

한우에서 중복임신 사례

손동수¹ · 김중대 · 조창연 · 진현주 · 연성흠 · 최창용 · 최선호 · 김현종 · 한만희 · 김영근

농촌진흥청 축산연구소 가축유전자원시험장

A Case of Superfetation in a Korean Native Cow

Dong-soo Son¹, Chong-dae Kim, Chang-yeon Cho, Hyun-ju Jin, Seong-heum Yeon, Chang-yong Choe, Sun-ho Choi, Hyun-jong Kim, Man-hye Han and Young-kun Kim

Animal Genetic Resources Station, National Livestock Research Institut, RDA

(계재승인: 2006년 5월 16일)

Abstract : A probable case of superfetation in a Korean native cow met in a small farm located in Imsil Gun, Chonbuk. The cow delivered twice a living male and female calves in September 4 and December 9, 2004, respectively. Thus, we determined whether this case is a case of superfetation using parentage testing technique. The parentage testing was carried out for a dam and two calves using microsatellite DNA and blood typing. As the calves had at least one of the alleles on all marker tested that existed in dam, it was estimated that both of the calves were offsprings of the cow, and that they came from superfetation.

Key words : superfetation, Korean native cow, parentage testing.

서 론

이미 임신중인 암컷에서 발정이 발현되어 교배 후 수태됨으로서 생존태아가 존재하는 자궁에 추가로 임신이 일어나는 것을 중복임신(superfetation)이라 한다(15). 이러한 중복임신은 다태동물에서는 잘 보고되어 있으나, 단태동물에서는 극히 드물게 발생하는 것으로 알려져 있다. 중복임신은 분만시 크기가 매우 다른 2마리의 태아가 함께 태어나거나, 또는 2마리의 태아가 상당한 간격을 두고 각각 태어났을 때 의심된다. 그러나 확실한 중복임신의 증례에서는 암컷에서 상당기간의 간격을 둔 반복 교배와 임신과정 후 정상적으로 성숙된 두 마리의 태아가 분만 된다(1). 현재까지 중복임신은 사람(9,12,17), 소(3,6,8), 말(10), 돼지(13,14), 양(16), 고양이(11), 쥐(2) 등에서 보고되고 있다. 국내에서의 중복임신에 대한 보고는 1962년 사람에서 발생한 보고가 있는데, 이 보고에서는 월경주기를 달리하는 2회의 배란에 의하여 각각 수정, 임신된 것으로 과수정(superfetation)에 의한 쌍태분만이라고 하였다(19). 그러나 국내에서 사육하고 있는 가축에서의 중복임신의 발생은 아직까지 학계에 보고된 바가 없다.

2004년 12월 전북 임실군의 한우 농가에서 사육중인 한우

1두에서 96일 간격으로 2마리의 송아지가 태어나 중복임신으로 추정되었다. 따라서, 본 증례 보고에서는 중복임신으로 추정되는 한우의 분만내역과 어미 소와 송아지의 혈액을 이용한 친자감정을 실시하여 중복임신 여부를 확인하였다.

증 례

중복분만

중복임신으로 추정되는 한우는 전북 임실군에 소재하는 한우 성우 3두를 사육하는 소규모 농가에서 사육중인 4산차의 암소로서 2004년 9월 4일 수송아지를 분만하였으나 2개월후에도 발정재귀가 나타나지 않아 수의사의 검진 결과 임신중인 것으로 확인되었고, 1차 분만 후 96일 후인 2004년 12월 9일에 다시 정상적인 암송아지를 분만하였다. 중복 분만한 암소는 해당 농가에서 태어나 계속 사육된 소였으며, 3산차에는 유산의 병력을 가지고 있었다. 그러나 암소에 수정한 정액에 대한 내역은 기록을 보유하고 있지 않아 확인이 불가능 하였다. 중복임신으로 태어난 송아지는 출생 후 각각 194일과 98일 동안에 정상적인 성장 과정을 보여주고 있었다(Fig 1).

