

생쥐에서의 수정란 이식에 관한 연구

A Study on the Embryo Transfer in Mouse*

서울대학교 의과대학 해부학교실

정구보 · 조사선 · 백상호 · 이흥식**

서 론

한 개체의 난관이나 자궁으로부터 발육중인 배자를 인위적으로 꺼내서 다른 개체에 이식하여 분만시키는 기술은 1890년 Heapo가 가토의 난자이식을 성공시킨 후 오늘날은 포유동물을 이용한 연구에서 매우 가치 있는 기술로 인정받고 있으며, 이는 gonadotrophin을 주사하여 개체당 많은 수의 난자를 얻는 과배란 기술(Fowler와 Edwards, 1957; Biggers등, 1971)과 더불어 태아발육에 대한 영향을 연구하는데 널리 이용되고 있고 경제성이 높은 동물의 품종 개량 및 다산을 목적으로 연구되고 있다(Gorden등, 1962; Rowson등, 1969, 1971, 1972; Sreenan과 Beehan, 1974).

그러나 과배란 및 수정란 이식은 오랫동안 연구되어 온 분야이지만 아직도 잘 알려지지 않은 부분이 많고 과배란유도에 사용되는 gonadotrophin이 난자 및 태자에 미치는 영향에 대해서는 연구자 사이에 의견이 엇갈리고 있어 더 많은 연구가 진행되어야 할 분야로 지적되고 있다(Fujimoto등, 1974; Spindle등, 1975). 포유동물에서 동일시기의 많은 난자를 얻을 목적으로 과배란을 유도하지만 자연배란시와 비교하여 형태상 비정상인 난자가 증가되고 배란시 정상이었던 난자라도 발육하는 동안에 심한 퇴화 현상을 보이며(Edwards와 Fowler, 1959; McLaren과 Michie, 1959; Edwards등, 1963; Allen과 McLaren, 1971) 비교적 많은 수가 착상하는 경우는 발육지연을 보이고 있을 뿐만 아니라(Evans등, 1981) 과배란시 기형이나 염색체 이상도 보고되고 있다(Fujimoto등, 1974, 1975; Takagi와 Sasaki, 1976; Maudlin과 Fraser, 1977).

이러한 사실들과 관련하여 생쥐에서도 수정란 이식에 대한 연구가 다방면으로 진행되어 McLaren과 Mic-

hie(1956)는 외과적 방법에 의한 수정란 이식술을 확립하였으며 이후 많은 연구자들에 의해 이 방법이 개량되어 오늘날은 이러한 외과적 방법뿐 아니라 비외과적 방법도 많이 시행되고 있다(Marsk등, 1971, 1975; Moler등, 1979).

저자들은 생쥐를 이용하여 체외수정을 연구하기 위한 기초적인 실험의 일환으로 생쥐를 과배란시켜 수정율, 착상율 및 분만에 이르는 과정의 상황을 조사하고 또한 과배란 후에 얻은 포배를 가임시킨 다른 개체의 자궁각에 이식하여 지속되는 임신과 분만의 상황을 정상적인 자연배란과 비교 관찰하기 위하여 본 연구를 시도하였다. 아울러 gonadotrophin의 영향에 대한 생쥐 종류간의 차이를 비교하기 위하여 모든 과정을 2종류의 생쥐를 사용하여 비교 조사하였다.

실험재료 및 방법

1. 실험동물

서울대학교 동물 사육장에서 공급받은 생후 6~8주 된 체중 18g 내외의 C57BL/6J계 생쥐 100마리와 체중 22g내외의 ICR계 생쥐 120마리를 실험에 사용하였으며 검은색 털을 가진 C57BL/6J계 생쥐는 난자 제공자로, 흰색털을 가진 ICR계 생쥐는 1회 이상의 분만 경험이 있는 것만을 가임신모체로 사용하여 난자이식 대상으로 하였고, 전 실험과정 동안 실험동물용 pellet사료(제일사료)와 물은 자유롭게 먹을 수 있도록 하였다.

동물은 자연배란군인 대조군과 실험군인 과배란군 및 이식군으로 3구분하였다. 과배란을 유도하기 위해서는 임신말혈청호르몬(pregnant mare's serum gonadotrophin; Intervet제품, 이하 PMSG로 약기함)을 주사용 증류수에 희석하여 개체당 5IU/0.2ml씩 복강내에 주사하였으며, 48시간 후 동량의 인태반성선자극호르몬(human chorionic gonadotrophin; Intervet제품, 이하 HCG로 약기함)을 같은 방법으로 주사하고 당일 오후 암수 1:1로 교배시켰다. 다음날 오전 9시 경 전전(vaginal plug)의 유무를 확인하고 질전이 있는 것이

† 접수일자: 1984년 7월 4일

* 본 연구는 1984년도 서울대학교 병원 임상연구보조로 이루어진 것임.

** 서울대학교 수의과대학 해부학교실

확인된 개체만 선택하여 실험에 사용하였으며, 이날을 임신 0일로 계산하였다. 자연배란군에 사용된 생쥐는 gonadotrophin을 주사하지 않고 자연 교배시켰으며 마찬가지로 절전이 확인된 개체만을 실험에 사용하였다.

C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐를 대조군과 과배란군에 각각 40마리씩 배정하여 동시에 교배하도록 하고 배란된 난자수 조사, 수정된 난자수 조사, 정상 분할하여 포배에 이른 난자수 조사, 및 분만수 조사에 각각 10마리씩 사용하였는데 각 실험과정에서 생쥐는 경부를 탈구시켜 도살시켰다. 이식군에서 가임신모체로 사용된 ICR계 생쥐는 McLaren과 Michie (1956)의 방법에 따라 정관을 절제한 웅성 ICR계 생쥐와 교배시켜 가임신을 유도하였는데 이식될 난자를 배란할 C57BL/6J계 생쥐와 비슷한 시간에 교배하도록 하였다. 그리고 다음날 오전 9시경 절전의 유무를 확인하고 절전의 존재가 확인된 개체만을 난자 수용을 위한 가임신모체로 사용하였다.

2. 표준 배양액

난관 및 자궁각의 수세와 포배 이식에는 일반적으로 널리 사용되고 있는 standard egg culture medium (Biggers 등, 1971)을 사용하였는데, 이때 배양액의 pH는 7.2~7.4였고 배양액의 온도는 37°C를 유지하였다. 배양액 제조 및 실험기구 세척에 사용된 증류수는 순도가 높은 것을 사용하기 위하여 Super-Q system (Millipore Co.)에서 저항 10 megohm을 나타내는 것을 사용하였고, 배양액은 0.45 μ m membrane filter (Millipore Co.)를 통과시켜 멸균된 것을 사용하였다.

