

Ovum Pick-Up 기술을 이용한 난자 채취 시 회수압력에 따른 엘크 암사슴의 수정란 생산 효율조사

이은도, 김동교, 최봉환, 김관우*
농촌진흥청 국립축산과학원 가축유전자원센터

Efficiency of embryo production in Elk by oocyte recovery pressure using ultrasound-guided ovum pick-up technique

Eun-Do Lee, Dong-Kyo Kim, Bong-Hwan Choi, Kwan-Woo Kim*
Animal Genetic Resources Research Center, National Institute of Animal Science, RDA

요약 본 연구는 엘크 암사슴에서 초음파 유래 OPU(Ovum Pick-Up) 기술을 이용하여 난자를 채취할 시 회수압력을 다르게 하여 회수효율과 수정란발달 효율을 비교하기 위하여 실시하였다. 난자는 초음파 진단기를 이용하여 사슴 난소의 난포를 흡입하였고, 회수 시 압력은 50-80 mmHg 범위 내에서 회수하였다. 회수 압력은 4그룹으로(50 mmHg, 60 mmHg, 70 mmHg, 80 mmHg) 나누어 회수율과 수정율 그리고 배반포 발달율을 조사하였다. 회수율은 66.03%, 57.22%, 7 62.33%, 81.17%의 회수율을 보였다. A+B의 난자 등급 비율은 55.71%, 36.31%로 50 mmHg 그룹과 60 mmHg 그룹에서 유의적으로 높은 결과를 보였다. 수정율에 있어서는 81.25%, 66.67%로 50 mmHg 그룹과 60 mmHg 그룹에서 유의적으로 높은 결과를 보였다. 배반포 발달율은 36.94%, 41.67%, 16.67%, 10.37%의 발달율을 보였다. 50 mmHg 그룹과 60 mmHg 그룹에서 유의적으로 높은 결과를 보였다. 본 연구 결과로, 난자 채취 시 회수압력이 높을수록 회수율이 높지만 난자등급, 수정율 및 배반포 발달율에 있어서는 효율이 떨어지는 결과를 확인하였다. 추가적인 연구를 통해 엘크 체외수정란 이식을 성공시키기 위한 난자 회수조건 최적화 및 체외배양 효율을 향상시키는 연구를 진행해야 한다.

Abstract This study was undertaken to determine the oocyte recovery and embryo development efficiency in elk using an ultrasonic-derived OPU (Ovum Pick-Up) technology. The oocytes were collected after retrieving the follicles of the elk ovary using an ultrasonic diagnostic device under recovery pressures ranging from 50 to 80 mmHg. Based on the recovery pressure used, the oocytes were segregated into four groups: 50 mmHg, 60 mmHg, 70 mmHg, and 80 mmHg. The influence of increasing recovery pressure was evaluated on parameters such as recovery rate, fertilization rate, and embryonic development. We obtained a recovery rate of 66.03%, 57.22%, 62.33%, and 81.17% for the 50, 60, 70, and 80 mmHg groups, respectively. The ratios of grade A and B oocytes retrieved were significantly higher in the 50 mmHg and 60 mmHg groups (55.71% and 36.31%, respectively). The 50 and 60 mmHg groups also showed significantly higher fertilization rate percentages of 81.25% and 66.67%, respectively and significantly higher blastocyst development rates of 36.94% and 41.67%, respectively. Our results indicate that although a higher recovery pressure improved the recovery rate, it negatively influenced the oocyte grade, fertilization rate, and blastocyst development rate. Future research should focus on optimizing the recovery conditions and *in vitro* culture efficiency for successful Elk embryo transplantation.

Keywords : Elk, *In Vitro* Culture, Ovum Pick-Up, Embryo, Recovery Pressure

본 논문은 농촌진흥청 고유연구사업(PJ01492802)지원에 의해 수행되었다.

