

(옆면)

(앞면)

120066-01

보안 과제(), 일반 과제(O) / 공개(), 비공개(O)발간등록번호(O)
농축산물안전유통소비기술개발사업 2021년도 최종보고서

발간등록번호

11-1543000-003622-01

우
량

한
우

암
컷
수
정
란

생
산
기
술

개
발

2021

농림식품기술기획평가원
농림축산식품부

우량 한우 암컷수정란 생산기술 개발

2021. 07. 30

주관연구기관

/ 농업회사법인(주)더킹콩

농림축산식품부
(전문기관)농림식품기술기획평가원

제출문

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “우량 한우 암컷수정란 생산기술 개발”(개발기간 : 2020.04.29 ~ 2021.04.28)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2021. 07. 30

주관연구기관명 : 농업회사법인(주)더킹콩 (대표자) 공일근



주관연구책임자 : 공 일 근

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

최종보고서										보안등급 일반[●], 보안[]	
중앙행정기관명		농림축산식품부			사업명		사업명		농축산물안전유통소비 기술개발사업		
전문기관명 (해당 시 작성)		농림식품기술기획평가원			내역사업명 (해당 시 작성)		역매칭 사업				
공고번호		제 농축2020-77호			총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성)						
					연구개발과제번호		120066-01				
기술 분류	국가과학기술 표준분류	LB06 동물자원과 학	100%			%					%
	농림식품과학기술분류	AB01 동물육종번 식	100%			%					%
총괄연구개발명 (해당 시 작성)		국문									
		영문									
연구개발과제명		국문		우량 한우 암컷 수정란 생산기술 개발							
		영문		Development of Preselected Female Embryo Production in bovine							
주관연구개발기관		기관명		농업회사법인(주)더킹콩			사업자등록번호		162-87-01138		
		주소		(52828) 경남 진주시 진주대로 501, 451동 243호			법인등록번호		191111-0080403		
연구책임자		성명		공 ○ 근			직위		대표이사		
		연락처		직장전화		055-0000-0000		휴대전화		010-0000-0000	
				전자우편		000000@gmail.com		국가연구자번호		1010-3886	
연구개발기간		전체		2020. 04. 29. - 2021. 04. 28. (12개월)							
연구개발비 (단위: 천원)		정부지원 연구개발비		기관부담 연구개발비		그 외 기관 등의 지원금		합계			연구개발 비의 지원금
		현금		현금		지방자치단체		기타		합계	
총계		200,000		200,000						400,000	
1단계		1년차		200,000		200,000				400,000	
공동연구개발기관 등 (해당 시 작성)		기관명		책임자		직위		휴대전화		전자우편	
										비고	
										역할	
										기관유형	
연구개발담당자 실무담당자		성명		이○림			직위		팀장		
		연락처		직장전화		070-0000-0000		휴대전화		010-0000-0000	
				전자우편		000000@hanmail.net		국가연구자번호		1112-7406	

이 최종보고서에 기재된 내용이 사실임을 확인하며, 만약 사실이 아닌 경우 관련 법령 및 규정에 따라 제재처분 등의 불이익도 감수하겠습니다.

2021년 07월 19일

연구책임자: 공 ○ 근



주관연구개발기관의 장: 농업회사법인(주)더킹콩 대표



농림축산식품부장관·농림식품기술기획평가원장 귀하

< 요약 문 >

※ 요약문은 5쪽 이내로 작성합니다.