3. 난자수집

ICR계 생쥐와 C57BL/6J계 생쥐를 경부 탈구로 도살시킨 후 1세포기와 2세포기의 난자를 얻기 위해서는 난관을, 포배를 얻기 위해서는 자궁각을 절출하여 특수 제작한 embryological watch-glass에 놓고 배울 40배의 해부현미경 하에서 수세하였는데 난관을 수세할 때는 끝이 날카로운 미세 해부용 핀셋으로 난관을 수세액 내에서 고정하고 30-gauge 주사바늘이 부착된 주사기에 0.2ml의 수세액을 넣어 난관체 부위에서 자궁-난관 경계부 쪽을 향하여 수세하였다.

한편 자궁각을 수세할 때는 끝이 날카로운 미세해부용 핀셋으로 고정시키고 26-gauge 주사바늘이 부착된 주사기에 0.5ml의 수세액을 넣어 자궁-난관 경계부에서 자궁체쪽을 향하여 수세하였다.

배란수를 조사하기 위해서는 해부현미경 하에서 관찰하였는데 정상적인 형태를 갖춘 것과 형태상 비정상적인 것을 구분하여 계수하였고, 2세포기의 난자와 포배를 조사할 때는 정상적인 형태를 갖춘 것만 계수하

였는데, 정상난자(또는 수정란)의 기준은 다음의 요건을 갖춘 것으로 하였다. 즉 1) 균등한 세포질로 충만되어 있었으며, 2) 투명대를 갖추고 있고, 3) 분할시기에 상응하는 핵의 수를 가지고, 4) 할구의 크기 및 형태가 균일성을 나타내는 것으로 정하였다. 이밖에 세포질의 용해가 일어났거나 외형상 정상적으로 보이지만 시기적으로 분할이 진전되어 있어야 할 상태에서 1세포기의 단계에 머물러 있는 것 등은 모두 비정상적인 난자로 간주하였다.

4. 수정란 이식

수정란 이식은 Mintz (1967)의 방법을 약간 변형시킨 방법을 사용하였는데 5IU/0.2ml의 HCG를 주사하여 임신된지 3일째되는 검은색 C57BL/6J계 생쥐의 양쪽 자궁각으로부터 포배를 수집하여 현미경 하에서 정상적인 구조를 갖추고 있다고 판단된 것만 5개씩 골라 가임신된 흰색의 ICR계 생쥐의 좌측 자궁각에만 이식함으로써 분만시 태자가 수정란 이식을 통해 임신된 것인지 확인할 수 있도록 하였으며 40마리의 생쥐를 대상으로 200개의 포배를 이식하였는데 10% pentobarbital sodium을 개체당 0.2ml씩 주사하여 마취시킨 후 측복벽을 1~2cm 정도 시상절개하여 좌측 난소와 자궁각들을 멸균된 gauze위에 꺼내 놓고 실시하였다. 모세관 파이펫(직경 100 μ m)에 가능한 한 소량의 medium과 함께 5개의 포배를 담은 후 자궁각의 자궁-난관 경계부 쪽에 모세관 끝을 직접 꽂아 이식하였는데 이식 후에는 모세관내에 수정란이 남아 있는지를 확인하기 위하여 이식할 때 마다 해부현미경 하에서 조사하였다.

5. 인공분만

배란 후 직접 혹은 수정란 이식에 의한 간접적으로 임신된 개체는 모두 임신 제19일에 마취시킨 후 반복하여 인공분만시킴으로써 착상 및 태자의 상태를 조사하였다. 대조군, 과배란군 및 이식군 모두 개체당 분만된 태자수와 체중을 조사하였고, 이광호 등(1973)의 방법에 따라 두개열, 척추파열, 지열의 다과, 미부 이상 등의 외견상 기형유무를 조사하였으며 임신된 모체의 자궁동맥 및 제대동맥의 발달정도를 비교 조사하였다.

6. 통계처리

배란된 난자 및 배아의 발육시기 별 상태는 착상 전 후에 걸쳐 모두 조사하였는데 착상전에는 배란된 난자수, 수정 후 2세포기에 도달된 난자수, 착상전 포배수를 각 시기별로 계수하여 C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐에서 대조군과 과배란군과 비교하였다.

배란시 비정상 형태를 보인 난자의 수는 전체 배란수에 대하여 백분율로 계산하였고 배란수에 대한 2세

포기 난자수의 비율은 수정율로 간주하였으며 2세포기 난자수에 대한 포배수의 비율은 착상전 발육율로 간주하여 비정상 난자의 비율, 수정율 및 착상전 발육율을 C57BL/6J계생쥐와 ICR계 생쥐에서 각각 대조군과 과배란군을 비교하고 동일 실험군 내에서 C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐를 서로 비교하였다.

착상후에는 착상수를 태자로 분만된 수와 흡수되어 기태를 형성한 수로 나누어 계수하고 포배수에 대한 착상수의 비율을 착상율로, 착상수에 대한 분만된 태자수의 비율을 착상후 발육율로 간주하여 백분율로 계산하고 착상전과 마찬가지로 대조군과 과배란군을 서로 비교하고 각 군내에서는 C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐를 비교하였다.

분만된 태자는 평균 분만수 및 체중을 조사하여 C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐에서 각각 대조군과 과배란군을 비교하였고, 이식하여 분만된 C57BL/6J계 태자도 평균체중을 조사하여 대조군과 과배란군의 C57BL/6J계 태자와 서로 비교하였다. 또 이상에서 언급된 각 계측치 간의 비교는 Student's t-test에 의해 통계처리 하였다.

성 적

1. 배란 및 난자의 발육

배란된 난자수는 C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐에서 모두 대조군에 비하여 과배란군이 현저한 차이를 나타내었다. 즉 대조군에서는 C57BL/6J계 생쥐가 9.3 ± 2.11개, ICR계 생쥐가 11.7 ± 1.22개를 배란한 반면 과배란군에서는 C57BL/6J계 생쥐가 20.4 ± 4.02, ICR계 생쥐가 32.7 ± 9.40개를 배란하여 과배란군이 대조

군보다 2~3배 정도 많이 배란함으로써 평균 배란수에 있어서 통계적으로 매우 유의한 차(p < 0.01)를 각각 나타내었고 개체마다 배란수의 차도 크게 나타났다. 대조군의 C57BL/6J계 생쥐의 배란수(9.3 ± 2.11개)와 ICR계 생쥐의 배란수(11.7 ± 1.22개)를 비교한 결과 ICR계 생쥐가 평균적으로 더 많은 수의 난자를 배란한 것을 알 수 있었고 통계적으로 매우 유의한 차(p < 0.01)를 나타내었으며, 과배란군에서는 C57BL/6J계 생쥐의 배란수(20.4 ± 4.02개)와 ICR계 생쥐의 배란수(32.7 ± 9.40개)를 비교한 결과 ICR계 생쥐가 대조군에서와 마찬가지로 C57BL/6J계 생쥐에 비하여 통계적으로 유의한 차를 보이는 많은 수의 난자를 배란하였다(p < 0.005) (Table 1).

