

Principles and Application of Embryo Freezing & Embryo Transfer

2014. 01

Ji Seon Park
UNIST Central Research Facilities (UCRF)

❖ Organization of IVRC

IVRC (*In Vivo* Research Center)

Professor in charge

IACUC

Breeding Service

- Laboratory animal housing
- Cleaning maintenance
- Housing equipment management

Technical Service

- Basic experimental support & training
- Equipment support
- Disease model design
- Embryo storage & transfer

Administrative Service

- User training
- Center management
- Account service

❖ Application of Technical Support

1. 기술지원신청서 다운로드

- UCRF homepage : <http://ucrfeng.unist.ac.kr/main/main.php>

- 자료마당 → 자료실 → 기술지원 신청서 & 기술지원 신청서 별도 양식

- 기술지원신청서와 기술지원 신청서 별도 양식(UNIST IVRC ANI #4-1. 배아 동결 및 이식 실험)을 함께 작성하셔서 제출하셔야 합니다.

연구지원본부
UNIST Central Research Facilities

HOME LOGIN JOIN SITEMAP ENGLISH ADMIN

연구지원본부 소개 | 장비예약 | 실별소개 | **자료마당** | 세 소식

연구지원을 위한 **고가의 첨단 장비와 교육지원**

ANALYSIS LAB Electron Microscopy
ANALYSIS LAB Spectroscopic Analysis
ANALYSIS LAB Surface Analysis

자료마당
자료실
Q & A
관련 사이트
홈페이지 개선사항

공지사항
SDT 장비 이상으로 이용 불가 2014.01.06
장비 담당자 변경(BET, EA) 2016.06.04
MALDI-TOF 공지사항입니다. 2013.12.23
내부 Filter 교체 관련 통령실 .. 2013.12.17

자료실
TEM 교육자료입니다. 2014.01.09
Stereotaxic surgery system 교육 자료 2014.01.08
Gel documentation system 교육 2014.01.08

교육 및 세미나
Micro-Raman self-user 교육 공 2014.01.07
지 2014.01.07
HRXRD self-user 교육 2014.01.07

바로가기
장비예약신청
견학신청
나이장비예약원형
보유장비
IACUC
IRB

	기기분석실	xps 샘플의뢰서(xps sample submit form)	ggarbi73	2012-10-25	1231
24	기기분석실	FT-IR self-user 교육 자료	이혜나	2013-12-18	61
23	기기분석실	Rheometer 교육자료	이경매	2013-12-12	89
22	기기분석실	DMA 교육자료	이경매	2013-12-12	70
21	기기분석실	TGA, SDT 교육자료	이경매	2013-12-12	81
20	기기분석실	DSC 교육자료	이경매	2013-12-12	76
19	기기분석실	HPXRD 측정 및 분석방법	박지운	2013-10-11	276
18	생체효능검증센터	실험동물 구입 신청서		2013-09-09	255
17	전체	(최종) 이용수가표	유혜정	2013-08-16	498
16	생체효능검증센터	기술지원 신청서 별도 양식	이윤진	2013-07-10	339
15	생체효능검증센터	기술지원 신청서 & 비용 산정 목록	이윤진	2013-07-10	334
14	전체	분석실(102동 지하실험실) 출입신청서	유혜정	2013-05-20	488
13	생체효능검증센터	실험기기 사용 신청서	이지건	2013-05-09	369

❖ Application of Technical Support

2. 기술지원신청서 작성 (UNIST IVRC ANI #4-1. 배아 동결 및 이식 실험)

- 의뢰자의 서명은 필수 기입사항입니다.
- 품종의 유전자 정보 및 특성에 대해 상세히 기입해주시면 기술지원에 많은 도움이 됩니다.