사업명	농축산물안전유통소비기술개발사업			총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성)		
내역사업명 (해당 시 작성)	역매칭사업			연구개발과제번호		120066-01
기술 분류	국가과학기술 표준분류	LB06 동물자원과학	100%	%	%	%
	농림식품 과학기술분류	AB01 동물육종번식	100%	%	%	%
총괄연구개발명 (해당 시 작성)						
연구개발과제명 우량한우 암컷 수정란 생산기술 개발						
전체 연구개발기간 2020. 04. 29. - 2021. 04. 28. (12개월)						
총 연구개발비 총 400,000천원 (정부지원연구개발비: 200,000천원, 기관부담연구개발비: 200,000천원, 지방자치단체: 천원, 그 외 지원금: 천원)						
연구개발단계		기초[] 응용[●] 개발[] 기타(위 3가지에 해당되지 않는 경우)[]	기술성숙도 (해당 시 기재)		착수시점 기준() 종료시점 목표()	
연구개발과제 유형 (해당 시 작성)						
연구개발과제 특성 (해당 시 작성)						
연구개발 목표 및 내용	최종 목표	본 연구과제는 ‘우량한우 암컷 수정란 생산기술 개발’의 연구 주제로서 최종 목표는 “OPU유래 우량한우 암컷 수정란 대량 생산기술을 개발하여 고부가가치 한우산업 육성”으로서 지속 가능한 한우산업에 기여하고자 한다. 세부목표로는 ① 새로운 monoclonal antibody를 활용한 X-sperm 분리기술 적정화, ② 분리된 X-sperm 활용한 X-bearing embryo 생산위한 체외 배양기술 적정화, ③ 수정란이식에 활용할 수 있는 수준의 X-bearing embryo 생산효율 및 성비검정, ④ 이식된 수정란의 수태율 분석 및 차년도 분만율과 암컷 송아지 생산비율 추적 조사를 정하고 목표를 달성하여 산업화에 적용할 수 있는 기술 수준을 개발하고자 한다.				
	전체 내용	본 연구계획의 필요성은, ① 빠른 개량속도와 개량을 촉진시킬 수 있는 수정란이식, ② 우량한우의 집단화 구축을 위해서는 암송아지의 생산 필요, ③ 암송아지의 생산위해서는 암컷 정자의 분리기술의 개발과 OPU유래 수정란 생산 기술의 접목으로 효과적인 암컷 수정란 생산 기술 개발 필요, ④ 고부가가치 창출 가능한 한우산업 육성위해 암송아지의 생산 기술개발이 시급히 필요, ⑤ 한우개량의 패러다임의 변화로 가장 효율적이고 단기간에 개량효율을 극대화시킬 수 있는 우량 암송아지의 생산 기술의 필요성이 있다. 연구개발의 연구내용은 ① mABs 이용한 암컷 정자의 분리기술 적정화를 위한 mABs 적정농도, 노출시간, ② 생산된 X-bearing embryo 체외성숙, 수정, 배양기술의 적정화, 즉 이를 위해서 무혈청배지의 개발과 이의 적절한 활용으로 이식 가능한 수정란의 생산효율 개선, ③ X-bearing sperm과 OPU 유래 수정란 생산기술의 효과적인 접목으로 OPU유래 우량한우 암컷 수정란의 대량 생산 기술의 개발, ④ 생산된 X-bearing 수정란의 QC와 이식 및 임신감정과 분만 후 추적조사 등을 수행하고자 한다. 연구과제의 독창성은 암컷 수정란의 효과적인 생산, 약 85% 이상의 암컷 수정란의 생산기술 개발과 OPU유래 암컷 수정란의 생산에 접목하여 우량한우 암컷 송아지를 약 85% 이상 생산할 수 있는 기술개발이다. 이전의 mABs와의 큰 차이점은 암컷 정자 대부분을 분리하여 활용할 수 있는 점이 가장 큰 차이점이다. 과학/기술적 의미는 암컷 정자의 분리와 이를 이용한 수정란의 생산기술은 소(한우)뿐만 아니라 타 가축과 인간에게도 적용될 수 있는 기술로서 적용 가능성이 매우 높은 기술개발이다. 한우개량에 적용함으로써 단기간에 우량한우의 개량으로 한우산업의 경쟁력 강화에 의한 지속 가능				

한 한우산업을 육성하는데 크게 기여할 것이다.