친자감정

친자 감정을 위하여 2005년 3월 18일에 어미 소와 송아

¹Corresponding author.
E-mail : sonds@rda.go.kr

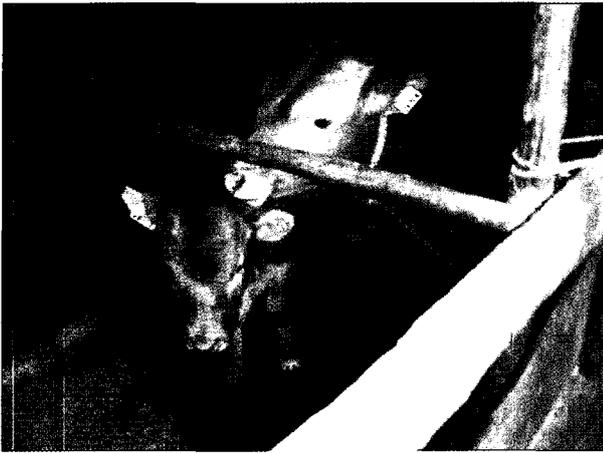


Fig 1. A male (right) and female (left) calves delivered from a Korean native cow had experienced a 96 day-interval superfetation.

지 2두의 경정맥에서 heparin 진공튜브(Becton Dickinson, USA)를 이용하여 각각 채혈하였다. 준비된 혈액은 친자 확인을 위하여 microsatellite marker (MS marker) 분석과 혈

액단백다형의 검색을 실시하였다.

DNA분석을 위해 혈액에서 magnetic bead를 이용하여 DNA를 추출하였다. MS marker분석은 국제동물유전학회(International Society for Animal Genetics: ISAG)가 추천하는 국제표준 Marker 9종을 포함한 22종(Table 1)에 대하여 AmpliTag Gold PCR Master Mix®(Applied Biosystems, USA)을 이용하여 PCR 반응물질을 혼합하였다. PCR증폭은 GeneAmp PCR System 2700®(Applied Biosystems, USA)를 이용하였으며, PCR조건은 95°C에서 15분간 가열하여 변성을 유도한 후 95°C에서 1분간 denaturation, 각각의 marker에 적합한 온도에 맞추어 1분 30초간 annealing, 72°C에서 1분 30초간 extension의 3단계를 35회 반복반응시켰고, 72°C에서 40분간 final extension하여 4°C에서 보존하였다. PCR 증폭산물은 2.5% agarose gel에서 전기영동으로 확인하였다. 유전자 다형검색은 자동염기서열 분석장치(ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer, Applied Biosystems, USA)를 이용하였고, 유전자형의 판정은 GeneMapper (Genotyper® Software v 3.7, Applied Biosystems, USA)으로 하였다.

혈액단백다형의 분석은 Hemoglobin (Hb)의 다형검색은 전

Table 1. Characterization of 22 microsatellite loci used for the superfetation family analyze