배란된 난자중 형태적으로 비정상적인 난자의 비율은 대조군에서 C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐가 각각 3.0%, 0.3%를 나타내었고 과배란군에서는 C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐가 각각 10.0%, 7.6%를 나타내어 백분율로 비교했을 때 과배란군에서 대조군보다 공통적으로 형태상 비정상인 난자의 출현비율이 증가하였으나 통계적으로 유의한 차는 나타나지 않았고 대조군과 과배란군에서 C57BL/6J계 생쥐의 성적과 ICR계 생쥐의 성적을 서로 비교하였을 때 통계적으로 유의한 차는 나타나지 않았다(Table 1).

2세포기 난자수는 대조군에서 C57BL/6J계 생쥐가 8.6 ± 1.36개, ICR계 생쥐가 11.4 ± 0.95개를 나타내었고 과배란군에서는 C57BL/6J계 생쥐가 17.8 ± 3.02개 ICR계 생쥐가 25.2 ± 3.99개를 나타내어 수정된 난자도 과배란군에서 대조군보다 통계적으로 매우 유의한 차를 나타내는(p < 0.01) 많은 수를 얻을 수 있었고 대조군과 과배란군 모두 ICR계 생쥐에서 C57BL/6J계

Table 1. Ovulation and development of ova

Group	Control group		Superovulated group		
	Stock	C57BL/6J	ICR	C57BL/6J	ICR
Mean no. of oocytes ovulated		9.3 ± 2.11 (n=11)	11.7 ± 1.22 (n=9)	20.4 ± 4.02* (n=10)	32.7 ± 9.40* (n=9)
Abnormal rate		3.0%	0.3%	10.0%	7.6%
Mean no. of two-cell embryos		8.6 ± 1.36 (n=10)	11.4 ± 0.95 (n=9)	17.8 ± 3.02* (n=10)	2.2 ± 3.99* (n=9)
Fertilization rate ¹⁾		92.5%	97.4%	87.3%	77.1%
Mean no. of blastocysts		8.0 ± 1.18 (n=10)	11.1 ± 1.36 (n=9)	13.6 ± 4.09* (n=10)	23.5 ± 5.92* (n=10)
Preimplantational development rate ²⁾		93.0%	97.4%	76.4%	93.3%

*: Significantly different from control group, p < 0.01 n: Number of animal

1): The ratio of number of two-cell embryos to number of oocytes ovulated

2): The ratio of number of blastocysts to number of two-cell embryos

Table 2. Implantation and development of embryos and fetuses

Group	Control group		Superovulated group		
	Stock	C57BL/6J	ICR	C57BL/6J	ICR
Mean no. of embryos implanted		7.1±2.57 (n=10)	10.2±2.31 (n=10)	12.2±4.77* (n=10)	21.7±9.72* (n=9)
Implantation rate ¹⁾		88.8%	91.9%	89.7%	96.9%
Mean no. of fetuses delivered		6.9±2.25 (n=10)	9.9±2.42 (n=10)	8.3±3.87 (n=10)	14.4±6.46 (n=9)
Postimplantational development rate ²⁾		97.2%	97.1%	68.0%	66.4%
Mean no. of moles		0.2±0.38	0.3±0.66	3.9±2.60**	7.2±6.71**

* : Significantly different from control group, $p < 0.05$; ** $p < 0.01$

1) : The ratio of number of embryos implanted to number of blastocysts

2) : The ratio of number of fetuses delivered to number of embryos implanted

n : Number of animal

Table 3. Percentage of recovered embryos and fetuses to the number of oocytes ovulated at different stages in control and superovulated mice

Group	Control group		Superovulated group		
	stock	C57BL/6J	ICR	C57BL/6J	ICR
Ovulation		100%	100%	100%	100%
Fertilization rate ¹⁾		92.5%	97.4%	87.3%	77.1%
Implantation rate ²⁾		76.3%	87.2%	59.8%	96.4%
Delivery rate ³⁾		74.2%	84.6%	40.7%	44.0%

1) the ratio of number of two-cell embryos to number of oocytes ovulated

2) the ratio of number of embryos implanted to number of oocytes ovulated

3) the ratio of number of fetuses delivered to number of oocytes ovulated

생쥐보다 더 많은 수를 나타내었다($p < 0.005$) (Table 1).

형태상 비정상적인 난자의 절대수는 과배란군에서 공통적으로 증가하여 수정율은 C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐에서 각각 87.3%, 77.1%를 나타내어 대조군의 92.5% 및 97.4%에 비해 낮은 성적을 나타내었으나 대조군과 과배란군 사이에 통계적으로 유의한 차이는 없었다(Table 1).

포배의 수는 대조군에서 C57BL/6J계 생쥐가 8.0±1.18개, ICR계 생쥐가 11.1±1.36개를 나타내었고 과배란군에서는 C57BL/6J계 생쥐가 13.6±4.09개, ICR계 생쥐가 23.5±5.92개를 나타내어 과배란군과 대조군 사이에 매우 높은 유의차를 보였으나($p < 0.01$) 수정된 난자가 발육하여 포배로 되는 착상전 발육비율은 대조군의 C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐가 각각 93.0%, 97.4%를 나타내고 과배란군의 C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐는 각각 76.4%, 93.3%를 나타내어 대조군과 과배란군 및 C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐 사

이에 통계적으로 유의한 차이는 없었다(Table 1).

배란된 난자의 시기별 발육비율을 보면 대조군의 C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐에서는 배란된 난자중 각각 92.5%, 97.4%가 수정하고 76.3%, 87.2%가 착상한 것과는 대조적으로 과배란군의 C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐에서는 배란된 난자중 각각 87.3%, 77.1%가 수정하고 59.8%, 66.4%가 착상하여, 배란 후 착상시까지 발육하는 동안에 과배란군에서 대조군에 비해 전반적으로 심한 배아손실이 일어나는 것을 알 수 있었다. 그리고 배란하여 수정하는 과정보다는 수정 후 착상시까지 발육하는 과정에서 더 심한 손실이 일어나는 것을 알 수 있었다(Table 3).

2. 착상 및 분만

착상수는 대조군의 C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐에서 각각 7.1±2.57개 및 10.2±2.31개를 나타낸 반면 과배란군에서는 C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐에서 각각 12.2±4.77개 및 21.7±9.72개를 나타내어 각 생쥐에서 대조군과 과배란군 사이에 통계적으로 유의

Table 4. Effects of superovulation on fetal condition

Group	Control group		Superovulated group		
	Stock	C57BL/6J	ICR	C57BL/6J	ICR
No. of animals		10	10	10	9
Average litter size		6.9±2.25	9.9±2.42	8.3±3.87	14.4±6.46
Total no. of fetuses		69	99	83	130
Average fetal body weight(gm)		1.15±0.09	1.42±0.11	1.07±0.12*	0.90±0.15*
Deformity		none	none	none	none

*; Significantly different from control group, $p < 0.01$

한차를 보였으며 ICR계 생쥐에서 유의차는 더 크게 나타났다($p < 0.01$). 뿐만 아니라 C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐의 착상수도 대조군과 과배란군에서 모두 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다($p < 0.01$). 그러나 착상율은 대조군의 C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐에서 각각 88.8%, 91.9%를 나타내고 과배란군에서는 C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐가 각각 89.7%, 96.9%를 나타내어 일단 포배까지 발육된 난자는 대조군과 과배란군 사이에 통계적으로 유의한 차이없이 착상하는 것을 알 수 있었다. 또 C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐의 착상율도 각군에서 통계적으로 유의한 차를 나타내지 않았다(Table 2).

