

한우 및 젃소에서 체외 수정란 생산과 신선 및 동결 수정란 이식 결과

김용준[†] · 김희천 · 서세현¹ · 정구남² · 김용수² · 이혜리 · 신동수² · 조성우² · 김수희
전북대학교 수의과대학

Production of *In-Vitro* Fertilized Embryos and Result of Transfer with Fresh or Frozen Embryos for Hanwoo and Holstein Cattle

Y. J. Kim[†], H. C. Kim, S. H. Seo¹, K. N. Jeong², Y. S. Kim²,
H. R. Lee, D. S. Shin², S. W. Jo² and S. H. Kim
College of Veterinary Medicine, Chonbuk National University

SUMMARY

The ovaries from Hanwoo and Holstein were collected from labattoir and transferred to laboratory. Oocytes were aspirated and incubated in CO₂ incubator for 24 hours for maturation. Oocytes were coincubated with the sperms for 5 hours. Cleaved oocytes were selected 48 hours after coincubation and half of the medium was changed newly every 48 hour until blastocyst formation.

Cleavage rate and blastocyst rate were investigated according to different breeds and different status of cumulus cells surrounding the oocytes. Blastocysts were either transferred to the recipients or frozen until use. The result of embryo transfer with fresh or frozen embryos was investigated. The rate of male offspring following embryo transfer was also investigated.

The rate of cleavage was 66.4% for Hanwoo and 62.4% for Holstein oocytes. The rate of cleavage according to status of oocyte was shown highest in the oocytes completely surrounded with cumulus cells and lowest in denuded oocytes for both Hanwoo and Holstein oocytes. The rate of blastocyst from cleaved oocytes was 40.6% for Hanwoo and 36.9% for Holstein. The rate of pregnancy/delivery following embryo transfer with fresh IVF embryos was 57.2% for Hanwoo and 53.3% for Holstein. The rate of pregnancy/delivery following embryo transfer with frozen IVF embryos was 40.9% for Hanwoo and 36.4% for Holstein. The rate of male calf produced by embryo transfer was 63.6% for Hanwoo and 50.0% for Holstein.

(Key words : *in-vitro* fertilization, embryo transfer, fresh embryo, frozen embryo)

서 론

우리나라에서 가축의 생산력을 높일 수 있는 번

식기술은 우리나라 축산물 수요의 급격한 증가에 대처할 뿐 아니라 축산물 수입개방 압력에 대하여 자체 생산력을 향상시킬 수 있는 중요한 기술이다.

¹ 전주동물원(Jeonju-Zoo)

² 전라북도 축산진흥연구소 종축시험소(Livestock Breeding Station, Livestock Development & Research Institute of Chonrabuk-do)

[†] Correspondence : E-mail : yjk@chonbuk.ac.kr

이를 위해 수정란 이식술(Broadbent 등, 1991; Elsdon 등, 1982; Hasler, 1992; Hasler, 2003; Massip 등, 1995; Reichenbach 등, 1992; Sreenan 등, 1987; Sreenan, 1988; Suzuki 등, 1994; Willett 등, 1951; Wright, 1985)은 젖소에서는 유즙 생산능력이 높은 우수한 능력을 가진 젖소의 확산을 위하여, 그리고 한우에서는 우리나라 국민의 기호에 맞는 한우의 양적 생산능력 향상 또는 고급육 생산을 위한 질적 생산 능력을 높이기 위한 중요한 번식 기술로서 많은 관심이 집중되고 있다(김 등, 2000; 김 등, 2003; 노 등 1988).

이와 관련하여 과배란 처리를 이용한 수정란 이식술(Donaldson, 1985; Niemann 등, 1985; Niemann, 1991; 오 등, 1986)은 우수한 능력이 입증된 빈우에 후대검정된 종모우의 정액을 이용하는 인공수정에 비해 매우 우수한 유전능력이 있는 접합체를 이식하여 산자를 생산함으로써 생산능력의 향상을 배가시킨다고 하겠다.

수정란 이식술을 위한 수정란의 생산방법의 하나인 체외 수정법(*in-vitro fertilization*)(Blondin 등, 1995; Carolan 등, 1996; Gardner, 1994; Hasler 등, 1994; Heeres 등, 1996; Kajihara 등, 1992; Kane 등, 1992; Kato 등, 1994; Mermillod 등, 1992; Rosenkrans 등, 1990; Wiemer 등, 1991; Wurth 등, 1994; Yoshioka 등, 1997, 조 등, 2000; 황 등, 2004)은 도축된 난소 이용시 우수한 유전형질을 후대에 전하기 위한 능력검정이 이루어지지 않아 단지 품종 생산능력 향상에 그 목적이 있으나, 생체로부터 초음파기기를 이용한 OPU(ovum pick up)법을 통해 난자 회수시 능력이 입증된 수정란의 생산도 가능하다.