*Corresponding Author : Kwan-Woo Kim(National Institute of Animal Science, RDA)
email: bgring@korea.kr

Received July 8, 2022

Revised July 27, 2022

Accepted August 3, 2022

Published August 31, 2022

1. 서론

건강에 대한 관심과 소득수준이 높아지면서 녹용이 주목받고 있다. 우리나라는 예로부터 녹용을 약재로 이용하기 위해 사슴을 사육했다. 현재 국내에서 사육되고 있는 사슴 품종은 주로 엘크(Elk deer, *C. canadensis*), 꽃사슴(Sika deer, *Cervus nippon*) 및 붉은사슴(Red deer, *C. elaphus*)이 대표적이다. 엘크 품종은 대형종으로 분류되며, 타 품종에 비해 녹용생산성이 우수한 장점이 있다. 1970년대 북미로부터 수입되어 사육을 시작하였고, 국내 전체 사슴 사육 두수 중 약 51% 정도의 비중을 차지하고 있으며 엘크 사슴 사육농가수가 점점 증가하는 추세에 있다. 그러나 전체적인 국내 사슴 산업은 생산기반력이 약하고 가격경쟁력이 떨어지며, 사육농가의 고령화 및 영세화 등으로 인해 사육 두수가 점차 감소하는 추세이다. 게다가 수입산 녹용이 시장을 잠식하여 녹용 자급률은 약 20% 내외에 불과한 상황이고, 녹용 생산 및 유통 관련 제도가 미비해 사슴산업이 점점 쇠퇴하고 있는 추세에 있다[1].

사슴은 번식 활동을 가을철에 하는 대표적인 계절번식 동물으로 일장변화에 민감하게 반응한다. 일조시간 및 기온 변화에 따른 호르몬 변화로 사료섭취량, 녹용의 성장 및 생산성에 영향을 미친다[2,3]. 이러한 특수성 때문에 현재 대부분 사슴 관련 연구는 사슴 사양관리기술, 녹용의 생리활성 및 생산성 향상 관련 연구가 이뤄진 바 있다[4-8]. 하지만 체계적인 개량과 번식관리 기술 등에 대한 연구는 부족하고 제한이 있다[9]. 국내에서 사슴의 번식은 주로 자연교배를 이용하여 자록을 생산하고, 활용되는 종록이 한정되어 있어 근친도가 높다. 이를 극복하기 위해 우수한 종록의 동결정액을 이용한 인공수정기술을 통해 농가의 이윤을 높여 수컷의 녹용생산성을 높이고 자록 생산에만 이용되며 활용성이 낮은 암컷의 경우 체외수정란 기술을 이용하여 암컷의 활용성을 높이는 방법이 중요하다.

해외에서는 동결정액 제조, 인공수정 및 수정란 이식 등 사슴 번식기술 관련 연구가 보고되어 왔으나[10,11], 국내에서는 사슴 번식기술에 관한 연구가 저조한 실정이다. 체외수정란 생산 기술과 OPU(Ovum Pick-Up) 기술의 경우 타 축종에서 이용되고 있다. 유전능력이 우수한 공란축의 생체 내에서 난자를 회수하여, 체외에서 많은 배반포를 생산하고 이식하여 개량속도를 높이는 기술이다[12-14]. 해외에서는 OPU 기술을 사슴에서 이용되어져 왔다[15-17]. 우리의 이전 연구에서 국내에서도

OPU 기술이 엘크 사슴에서 활용될 수 있다는 것을 확인하였다[18]. 타 축종에서 OPU 기술을 이용할 시 공란축의 난소 상태, 채란 계절, 채란에 이용되는 바늘의 크기, 채란 압력 등 회수 조건을 다르게 하여 회수율을 높이는 연구들이 있다[19,20]. 이런 연구들을 엘크 사슴에서 활용할 수 있는지를 확인하기 위해 실험은 진행하였다.

따라서, 본 연구에서는 엘크 암사슴의 활용성 증가 및 개량 속도 가속화를 위해 초음파 유래 OPU(Ovum Pick-Up) 기술을 이용할 시 회수압력에 따른 난자의 회수효율 및 체외수정란 발달 효율을 조사하기 위하여 진행하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 공시 가축

본 실험은 농촌진흥청 국립축산과학원의 동물실험계획서에 의거하여 동물보호법 및 동물실험윤리위원회에서 승인(승인번호: 2020-426)된 실험방법으로 시행되었다. 국립축산과학원이 정한 표준사양법에 따라, 가축유전자원센터에서 사육중인 엘크(*Cervus canadensis*) 암사슴으로 총 6두의 경산축을 공시하였다.