Name of marker	Primer-sequences 5'-3'	Annealing temperature (°C)	Allel-length (bp)
AGLA293	GAAACTCAACCCAAGACAACCTCAAGATGACTTTATTCTCCACCTAGCAGA	60	222-240
BM1824*	GAGCAAGGTGTTTTTCCAATCCATTCTCCAACCTGCTTCCTTG	60	172-188
BM2113*	GCTGCCTTCTACCAAATACCCCTTCTCTGAGAGAAGCAACACC	60	119-147
BMS1494	TCTGGAGCTTGCAAAAAGACCAATGGATGACTCCTGGATGG	57	151-189
BMS357	TCCAAACAAGTCTTCTCTATTTACCCCAATAATTGCTGGTCAGG	58	103-121
ETH10*	GTCAGGACTGGCCCTGCTAACACCTCCAGCCACTTTCTCTTCTC	60	206-222
ETH225*	GATCACCTTGCCACTATTTCTACATGACAGCCAGCTGCTACT	60	135-153
ILSTS005	GGAAGCAATGAAATCTATAGCCTGTTCTGTGAGTTTGTAAGC	60	178-182
ILSTS011	GCTTGCTACATGGAAAGTGCCTAAAATGCAGAGCCCTACC	55	254-280
ILSTS044	AGTCACCCAAAAGTAACTGGACATGTTGTATTCCAAGTGC	57	144-164
INRA023*	GAGTAGAGCTACAAGATAAACTTCTAACTACAGGGTGTAGATGAACTCA	60	191-211
INRA05	CCTTTCAAAAACACGGAAATTCGGGGGCTTCAGGCATACCCCTACACCACATG	57	135-146
INRA132	AACATTTTCAGCTGATGGTGGCTTCTGTTTTGAGTGGTAAGCTG	60	135-141
INRA63	ATTTGCACAAGCTAAATCTAACCAAAACCACAGAAATGCTTGGAAAG	55	125-135
MAF65	AAAGGCCAGAGTATGCAATTAGGAGCCACTCCTCCTGAGAATATAACATG	55	120-140
OaerFcb304	CCCTAGGAGCTTTCAATAAAGAATCGGGCGCTGCTGTCAACTGGGCAGG	57	140-152
SPS115*	AAAGTGACACAACAGCTTCTCCAAACGAGTGTCTAGTTTGGCTGT	60	123-155
SRCRSP03	CGGGGATCTGTTCTATGAACTGATTAGCTGGCTGAATGTCC	55	106-112
SRCRSP07	TCTCAGCACCTTAATTGCTCTGGTCAACACTCCAATGGTGAG	57	241-247
TGLA122*	CCCTCCTCCAGGTAAATCAGCAATCACATGGCAAATAAGTACATAC	60	133-179
TGLA126*	CTAATTTAGAATGAGAGAGGCTTCTTTGGTCTCTATTCTCTGAATATTC	60	115-127
TGLA227*	CGAATTCCAAATCTGTTAATTTGCTACAGACAGAACTCAATGAAAGCA	60	69-107

*International standard marker recommend by ISAG.

분gel 전기영동으로 실시하였으며, Transferrin (Tf), post-transferrin (pTf), Albumin (Alb) 및 Gc-globulin (Gc)의 다형검색은 polyacrylamide gel을 이용하여 냉장상태에서 전기영동후 단백질 염색으로 다형을 검출하였다.

MS marker 22종에 대한 각 개체의 유전자형을 Table 2에 표시하였다. 모든 MS marker에서 개체특이적인 다형이 관찰되었으나 송아지 2두의 2개 유전자중 1개 이상의 유전자는 어미 소와 동일한 것으로 판정되었다.

또한 혈액단백형에 의한 친자감정에서도 MS marker를 이용한 결과와 마찬가지로 2두의 송아지는 모두 어미 소에서 유래된 유전자형을 보유하고 있음이 확인되었다(Table 3).

Table 2. The microsatellite genotypes of a dam and its offsprings in the superfetation family

Marker	Size of alleles					
	Dam		Calf 1		Calf 2	
AGLA293	228	228	228	230	228	234
BM1824	180	184	180	180	182	184
BM2113	131	135	131	137	135	137
BMS1494	161	161	161	161	161	161
BMS357	107	115	115	115	107	115
ETH10	216	222	214	222	216	216
ETH225	135	139	135	139	139	145
ILST005	178	178	178	178	178	178
ILST011	269	269	269	269	269	269
ILST044	150	150	150	150	150	150
INRA023	193	205	193	209	205	205
INRA05	138	138	138	138	138	140
INRA132	139	139	139	139	139	139
INRA63	129	129	129	129	129	129
MAF65	120	120	116	120	120	120
OaerFcb304	138	138	138	138	138	138
SPS115	123	123	123	123	123	123
SRCRSP03	108	108	108	108	108	108
SRCRSP07	243	247	243	255	243	247
TGLA122	139	151	139	149	139	143
TGLA126	117	125	117	125	117	125
TGLA227	82	94	82	92	84	92

Table 3. The genotypes of blood protein polymorphism in the superfetation family

Locus	Genotype of alleles					
	Dam		Calf 1		Calf 2	
Hemoglobin (Hb)	A	A	A	A	A	A
Transferrin (Tf)	A	D2	A	D2	D1	D2
Posttransferrin (pTf)	S	S	S	S	S	S
Albumin (Alb)	A	A	A	A	A	A
Gc-globulin (Gc)	F	S	F	S	F	S

따라서, MS marker 분석과 혈액단백형 검색 기법이 한우에서 96일 간격으로 태어난 2두의 한우 송아지 모두가 어미 소의 친자로 확인되어, 본 증례가 중복임신이었음을 증명하였다.