그러나 도축장에서 회수된 난소를 이용한 체외 수정법이 가장 일반적으로 이용되고 있는데 도축된 소의 난소로부터 생존성을 가진 많은 난자를 회수하여 체외에서 수정시켜 수정란을 생산하고 수란우에 이식하여 산자를 생산함으로써 생산성을 크게 높일 수 있다.

또한 체외수정 기술은 난자와 수정란을 이용한 생명공학을 발전시키는 기본이 되고 있으며 체외수정과 같은 시험관내 수정란 생산 및 조작기술을 통해 일란성 쌍태 생산(Lu 등, 1991), 카이메라 생

산, 수정란의 성 감별(Bondioli 등, 1989; Itagaki 등, 1995; 김 등, 2000; 김 등, 2003; 오 등, 1996), 형질전환 동물 생산, 핵이식 복제 동물 생산, 체세포 복제 동물 생산 등이 가능하게 된 것이다.

따라서 이 연구에서는 한우 및 젖소에서 수정란 공급체계 구축을 위한 체외 수정란 생산기술을 확립하고 체외 수정란 이식 후 산자 생산에 따른 실용성을 조사하고자 하였으며 아울러 체외수정을 통해 생산된 수정란을 동결 및 이식하여 동결 수정란의 이용성도 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료

도축된 소의 난소로부터 난자를 회수하기 위하여 전라북도 일원 도축장에서 난소를 회수하였으며 실험에 이용된 난소수는 한우 난소 2,021개, 젖소 난소 144개이었다.

2. 실험 동물

체외수정된 수정란을 이식하기 위한 수란우는 한우 322두, 젖소 26두이었으며 수란우는 18개월령의 미경산우로부터 4산차까지의 경산우를 이용하였다.

3. 체외 수정

1) 난자의 회수

도축된 소로부터 난소를 채취하여 항생물질(penicillin G 100IU/l + streptomycin 100µg/l)이 첨가된 25~30℃의 멸균 생리식염수가 들어 있는 보온병에 넣어 3시간 이내 실험실로 운반하였다.

난소는 37℃ 항생물질 첨가 멸균 생리식염수로 잘 세척한 후 생리식염수가 들어 있는 비이커에 넣어 37℃ water bath에서 보관하였다.

난소로부터 난자의 회수는 5ml 주사기를 이용하여 FCS(fetal calf serum) 3% 첨가된 D-PBS 1ml를 흡입하고 나서 난소실질내로 주사침을 넣어 7mm 이하 크기의 난포에서 난포액을 흡입하여 37℃ water bath 내 준비한 200ml 실린더 내 분주하였다.

난소로부터 난자 회수 과정을 끝내고 나서 실린

더액을 90mm petri dish에 분주하였고 실체현미경 하에서 10배로 난자를 확인하고 pasteur pipette을 이용하여 회수한 후 FCS 3% 첨가 D-PBS가 담긴 36mm petri dish 내로 옮겨 넣었다.

2) 난자의 체외 성숙(IVM, *In-Vitro* Maturation)

D-PBS 내 있었던 난자를 FCS 10% 첨가 TCM-199 배지 내로 옮겨 pasteur pipette을 이용하여 2~3회 washing하였다. 그리고 나서 36mm petri dish 내 FCS 10% 첨가 TCM-199 100 μ l droplet을 만들었고 mineral oil로 도포한 후 난자를 15~20개씩 droplet 내 넣었다.

난자가 들어 있는 petri dish를 38.5 $^{\circ}$ C 5% CO₂ incubator에 넣어 20~22시간 동안 체외성숙시켰다.

3) 체외 수정(IVF, *In-Vitro* Fertilization)

체외 수정을 위한 정자의 준비는 한우 및 젖소 각각의 동결정액 0.5ml straw 2~3개를 37 $^{\circ}$ C 온수 내에서 30초간 용해하였다. 용해된 정액을 10ml 시험관 내로 넣은 후 3mM caffeine benzoate와 10 μ g/ml의 heparin이 첨가된 BO액(Brackett & Oliphant) 6ml를 첨가하여 500g에서 5분간 2회 원심 분리하였다.