2.2 Ovum pick-up(OPU)

난자 채취는, 대상축을 보정틀에 고정시킨 후, 리도카인으로 국소마취를 진행하였다. 그리고 70% 알코올로 외음부를 세척 후 초음파 진단기(4Vet Slim, Draminski, Poland)를 이용하여 난소상태를 관찰하였다. 그리고 vacuum pump(WTA, USA)에서 압력을 4단계(50, 60, 70, 80 mmHg)로 그룹을 나누어 설정한 후 연결된 OPU용 needle(20 G)을 이용하여 난포액을 50 ml 플라스틱 튜브에 흡입하였다. 난포 회수에 이용한 기본 세척액으로 TCM-199에 10 mM HEPES, 0.013 mM kanamycin 그리고 10 IU/ml heparin을 첨가하여 이용하였다. 회수한 난자는 10 mM HEPES, 0.013 mM kanamycin이 첨가된 TCM-199로 3회 세척 후 회수율 및 난자 등급을 각각 조사하였다[17,21].

2.3 체외성숙(*In vitro* maturation)

회수된 난자의 세포질 및 난구세포의 유무에 따라 총 4단계 등급을 나누어 평가하였다. A등급은 난자를 둘러싼 난구세포의 층이 2층 또는 그 이상인 경우, B등급은

난구세포의 층이 적어도 한 층인 경우, C등급은 난구세포가 없는 경우, D등급은 난구세포가 없고 난자의 세포질이 불량한 경우로 평가하였다. 그리고 체외성숙은 D 등급을 제외한 A 등급에서 C 등급만을 이용하여 배양하였다.

체외성숙은 TCM-199(Gibco)를 기본 배양액으로 하였으며, 10 mM HEPES, 0.013 mM kanamycin, 0.2 mM sodium pyruvate, 1 µg/ml Epiermal Growth Factor(EGF), 1 µg/ml Follicular Stimulating Hormone (FSH, Folltropin-V, Bioniche Co., Canada) 그리고 10% FBS(Gibco, Korea)를 첨가한 후 38.5°C, 5% CO₂ 조건에서 24시간 배양하였다[22].

2.4 체외수정(*In vitro* fertilization)

난자의 체외수정에 이용된 동결정액은 국립축산과학원 가축유전자원센터에서 생산하였다. 동결정액은 37.5~38.0°C에서 1분간 용해 후 6분간 280~300×g의 속도로 2회 원심분리를 실시하였다. 그 후, 상층액을 제거하고, 체외수정용 배양액을 섞어 최종 정액의 농도를 2×10⁶ sperm/ml로 설정했다. 체외수정용 배양액으로는 114 mM NaCl, 3.1 mM KCl, 25 mM NaHCO₃, 0.4 mM NaH₂PO₄·2H₂O, 15 mM sodium lactate, 2 mM CaCl₂·2H₂O, 0.5 mM MgCl₂·6H₂O, 0.5 mM sodium pyruvate, 8 mg/ml bovine serum albumin(BSA) 그리고 0.75 µg/ml kanamycin을 사용하였으며, 38.5°C, 5% CO₂ 조건에서 6~8시간동안 수정을 실시하였다[23].

2.5 체외배양(*In vitro* culture)

6~8시간의 체외수정 후, 피펫팅을 통하여 남아 있는 난구세포와 정자들을 제거한 후 mSOF 배지에 옮겨 체외배양 하였다. 24시간 후 수정을 확인을 위해 난자의 세포분화 여부를 조사하였다. mSOF 배양액 조성은 103 mM NaCl, 7.2 mM KCl, 1.2 mM KH₂PO₄, 5.6 mM Na-lactate, 0.13 mM kanamycin, 25 mM NaHCO₃, 0.3 mM Na-pyruvate, 0.5 mM MgCl₂·6H₂O, 1.7 mM CaCl₂·2H₂O, 1.5 mM D-glucose, 2% essential amino acids, 1% non-essential amino acids, 1 mM L-gultamin, 10 ng/ml EGF로 구성되어 있다. 3일 동안 배양 후 4일째 되는날 새로운 미디어로 교체해, 총 7일 동안 38.5°C, 5% CO₂, 5% O₂ 조건에서 배양하였다[15,24].