연구개발성과

- 본 연구개발 성과는 실험실 수준의 논문 발표가 아니라 일선 한우 사육 농가에 즉시 직접적 적용을 목표로 한다. 암소 수정란 대량 생산·공급의 성공을 통하여, 당사로 부터 암컷 수정란을 공급받은 개별 한우 농가들은 우량한우 집단으로 개량시켜 고 부가가치를 창출하는 강소부농으로 발돋움할 것이며 이는 장기적으로 국가적인 한우산업의 육성에 크게 기여할 것이다. 이를 위하여 당사는 암컷 수정란 수요 확대에 적극적으로 대처하여 산업화를 성공시키고자 한다.
- 현재 OPU수정란 공급이 3,500개/년 규모에서 전체 공급 규모의 확대뿐만 아니라 암컷 수정란의 비중이 증가가 예상된다. 즉 연구종료 후 암송아지 생산비율이 약 85% 이상이 검정된 후에는 전국적인 수요는 폭발적으로 증가될 것으로 예상된다. 이러한 사업규모의 확대는 현재 매우 보수적인 계산이다.
- 생산된 우량한우의 암송아지들은 우량한우를 생산하는 번식우로 활용함으로써 개량 효율을 극대화시킬 수 있을 뿐만 아니라 지속적으로 활용 가능함으로써 농가의 한우 사육에 큰 기여가 예상된다. 또한 번식우는 번식우와 같이, 즉 번식우를 비육우와 같이 사육하지 않는 보다 더 체계적인 사양관리가 가능할 것이다.

연구개발성과 활용계획 및 기대 효과

- 도체우의 도체등급은 사육농가의 순이익에 직접적으로 관련이 있다. 높은 도체등급과 도체중의 확보는 궁극적으로 우수한 유전자원의 개량으로 얻어질 수 있는 것이다. 암컷 수정란 생산 기술을 완성하여 우량암소 수정란의 대량 생산 및 공급이 이루어지면 개별 한우 사육농가를 고부가가치 창출이 가능한 경쟁력 있는 한우농가로 육성할 수 있을 것이다. 이러한 우량한우의 확대보급으로 한우농가의 우량암소 집단화 구축과 이를 통한 순이익의 증가에 의한 경영 합리화로 한우 사육농가의 고부가가치 창출 가능한 한우산업으로 발전이 가능할 것이다. 즉 조기에 우량한우 암소 집단의 구축에 가장 효율적으로 대처가 가능하다.
- 우량한우 OPU 유래 성감별 수정란 생산 및 공급체계의 구축함으로써 친자감정이 가능한 정확한 수정란의 공급하여 우량한우의 암소 생산을 가속화시켜 한우산업의 경쟁력 확보가 가능해진다. 수정란이식은 선대 암, 수컷의 유전자원을 이용한 개량으로서 당대에 개량을 완성시킬 수 있는 기술로서 특히 암, 수의 친자감정이 그 무엇보다 중요한 요인이기 때문에 수정란이식에 의해 생산된 송아지는 반드시 친자검정이 가능해야 하며, 완전한 친자일치(아버지, 어머니와 송아지의 친자완전일치)에 의해 검정이 확인된 개체만이 등록을 시켜주는 법적, 제도적 개선이 필요하다. 이러한 친자완전일치에 의한 검정으로 한우개량의 정확도와 신뢰도를 높여 우량한우의 집단을 구축하여 지속 가능한 한우산업을 경영할 수 있을 것이다.
- 한우개량의 패러다임의 변화<기존 KPN정책 인공수정 방식 → OPU 수정란 이식 방식>를 가져와 우량한우의 조기 개량을 위한 개량기술로 OPU 유래 수정란이식의 활용 범위의 적극적 확대 가능할 것이다. 현재 국내의 수정란이식사업에서 우량한우의 대량생산을 위해서는 OPU유래 수정란이식이 가장 큰 비중을 가지고 개량기술로 패러다임의 변화를 가져오고 있다. 왜냐하면 정확한 어머니, 아버지의 친자검정이 가능하고, 태어날 송아지의 유전능력을 예측 가능함으로써 개량 방향을 계획하고 미리 결정하면서 진행시킬 수 있기 때문이다.
- 지속 가능한 한우산업으로 육성: 우량한우 및 초우량한우 유래 수정란이식으로 생산된 암송아지의 유전능력은 기존 한우보다 월등히 높은 도체등급 및 도체중을 얻을 수 있게 된다. 앞서 제시한 OPU유래 수정란이식을 통해 생산한 한우의 도체등급의 결과에서 검증된 것과 같이 이러한 후보축의 확보함으로써 최종적으로 각 한우 농가에 고수익을 보장할 수 있는 지속 가능한 한우산업 육성이 가능하다.