UNIST IVRC ANI #4
No. _____

마우스 수정란 기탁 및 이식

1. 신청인

신청인	(서명)	내선/ CP.	/
소속 (학부/ lab.)		직위 (해당란에 V)	<input type="checkbox"/> 교수 <input type="checkbox"/> 연구원 <input type="checkbox"/> 대학원생 <input type="checkbox"/> 학부생
연구책임자 (담당교수)	(서명)	내선/ CP.	/
		E-mail	

2. 기탁 형태

기탁 형태

마우스 정보 및 유전자 정보

3. 동물종

동물구분	<input type="checkbox"/> Inbred <input type="checkbox"/> Outbred <input type="checkbox"/> conditional mutant <input type="checkbox"/> gene trap 마우스 <input type="checkbox"/> knock-in <input type="checkbox"/> knock-out <input type="checkbox"/> Transgenic <input type="checkbox"/> Spontaneous Mutant <input type="checkbox"/> Chemical-Induced Mutant <input type="checkbox"/> 기타 ()
미생물 상태 (기탁동물)	<input type="checkbox"/> 바이러스 <input type="checkbox"/> 세균 <input type="checkbox"/> 기생충 원양 미생물 영

* 국내 도입(가축방역(미생물) 이외 건물 내 동물, 방입, 급지

4. 유전자형

동물의 영칭	FVB/N-Tg(CMV-oe)1Cgn/J
유전자변형 형태	Transgenic, knock-out, knock-in, mutant, conditional knock-out, spontaneous mutant, chemical induced mutant 등
부모세대 유전자형	Female: 계통명 및 특징, 표현형 male: 계통명 및 특징, 표현형
유전자변형에 대한 자세한 기술	transgenic 마우스의 경우- -삽입 유전자에 관한 정보 (사용한 프로모터 및 발현유전자형) -Tg제자에 사용된 수정란이 유래한 마우스 계통정보 (C57BL/6)및것과 DBA1마우스의 수컷을 교배하여 얻은 수정란 이용) -Tg마우스 생성후의 계통유지 방법 및 지나온 세대수 (특정계통으로의 backcross, 형대교배 등)

UNIST In Vivo Research Center

UNIST IVRC ANI #4
No. _____

동물의 특징적 표현형	유전자 표현형(비만, 당뇨, 모세, 고혈압 등)
동물의 활용분야	

Genotyping 방법

5. 계통보존 방법

교배 방식	homo x hetero, hetero x hetero, hetero x wild 등 설계 기술
primer	UNIST Ulsan National Institute of Science and Technology
계통확인 방법	PCR조건 Reaction mixture PCR program PCR sizes

UNIST In Vivo Research Center

UNIST IVRC ANI #4
No. _____

성별 및 두수

6. 지원형태 및 수량

동물분양	성별	수량	주령	유전자형 (homo 또는 heterozygote)
	영컷			
	수컷			
수정란 동결보존	수량			

7. 미생물모니터링

미생물검사 시행유무 YES NO

운송방법 기술 *운송업체명, 운송방법(직접, 위탁)*

8. 기타 정보사항

기본 데이터 기술	구입처, 세대수, 구입 및 도입 기록 등
기타 특이사항 기술	

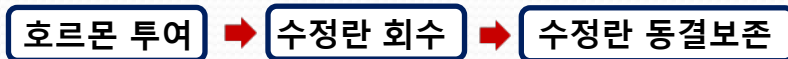
UNIST In Vivo Research Center

❖ Application of Technical Support

3. 의뢰자 상담 및 일정 협의 후 기술지원 진행

- 기술지원 신청서 작성이 처음이신 분들은 상담 시 담당자와 함께 작성하셔도 됩니다.

1) 배아 동결보존 : 1주 이상 소요



- 기술지원을 위한 충분한 동물이 준비되지 않은 경우, 동물 breeding을 거쳐 실험이 진행됩니다.

2) 배아 이식 : 14주 이상 소요



- 동결수정란의 마우스화를 위한 수정란 이식의 경우 수정란 해동 후 바로 이식이 가능합니다.