2.6 통계분석

본 연구에서의 모든 통계처리는 SPSS 22.0(Statistical Package for Social Science, SPSS Inc, USA)을 이용하였다. 실험 결과는 평균±표준오차(SEM)로 나타내었다. 실험결과의 통계학적 분석을 위하여 One-way ANOVA 분석을 통해 유의성을 검증하였다. 본 연구의 결과들에 대한 통계적 유의차는 P<0.05인 것만 표기하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 회수 압력에 따른 난자 회수율 조사

난자를 회수하기 위해 총 6마리의 엘크 암사슴에서 OPU 기술을 이용하였고, 그 중 회수 압력을 4개의 그룹으로 나누어 실험을 진행하여 난자 회수율을 조사하였다. 50 mmHg 그룹에서는 76개의 난포를 흡입하여 50개의 난자를 회수하여 66.03%의 회수율을 보였다. 60 mmHg 그룹에서는 78개의 난포를 흡입하여 44개의 난자를 회수하여 57.22%의 회수율을 보였다. 70 mmHg 그룹에서는 52개의 난포를 흡입하여 32개의 난자를 회수하여 62.33%의 회수율을 보였다. 80 mmHg 그룹에서는 74개의 난포를 흡입하여 44개의 난자를 회수하여 81.17%의 회수율을 보였고 다른 그룹에 비해 유의적인 차이를 보였다(Table 1).

Table 1. Oocyte recovery rate by ovum pick-up.

Pressure (mmHg)	No. Follicles aspirated	No. Collected Oocyte	Recovery rate (%)
50	76	50	66.03 ± 3.31 ^a
60	78	44	57.22 ± 5.80 ^a
70	52	32	62.33 ± 4.73 ^a
80	74	62	81.17 ± 3.13 ^b

a-b Means in a column without common superscripts are significantly different (P < 0.05)

한우의 경우 40 mmHg, 80 mmHg, 120 mmHg 3 그룹으로 나누어 진행하였으나 회수율이 49%, 47%, 45%로 유의차가 없다고 보고되었고[19], 다른 연구에서도 채란압력에 따라 회수율에서 차이가 있다고 보고되었[19,20].

따라서, OPU 기술을 이용해 회수된 난자의 회수율은

채란 시 회수압력에 따라 영향을 미치는 것으로 여겨진다. 사슴에서는 초음파 유래 OPU에 대한 연구가 진행되지 않았고, 축종에 따라 결과가 차이는 것으로 사료된다.

3.2 회수 압력에 따른 난자의 등급조사

난자를 세포질의 상태와 난구세포의 유무를 기준으로 총 4등급으로 분류하였고, A등급, B등급, C등급 그리고 D등급으로 평가하였다. 체외 성숙에 이용된 난자는 A~C등급의 난자를 이용하였다.

각 그룹간 난자의 등급은 50 mmHg 그룹에서는 50 개 난자 중 A등급 20개(40.0%), B등급 8개(16.0%), C등급 4개(8.00%), 그리고 D등급 18개(36.0%)로 나타났다. 60 mmHg 그룹에서는 44개 난자 중 A등급 14개(31.8%), B등급 2개(4.54%), C등급 4개(9.09%), 그리고 D등급 24개(54.5%)로 나타났다. 70 mmHg 그룹에서는 32개 난자 중 A등급 4개(12.5%), B등급 4개(12.5%), C등급 12개(37.5%), 그리고 D등급 12개(37.5%)로 나타났다. 60 mmHg 그룹에서는 62개 난자 중 A등급 4개(6.45%), B등급 12개(19.3%), C등급 16개(25.8%), 그리고 D등급 30개(48.4%)로 나타났다(Table 2).

Table 2. Oocyte quality by ovum pick-up.

Pressure (mmHg)	No. Collected oocyte	Oocyte quality [No. (%)]			
		A	B	C	D
50	50	20 (40.0)	8 (16.0)	4 (8.00)	18 (36.0)
60	44	14 (31.8)	2 (4.54)	4 (9.09)	24 (54.5)
70	32	4 (12.5)	4 (12.5)	12 (37.5)	12 (37.5)
80	62	4 (6.45)	12 (19.3)	16 (25.8)	30 (48.4)

또한 각 그룹간의 사용가능한 난자의 비율, A등급과 B등급 비율의 합계를 각각 비교분석하였다(Fig. 1). 50 mmHg 그룹에서는 A등급과 B등급의 비율 합은 $55.71 \pm 2.97\%$ 로 그룹 간 가장 높은 유의적인 결과를 보였다. 60 mmHg 그룹에서는 A등급과 B등급의 비율 합은 $36.31 \pm 4.17\%$ 로 그룹 간 두번째로 높은 유의적인 결과를 보였다. 70 mmHg 그룹에서는 A등급과 B등급의 비율 합은 $24.44 \pm 4.44\%$ 의 결과를 보였다. 80 mmHg 그룹에서는 A등급과 B등급의 비율 합은 $26.47 \pm 3.85\%$ 로 70 mmHg 그룹과 유의적인 차이를 보이지 않았다.