연구개발성과의 비공개여부 및 사유

연구개발성과의 등록·기탁 건수	논문	특허	보고서 원문	연구 시설·장비	기술 요약 정보	소프트웨어	표준	생명자원		화합물	신품종	
								생명 정보	생물 자원		정보	실물
연구시설·장비 종합정보시스템 등록 현황	구입 기관	연구시설·장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	ZEUS 등록번호			
국문핵심어 (5개 이내)	우량한우		암컷 수정란		성 분리		한우개량		경쟁력			
영문핵심어 (5개 이내)	Elite Hanwoo		Female embryo		Sexing		Hanwoo improvement		Competitiveness			

< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요
2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행내용
3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도
4. 목표 미달 시 원인분석(해당 시 작성)

별첨 자료 (초록, 자체평가의건서 등)

1. 연구개발과제의 개요

1-1. 연구개발의 개요

■ **개량 기간 단축의 필요성:** 기존 한우 사육농가의 경쟁력은 ① 우수한 정액 확보 및 ② 사양관리를 통한 우량한우 생산을 기반으로 한다. 하지만 ① 수컷만의 유전능력을 이용한 개량에는 최소 6세대 이상의 개량 요구되고, 약 20년 이상의 긴 기간 요구된다. ② 사양관리를 통한 우량한우 생산은 개체별 유전적 한계점이 명확하다. 이러한 단점들로 인하여 한우 번식우 사육의 일반적인 방식인 적은 수의 세대에 산자를 생산하고 도태시키는 체계 아래에서는 일선 한우 사육농사가 가시적인 개량효과를 얻고, 나아가 지속적인 개량을 수행에 있어 한계가 있다.

■ **개량을 촉진시킬 수 있는 수정란 이식:** 상기 한계를 극복하고 보다 효율적인 한우 개량을 위하여 우수한 정액과 함께 우량암소로부터 난자를 확보하여 수정란이식을 실시함으로써 단 1세대 만에 선대의 유전적 한계를 극복시켜 단기간 내에 개량을 완성할 수 있는 수정란 이식 기술적용이 필요하다.

■ **우량한우 분포도:** 전국의 우량한우, 초우량한우의 도별 분포비율을 살펴보면 개량의 필요성을 확인할 수 있다(표 1). 현재('20. 02) 우리나라의 우량한우는 총 8,690두이며, 그중 21.4%(1,860두)가 경남에 사육 중이다. 경북에는 20.8%(1,810두)를 확보하고 있으며 경남과 더불어 가장 많은 우량한우를 확보하고 있다. 그러나 경북은 경남보다 2배(382,044두) 이상의 암소를 보유하고 있기에 실제 경남의 우량한우 확보비율은 경북의 2배 이상에 해당한다. 즉 지난 10여년 간 경상대학교에서 경남/경북 지역을 중심으로 OPU유래 수정란 이식을 보급한 결과로 경남/경북 지역 우량한우의 비율이 극명하게 늘어난 효과 확인할 수 있다.

