

체세포복제수정란 이식에 의한 젖소 수란우의 유도분만

손동수 · 서국현 · 허태영 · 강석진 · 류일선 · 최선호 · 이장희 · 박성재 · 최은주* · 이호준* · 윤종택*†
농촌진흥청 축산기술연구소, *한경대학교

Induction of Parturition after Transfer of a Hanwoo-Somatic Cell Cloned Embryo in Holstein Cow

D. S. Son, G. H. Suh, T. Y. Hur, S. J. Kang, I. S. Ryu, S. H. Choi,
J. H. Lee, S. J. Park, E. J. Choi*, H. J. Lee* and J. T. Yoon*†

National Livestock Research Institute, RDA
*Hankyong National University

SUMMARY

This study was performed to produce Hanwoo-fetal fibroblast cell clone transferred to Holstein recipient. It was coming on the parturition but didn't show parturition signs until 272 days from the embryo transfer. For the induction of normal parturition, dexamethasone (20 mg) were injected with IM on 272 day and PGF_{2α} (25 mg) plus estradiol (20 mg) was injected with IM after 24hrs. Forty-eight hours after dexamethasone injection, we could find parturition signs and delivered healthy male offspring (40 kg) about 50 hrs after it's injection. However the recipient was showed retention of afterbirth.

서 론

1980년대 초부터 국내에서 이루어진 소 수정란 이식은 정 등(정 등, 1983)에 의해 처음으로 송아지를 생산하였고, 그 이후 체외수정란 유래 송아지(황 등, 1993), 수정란분할에 의한 쌍태 송아지(손 등, 1994), 할구 핵이식란 유래 복제송아지(황 등, 1995), 형질전환수정란 유래 송아지(1997, 한 등) 생산 등 많은 발전을 해왔다.

유용한 유전형질을 보유하고 있는 가축의 체세포를 복제하여 산자를 대량 생산할 수 있는 계기를 만든 것은 영국 Roslin연구소의 Wilmut 등(1997)에 의한 체세포 복제양 Dolly가 태어남에 따라 수정란의 복제기술은 성숙 생명체의 복제로 방향이 전환되었다. 소에서 체세포복제송아지의 생

산은 1998년 일본에서 Tsunoda 등에 의해 세계 최초로 성공하였고(Kato 등, 1999), 국내에서는 1999년 황 등에 의해 최초로 Holstein에서 자궁상피세포 유래 복제송아지가 출산되었다(Hwang 등, 1999).

수정란이식으로 임신된 수란우로부터 안전하게 송아지를 분만하고 수란우와 송아지의 생존을 위해 분만에 도달할 때까지의 경과를 정확하게 파악하는 것이 중요하다. 따라서 분만 예정일 약 2주전부터는 수란우를 개별적으로 분만실에 수용하고, 유방의 종대, 식욕의 유무, 분변의 상태, 좌골인대 이완, 자궁경관 및 질의 이완 상태, 질 점액의性状, 태아의 체위 등에 대한 분만징후의 변화를 자세히 관찰하는 것이 필요하다.

金山 등(2000)은 체세포 복제 수란우의 분만징

* 본 연구는 2001년도 농림기술연구개발과제의 첨단기술개발 사업비 지원에 의해서 수행되었음.

† Correspondence: Tel: 031-670-5094, E-mail: jtyoon@hnu.hankyung.ac.kr

후는 인공수정과 일반적인 수정란이식에 의한 수란우와 다르고, 분만 예정일이 가까와도 충분한 유방의 부종이 없는 소가 많이 관찰되었다고 하였다. 또한 체세포 복제송아지는 사산과 분만후 폐사율이 높기 때문에 체세포 복제소를 임신하고 있는 소에 대하여는 일반적인 임신우보다 한층더 신중하게 대응해야 한다. 체세포 복제송아지의 사산과 분만후 폐사율이 높은 원인은 거대태아에 의한 난산, 송아지의 호흡기능장애, 호흡곤란, 분만직후 폐사 등에 의한 것으로 알려져 있다(Suzuki, 2000). 거대 송아지의 분만에 대하여는 체외발생 배양, 수정란 조작 등과 정확한 원인이 밝혀지지 않은 부분도 있지만 분만직전에 따른 임신말기 태아의 급진적인 성장도 원인이 될 수 있다.