원심액의 상층액을 제거한 후 정자 suspension에서 50 μ l를 취하여 희석을 100배가 되도록 3% NaCl 4.95ml에 넣은 후 정자수를 혈구계산판을 이용하여 계산하였다.

계산된 수에 따라 정자수가 5 \times 10⁶/ml이 되도록 정자 suspension에 BO액을 첨가하였다. 이중 100 μ l를 취하여 36mm petri dish내 droplet을 만들고 mineral oil로 도포하였다.

그리고 나서 20~22시간 동안 성숙 배양시킨 난자들을 꺼내 BO액으로 2~3회 washing을 하였고 정자 droplet 내 난자 20개씩을 넣어 38.5 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ incubator 내에서 5~6시간 체외수정시켰다.

4) 수정란의 체외 배양

체외 수정 반응 후 난자를 정자 droplet으로부터 꺼내 FCS 10% 첨가 TCM-199 배지 내에서 여러 번 washing하였고 다시 난자를 체외 성숙시 사용된 droplet 내로 옮겼다.

체외 수정 24시간 후 수정란의 발달을 도와주기 위해 수정란과 난구세포를 pasteur pipette 등을 이용하여 분리시켰으며, 난구세포와 공배양 조건하에서 배반포로 발달될 때까지 7~9일간 38.5 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ incubator 내에서 배양하였다.

수정란 배양배지는 FCS 10% 첨가 TCM-199로서 수정란이 배양되고 있는 배지의 1/2을 48시간마다 신선한 배지로 교환하였다.

5) 체외 수정란의 동결

체외수정후 배반포(blastocyst) 또는 확장배반포(expanded blastocyst)로 발달된 수정란 중 Linder와 Wright(1983) 및 Massip 등(1995)의 수정란 판정방법에 기준하여 형태가 양호한 수정란을 선택하여, 직접 이식법을 위한 동결방법을 위하여 20% FCS 첨가 D-PBS 내 ethylene glycol이 1.8M 함유 되도록 하여 수정란을 0.25ml straw 내 충전한 후 김 등(2003)의 동결속도로 program freezer(Eyela, FHK, Japan) 내에서 -30 $^{\circ}$ C까지 동결하였다.

동결을 마친 스트로는 액체 질소 탱크 내로 옮겨 사용시까지 보존하였다.

4. 체외 수정 조사 내용

1) 난자의 상태에 따른 난할을 조사

난소에서 난자를 회수한 후 난자 주변의 난구세포가 부착된 상태에 따라 난자를 세 가지 종류 [CSwCM(Completely surrounded with cumulus cell): 난구세포로 완전히 둘러싸인 난자, PD(Partly denuded): 난구세포가 일부 떨어져 나간 난자, DN(Denuded): 난구세포가 난자주변에 전혀 없는 난자]로 구분하여 체외 수정후의 난할율을 조사하였다.

2) 체외 수정 후 난할을 조사

체외수정 반응 후 난자를 배양하여 48시간에 실체현미경 하에서 검사하여 2세포 이상 발달된 난자의 율을 조사하였다.

3) 배반포율 조사

체외배양 후 7~9일에 배반포로 발달된 난자수

를 확인하여 실험에 공여한 전체 난자수 및 전체 난할 난자수에 대한 배반포율을 조사하였다.

결 과

5. 수정란 이식

1) 수란우 선발

수란우는 임상적으로 건강한 소를 대상으로 하였다. 분만 한 소는 분만 후 60일 이상 경과되었고 기간 중 1~2회 이상 성주기를 반복한 소를 대상으로 하였으며, 직장 검사에서 양호한 상태의 황체와 정상 크기의 자궁각을 가진 소를 선발하였다. 이 소들을 대상으로 발정 후 7~9일이 된 소에 수정란을 이식하였다.

2) 신선 수정란의 이식

체외 배양중이었던 양호한 상태의 배반포를 10% FCS 첨가 D-PBS로 2~3회 washing 후 동일배지를 이용하여 수정란을 0.25ml straw에 넣고 나서 수란우에 이식하였다.

3) 동결 수정란의 이식

액체질소 탱크내 보존 중인 straw를 꺼내 공기중에서 수초간 정치한 후 20~25℃ 온수에서 30초간 용해한 후 수란우에 이식하였다.

