transvaginal collection of oocytes in the cow. *Theriogenology*, 35:288, 1991.
 17. Bols PEJ. Transvaginal ovum pick-up in the cow: technical and biological modifications. Ph.D. thesis. University of Gent:97-114, 1997.
 18. Scott CA, Robertson L, de Moura RTD, et al. Technical aspects of transvaginal ultrasound-guided follicular aspiration in cows. *Vet Rec*, 134:440-443, 1994.
 19. 박성재. 한우에 있어서 초음파유도에 의한 미성숙난자 채취에 관한 요인연구. 경상대학교 대학원, 축산학과 박사학위논문. p.32, 1999.