표 1. 전국 우량한우, 초우량한우의 도별 분포도

도	시군구 수	한우	암소 두수	수소 두수	우량 한우 (%)	초우량 한우 (%)	지역별 우량암소 비율(%)	
		(총 두수)					우량 암소	초우량 한우
경기	22개	234,542	134,163	100,379	714 (8.2)	8 (6.8)	0.53%	0.006%
강원	17개	221,195	142,381	78,814	604 (6.9)	4 (3.4)	0.42%	0.003%
충북	11개	206,351	145,658	60,693	400 (4.6)	6 (5.1)	0.27%	0.004%
충남	14개	363,128	249,421	113,707	489 (5.6)	6 (5.1)	0.20%	0.002%
전북	13개	375,496	243,091	132,405	1,228 (14.1)	18 (15.4)	0.51%	0.007%
전남	21개	516,991	366,692	150,299	1,174 (13.5)	15 (12.8)	0.32%	0.004%
경북	22개	653,466	382,044	271,422	1,810 (20.8)	24 (20.5)	0.47%	0.006%
경남	18개	285,313	190,670	94,643	1,860 (21.4)	30 (25.6)	0.98%	0.016%
제주	2개	33,528	22,124	11,404	66 (0.8)	0 (0.00)	0.30%	0.000%
기타(광역시)	8개	97,605	59,989	37,616	345 (4.0)	6 (5.1)	0.58%	0.010%
전국	148개	2,987,615	1,936,233	1,051,382	8,690 (100)	117	0.45%	0.006%

※ 우량한우: 열등등록된 후대축(거세우)에서 도체성적결과 육질등급 1++B, 등심단면적 110㎠ 이상 받은 개체의 살아있는 어미소 기준/20.02기준

※ 한우 두수 정보는 쇠고기이력제 / 2020.01월 기준

* 초우량 암소 기준: 우량암소의 기준과 동일함데 추가로 2두 이상의 출하도축등급, 모든 송아지의 치자감정결과

주1) 본 자료는 축산물이력법에 의해 수집된 정보를 기반으로 작성

주2) 통계법 시행령 제 2조 제 4항에서 정의하는 법 적용 대상이 아닌 수량적 정보에 해당됩니다.

주3) 기준일: 매월 말일

※ 초우량 암소 기준은 2020.02월 기준(광역시: 인천-강화군 3두, 울산-울주군 3두)

■ **초우량한우 분포도:** 초우량한우의 경우 전국의 총 117두 중에서 경남은 25.6%(30두)를 확보하고 있어 경북의 20.5%(24두)보다 높은 비율이며, 총 암소 두수를 대비하면 2배 이상의 초우량한우를 경남이 확보하고 있는 것으로서 경남이 통계적으로 유의하게 높은 비율의 우량한우와 초우량한우의 비율을 보유하고 있는 것을 확인할 수 있다. 경남 지역을 중심으로 우량한우를 공란우로 활용한 OPU유래 수정란이식이 이루어지고 그 결과로써 생산된 송아지의 친자완전일치에 의한 등록으로 우량한우와 초우량한우의 후보가 급격하게 상승하는 영향이 큰 것으로 판단된다. 하지만 타 도에서도 경남보다 월등히 더 많은 예산을 투입하면서 한우개량을 위해 수정란이식을 실시했으면서도 이러한 우량한우와 초우량한우의 비율이 높아지지 않는 이유는 심각하게 고민해 볼 문제이다.

■ **암송아지 생산의 필요성 :** 2019년 축산물 가격 동향에 따르면 암소와 수소의 평균 거래 가격 차이는 약 55만 원으로 암, 수 생산에 따른 수익 차이가 확연하다(그림 1). 또한 성 감별 수정란을 생산할 경우 우량한우 암소집단을 보다 효율적이고 빠르게 구축할 수 있으며, 한우개량도 효율적으로 진행할 수 있다. 따라서 한우 사육농가의 소득증대 및 수정란이식의 산업화·대중화위하여, 우량한우 암컷수정란 생산기술 개발은 최우선 과제라고 할 수 있다.