분만된 태자수는 대조군에서 C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐가 각각 6.9±2.25마리, 9.9±2.42마리를 분만하였고 과배란군에서는 C57BL/6J계 생쥐가 8.3±3.87마리, ICR계 생쥐가 14.4±6.46마리를 분만하여 (Fig. 1) 대조군과 과배란군 사이의 분만수를 비교하면 C57BL/6J계 생쥐에서는 통계적으로 유의성이 없었으나 ICR계 생쥐에서는 10% 유의수준에서 차이를 나타냈다. 그러나 C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐의 분만수는 통계적으로 매우 유의한 차이를 나타내면서 대조군과 과배란군 모두 ICR계 생쥐에서 C57BL/6J계 생쥐보다 많은 수의 태자를 분만하였다($p < 0.01$).

착상된 배아수에 대한 분만된 태자수의 비율인 착상 후 발육율은 대조군에서 C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐가 각각 97.2%, 97.1%를 나타낸 반면 과배란군에서는 C57BL/6J계 생쥐가 68.0%, ICR계 생쥐가 66.4%를 나타내어 (Table 2) 백분율의 비교에서는 대조군에 비해 과배란군에서 착상후 발육율이 낮았으나 통계처리했을 때 대조군과 과배란군은 10%유의수준에서 차이를 나타내었고 각 군에서 C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐 사이에는 유의한 차이를 나타내지 않았다.

착상후 형성된 기태수는 대조군에서 C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐가 각각 0.2±0.38개, 0.30±0.66개를

나타내었고, 과배란군에서 C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐가 각각 3.9±2.60개, 7.2±6.71개를 나타내어 C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐에서 모두 과배란군에서 통계적으로 매우 유의한 차($p < 0.01$)를 나타내면서 많은 수의 기태가 형성되어 과배란군에서는 착상 후에도 퇴화가 심하게 계속되는 것을 알 수 있었으나 각군에서 C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐는 통계적으로 유의한 차를 나타내지 않았다(Table 2).

대조군에서는 C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐에서 배란수의 76.3% 및 87.2%가 착상하고 74.2%, 84.6%가 각각 태자로 분만되어 배란된 난자중 비교적 많은 수가 착상하여 분만되었으나 과배란군에서는 C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐에서 각각 배란수의 59.8% 및 66.4%가 착상하고 40.7%, 44.0%가 태자로 분만되어 대조군에 비해 많은 수의 배아가 손실되는 것을 알 수 있었으며 C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐에서 공통적으로 분만시까지 계속 발육되는 숫자는 50% 미만인 것을 알 수 있었다(Table 3).

평균 분만체중은 대조군에서 C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐태자가 각각 1.15±0.09g, 1.42±0.11g를 나타내었고, 과배란군에서는 C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐태자가 각각 1.07±0.12g, 0.90±0.15g를 나타내어 C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐 모두 과배란군의 태자가 대조군에 비해 평균적으로 심한 체중감소를 나타내었고($p < 0.01$) 개체간의 체중에 있어서도 차이가 심한 것을 알 수 있었다. 그리고 대조군에서는 C57BL/6J계 태자에 비해 ICR계 태자의 평균체중이 더 무거운 반면, 과배란군에서는 C57BL/6J계 태자가 더 무거운 것으로 나타났다 통계적으로도 매우 높은 유의차를 나타내었다($p < 0.01$).

수정란 이식을 통해 임신한 ICR계 생쥐에서 분만된 C57BL/6J계 태자는 1.13±0.07g의 평균 분만체중을 나타내어 대조군의 C57BL/6J계 태자와는 차이가 없었으나 과배란군의 C57BL/6J계 태자보다는 평균적으로

Table 5. Results of transplantation

Exp. No.	No. of transplanted blastocyst	No. of implantation		No. of loss
		fetus ¹⁾	resorption ²⁾	
1	5	0	0	5
2	5	0	0	5
3	5	0	0	5
4*	5	1	2	2
5	5	0	0	5
6	5	0	0	5
7	5	0	0	5
8*	5	1	2	2
9	5	0	0	5
10	5	0	0	5
11*	5	1	3	1
12*	5	1	3	1
13*	5	2	0	3
14	5	0	0	5
15	5	0	0	5
16	5	0	0	5
17*	5	0	3	2
18	5	0	0	5
19	5	0	0	5
20*	5	2	2	1
21	5	0	0	5
22	5	0	0	5
23*	5	2	2	1
24*	5	2	3	0
25*	5	2	3	0
26	5	0	0	5
27	5	0	0	5
28*	5	2	2	1
29*	5	2	2	1
30*	5	2	0	3
31	5	0	0	5
32	5	0	0	5
33	5	0	0	5
34*	5	2	1	2
35	5	0	0	5
36	5	0	0	5
37*	5	3	2	0
38	5	0	0	5
39*	5	3	2	0
40	5	0	0	5
Total	200	28(14%)	32(16%)	140

* : Recipient that became pregnant
 1) : the number of delivered fetuses
 2) : the number of resorpted embryos or fetuses

Table 6. Degree of development of uterine artery and umbilical artery in pregnant C57BL/6J and ICR mouse

Group	Control group		Superovulated group		Transplanted group
	C57BL/6J	ICR	C57BL/6J	ICR	
Uterine artery	+	##	##	###	+
Umbilical artery	##	###	+	##	##

+ : less developed
 ## : moderately developed
 ### : well developed

무거웠으며 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다(p<0.01).