3) 동물 청정화 : 14주 이상 소요



❖ Procedure of Technical Support



정관수술



대리모 준비



호르몬 투여



Plug check

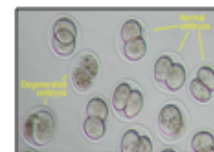


수정란 회수(난관)

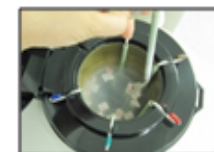
배아이식



수정란 이식



수정란 계동



수정란 동결보존

배아동결



산자 확인



미생물모니터링
(타기관 의뢰)

동물 청정화

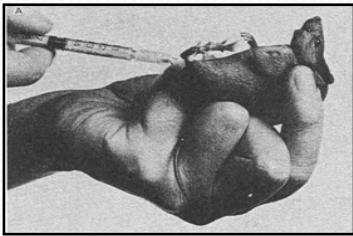
❖ Embryo Freezing & Embryo Transfer

실험동물 발생초기단계의 수정란을 동결수정란의 형태로 초저온상태(-196°C)에서 동결보존함으로써, 개체의 대사나 발생을 완전히 정지시킨 상태에서 유지보존하고, 필요 시 동결된 수정란을 융해하여 대리모에 이식함으로써 고유의 형질을 가진 동물을 복원 생산하는 일련의 실험동물 보존체계를 "Embryo Bank"라 하며, 각종 실험동물 보존 및 응용은 물론, 최근 다양하게 개발되는 유전자도입동물의 효과적인 개발 및 활용 등 다양하게 이용 됨.

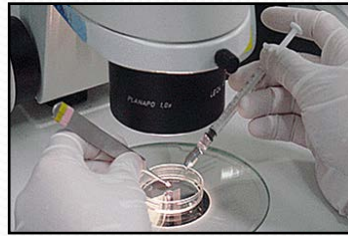
❖ Procedure of Embryo Freezing & Embryo Transfer

- ▶ 유전적 형질이나 특성의 변화방지 : 돌연변이, 유전적 부동(genetic drift)을 방지함.
- ▶ 사고방지 : 불의의 동물사망, 유전적 오염, 화재, 지진 등에 의한 사고에 대비함.
- ▶ 감염증에 의한 계통의 절멸방지 : 미생물학적 오염 및 각종 오염증 등의 질병 등에 대한 대비
- ▶ 사육관리의 효율화 : 장소, 노력, 경비 등의 절감효과.
- ▶ 수송의 간이화 : 동물의 이동 및 교류에 의한 물리적 및 미생물학적인 위험을 최소한으로 억제
- ▶ 오염동물의 청정화에의 응용
: 오염동물의 수정란을 청정동물에 이식하는 방법으로 오염 동물 청정화에 이용.
- ▶ 계획적인 동물생산에의 응용
: 수량, 출생일 등을 맞춰 생산할 수 있고 다품종 사용, 소량 사용 등에 대응 가능함.
- ▶ 실험재료로서의 초기배 사용 : Tg(transgenic), KO(knock-out), Chimera mouse 등의 제작에 응용됨.

❖ Procedure of Embryo Freezing



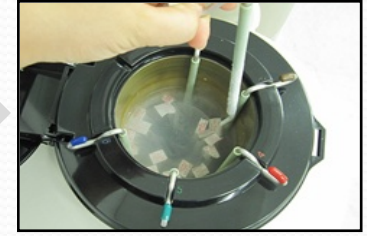
호르몬 투여를 통한 과배란 유도



교배후 1.5일령(2-cell) 암컷마우스의 난관에서 수정란 회수

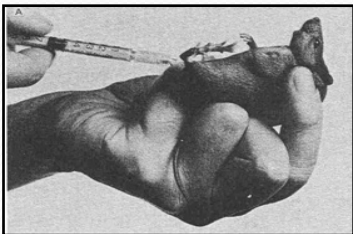


미수정란을 제외한 수정란 선별 후 medium 내에서 washing

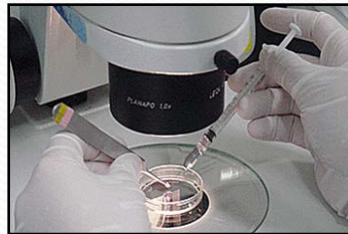


수정란 동결보존 (액체질소)