고 찰

일반적으로 임신중에는 혈중 progesterone 수준이 증가되어 발정이나 배란이 일어나지 않으나, 임신우의 3~6%는 임신중 발정과 배란이 일어나는데(4,5,7) 임신 전반에는 충분히 성숙된 난포가 인정되고, 임신후반에는 난포가 작다. 이러한 임신발정 시에 인공수정을 하게 되면 주입기에 의해 경관이 개구되어 유산 또는 미이라 태아를 일으킬 위험성이 많다. 그리고 임신중 배란이 일어나도 주입된 정자가 임신자궁을 통과하여 난관에 도달하기 매우 곤란하다. 더욱이 임신된 자궁각의 반대측에 자궁각에서 태아가 발육한다고 하더라도 처음의 태아가 배출될 때 두 번째 태아도 배출되기가 쉬우며, 극히 드물게 일정한 임신기간을 경과한 후 정상분만을 하는 경우가 있다(21). 또한 Scrimgeour와 Baker(17)도 중복임신의 발생은 임신중에 배란 및 난자와 정자의 난관 통과가 전제되어야 하며, 정자의 자궁경관 점액 통과 및 첫 번째 태아의 수태에 의한 자궁 환경의 변화도 해부학적 및 내분비학적으로 2차 수태의 착상을 허용할 수 있어야 한다고 했다. 이러한 보고들은 중복임신의 발생 가능성이 매우 낮음을 시사하는 것이다.

본 증례에서는 중복임신으로 추정되는 한우 1두에서 96일 간격으로 2두의 송아지가 태어났는데 모두 생존한 상태였으며, 이 후에도 정상적인 발육 상태를 나타내었다. Dalrymple과 Jenkins(3)의 보고에서는 젖소 암소에서 83일 간격으로 반복수정을 실시한 후 1차 수정 후 256일에 완전히 발육한 암송아지를 분만하였으나 태어난지 10분후에 폐사하였으며, 2차 수정일로부터 281일에 건강한 송아지를 분만하였다고 했다. 비슷한 증례로, Hall(8)은 발정동기화 처리한 교잡우 수란우에 심멘탈 순종의 수정란을 이식 후 31일에 임신을 확인하고 그 후 수소와 함께 방목시킨 결과 수정란이식에 따른 분만예정일 12일전에 심멘탈 수송아지와 1/2크기의 6.5개월령 정도에 해당하는 암송아지를 분만하였다고 하였다. 그리고 태어난 수송아지는 앞니의 발육부진, 저체중, 작고 허약한 상태로 생후 3일만에 폐렴에 의해 폐사되었음을 보고하였다. 이 증례에서는 첫 번째 분만된 수송아지와 두 번째

암송아지는 60일 이내의 차이가 나타나므로 중복임신으로 추정하였다. 이와 같이(3,8) 중복임신은 일정한 간격을 두고 두 마리의 송아지가 정상적으로 분만하고 성장하는 경우는 드문 현상이지만 본 증례에서는 송아지의 출생 및 발육 등 모두 정상적인 경과를 나타내었다.

가축의 친자감정의 원리는 대립유전자를 부모로부터 반반씩 물려받는다는 멘델의 유전양식을 따르고 있으며, 한우에서는 유전적 다양성 분석을 통하여 친자 여부를 감정하는 혈액단백다형(18)과 microsatellite DNA typing(20)의 방법 등이 이용되고 있다.

본 증례의 송아지 2두는 microsatellite marker 22종에 대한 각 개체의 유전자형에서 2개 유전자중 1개 이상의 유전자는 어미 소와 동일한 것으로 판정되었으며, 혈액단백형에 의한 친자감정에서도 어미 소에서 유래된 유전자형을 송아지에서 각각 보유하고 있음으로서 친자로 확인이 가능하였다. 따라서 본 증례에서 유전적다형 분석에 의한 친자감정 기법이 가축에서의 중복임신의 확인에 활용될 수 있음을 보여 준다.