가임신 모체로 제공된 ICR계 생쥐 40마리에 수정란 이식을 시행하였으나 포배가 1개 이상 착상한 개체는 그중 16마리로 40%가 임신하였고 이들로 부터 200개의 포배중 28개는 태자로 분만되고 32개는 착상 후 퇴화되어 총 60개가 착상한 것으로 관찰되어 30%의 착상율을 얻었으며, 분만율은 14%, 착상 후 흡수율을 16%를 각각 나타내었다(Table 5). 그리고 임신한 ICR계 생쥐의 좌측 자궁각에서만 홍채에 멜라닌 색소 침착을 보이는 태자가 관찰됨으로써 이들이 C57BL/6J계 태자임을 확인할 수 있었다(Fig. 2). 각 개체별로 보면 1마리의 태자를 분만한 경우가 4례, 2마리를 분만한 경우가 9례, 그리고 3마리를 분만한 경우가 2례 있었고, 기태만 3개 형성한 경우가 1례 있었으며 나머지 24례에서는 이식 직후에 손실되어 한개의 배아도 착상되지 못하였다(Table 5). 한편 이식된 포배로부터 발육한 태자는 대조군의 C57BL/6J계 생쥐가 분만한 태자와 외견상 다름이 없었으며 두개열, 척추파열, 지열의 다과, 미부의 이상 등 기형도 관찰되지 않았고 이같은 현상은 과배란군 및 대조군의 ICR계 생쥐로부터 분만한 태자에서도 마찬가지로 관찰되었다(Table 4). 자궁동맥의 발달정도는 가장 많은 수의 태자를 분만한 과배란군의 ICR계 생쥐에서 대체로 잘 발달하였으나 개체 차이가 심하였고, ICR계 생쥐 중에서도 이식군 보다는 대조군의 ICR계 생쥐에서 전반적으로 잘 발달되어 임신된 태자수와 자궁동맥의 발달정도는 밀접한 관계가 있음을 알 수 있었으며 이같은 현상은 C57BL/6J계 생쥐에서도 비슷한 경향을 나타내었다. 제대동맥의 발달정도는 대조군의 ICR계 생쥐에서 현저하였고 이에 비해 많은 수의 내자를 임신하고 있는 과배란군의 C57BL/6J계 생쥐 및 ICR계 생쥐에서는 제대동맥의 굵기가 상대적으로 가늘어 임신된 태자수가 적을수록 제대동맥은 잘 발달되어 있었다. 이식군의 제대동맥은 대조

군의 C57BL/6J계 생쥐에서와 비슷한 발달정도를 보이고 있었다(Table 6).

고 찰

포유동물에 PMSG와 HCG등의 gonadotrophin을 주사하면 자연 배란시보다 많은 수의 난자가 배란되는 것으로 알려져 있고 Beaumont와 Smith(1975)는 LACA계 생쥐에 PMSG와 HCG를 주사하여 평균 39.54개의 난자가 배란됨으로써 자연배란시의 12.80개 보다 많은 수가 배란되었다고 보고 하였는데 본 실험에서는 과배란군의 C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐로 부터 각각 20.4 ± 4.02 개, 32.7 ± 9.40 개의 난자를 얻음으로써 대조군의 9.3 ± 2.11 개 및 11.7 ± 1.22 개 보다 2~3배 정도 많은 수가 배란되어 사용된 생쥐의 종류가 다름에도 불구하고 gonadotrophin을 주사했을 때 다른 저자들 과 유사한 결과를 얻을 수 있었다. 또한 본 실험의 경우 배란후 1세포기 난자를 관찰해 본 결과 형태상 비정상 난자의 출현율이 대조군에서는 C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐에서 각각 3.0% 및 0.3%인데 비해 과배란군에서는 각각 10.0% 및 7.6%를 나타내었다. 이같은 현상에 대하여 Peters등 (1975)은 PMSG에 의하여 소포(small follicle) 뿐 아니라 폐쇄난포(atretic follicle)도 자극되어 배란수 뿐 아니라 비정상 난자의 출현이 크게 증가된다고 추정하고 있다. 한편 본 실험에서는 생쥐 종류에 따른 배란수의 차이도 관찰되어 C57BL/6J계 생쥐는 대조군과 과배란군에서 각각 9.3 ± 2.11 개 및 20.4 ± 4.02 개를 배란한 반면 ICR계 생쥐는 각각 11.7 ± 1.22 개 및 32.7 ± 9.40 개를 배란하여 각 군에서 모두 ICR계 생쥐가 C57BL/6J계 생쥐보다 더 많은 수의 난자를 배란하였다. 생쥐종류에 따른 포배수의 차이는 C57BL/6J계 생쥐로 부터 8.0 ± 1.18 개, ICR계 생쥐로 부터 11.1 ± 1.36 개의 포배가 관찰되어 McLaren과 Bowman(1973)이 자연배란시 생쥐 종류에 따라 Q계, C57BL계, RIII계, JU계, 및 C3H계 생쥐로 부터 각각 11.9, 6.1, 4.9, 9.3 및 7.2개의 각기 다른 수의 포배를 평균적으로 얻을 수 있었다고 보고한 것과 유사한 결과를 얻었다.

과배란시 많은 수의 난자가 배란되지만 분할도중(Allen과 McLaren, 1971)이나 착상후 또는 분할 직후(Edwards와 Fowler, 1959; McLaren과 Michie, 1971)에 주로 배아나 대지의 손실이 일어나는 것으로 알려져 있다. Bowman과 McLaren(1970)은 분할시기 동안에 배아의 수가 시간경과에 따라 대수비례로 감소한다고 보고 하였으며 Allen과 McLaren(1971)은 이와같은

현상은 배아의 수가 많은 개체일수록 심하게 일어난다고 하였다. 한편 Beaumont와 Smith(1975)는 대조군과 과배란군에서 배란수의 88.0% 및 56.18%를 포배로 얻을 수 있었다고 하였다. 본 실험의 경우에는 C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐에서 각각 76.3%, 87.2%, 과배란군의 경우 각각 59.8%, 66.8%의 포배를 얻을 수 있었으며 착상 후에도 손실은 계속되어 결과적으로 과배란군에서는 C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐에서 각각 배란수의 40.7% 및 44.0%만이 태자로 분만되어 배란된 난자의 59.3%, 56.0%가 각각 발육도중에 퇴화하는 것을 알 수 있었다.

일반적으로 심한 난자 및 배아의 손실에도 불구하고 과배란된 난자의 수정능력은 자연배란 된 난자와 별 차이가 없는 것으로 알려져 있으며(Fraser, 1977) 발육능력 역시 자연배란된 난자와 차이가 없는 것으로 알려져 있고 Spindle과 Goldstein(1975), Gates (1956), McLaren과 Michie(1956)들은 gonadotrophin을 주사한 후 얻은 포배가 생존능력이나 발육능력에 있어서 자연배란 후 얻어진 것과 차이가 없다고 보고 하였는데 본 실험에서도 과배란군과 대조군의 수정율 및 착상전 발육율이 통계적으로 유의한 차이가 없음을 알 수 있었으며 포배의 착상율이 대조군과 과배란군 사이에 차이가 없음을 보아서도 난자 및 배아의 손실 원인이 gonadotrophin 때문은 아닌 것을 알 수 있었다. 배아 손실에 관계되는 요인으로 연구자들은 배아간의 영양분 경쟁(Edwards와 Fowler, 1959; Edwards등, 1963; Allen과 McLaren, 1971), 배란시간과 교배시간의 차이 때문에 생기는 수정 지연(Smith와 Chrisman, 1975), 난자의 분할 및 포배 형성시 중요한 역할을 하는 모체의 스테로이드 호르몬 변화(Witenberger-Torres, 1964; Daniel, 1964; Kirkpatrick, 1971; McLaren과 Bowman, 1973)등을 생각하고 있고 Gates(1971)는 모체의 호르몬 불균형으로 난관의 난자 이동 속도가 증가하여 미성숙난자가 너무 일찍 자궁각에 도달함으로써 환경에 적응하지 못하여 퇴화한다고 보고 하였으며 Chang(1977)은 난자의 배란 후 교배시간이 너무 지체될 경우 비정상적인 수정상태가 유발되어 배아손실이 증가한다고 보고 하였다. 그리고 다른 연구자들은 자궁각당 8개 이상의 배자가 착상할 경우 10~30%는 퇴화흡수됨으로써 손실된다고 보고 하였는데(Fowler와 Edwards, 1957, McLaren과 Michie, 1959; Beaumont와 Smith, 1975) 본 실험에서는 과배란군의 경우 C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐에서 각각 32.0% 및 33.6%의 흡수율을 나타내었다. 착상후 흡수되어 형성되는 기태에 대하여 Beaumont와 Smith (1975)는 영양분의 공급