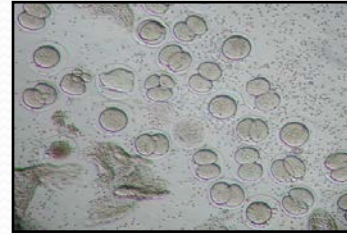
❖ Procedure of Embryo Transfer



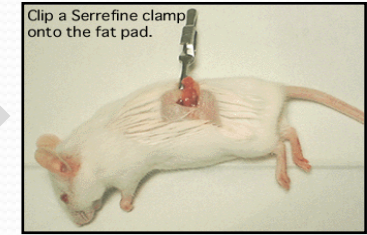
호르몬 투여를 통한 과배란 유도



교배후 1.5일령(2-cell) 암컷마우스의 난관에서 수정란 회수

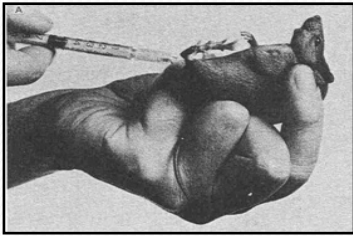


미수정란을 제외한 수정란 선별 후 medium 내에서 washing

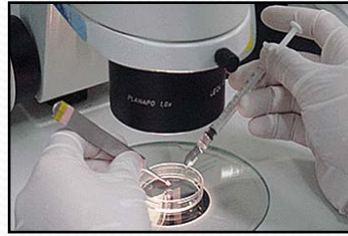


0.5일령 가임신 암컷 마우스의 난관에 수정란 이식

❖ Procedure of Mouse Clearing



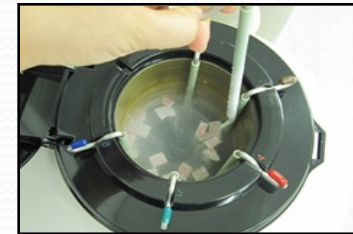
호르몬 투여를 통한 과배란 유도



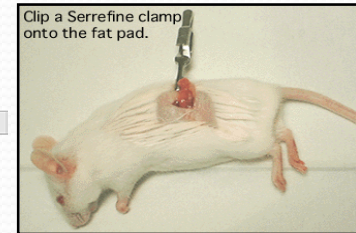
교배후 1.5일령(2-cell) 암컷마우스의 난관에서 수정란 회수



미수정란을 제외한 수정란 선별 후 medium 내에서 washing



수정란 동결보존 (액체질소)



0.5일령 가임신 암컷 마우스의 난관에 수정란 이식



이식 19~21일 후 산자 확인



미생물모니터링 (타기관 의뢰)

이유기 사육 후(3주령) 의뢰자에게 마우스 제공

- 본 기술지원은 수정란 회수를 위한 동물 준비 및 일정 조율을 위해 의뢰자와 충분한 상의 후 진행됩니다.

❖ Result Report (Embryo Freezing)

No. _____

기술지원 결과 보고서

1. 신청인

성명		내선/ C.P.	
소속 (학부/ lab.)		E-mail	
		연구책임자 (담당교수)	

2. 담당자

성명		Tel.	
		E-mail	
성명		Tel.	
		E-mail	

3. 기술지원 항목

지원형태	
------	--

4. 유전자형

동물의 명칭	
유전자변형 형태	
Female	
male	

5. 기술지원 결과

No.	과배란유도호르몬		수정란		동결보존			비고
	PMSG	HCG&matng	회수 일자	수정란 수	Vial No.	동결 수	Labeling	
1								
2								
3								

UNIST *In Vivo* Research Center 

의뢰자 정보 기입

담당자 정보 기입

기술지원 결과 내용 기입

No.	과배란유도호르몬		수정란		동결보존			비고
	PMSG	HCG&matng	회수 일자	수정란 수	Vial No.	동결 수	Labeling	
1								
2								
3								

- 의뢰자의 이해를 돕기 위해 기술지원 과정의 모든 내용을 기입하고 있습니다.