따라서 체세포복제 수정란을 이식한 수란우가 분만예정일이 도래하였으나 분만징후가 없었기에 송아지의 생존율을 높이기 위해 분만유도를 실시하였는 바 그 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

체세포복제 수정란은 한경대학교에서 조작·배양한 한우 수소의 태아섬유아세포 유래 복제수정란으로 핵이식후 배양 7일째의 수정란이었다. 발정이 동기화된 미경산 Holstein 수란우의 발정 7일째(2002년 6월 7일)에 황체가 위치하고 있는 자궁각에 체세포복제수정란을 비외과적으로 이식하였고, 수정란 이식후 2개월에 직장검사로 임신을 확인하였다. 분만전 수란우의 체중은 약 430 kg이었으며, 분만예정일 2주일전(이식후 273일)부터 개체관리와 분만징후를 관찰하였으나 분만징후가 없었다. 분만예정일 1주일전 직장검사에 의해 태아의 생존과 크기를 검사한 결과 태아는 생존하고 있었으나 일반적인 한우보다 거대태아로 확인되었다. 따라서 金山 등(2000)의 방법에 따라 분만예정 2일전부터 Fig. 1과 같이 분만예정 시각을 설정하고 분만유도를 시도하였다. 분만유도 1일째에 부신피질호르몬제인 dexamethasone 21-disodium phosphate(덱소론-20, 삼양화학) 20 mg을 근육주사하고 24시간후 PGF_{2α} 제제인 dinoprost tromethamine(Lutalyse, Pharmacia & Upjohn, Belgium) 25 mg과

난포호르몬제제인 estradiol benzoate(에스론, 삼양화학) 20 mg을 각각 근육주사한 다음 분만징후를 수시로 관찰하였다.

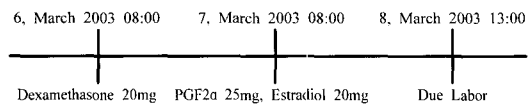


Fig. 1. Program for induction of parturition to a recipient cow transferred somatic cell cloning embryo.

결과 및 고찰

분만유도 2일째까지는 분만징후가 없었으나 dexamethason 주사후 48시간째에 수란우의 유방은 종대되고 유즙의 누출 등 분만 징후를 관찰할 수 있었으며, 약 30분후 제 1파수와 그후 30분에 제 2파수가 일어났다.

외음부 주변을 10% 포비돈-요오드(베타딘, 한국파마)로 소독하고, 질을 통한 태아의 크기, 태위, 태세 및 산도의 이완 등을 검사한 결과 정상적인 견인에 의한 분만이 가능함을 판단하고 제 2파수가 발견된 후 30분후에 견인을 시도하였으나 외음부가 협소하여 회음절개술을 실시하였다. 견인은 10% 포비돈-요오드로 소독한 나일론 밧줄 1개로 산도내에 있는 태아의 귀와 머리 뒤편으로 돌리고, 양쪽 앞다리 제1지골 부분 발목에 각각 묶은 후 서서히 견인하였다. 체세포태아가 만출된 시간은 제 1파수가 일어나고 약 2시간후 였으며, 흡인된 양수를 배출하기 위해 약 10분간 후지를 묶어 우사 기둥에 거꾸로 매달았고, 약 20 ℓ의 찬물을 송아지에 끼얹었다. 분만된 송아지는 체중 40 kg의 수송아지였으며, 호흡이 미약하여 산소 호흡기를 부착하였으며, 호흡중추자극을 위해 doxapram HCL(타프람주, 하나제약)을 허바닥에 점주와 대사촉진제인 Catosal(바이엘코리아) 10 ml, Effotil(BASF Labiana, Spain) 5 ml, Selevit(Fatro S.P.A, Italy) 10 ml를 각각 근육주사하였다. 수란우는 분만 스트레스 감소 및 산욕성 질병예방을 위해 분만직후 Catosal 30 ml와 0.9% 생리식염수(제일제당제약) 2,000 ml를 정맥주사하고, Monzal(BASF Labiana, Spain) 10 ml, Selevit 20 ml, ID-1(Immuno-Dyna-