부족과 모체내 호르몬의 불균형 때문이라 하였고 Evans 등 (1981)은 제한된 자궁동맥의 혈류량에 대한 태자간의 영양분 섭취 경쟁으로 인하여 영양분 및 산소공급의 장애가 생기기 때문이라고 하였다. 본 실험의 ICR계 생쥐의 경우 과배란군에서 어떤 개체는 한쪽 자궁각으로부터 16마리의 태자가 분만된 반면에 다른 개체에서는 4개의 배아가 착상하여 그중 1마리의 태자가 분만된 것이 관찰되어 착상 후의 발육상태는 Beaumont와 Smith(1975), Evans등 (1981)의 주장과 같이 영양분 및 산소공급상태와 함께 임신모체의 호르몬 상태도 밀접한 관계가 있을 것으로 생각된다.

그러나 난자 및 배아의 퇴화, 기태형성 등으로 인한 심한 손실에도 불구하고 과배란군에서 분만된 태자수는 대조군의 C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐가 분만된 6.9±2.25마리 및 9.9±2.42마리보다 많아 각각 8.3±3.87마리 및 14.4±6.46마리로 Smith와 Chrisman (1975), Evans등 (1981)이 과배란군에서 각각 15.67±2.77마리, 20.0±4.7마리라고 한 보고와 비슷한 경향을 나타내었고, Evans등(1981)은 과배란군에서 태자의 평균체중이 심하게 감소하였다고 보고 하였는데 본 실험에서도 대조군에서는 C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐태자가 각각 평균 1.15±0.09g 및 1.42±0.11g의 체중을 나타내는데 비하여 과배란군에서는 각각 1.07±0.12g 및 0.90±0.15g의 체중을 나타내어 대조군과 통계적으로 매우 유의한 차이를 보이는 체중감소를 나타내었다.

Nylund등(1983)은 사람에서 자궁내 발육지연 및 선천성 기형을 나타내는 인태아가 임신된 경우 자궁태반동맥의 혈류량이 정상태아가 임신된 경우에 비하여 감소하였으며 혈류속도는 발육지연 정도가 심할수록 크게 감소하였다고 보고하여 모체의 태반 혈류량 및 속도와 태아의 발육상태는 밀접한 관계가 있음을 시사하였다.

본 실험에서는 다태동물인 생쥐에서 관찰하였음에도 불구하고 많은 수의 태자가 임신된 경우 모체의 자궁동맥이 정상상태보다 잘 발달되어 있었고 제대동맥이 현저하게 발달되어 있는 경우에는 체중이 무거운 태자가 분만되는 것을 관찰할 수 있어 태자의 발육과 모체의 혈액공급 상태는 밀접한 관계가 있는 것을 알 수 있었다. 그리고 과배란군의 경우 많은 수의 태자가 임신되어 있을수록 제대동맥의 굵기가 가늘고 따라서 평균체중도 대조군에 비해 적었으나 과배란군에서도 적은 수의 태자가 착상된 경우는 태자의 평균체중이 다른 과배란군의 태자보다 비교적 무거운 모체의 혈액공급상태 및 태자의 발육상태는 상호 밀접한 관계가 있

음을 알 수 있었다.

Elbling(1973)이 gonadotrophin을 주사하여 임신한 생쥐를 분만시킨 결과 기형을 나타내는 태자를 관찰하였다고 보고한 바 있으나 본 실험의 경우 과배란군 뿐 아니라 대조군 및 이식군에서도 태자의 기형을 관찰할 수 없어 Smith와 Chrisman(1975)이 생쥐에 gonadotrophin을 주사한 결과 기형유발을 관찰할 수 없었다고 보고한 바와 같은 결과를 얻었다.

수정란 이식을 통해 분만시키는 방법에 있어서 Gates (1956)는 성숙한 생쥐의 포배를 다른 개체에 이식하여 38.75%의 분만율을 보고하여 본 실험의 성적(14%)보다 좋은 성적을 보고 하였으며 McLaren과 Biggers (1958)는 배양을 통해 얻은 포배를 이식하여 20.4%의 성적을 얻었다고 보고하였다. Mukherjee와 Cohen (1970)은 시험관내 수정 후 포배기까지 배양한 다음 이식하여 50%의 성적을 얻었다고 보고하였고 Cross와 Brinster(1970)는 난포로부터 미숙난자를 꺼내 배양액 내에서 성숙시키고 수정 및 발육시켜 이식한 결과 3.2%의 분만율을 얻었다고 보고하여 실험자에 따라 성적의 차이가 심한 것으로 보고되고 있다. Watson등(1977)은 포배를 이식받은 개체에 가임신을 유도할 때 정관수술을 받은 생쥐를 사용하는 대신 기계적 자극을 통해 가임신을 유도하는 방법을 사용하여 37%의 성적을 얻었다고 보고하였으며 Moler등 (1979)은 micropipettes를 사용하여 2종류의 생쥐에 비외과적 방법으로 수정란 이식을 시행한 결과 각각 41%, 60%의 분만율을 얻었다고 보고하여 실험자에 따라 이식기술의 숙달정도 및 실험방법이 분만을 향상에 증대한 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 그리고 수정란 이식기술의 개발은 이식에 시간이 비교적 오래 걸리고 수술에 따르는 외상 및 마취기술 등 해결해야 할 문제가 많은 외과적 방법보다는 시행이 간편한 비외과적 방법의 도입이 바람직할 것으로 사려된다.

결 론

40마리의 C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐에 PMSG와 HCG를 각각 48시간 간격으로 5IU/0.2ml씩 주사하여 과배란군을 유도하고 배란, 수정, 착상 및 분만에 이르는 상황을 조사하여 자연배란인 대조군과 비교함과 아울러 과배란을 통해 얻어진 C57BL/6J계 생쥐의 포배 200개를 가임된 40마리의 ICR계 생쥐 자궁각에 이식하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 과배란군의 C57BL/6J계 생쥐 및 ICR계 생쥐는 평균 20.4±4.02개 및 32.7±9.40개의 난자를 각각 배

란하여 대조군에 비하여 많은 수의 난자를 배란하였고 ($p < 0.01$) 형태상 비정상 난자의 출현비율은 각각 10.0% 및 7.6%로 대조군의 3.0% 및 0.3%에 비하여 증가되었다.