❖ Result Report (Embryo Freezing)

8. 기타 사항

결과 정보	<ul style="list-style-type: none"> • 동결 수정란 수 : • 동결 Vial 수 :
기타 사항	 <p>UNIST Ulsan National Institute of Science and Technology</p> <p>년 월 일</p> <p>담당자 : (서명)</p> <p>담당자 : (서명)</p>

UNIST In Vivo Research Center 

동결 수정란 수와 동결 vial 수 기입

기타 안내사항 기입

- 기술지원 종료 안내
- 기술지원 종료 후 사육중인 동물에 대한 관리 방향 제시
- 기술지원료 청구 안내

Ex>

'000' 품종의 배아동결보존 기술지원을 완료하였으며, 소동물 구역에 현재 사육하고 있는 '000' 동물을 모두 정리하도록 하겠습니다.

△△월 □□일부로 배아동결대한 비용(1개월 당 10,000원)이 청구됨을 알려드립니다.

추후, 동결보존 수정란의 마우스화를 원하시는 경우 기술지원신청서를 작성하여 제출해주시기 바랍니다.

❖ Result Report (Embryo Transfer & Mouse Clearing)

No. _____

기술지원 결과 보고서

1. 신청인

성명		내선/ C.P.	
		E-mail	
소속 (학부/ lab.)		연구책임자 (담당교수)	

2. 담당자

성명		Tel.	
		E-mail	
성명		Tel.	
		E-mail	

3. 기술지원 항목

지원형태	
------	--

4. 유전자형

동물의 명칭	
유전자변형 형태	
Female	
male	

5. 기술지원 결과

1) 수정란 이식

No.	과배란유도호르몬		수정란		수정란 이식			비고
	PMSG	HCG&matng	회수 일자	수정란 수	대리모 No.	수정란 이식 수	총 수정란 이식 수	
1								

UNIST
Ulsan National Institute of
Science and Technology

UNIST In Vivo Research Center 

의뢰자 정보 기입

담당자 정보 기입

기술지원 결과 내용 기입

No.	과배란유도호르몬		수정란		수정란 이식			비고
	PMSG	HCG&matng	회수 일자	수정란 수	대리모 No.	수정란 이식 수	총 수정란 이식 수	
1								


• 의뢰자의 이해를 돕기 위해 기술지원 과정의 모든 내용을 기입하고 있습니다.

❖ Result Report (Embryo Transfer & Mouse Clearing)

2) 산자

D.O.B	성별	두수	비고


8. 기타 사항

결과 정보	<ul style="list-style-type: none"> 수정란 이식 수 : 산자 수 :
기타 사항	 <p>UNIST Ulsan National Institute of Science and Technology</p>

년 월 일

담당자 : (서명)

담당자 : (서명)

UNIST In Vivo Research Center 

이식 후 태어난 산자에 대한 정보 기입(D.O.B / 성별 / 두수)

동결 수정란 수와 동결 vial 수 기입

기타 안내사항 기입

- 기술지원 종료 안내
- 기술지원 종료 후 사육중인 동물에 대한 관리 방향 제시
- 기술지원료 청구 안내

Ex>

'OOO' 품종의 배아이식(or동물청정화) 기술지원을 완료하였으며, 소동물 구역 mouse 1번 방으로 △△월 □□일 이동 예정입니다.

요청하신 두수 이외의 산자는 모두 정리하도록 하겠습니다.

△△월 □□일부로 배아이식(or동물청정화) 대한 비용(700,000원/품종)이 청구됨을 알려드립니다.