mics, Inc., U.S.A.) 30 ml을 근육주사하였으며, 절개한 외음부를 봉합하였다. 분만후 1시간 경과하여 수란우로부터 착유하여 초유를 송아지에게 포유시켰으나 흡입이 미약하였으며 2시간 경과후부터 정상적으로 포유하였다. 한편 분만후 24시간까지 후산은 완전하게 배출되지 않았다.

분만된 체세포복제 수정란 유래 송아지는 현재 생후 45일로 자연포유에 의해 정상적으로 성장하고 있다.

Choi 등(2002)은 젖소 귀세포 유래 체세포복제 수정란을 modified synthetic oviduct fluid medium(mSOF)에서 배양하여 이식한 수란우 6두가 임신 268~296일(평균 282 ± 12 일)에 체중 42~55 kg(평균 47 ± 5 kg)의 송아지를 모두 자연분만으로 생산하였으며, 그중 1두의 송아지만 분만후 2일에 대동맥 종대, 심실벽의 결함, 간 비대 등으로 폐사하였다고 했다.

Kishi 등(2000)은 젖소 초유의 유선상피세포 유래 체세포복제수정란과 젖소와 화우의 섬유아세포 유래 체세포복제 수정란을 각각 31두와 37두의 수란우에 이식하여 4두와 6두가 임신되었으나 그 중 각각 2두의 수란우가 분만하였다고 했다. 유선상피세포 유래 체세포복제수정란 이식으로 분만한 젖소 송아지 1두는 임신 279일에 제왕절개수술에 의해 태어났으며 체중은 44 kg이었고, 다른 1두의 송아지는 prostaglandin F_{2α}와 dexamethasone 투여에 의하여 임신 280일에 분만유도로 태어났으며 체중은 44 kg이었다고 했다. 섬유아세포 유래 체세포복제수정란 이식으로 임신된 수란우 2두는 임신 285일에 그 중 1두는 제왕절개수술로 42 kg의 젖소 송아지를 분만하였고, 나머지 1두는 분만유도에 의해 44 kg의 송아지를 분만하였으나 분만후 6시간만에 제대동맥의 내출혈에 의해 송아지가 폐사하였다. 한편 분만한 젖소 송아지 2두는 분만후 빈혈 때문에 수혈을 받았다고 하였다.

Shiga 등(1999)은 일본 흑모화우 수소의 근육세포 유래 체세포복제 수정란을 20두의 수란우에 이식하여 8두가 임신되었으며, 그 중 4두가 임신 260~303일에 제왕절개수술 등으로 체중 41~43.7 kg의 송아지를 분만하였으나 송아지 1두는 제왕절개수술로 분만하여 30분후 폐사하였고, 송아지 1두

는 제왕절개수술로 분만하여 3일후 폐사하였으며, 송아지 1두는 자연분만후 기립불능상태로 있다가 18일째 도태하였고, 나머지 1두만 제왕절개수술에 의한 분만후 생존해 있다고 하였다.

이상의 결과로 미루어 볼때 체세포복제 수정란 이식으로 임신된 수란우가 분만에정일 직전까지 분만징후가 없을 경우에는 거대태아에 의한 난산을 감소를 위해 분만에정일에 맞추어 분만유도를 실시하고, 분만한 송아지에 대하여는 산소호흡기 부착 등이 필요할 것으로 사료된다.