4) 이식방법

수란우는 2% lidocaine 3~5ml로 경막의 마취를 하였고, 수정란 이식기(French cassou gun)를 이용한 비외과적 이식방법을 이용하여 수란우의 황체가 존재하는 난소와 동일한 쪽에 있는 자궁각 상단부에 수정란 1개를 이식하였다.

5) 수정란 이식 후 결과 조사

신선 수정란과 동결 수정란을 각각 이식 후 산자 분만에 따른 수태율을 조사하였다.

소 품종에 따른 체외수정 난자의 난할율은 Table 1과 같다.

한우는 2,021개의 난소로부터 20,387개의 난자를 회수하여 난소당 회수 난자수는 평균 10.09이었으며, 난할 난자수는 13,541개로서 66.42%의 난할율을 나타내었다. Holstein은 144개의 난소로부터 1,784개의 난자를 회수하여 난소당 회수 난자수는 평균 12.38이었으며, 난할 난자수는 1,113개로서 62.38%의 난할율을 나타내었다.

난자 주위 난구세포의 존재 상태에 따른 난할율은 Table 2와 같다.

난자 주위 난구세포 존재 상태에서 한우는 난구세포가 온전히 둘러싸인 난자(CSwCM)는 전체 난자 중 45.0%, 난구세포 일부 분리난자(PD)는 33.0%, 난구세포가 없는 난자(DN)는 22.0%이었고 Holstein은 CSwCM은 62.0%, PD는 20.0%, DN은 18.0%이었다.

난구세포 존재 정도에 따른 난할율에서 한우는 CSwCM은 81.0%, PD는 63.5%, DN은 41.0%가 각각 난할되어 CSwCM 난자가 가장 높은 수치의 난할율을 나타내었고, Holstein은 CSwCM은 72.0%, PD는 51.3%, DN은 41.7%가 각각 난할되어 CSwCM 난자가 가장 높은 수치의 난할율을 보였으며, DN 상태로 갈수록 한우의 경우와 마찬가지로 난할율이 감소되는 경향을 나타내었다.

소 품종에 따른 체외수정 난자의 배반포율은 Table 3과 같다.

한우는 전체 난자 20,387개 중 13,541개가 난할되었고 5,498개의 난자가 배반포로 발달되어 전체 난자수에 대하여는 27.0%, 전체 난할 난자수에 대하여는 40.6%의 배반포율을 각각 나타내었다.

Holstein은 전체 난자 1,784개 중 1,113개가 난할되었고 411개의 난자가 배반포로 발달되어 전체

Table 1. Cleavage rate of *in-vitro* fertilized bovine oocytes according to breeds

Breed	No. of ovaries	No. of oocytes	No. of oocytes per ovary	Rate of cleavage (%)
Hanwoo	2,021	20,387	10.09	13,541/20,387 (66.4)
Holstein	144	1,784	12.28	1,113/ 1,784 (62.4)

Table 2. Cleavage rate according to condition of cumulus cells surrounding bovine oocyte

Breed	Status of oocytes (%)				No. of oocytes cleaved (%)			
	CSwCM	PD	DN	Total	CSwCM	PD	DN	Total
Hanwoo	9,174	6,726	4,487	20,387	7.431/9.174	4.271/6.726	1.839/4.487	13.541/20.387
	(45.00)	(32.99)	(22.01)	(100.0)	(81.0)	(63.5)	(41.0)	(66.4)
Holstein	1,106	357	321	1,784	796/1,106	184/357	134/321	1,113/1,784
	(62.00)	(20.01)	(17.99)	(100.0)	(72.0)	(51.3)	(41.7)	(62.4)

CSwCM : Completely surrounded with cumulus cell.

PD : Partly denuded, DN : denuded.

Table 3. Blastocyst rate of bovine oocytes

Breed	No. of oocytes	No. of cleaved oocytes	No. of blastocysts	Rate (%)	
				No. of BL / No. of oocytes	No. of BL / No. of cleaved oocytes
Hanwoo	20,387	13,541	5,498	5,498/20,387 (27.0)	5,498/13,541 (40.6)
Holstein	1,784	1,113	411	411/ 1,784 (23.0)	411/ 1,113 (36.9)

BL : Blastocyst.

난자수에 대하여는 23.4%, 전체 난할난자수에 대하여는 36.93%의 배반포율을 나타내었다.

소 체외수정 후 신선 수정란을 이식한 결과는 Table 4와 같다.