2. 과배란군의 난자 및 배아들은 임신기간중 대조군에 비하여 심한 손실을 일으킴으로써 대조군에서는 C57BL/6J계 생쥐와 ICR계 생쥐의 경우 배란수의 74.2% 및 84.6%가 각각 태자로 분만되는데 비하여 과배란군에서는 40.7% 및 44.0%가 각각 태자로 분만되었다.

3. 과배란군에서는 대조군에 비하여 평균적으로 많은 수의 태자를 분만한 대신 심한 체중감소를 보였으나 ($p < 0.01$) 이식군에서 분만된 태자는 대조군과 차이가 없었다.

4. C57BL/6J계 생쥐의 포배 200개를 40마리의 ICR계 생쥐 자궁각에 5개씩 이식하여 30%의 착상율과 14%의 분만율을 얻었다.

proportion of abnormal oocytes which were shed was increased in superovulated group as 10.0% and 16.0% respectively compared with 3.0% and 0.3% in control group.

2. During the gestational periods, massive embryonic loss after superovulation was observed and 40.7% and 44.0% of superovulated ova were delivered to fetuses in C57BL/6J and ICR mouse compared with 74.2% and 84.6% in control group.

3. Compared to controls, the mean number of fetuses was increased in superovulated group, but the fetuses resulted in a reduction in mean fetal body weight ($p < 0.01$). The fetuses delivered following transplantation did not represent such growth retardation.

4. Implantation rate and delivery rate observed following the surgical transfer of 200 mouse blastocysts to the uterine horns of 40 ICR mice were 30% and 14% respectively.

—ABSTRACT—

A Study on the Embryo Transfer in Mouse

Goo-Bo Jeong, Sa-Sun Cho and Sang-Ho Baik

Department of Anatomy, College of Medicine, Seoul National University

Heung-Shik Lee

Department of Anatomy, College of Veterinary Medicine, Seoul National University

Superovulation was induced in 40 C57BL/6J mice and 40 ICR mice by the intraperitoneal injection of 5i.u. PMSG followed by 5i.u. HCG 48 hours later. The number of oocytes ovulated, 2-cell ova, blastocysts, implanted embryos, and fetuses delivered were observed serially in superovulated group and were compared with those of spontaneously ovulated control group. 200 superovulated C57BL/6J blastocysts were transferred to the uterine horns of 40 pseudopregnant ICR mice.

The results were as follows:

1. The mean numbers of oocytes ovulated by treated C57BL/6J and ICR mouse were 20.4 ± 4.02 and 32.7 ± 9.40 respectively, and were increased when compared with those in controls ($p < 0.01$), and the

REFERENCES

이광호, 백상호, 장가용, 김명업: 백서태자의 실험 기형학적 검사법, 서울의대잡지, 14:43, 1973.

Allen, J. and McLaren, A.: *Cleavage rate of mouse eggs from induced and spontaneous ovulation. J. Reprod. Fert.* 27:137-140, 1971.

Beaumont, H.M. and Smith, A.F.: *Embryonic mortality during the pre- and post-implantation periods of pregnancy in mature mice after superovulation. J. Reprod. Fert.* 45:437-438, 1975.

Biggers, J.D., Whitten, W.K. and Whittingham, D.G.: *The culture of mouse embryo in vitro, In Methods in Mammalian Embryology, Ch. 6, pp. 86-166, Ed. J.C. Daniel, Freeman, San Francisco, 1971.*

Chang, M.C.: *Digynic triploidy after superovulation. Nature* 266:382-383, 1977.

Cross, P.C. and Brinster, R.L.: *In vitro development of mouse oocytes. Biol. Reprod.* 3:298-307, 1970.

Daniel, J.C.: *Some effects of steroids on cleavage of rabbit eggs in vitro. Endocrinology* 75:706-710, 1964.

Edwards, R.G. and Fowler, R.: *Foetal mortality in adult mice after superovulation with gonadotrophins. J. Exp. Zool.* 141:299-322, 1959.

- Edwards, R.G., Wilson, E.D. and Fowler, R.: *Genetic and hormonal influences on ovulation and implantation in adult mice treated with gonadotrophins. J. Endocrinol.* 26:398-399, 1963.
- Elbling, L.: *Does gonadotrophin-induced ovulation in mice cause malformations in the offspring. Nature* 246:37-39, 1973.
- Evans, M.I., Schulman, J.D., Golden, L. and Mukherjee, A.B.: *Superovulation-induced intrauterine growth retardation in mice. Am. J. Obstet. Gynecol.* 141:433-435, 1981.
- Fowler, R.E. and Edwards, R.G.: *Induction of superovulation and pregnancy in mature mice by gonadotrophins. J. Endocrinol.* 15:374-384, 1957.
- Fraser, L.R.: *Fertilization and preimplantation development in vitro of mouse eggs obtained following stimulation with different doses of pregnant mare serum. Differentiation* 9:29-35, 1977.
- Fujimoto, S., Rawson, J.M.R. and Dukelow, W.R.: *Hormonal influences on the time of ovulation in the rabbit as determined by laparoscopy. J. Reprod. Fert.* 38:97-103, 1974.
- Fujimoto, S., Pahlavan, N. and Dukelow, W.R.: *Chromosome abnormalities in rabbit preimplantation blastocysts induced by superovulation. J. Reprod. Fert.* 40:177-181, 1974.
- Fujimoto, S., Passantino, T.J. and Koenczoel, A.: *A preliminary note on chromosomal abnormalities in intratubal rabbit embryos. Proc. Japan Acad.* 51:51-55, 1974.
- Gates, A.H.: *Viability and developmental capacity of eggs from immature mice treated with gonadotrophins. Nature* 177:754-755, 1956.
- Gates, A.H.: *Rate of ovular development as a factor in embryonic survival. In preimplantation stages of pregnancy, pp.270-288, Ciba Fndn Symp. Eds. G.E.W. Solstenholme & M. O'Connor. Churchill, London, 1965.*
- Gates, A.H.: *Maximizing yield and developmental uniformity of eggs. In methods in Mammalian Embryology, Ch. 4, pp.64-75, Ed. J.C. Daniel. Freeman, San Francisco, 1971.*
- Gordon, I., Williams, G. and Edwards, J.r *The use of serum gonadotrophin (PMS) in the induction of twin pregnancy in the cow. J. Agric. Sci., Camb.* 59:143, 1962.
- Kirkpatrick, J.F.: *Differential sensitivity of preimplantation mouse embryos in vitro to oestradiol and progesterone. J. Reprod. Fert.* 27:283-285, 1971.
- Marsk, L., Larsson, K.S. and Kjellberg, M.: *Developmental precocity in transferred embryos influencing the teratogen response to silicylate. J. Embryol. Exp. Morphol.* 33:907-913, 1975.
- Marsk, L., Theorell, M. and Larsson, K.S.: *Transfer of blastocysts as applied in experimental teratology. Nature* 234:358-359, 1971.
- Maudlin, I. and Fraser, L.R.: *The effect of PMSG dose on the incidence of chromosomal abnormality in mouse embryos fertilized in vitro. J. Reprod. Fert.* 50:275-280, 1977.
- McLaren, A. and Bowman, P.: *Genetic effects on timing of early development in the mouse. J. Embryol. Exp. Morphol.* 30:491-498, 1973.
- McLaren, A. and Michie, D.: *Studies on the transfer of fertilized mouse eggs to uterine foster mothers. (1) Factors affecting the implantation and survival of native and transferred eggs. J. Exp. Biol.* 33:394-416, 1956.
- McLaren, A. and Michie, D.: *Studies on the transfer of fertilized mouse eggs to uterine foster mothers. (2) The effect of transferring large numbers of eggs. J. Exp. Biol.* 36:40-50, 1959.
- McLaren, A. and Michie, D.: *Superpregnancy in the mouse. 1. Implantation and foetal mortality after induced superovulation in females of various eggs. J. Exp. Biol.* 36:281-300, 1959.
- Mintz, B.: *Mammalian embryo culture. In methods in developmental biology, eds. F.H. Wilt and N.K. Wessels. New York; Thomas Y. Crowell Co., pp. 379-400, 1967.*
- Miyamoto, H. and Chang, M.C.: *Development of mouse eggs fertilized in vitro by epididymal spermatozoa. J. Reprod. Fert.* 30:185-187, 1972.
- Moler, T.L., Donahue, S.E. and Anderson, G.A.: *A simple technique for nonsurgical embryo transfer in mice. Lab. Anim. Sci.* 29:353-356, 1979.
- Mukherjee, A.B. and Cohen, M.M.: *Development of normal mice by in vitro fertilization. Nature* 228:472-473, 1970.
- Nylund, L., Lunell, N.O., Lewander, R. and Sarby,