적 요

한우 태아 섬유아세포 유래 체세포복제수정란 이식으로 임신된 수란우가 분만에정일이 도래하였으나 분만징후가 없어 수정란이식 후 272일째에 dexamethasone 20 mg을 근육주사하고 24시간후 PGF_{2α} 25 mg과 estradiol 20 mg을 근육주사하여 분만유도를 실시하였다. dexamethasone 투여후 48시간만 분만징후를 나타내었으며, dexamethasone 투여후 50시간째에 40 kg의 수송아지를 견인에 의해 정상적으로 분만시켰다. 그러나 수란우의 후산은 정상적으로 배출되지 않았다.

참고문헌

- Choi YH, Lee BC, Lim JM, Kang SK and Hwang WS. 2002. Optimization of culture medium for cloned bovine embryos and its influence on pregnancy and delivery outcome. *Theriogenology*, 58:1187-1197.
- Hwang WS, Shin TY, Park JI, Roh SH and Lee BC. 1999. Production of Holstein and Korean native cattle cloned by somatic cell nuclear transfer (SNT) in Korea. In: *Proceedings of the Transgenic Animal Research Conference*, abstract.
- Kishi M, Itagaki Y, Takakura R, Imamura M, Sudo T, Yoshinari M, Tanimoto M, Yasue H and Kashima N. 2000. Nuclear transfer in cattle using colostrum-derived mammary gland epi-

- thelial cells and ear-derived fibroblast cells. *Theriogenology*, 54:675-684.
- Shiga K, Fujita T, Hirose K, Sasae Y and Nagai T. 1999. Production of calves by transfer of nuclei from cultured somatic cells obtained from Japanese black bulls. *Theriogenology*, 52:527-535.
- Suzuki T. 2000. Nuclear transfer of bovine in Japan. *한국수정란이식학회지*, 15(2):5-20(부록).
- Wilmot I, Schnieke AE, McWhir J, Kind AJ and Campbell KH. 1997. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature*, 385(6619):810-813.
- Kato Y, Tani T, Sotomaru Y, Kurokawa K, Kato J, Doguchi H, Yasue H and Tsunoda Y. 1998. Eight calves cloned from somatic cells of a single adult. *Science*, 282(5396):2095-2098.
- 金山佳奈子, 後藤裕司, 小林修司, 遠山牧人, 新納正之, 橋谷田豊, 今井敬, 米内美晴, 小島敏之. 2000. クロ-ン妊娠牛の周産期管理技術 3. 分娩期の管理. 第 15回 東日本家畜受精卵移植技術研究會大會.
- 손동수, 김일화, 이동원, 최창열, 윤상보, 류일선, 서국현, 이광원, 유충현, 조윤연, 정상원, 최상용. 1994. 수정란 분할에 의한 일란성 한우 쌍둥이 송아지 생산. *한국수정란이식학회 학술발표회 포스터발표*, P-1.
- 정길생, 윤종삼, 이훈택, 유승환, 김정익. 1983. 수정란이식에 의한 우의 쌍태유기에 관한 연구 III. 비외과적으로 이식한 신선 및 동결수정란의 분만성적. *한국축산학회지*, 25:424-429.
- 한용만, 김선정, 유대열, 박정선, 이철상, 정상균, 박인영, 손보화, 최영희, 남명수, 이훈택, 정병현, 정길생, 고대환, 김영훈, 양철성, 유육준, 이경광. 1996. 락토페린을 이용한 우유에서 생산하는 형질전환 젖소의 개발에 관한 연구. *한국가축번식학회지*, 20:371-378.
- 황우석, 조충호, 이병천, 신태영, 노상호, 김성기, 전병준, 이강남, 신언익, 임홍순. 1993. 한우정액 유래 체외수정 송아지 생산에 관한 연구. *한국수정란이식학회지*, 8:143-149.
- 황우석, 조충호, 한재용, 이병천, 신태영, 이원유, 송길영, 민순기, 김영찬, 구자홍, 이윤수, 민중식, 김기영, 김준선, 장중명, 임홍순, 이광원, 이수현, 김용길, 이후식. 1995. 소 핵이식 수정란에 의한 산자 생산에 관한 연구. *한국수정란이식학회지*, 10:83-90.

(접수일 2003. 4. 1/ 채택일: 2003. 4. 18)