본 실험에서 압력이 증가할수록 난자의 등급이 저하되는 것을 확인할 수 있었다. 소에서 난포 흡입 시 회수압력 강할수록 난구세포에 상처를 입히거나 나화되어 채란되는 수가 다소 증가하는 경향을 보인 연구가 보고된 바 있다[19,20,25-27].

따라서, OPU 기술을 이용한 난자 회수 시 회수압력에 높을수록, 회수율은 높아지나 난자의 품질은 저하되는 경향을 보였다.

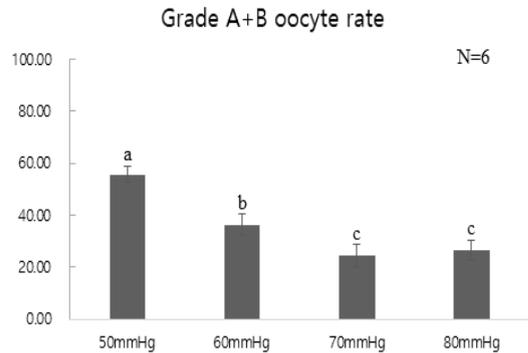


Fig. 1. Morphological oocyte grade(A+B) rate of oocyte recovered by ovum pick-up(a-c Means in a column without common superscripts are significantly different. $P < 0.05$).

3.3 회수 압력에 따른 수정란 발달율 조사

초음파 유래 OPU 기술을 이용해 채란 시 회수 압력에 따른 엘크 사슴 수정란의 수정율과 배 발달율을 조사 하였다. 50 mmHg 그룹에서는 총 32개의 난자가 사용되었고, 수정된 난자는 26개로 81.25%의 수정율을 보였다. 그리고, 배반포는 총 12개로 36.94%의 발달율을 보였다. 60 mmHg 그룹에서는 총 24개의 난자가 사용되었고, 수정된 난자는 16개로 66.67%의 수정율을 보였다. 그리고, 배반포는 총 10개로 41.67%의 발달율을 보였다. 70 mmHg 그룹에서는 총 20개의 난자가 사용되었고, 수정된 난자는 8개로 40.0%의 수정율을 보였다. 그리고, 배반포는 총 4개로 16.67%의 발달율을 보였다. 80 mmHg 그룹에서는 총 32개의 난자가 사용되었고, 수정된 난자는 16개로 50.00%의 수정율을 보였다. 그리고, 배반포는 총 4개로 10.37%의 발달율을 보였다. 50 mmHg 그룹과 60 mmHg 그룹에서 수정율과 배반포 발달율이 다른 그룹에 비해 유의적으로 높은 결과를 보였다(Table 3).

체외 배양 과정 중 난자의 체외성숙 시 난구세포가 난자의 대사 경로에서 신호전달에 중요한 역할을 하는 것

으로 알려져 있다[28-30]. 따라서 사용가능한 난자의 개수는 많을수록 체외배양에 이용되는 난자가 많아지므로 체외배양에 있어서 사용 가능한 난자의 개수 및 비율은 매우 중요하다. 회수압력이 높을수록 회수율은 높아지지만 난자의 등급과 사용가능한 난자의 개수는 점차 줄어드는 것을 확인하였다. 체외 배양 과정의 시작지점인 회수과정에서 난자의 등급에 영향을 받아 배반포 발달에 있어서 회수압력은 중요하다고 사료된다.

Table 3. Status of embryos development by ovum pick-up

Pressure (mmHg)	No. of Oocytes	No. of embryos developed to (%)	
		2-cell	Blastocyst
50	32	26 (81.25 ± 7.64 ^a)	12 (36.94 ± 3.31 ^a)
60	24	16 (66.67 ± 8.33 ^a)	10 (41.67 ± 5.80 ^a)
70	20	8 (40.00 ± 8.33 ^b)	4 (16.67 ± 4.73 ^b)
80	32	16 (50.00 ± 4.55 ^b)	4 (10.37 ± 3.13 ^b)

a-b Means in a column without common superscripts are significantly different (*P* < 0.05)