- B.: *Uteroplacental blood flow index in intrauterine growth retardation of fetal or maternal origin. Br. J. Obstet. Gynaecol.* **90**:16-20, 1983.
- Peters, H., Byskov, A.G., Himelstein-Braw, R. and Faber, M.: *Follicular growth; the basic event in the mouse and human ovary. J. Reprod. Fert.* **45**:559, 1975.
- Psychoyos, A.: *The hormonal interplay controlling egg implantation in the rat. Adv. Reprod. Physiol.* **2**:275-277, 1967.
- Rafferty, K.A. Jr.: *The transfer of ova to foster females 2. Transfer of blastocysts into uterine horns. In Methods in Experimental Embryology of the Mouse. pp. 42-46, The Johns Hopkins Press, Baltimore, 1970.*
- Rowson, L.E.A., Moor, R.M. and Lawson, R.A.S.: *Fertility following egg transfer in the cow; effect of method, medium and synchronization of oestrus. J. Reprod. Fert.* **18**:517, 1969.
- Rowson, L.E.A., Lawson, R.A.S. and Moor, R.M.: *Production of twins in cattle by egg transfer. J. Reprod. Fert.* **25**:261, 1971.
- Rowson, L.E.A., Lawson, R.A.S., Moor, R.M. and Baker, A.A.: *Egg transfer in the cow; synchronization requirements. J. Reprod. Fert.* **28**:427, 1972.
- Smith, C.M. and Chrisman, C.L.: *Failure of exogenous gonadotrophin controlled ovulation to cause digit abnormalities in mice. Nature* **253**:631-632, 1975.
- Spindle, A.I. and Goldstein, L.S.: *Induced ovulation in mature mice and developmental capacity of the embryos in vitro. J. Reprod. Fert.* **44**:113-116, 1975.
- Sreenan, J.M. and Beehan, D.: *Egg transfer in the cow; pregnancy rate and egg survival. J. Reprod. Fert.* **41**:497-499, 1974.
- Takagi, N. and Sasaki, M.: *Digynic triploidy after superovulation in mice. Nature* **264**:278-281, 1976.
- Watson, J.G., Wright, R.W. Jr. and Chaykin, S.: *Collection and transfer of preimplantation mouse embryos. Biol. Reprod.* **17**:453-458, 1977.
- Wintenberger-Torres, S.: *Influence de l'équilibre hormonal sur la vitesse de segmentation des oeufs de brebis. C.r. Hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris* **259**:1660-1662, 1964.

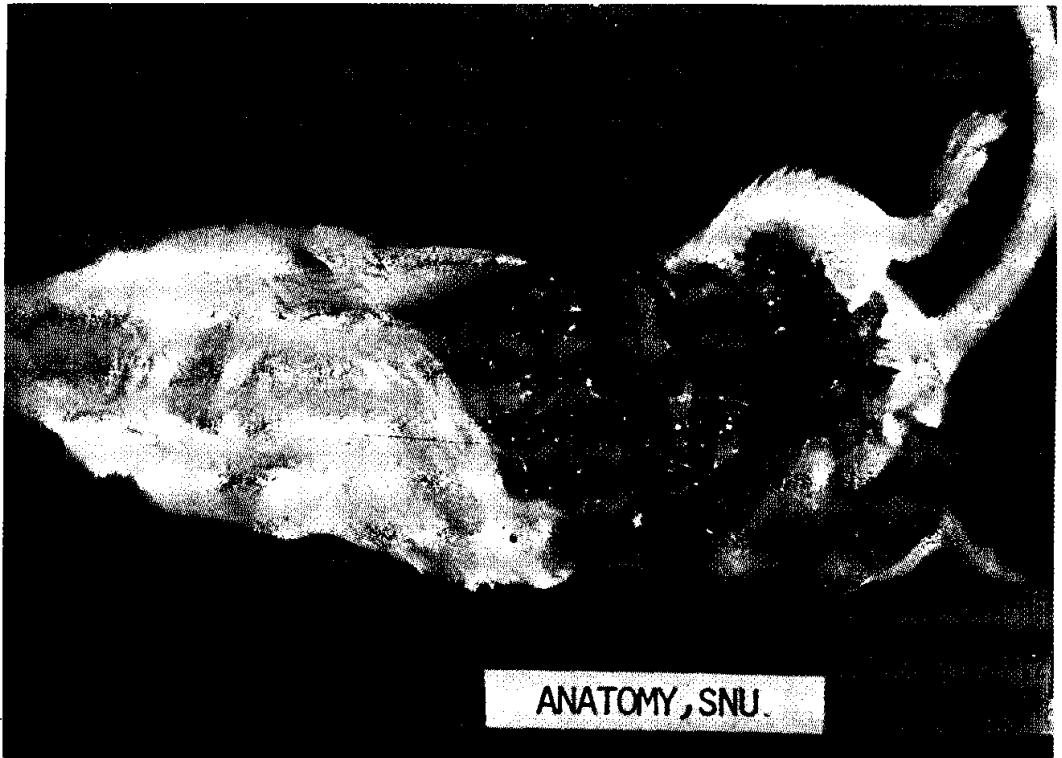


Fig. 1. Delivery in superovulated ICR mouse. Absorption site is located at left uterine horn (arrow).

Fig. 2. Delivery in ICR mouse after transplantation. Iris pigmentation appeared in C57BL/6J fetus (arrow).