한우는 278개의 수정란이 278두의 수란우에 이식되어 159마리의 산자가 분만됨으로써 57.2%의 수태율이 나타났고, Holstein은 15개의 수정란이 15두의 수란우에 이식되어 8두가 분만됨으로써 53.3%의 수태율이 나타났다.

소 체외수정 후 생산된 수정란을 동결 보존 후 융해하여 이식한 결과는 Table 5와 같다.

한우는 44개의 수정란이 44두의 수란우에 이식되어 18두의 산자가 분만됨으로써 40.9%의 수태율이 나타났고, Holstein은 11개의 수정란이 11두의 수란우에 이식되어 4두의 산자가 분만됨으로써 36.4%의 수태율이 나타났다.

고 찰

이 연구에서 전체 난자수에 대한 2세포 이상 난할된 난자의 난할율은 한우에서 66.4%, 젖소에서 62.4%를 나타내었다. 이 결과는 40% 대의 난할율

Table 4. Result of embryo transfer with fresh *in-vitro* fertilized bovine embryos

Breed	No. of embryos	No. of recipients	No. of animals delivered offspring	Rate of pregnancy (%)
				No. of delivery / No. of recipients
Hanwoo	278	278	159	159/278 (27.2)
Holstein	15	15	8	8/ 15 (53.3)

Table 5. Result of embryo transfer with frozen *in-vitro* fertilized bovine embryos

Breed	No. of embryos	No. of recipients	No. of animals delivered offspring	Rate of pregnancy (%)
				No. of delivery / No. of recipients
Hanwoo	44	44	18	18/44 (40.9)
Holstein	11	11	4	4/11 (36.4)

을 보고한 Bondioli 등(1989), 50% 대의 난할율을 보고한 김 등(2000)의 결과와 오 등(1986)의 결과 보다는 높은 성적이었다고, Izadyare 등(1996), Hasler 등(1995)의 결과와는 유사한 성적이었으며, 76.1%의 난할율을 보고한 Rehman 등(1994)의 성적보다는 낮았다.

이 연구에서 한우와 젃소는 유사한 성적을 나타내어 품종간 차이는 없는 것으로 생각되나 실험에 이용된 젃소의 난소수가 한우에 비해 매우 적어 품종간 차이는 좀 더 많은 난소수를 이용하여 비교해야 할 것으로 보인다.

이 연구에서 한우와 젃소 모두에서 난구세포가 완전히 둘러싸인 난자는 일부 존재하거나 전혀 존재하지 않는 난자보다 더 높은 난할율의 수치를 나타내었다. 이 결과는 Austin과 Short(1982), Hafez(1987), 조 등(1990)에서와 같이 난자가 난구세포에 의해 영양분을 공급 받으며 그로 인해 핵 성숙 과정을 갖게 되기 때문인 것으로 생각된다.

이 연구에서 체외수정된 난자의 배반포율은 한우의 경우, 전체 난자수에 비하여 26.9%, 난할 난자수에 비하여는 40.6%를 나타내었고, 젃소에서는 전체 난자수에 비하여 23.0%, 난할 난자수에 비하여는 36.9%로서 젃소는 한우보다 약간 낮은 배반포율 수치를 나타내었으나, 젃소의 경우 실험에 이용된 난자수가 한우의 10% 밖에 되지 않아 품종별 비교를 위해서는 더 많은 연구가 수행되어야 할 것으로 보인다.

한편 이 연구에서 전체 난자수에 대한 배반포율은 김 등(2000)의 성적보다는 높은 성적이었다고 23.5%의 배반포율을 보고한 오 등(1986)의 성적과는 유사하거나 다소 높은 성적이었다. 한편 Izadyare 등(1996)이 보고한 28.2%보다는 다소 낮은 성적을 나타내었다.

이와 같이 본 연구와 다른 연구자들의 성적이 다른 것은 소 체외 수정란 생산에 있어서 중요한 요인이 되고 있는 난포에서의 흡입된 난자의 상태, 체외 성숙을 촉진하는 hormone, growth factor 등의 첨가 유무, 배양액의 종류, cell block 현상을 방지하는 공배양 세포의 종류, 배양 조건 등에 따라 난분할율, 배반포기 발생율이 각각 다른 성적을 보인 것으로 사료된다.