4. 결론

본 연구는 사슴의 개량 속도 증진을 위해 초음파 유래 OPU 기술을 이용한 엘크 사슴 난자를 채취 시 회수압력을 다르게 하여 난자의 회수율, 난자의 등급 그리고 수정란의 배반포 발달율을 비교 분석하였다. 그 결과, 압력이 높을수록 회수율은 높지만 난자의 등급이 떨어지고 수정율과 배반포 발달율이 떨어진다는 결과를 얻었다. 더 나아가 회수 효율과 배반포 발달율을 높일 수 있는 최적의 회수 압력(50 ~ 60 mmHg)을 설정할 수 있었다. 더 나아가 특수한 번식특성을 가지는 엘크 사슴의 생산성과 개량속도를 높이기 위한 체외 수정란 이식 기술과 체외 수정란 생산 및 번식관련 연구에 대한 추가적인 연구가 필요하다.

References

[1] Ministry of Agriculture Food and Rural Affairs, "Other livestock statistics", p. 91, *MAFRA*, 2020, pp. 20-23.
 [2] J. C. Haigh, R. J. Hudson, "Farming wapiti and red

deer", Mosby-Year Book, Inc. St. Louis, Missouri. pp. 149-153. 1993.

[3] T. Masuko, Y. Ishijima "A Nutritional Study of Yeso Sika Deer (*Cervus Nippon Yesoensis*) under Farming - Review -", *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, Vol. 14, No. 5, pp. 701-709, 2001.
 DOI: <https://doi.org/10.5713/ajas.2001.701>
 [4] D. Y. Jeon, S. S. Lee, S. H. Lee, J. Lee, K. W. Kim, Y. J. Lee, S. W. Kim, Y. G. Ko, S. W. Kim, H. J. Roh, D. K. Kim, T. J. Choi, "Estimates of growth curve of body weight and absolute growth rate for male Elk", *Annals of Animal Resource Sciences*, Vol. 30, No. 1, pp. 1-7, 2019.
 DOI: <https://doi.org/10.12718/AARS.2019.30.1.1>
 [5] D. K. Kim, S. H. Lee, J. Lee, H. J. Roh, S. S. Lee, A. R. Jang, K. W. Kim, "Analysis of Component Changes According to Early Cutting of Elk Velvet Antlers", *Journal of the Korea Academia-Industrial cooperation Society*, Vol. 22, No. 2, pp. 565-576, 2021.
 DOI: <https://doi.org/10.5762/KAIS.2021.22.2.565>
 [6] J. Lee, S. S. Lee, S. H. Lee, B. H. Choi, D. Y. Jeon, D. K. Kim, E. D. Lee, K. W. Kim, "Effects of Feeding Systems on Feed Intake, Weight Gain and Fawn Performance in Elk Doe(*Cervus canadensis*)", *Journal of The Korean Society of Grassland and Forage Science*, Vol. 41, No. 4, pp. 250-258, 2021.
 DOI: <https://doi.org/10.5333/KGFS.2021.41.4.250>
 [7] B. T. Jeon, S. H. Moon. "A review on feeding system for deer production", *Journal of integrated field science*, Vol. 3, pp. 39-44, 2006.
<http://hdl.handle.net/10097/30064>
 [8] J. Lee, S. S. Lee, S. H. Lee, C. Y. Cho, S. W. Kim, K. W. Kim, "Effect of the grazing and barn feeding system on feed intake, weight gain and velvet antler productivity in Elk(*Cervus Canadensis*)", *Journal of The Korean Society of Grassland and Forage Science*, Vol. 37, No. 4, pp. 345-349, 2017.
 DOI: <https://doi.org/10.5333/KGFS.2017.37.4.345>
 [9] T. H. Aagnes, A. S. Blix, S. D. Mathiesen, "Food intake, digestibility and rumen fermentation in reindeer fed baled timothy silage in summer and winter", *The Journal of Agricultural Science*, Vol. 127, No. 4, pp. 517-523, 1996.
 DOI: <https://doi.org/10.1017/S0021859600078746>
 [10] J. C. Haigh, A. D. Barth, P. A. Bowman, "An Evaluation of Extenders for Wapiti, *Cervus elaphus*, Semen", *The Journal of Zoo Animal Medicine*, Vol. 17, No. 4, pp. 129-132, 1986.
 DOI: <https://doi.org/10.2307/20094805>
 [11] Q. H. Gao, H. E. Wang, W. B. Zeng, H. J. Wei, C. M. Han, H. Z. Du, Z. G. Zhang, X. M. Li, "Embryo transfer and sex determination following superovulated hinds inseminated with frozen-thawed sex-sorted Y sperm or unsorted semen in Wapiti (*Cervus elaphus songaricus*)", *Animal Reproduction Science*, Vol. 126, No.3-4, pp. 245-250, 2011.

- DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.05.006>
- [12] J. S. Merton, A. P. de Roos, E. Mullaart, L. de Ruigh, L. Kaal, P. L. Vos, S. J. Dieleman, "Factors affecting oocyte quality and quantity in commercial application of embryo technologies in the cattle breeding industry", *Theriogenology*, Vol. 59, No. 2, pp. 651-674, 2003.
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(02\)01246-3](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(02)01246-3)
- [13] R. De Roover, J. M. Feugang, P. E. Bols, G. Genicot, C. Hanzen, "Effects of Ovum Pick-up Frequency and FSH Stimulation: A Retrospective Study on Seven Years of Beef Cattle In Vitro Embryo Production", *Reproduction in Domestic Animals*, Vol. 43, No. 2, pp. 239-245, 2008.
DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2007.00873.x>
- [14] R. Boni, "Ovum pick-up in cattle: a 25yr retrospective analysis", *Animal Reproduction*, Vol. 9, No. 3, pp. 362-369, 2012.
- [15] P. Comizzoli, P. Mermillod, Y. Cognie, N. Chai, X. Legendre, R. Mauge, "Successful in vitro production of embryos in the red deer(*Cervus elaphus*) and the sika deer(*Cervus nippon*)", *Theriogenology*, Vol. 55, No. 2 pp. 649-659, 2001.
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(01\)00433-2](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00433-2)
- [16] Y. Locatelli, A. Hendriks, J. C. Vallet, G. Baril, N. Duffard, N. Bon, K. Ortiz, C. Scala, M. C. Maurel, P. Mermillod, X. Legendre, "Assessment LOPU-IVF in Japanese sika deer (*Cervus nippon nippon*) and application to Vietnamese sika deer (*Cervus nippon pseudaxis*) a related subspecies threatened with extinction", *Theriogenology*, Vol. 78, No. 9, pp. 2039-2049, 2012.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.Theriogenology.2012.07.025>
- [17] D. K. Berg, G. W. Asher, "New developments reproductive technologies in deer", *Theriogenology*, Vol. 59, No. 1, pp. 189-205, 2003.
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0093-691x\(02\)01272-4](https://doi.org/10.1016/S0093-691x(02)01272-4)
- [18] E. D. Lee, S. H. Lee, D. K. Kim, J. Lee, S. S. Lee, K. W. Kim, "Embryo production from Elk using Ultrasound-guided Ovum pick-up technique", *Journal of the Korea Academia-Industrial cooperation Society*, Vol. 21, No. 10, pp. 433-439, 2020.
DOI: <https://doi.org/10.5762/KAIS.2020.21.10.433>
- [19] P. E. J. Bols, M. T. Ysebaert, A. Vam Soom, A. de Kruif, "Effects of needle tip bevel and aspiration procedure on the morphology and developmental capacity of bovine compact cumulus oocyte complexes", *Theriogenology*, Vol. 47, No. 6, pp. 1221-1236, 1997.
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(97\)00102-7](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(97)00102-7)
- [20] J. R. Gibbons, W. E. Beal, R. L. Krisher, E. G. Faber, R. E. Pearson, F. C. Gwazdauskas, "Effects of once-versus twice-weekly transvaginal follicular aspiration on bovine oocyte recovery and embryo development", *Theriogenology*, Vol. 42, No. 3, pp. 1221-1236, 1997.
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(94\)90679-D](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(94)90679-D)
- [21] S. R. Cho, S. S. Kang, U. H. Kim, S. D. Lee, M. S. Lee, B. C. Yang, "Study on Ovum-pick up for Improvement of Embryo Transfer Efficiency in Hanwoo Cows", *Journal of Embryo Transfer*, Vol. 32, No. 3, pp. 147-151, 2016.
DOI: <https://doi.org/10.12750/JET.2017.32.3.147>
- [22] D. K. Berg, J. G. Thompson, G. W. Asher, "Development of in vitro embryo production systems for red deer (*Cervus elaphus*): Part 2. The timing of in vitro nuclear oocyte maturation", *Animal Reproduction Science*, Vol. 70, No. 1-2, pp. 77-84, 2002.
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(01\)00200-7](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(01)00200-7)
- [23] J. J. Parrish, J. L. Susko-Parrish, M. L. Leibfried-Rutledge, E. S. Critser, W. H. Eyestone, N. L. First, "Bovine in vitro fertilization with frozen-thawed semen", *Theriogenology*, Vol. 25, No. 4, pp. 591-600, 1986.
DOI: [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(86\)90143-3](https://doi.org/10.1016/0093-691X(86)90143-3)
- [24] P. C. Wan, Z. D. Hao, P. Zhou, Y. Wu, L. Yang, M. S. Cui, S. R. Liu, S. M. Zeng, "Effects of SOF and CR1 media on developmental competence and cell apoptosis of ovine in vitro fertilization embryos", *Animal Reproduction Science*, Vol. 114, No. 1-3, pp. 279-288, 2009.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.09.020>
- [25] S. J. Park, B. S. Yang, K. S. Im, H. H. Sang, W. K. Chang, I. C. Cheong, C. S. Park, "The Study of Factor Concerning Ovum Pick-up and Conception Rate by Ultrasound-Guided Follicular Aspiration in Hanwoo Heifers", *Korean Journal of Animal Reproduction*, Vol. 24, No. 2, pp. 199-208, 2000.
- [26] S. Lenz, J. Leeton, P. Renou, "Transvaginal recovery of oocytes for in vitro fertilization using vaginal ultrasound", J. In Vitro Fertil. Embryo Transfer, *Journal of in Vitro Fertilization and Embryo Transfer*, Vol. 4, No. 1, pp. 51-55, 1987.
DOI: <https://doi.org/10.1007/BF01555436>
- [27] C. R. Lonny, B. R. Lindsey, C. L. Gomseth, D. L. Johnson, "Commercial aspects of oocyte retrieval and in vitro fertilization (IVF) for embryo production in problem cows", *Theriogenology*, Vol. 41, No. 1, pp. 67-72, 1994.
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(05\)80050-0](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(05)80050-0)
- [28] B. Robert, Gilchrist, Michelle Lane, G. Thompson Jeremy, "Oocyte-secreted factors: regulators of cumulus cell function and oocyte quality", *Human Reproduction Update*, Vol. 14, No 2, pp 159-177, 2008.
DOI: <https://doi.org/10.1093/humupd/dmm040>
- [29] P. Lonergan, T. Fair, "Maturation of Oocytes In Vitro", *Annual Review of Animal Biosciences*, Vol. 4, pp. 255-268, 2016.
DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-022114-110822>
- [30] P. Blondin, K. Coenen, L. A. Guilbault, M. A. Sirard, "In vitro production of bovine embryos: developmental competence is acquired before maturation", *Theriogenology* Vol. 47, No. 5, pp. 1061-1075, 1997.
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0093-691x\(97\)00063-0](https://doi.org/10.1016/S0093-691x(97)00063-0)