결 론

전북 임실군 소재 한우농가에서 사육중인 한우 1두에서 96일간격으로 수송아지와 암송아지를 분만하여 중복임신에 의한 쌍태 분만으로 추정되어 어미소와 송아지의 친자감정을 실시하였다. 어미 소와 송아지 2두의 혈액에 대한 microsatellite marker 분석과 혈액단백다형의 검색을 통하여 어미 소로부터 유래된 유전자형을 송아지 2두가 각각 보유하고 있었으므로 친자로 확인되어, 본 증례가 중복임신이었음을 증명할 수 있었다.

감사의 글

본 증례보고를 발표할 수 있도록 중복임신 농가의 정보를 제공해 주신 전주 MBC 보도국 박찬익 기자님께 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. Arthur GH, Noakes DE, Pearson H. Anomalies of development of the conceptus-teratology. In: Veterinary reproduction and obstetrics. 6th ed. London: Bailliere Tindall. 1989: 106-126.
2. Barnett SA, Munro KM. Superfoetation of mice. Nature 1970; 227(5265): 1343-1344.
3. Dalrymple DBH, Jenkins D. A probable case of superfetation in the bovine. Cornell Vet 1951; 41: 340-341.
4. Donoho HR, Rickard HE. The occurrence of estrus during pregnancy in several Hostein herds. J Dairy Sci 1955; 38: 602.
5. Erb RE, Morrison RA. Estrus after conception in a herd of Holstein Friesian cattle. J Dairy Sci 1958; 41: 267-274.
6. Gee CD. A case of superfoetation in the cow. Aust Vet J 1971; 47: 179.
7. Gilson WD, Ludwick TM, Rader ER. Characterization of estrus during pregnancy in Holstein cattle. J Dairy Sci 1973; 56: 640.
8. Hall WH. Bovine superfetation by natural conception secondary to an embryo transfer pregnancy. Cornell Vet 1987; 77: 282-283.
9. Harrison A, Valenzuela A, Gardiner J, Sargent M, Chessex P. Superfetation as a cause of growth discordance in a multiple pregnancy. J Pediatr 2005; 147: 254-255.
10. Hinrichs K, Watson ED. Clinical report: Recovery of a degenerating 14-day embryo in the uterine flush of a mare 7 days after ovulation. Theriogenology 1988; 30: 349-353.
11. Hoogeweg JH, Folkers ER Jr. Superfetation in a cat. J Am Vet Med Assoc 1970; 156: 73-75.
12. Kobayashi F, Sagawa N, Konishi I, Tsuruta Y, Fujiwara H, Mori T. Spontaneous conception and intrauterine pregnancy in a symptomatic missed abortion of ectopic pregnancy conceived in the previous cycle. Human Reprod 1996; 11: 1347-1349.
13. Larivee JM. Superfetation in a sow. Can Vet J 1972; 13: 242-243.
14. Nottle FK. Superfoetation in a sow and cow. Aust Vet J 1976; 52: 298.
15. Roberts SJ. Physiology of the gestation period. In: Veterinary obstetric and genital diseases (Theriogenology), 3rd ed. Michigan: Edwards Brothers, Inc. 1986: 93-122.
16. Scanlon PF. An apparent case of superfoetation in a ewe. Aust Vet J 1972; 48: 74.
17. Scrimgeour JB, Baker TG. A possible case of superfetation in man. J Reprod Fertil 1974; 36: 69-73.
18. 신형두, 신인익, 양일석, 권종국. 한우(Bos taurus coreanae)의 혈액단백다형에 관한 연구. 한국축산학회지 1993; 35: 191-203.
19. 장윤석, 남상익. 과수정에 의한 쌍태라고 생각되는 1예 보고. 대한산부인과학회 1963; 6: 261-262.
20. 조길재, 양영진, 이길왕. 소의 친자감정을 위한 Microsatellite markers의 유전적 다양성 분석. 대한수의학회지 2004; 44: 287-292.
21. 조충호, 강병규, 최상용, 황우석, 김용준. 수의산과학. 3판. 서울: 영재교육원. 1990: 250-348.