이 연구에서 체외수정된 신선 소 수정란을 수란우에 이식한 결과 한우, 젃소에서 각각 57.2%, 53.3%의 수태율을 나타내어 한우가 높은 수치를 보였으나 비슷한 범위이었다고 생각된다. 이 결과는 황 등(2004)이 신선 체외수정란 이식 후 보고한 수태율 70.6%보다는 낮은 율이었는데, 한우의 경우 여러 농가에 이식한 결과를 종합한 것이어서 수정란의 상태도 중요하지만 수란우의 상태, 시술자의 기술 등 여러 가지 여건에 따라 나타난 결과로 판단된다. 실제로 농가별 수태율은 35.7%로부터 78.4%의 범위를 나타내어 수정란 이식시 수태율은 여러 가지 조건이 관련되는 것을 알 수 있다. 한편, 이 연구에서의 수태율은 Suzuki 등(1994)이 보고한 52.6%보다는 약간 상회하는 수치이었다.

이 연구에서 체외수정란을 동결·융해 후 수란우에 이식한 결과 한우, 젃소에서 각각 40.9%, 36.4%의 수태율을 나타내어 역시 한우에서 약간 더 높은 수치를 나타내었다. 이 결과를 황 등(2004)이 체외수정된 한우 동결 수정란을 이식한 수태 결과 36.4%와 비교하면 한우의 경우 약간 더 높은 성적을 나타내었고 젃소의 경우는 유사한 성적이었다.

한편 Niemann 등(1985)이 체외수정란의 완만동결 후 이식에 의한 수태율은 60~70%로 보고하여 이 연구의 결과보다 높은 성적이었다고, 오 등(1986)

의 45%도 이 연구의 성적보다 다소 좋은 성적이었다. 이 연구에서의 성적이 다소 낮은 이유도 앞에서 신선 수정란의 결과에서와 같이 농가에서의 여러 가지 여건이 관련된다고 해석할 수 있을 것 같다.

적 요

한우 및 젃소에서 체외 수정란을 생산하여 수란우에 이식하기 위해 도축장에서 난소를 채취하여 난자를 회수한 후 체외 성숙, 체외 수정, 체외 배양 과정을 거쳐 수정란을 생산하였다. 체외 수정시 난자는 난구세포 부착 정도에 따라 난할율을 조사하였고, 한우와 젃소에서 체외수정 후 배반포율을 조사하였다. 신선 및 동결 수정란을 수란우에 각각 이식하여 산자 분만에 따른 수태율을 조사하였다.

1. 한우 난소 2,021개에서 20,387개의 난자를 회수하여 체외 수정 후 난할된 난자수는 13,541개로서 66.4%의 난할율을 나타내었고, 젃소는 난소 144개에서 1,784개의 난자를 회수하여 체외 수정 후 1,113개의 난자가 난할되어 62.4%의 난할율을 나타내었다.
2. 한우와 젃소에서 난구세포가 온전히 둘러싸인 난자의 율은 각각 45.0, 62.0%이었고 난할율은 각각 81.0, 72.0%이었다. 난구세포가 일부 분리된 난자의 난할율은 한우, 젃소 각각 63.5, 51.3%이었다. 난구세포가 완전 분리된 난자의 난할율은 한우, 젃소 각각 41.0, 41.7%이었다.
3. 한우와 젃소 체외수정에서 난자가 배반포로 발달된 율은 전체 난자수에 비교하여 각각 27.0, 23.0%이었고, 난할된 난자수에 비교하여 각각 40.6, 36.9%이었다.
4. 신선 수정란을 이식한 결과, 한우에서는 278두에 이식하여 159두가 산자를 분만하여 57.2%, 젃소에서는 15두에 이식하여 8두가 분만함으로써 53.3%의 임신율을 나타내었다.
5. 동결 수정란을 이식한 결과, 한우에서는 44두에 이식하여 18두가 산자를 분만하여 40.9%, 젃소에서는 11두에 이식하여 4두가 분만함으로써 36.4%의 임신율을 나타내었다.