이 은 도(Eun-Do Lee)

[정회원]



- 2015년 8월 : 충남대학교 낙농학과 (농학학사)
- 2018년 2월 : 충남대학교 대학원 축산학과 (농학석사)
- 2021년 3월 ~ 현재 : 농촌진흥청 국립축산과학원 산학연구원

<관심분야>

가축번식, 가축육종

김 관 우(Kwan-Woo Kim)

[정회원]



- 2015년 2월 : 충남대학교 대학원 축산학과 (농학석사)
- 2018년 8월 : 충남대학교 대학원 축산학과 (농학박사)
- 2022년 1월 ~ 현재 : 농촌진흥청 국립축산과학원 농업연구사

<관심분야>

가축번식, 가축육종

김 동 교(Dong-Kyo Kim)

[정회원]



- 2015년 2월 : 충남대학교 대학원 축산학과 (농학석사)
- 2012년 10월 ~ 현재 : 농촌진흥청 국립축산과학원 농업연구사

<관심분야>

가축사양, 생명자원

최 봉 환(Bong-Hwan Choi)

[정회원]



- 2000년 8월 : 전남대학교 낙농학과 (농학박사)
- 2002년 6월 : 농촌진흥청 국립축산과학원 농업연구사
- 2021년 3월 ~ 현재 : 농촌진흥청 국립축산과학원 농업연구관

<관심분야>

동물유전체, 동물분자생리학