참고문헌

- Austin CR and Short RV. 1982. Reproduction in mammals & germ cell and fertilization. Cambridge University Press. Cambridge. 2nd. ed., 17:45.
- Bavister BD, Leibfreid ML and Lieberman G. 1983. Development of preimplantation embryos of the golden hamster in a defined culture medium. Mol. Reprod. Dev., 32:265-270.
- Blondin P and Sirard MA. 1995. Oocytes and follicular morphology as determining characteristics for developmental competence in bovine oocytes. Mol. Reprod. Dev., 41:54-62.
- Bondioli KM, Ellis SB, Pryor JH *et al.* 1989. The use of male specific chromosomal DNA fragments to determine the sex of bovine preimplantation embryos. Theriogenology, 31:91-104.
- Broadbent PJ, Stewart M and Dolman DE. 1991. Recipient management and embryo transfer. Theriogenology, 27:125-139.
- Carolan C, Lonergan P, Khatir H and Mermillod P. 1996. *In vitro* production of bovine embryos using individual oocytes. Mol. Reprod. Dev., 41:145-150.
- Donaldson LE. 1985. Matching of embryo stage and grades with recipient oestrus synchrony in bovine embryo transfer. Vet. Rec., 9:489-491.
- Elsden RP, Seidle GE Jr, Takeda T and Farrand GD. 1982. Field experiments with frozen-thawed bovine embryos transferred non-surgically. Theriogenology, 17:1-10, 1982.
- Ferry L, Mermillod P, Massip A and Dessy F. 1994. Bovine embryos cultured in serum-poor oviduct-conditioned medium need cooperation to reach the blastocyst stage. Theriogenology, 42:445-453.
- Gardner DK. 1994. Mammalian embryo culture in the absence of serum or somatic cell support. Cell Biol. Int., 18:1163-1179.
- Hafez ESE. 1987. Folliculogenesis, egg maturation

- and ovulation. in reproduction in farm animals. 5th. ed. Lea & Febiger., 130-167.
- Hasler JF. 1992. Current status and potential of embryos transfer and reproductive technology in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 75:2857-2879.
- Hasler JF, Stokes JE and Merton JS. 1994. Comparison of two different populations of BRL cells in a bovine *in vitro* culture system. *Theriogenology*, 41:214.
- Hasler JF, Henderson WB, Hurtgen PJ, Jin ZQ, McCauley AD, Mower SA, Neely B, Skuey LS, Stockes JE and Trimmer SA. 1995. Production, freezing and transfer of bovine IVF embryos and subsequent calving results. *Theriogenology*, 43:141-152.
- Hasler JF. 2003. The current status and future of commercial embryo transfer in cattle. *Theriogenology*, 79:245-264.
- Heeres AA, Merton JS, Hazeleger W *et al.* 1996. Optimization of sperm/oocyte ratio during *in vitro* fertilization of bovine cumulus oocytes-complexes. *Theriogenology*, 45:266.
- Itagaki Y, Kimura N, Yamanaka M *et al.* 1995. Developmental rate differences and sex of bovine preimplantation embryos generated *in vitro*. *J. Mamm. Ova. Res.*, 12:73-78.
- Izadyare F, Colenbrander B and Bevers MM. 1996. Growth hormone stimulates *in vitro* bovine oocyte maturation and subsequent embryonic development. *Theriogenology*, 33:669-675.
- Kajihara Y, Kometani N, Shitanaka Y, Saito S, Yamaguchi Y, Hishiyama K and Endo M. 1992. Pregnancy rates and birth after the direct transfer of frozen-thawed bovine IVF embryos. *Theriogenology*, 37:233(Abstr.).
- Kane MT, Carney EW and Ellington JF. 1992. The role of nutrients, peptide growth factors and co-culture cells in development of preimplantation embryos *in vitro*. *Theriogenology*, 38:297-313.
- Kato Y and Tsunoda Y. 1994. Effects of the culture density of mouse zygotes on the development *in vitro* and *in vivo*. *Theriogenology*, 41:1315-1322.
- Linder GE and Wright RW Jr. 1983. Bovine embryo morphology and evaluation. *Theriogenology*, 20:407-416.
- Lu K and Polge C. 1991. Pregnancy and twinning rates after transfer of IVF embryos to the bred recipient. Proceeding of the Seventh Congress of the European Embryo Transfer Association (Cambridge), 164.
- Massip A, Mermillod P and Dinneys A. 1995. Morphology and biochemistry of *in vitro* produced bovine embryos: implication for their cryopreservation. *Hum. Reprod.*, pp. 10:3004-3011.
- Massip A, Mermillod P, Van Langendonck A, Reichenbach HD, Lonergan P, Berg U, Carolan C, De Roover R and Brem G. 1996. Calving outcome following transfer of embryos produced *in vitro* in different conditions. *Anim. Reprod. Sci.*, 44:1-10.
- Mermillod P, Wils C, Massip A and Dessy F. 1992. Collection of oocytes and production of blastocysts *in vitro* from individual, slaughtered cows. *J. Reprod. Fert.*, 96:717-723.
- Niemann H, Tenhumberg H, Sacher B and Kruff B. 1985. Pregnancy rates after non-surgical transfer of cattle embryos frozen and thawed by a field method. *Anim. Breed.* 53:206-207.
- Niemann H. 1991. Cryopreservation of ova and embryos from livestock: current status and research needs. *Theriogenology*, 35:109-124.
- Rehman N, Collins AR, Suh TK *et al.* 1994. Development of *in vitro* matured and fertilized bovine oocytes co-cultured with buffalo rat liver cells. *Theriogenology*, 41:1453-1462.
- Reichenbach HD, Liebrich J, Berg U and Brem G. 1992. Pregnancy rates and birth after unilateral transfer of bovine embryos produced *in vitro*. *J. Reprod. Fertil.*, 95:363-370.

- Rosenkrans Jr CF, Zerg GZ, Schoff PK and First NL. 1990. A simple medium for *in vitro* development of bovine embryos. *J. Anim. Sci.*, 68(Suppl):430(Abstr.).
- Sreenan JM and Diskin MG. 1987. Factors affecting pregnancy rate following embryo transfer in the cow. *Theriogenology*, 27:99-113.
- Sreenan JM. 1988. Embryo transfer: its uses and recent developments. *Vet. Rec.*, 122:624-629.
- Suzuki T, Geschi M, Yonai M and Sakaguchi M. 1994. Effects method of embryo production and transfer on pregnancy rate, embryo survival rate, abortion and calf production in beef cows. *Theriogenology*, 41:309 (Abstr.).
- Wiemer KE, Watson AJ, Polanski V, McKenna AI, Fick GH and Shultz GA. 1991. Effects of maturation and co-culture treatments on the developmental capacity of early bovine embryos. *Mol. Reprod. Dev.*, 30:330-338.
- Willett FL, Black WG, Casida LE, Stone WH and Buckner PJ. 1951. Successful transplantation of a fertilized bovine ovum. *Science*, 113:247.
- Wright JM. 1985. Commercial freezing of bovine embryos in straws. *Theriogenology*, 23:17-29.
- Wurth YA, Reinders JMC, Rall WF and Kruij TH AM. 1994. Developmental potential of *in vitro* produced bovine embryos following cryopreservation and single-embryo transfer. *Theriogenology*, 42:1275-1284.
- Yoshioka K, Othman AM, Taniguchi T, Yamanaka H and Sekikawa K. 1997. Differential patterns of blastulation in bovine morulae cultured in synthetic oviduct fluid medium containing FCS or BSA. *Theriogenology*, 48:997-1006.
- 김용준, 정구남, 이해이, 조성우, 유일정. 2000. 한우 체외 수정란 Biopsy 후 PCR 기법을 이용한 성판정과 성감별 수정란의 이식. *한국수정란이식학회지*, 15(3):219-230.
- 김용준, 이창민, 정구남, 이해이, 조성우, 김용수, 신동수, 홍유미, 유일정. 2003. 성감별된 한우 수정란의 수정란 이식. *한국수정란이식학회지*, 18(2):97-108.
- 노환철, 정광업, 신규용, 정병현, 백운화, 정길생. 1988. 우 동결수정란의 산업적 이용에 관한 연구. *한국축산학회지*, 30(3):151-159.
- 오성중, 양보석, 김희석, 이근상, 김강식, 스피어스, 아우리. 1986. 소 발정동기화 및 동결 수정란 이식에 관한 연구. *한국축산학회지*, 28(7):468-473.
- 오성중, 양보석, 임경순. 1996. PCR 기법에 의한 수정란의 성판별과 체외수정란의 발생속도가 성비에 미치는 영향. *한국가축번식학회지*, 2: 443-451.
- 조성근, 노국진, 이정국, 이효중, 최상용, 박충생. 2000. 체외배양 조건이 소 체외 수정란의 생산에 미치는 효과. *한국수정란이식학회지*, 15(3): 271-277.
- 조충호, 강병규, 최상용, 황우석, 김용준. 1990. 증정수의산과학, 154-155.
- 황환섭, 장현용, 김성곤, 김종택, 박춘근, 정희태, 김정익, 양부근. 2004. 한우 체외성숙·체외 수정란의 수정란 이식에 관한 연구. *한국수정란이식학회지*, 19(1):1-10.

(접수일: 2005. 4. 25 / 채택일: 2005. 6. 10)