그림 1. 2019년 암, 수소에 따른 축산물 가격 거래 동향. (자료: 농업관측본부)

■ **기술적용 한계:** 현재 인공수정(AI) 및 수정란 이식을 통한 임신 및 분만율은 50% 내외이며, 이 중 평균 약 50% 정도만이 암송아지를 생산하고 있는 실정이다. 이를 극복하기 위해 Flow Cytometry를 이용한 성별(X,Y) 정자 분리를 통해 인공수정 및 수정란 생산을 이용하고 있다. 하지만 Flow Cytometry 기술은 정자분리 후 생존율 및 침체손상 등의 문제로 실제 산업화에 적용하지 못하고 있다. 즉 Flow cytometry system을 이용한 암컷 정자분리 정확도는 약 92% 정도이지만 분리된 정자의 생존율, 활력도 및 침체 정상성 등에서 한계를 보이고 있어 실제 인공수정과 체외수정란 생산에서 생산효율이 매우 낮고 비효율적이라 산업화기술로 적용되지 못하고 있는 실정이다.

■ **항체-항원반응기술 이용한 정자분리기술 개발:** 현재 국내·외에서 개발되고 있는 항원-항체 반응을 이용한 정자의 성 분리 기술을 이용하면 보다 효율적인 성감별 수정란 생산이 가능할 것이다. 국내에서는 흘맘(누리사이언스)이라는 상품명으로 개발되었으나 인공수정 및 체외수정란 생산에 적용한 결과 그 성적은 매우 편차가 심했고 현재 그 활용도가 높지 않고 산업화에 크게 성공하지 못하고 있다. 본 연구팀에서도 항원-항체반응 기술을 이용하여 OPU유래 수정란의 생산기술을 정립하고 논문을 발표하였으나, 정자처리 과정에서 monoclonal antibody (mABs)의 활력도, 정자분리 효율 및 항체 자체의 variation 등이 큰

문제로 제시되어 실제 산업화 적용에 한계점이 뚜렷하다는 점을 확인하였다.

■ **새로운 mABs 개발과 정자분리 및 수정란생산기술 개발 필요성:** 국내에서 개발된 mABs를 이용하여 실제 수정란 생산을 하기 가장 어려운 점은 ① mABs 역가가 batch에 따른 변이가 심하여 일정한 기준을 잡기 힘들다는 것이다. ② 정자의 분리 효율이 전체 정자의 10% 정도로서 분리된 정자의 회수율이 너무 낮다는 점 또한 실용화에 큰 난관이였다(표 2). 즉 이러한 문제를 극복하고 효율적인 암컷 정자의 분리와 분리된 정자의 회수율을 개선하여 우량한우 개량을 위한 OPU유래 수정란생산에 적용할 수 있는 기술개발 및 현장 적용의 필요성이 시급하다.

표 2. Monoclonal antibody 특성 비교분석

항목	기존	New	비고
X-sperm 분리효율 (총 정자 대비)	약 10%	약 50%	. 총 정자 100에서 50% 암컷 정자 . 기존 mABs: 총 정자의 약 10% 회수 . New mABs: 총 정자의 약 50% 회수 가능
mABs 효능 (균질성)	변이 심함	일정함	. 기존 mABs: Batch별 mABs 활성 차이 너무 심하여 균일한 결과 도출에 한계
X-bearing embryo 생산 효율	약 80%	약 85%	. X-embryo 생산효율은 거의 유사함
분리된 정자의 생존성	약 80% 이상	약 80% 이상	. 분리 후 정자의 생존을 거의 유사함
사용 편리성	중	상	. mABs 처리시간 동안 처리방법의 차이에서 편리성이 새로운 mABs 훨씬 용이함

1-2. 연구개발 대상의 국내·외 현황

■ **OPU 수정란 생산기술의 국내·외 현황:** 현재까지 우량한우 생산을 위한 OPU유래 수정란 생산 및 성감별 수정란 생산에 관한 국내·외 연구 현황은 다음과 같다.

- 국내 기술 개발 현황

- : 초음파 기술을 통한 난포란 채취 기본기술 개발 (1997년)
- : 젖소에 한 초음파 난자채취기를 이용한 미성숙난자 채란에 관한 연구 (2001년)
- : 소의 성 및 품종 판별용 조성물 및 이를 이용한 판별방법 (특허-출원인 대한민국, 2019년)
- : 단일항체를 이용한 소 체외정자감별에 관한 연구 (2019년)
- : 국내 성감별 정자의 경우 한국섹싱바이오텍에서 기술 확보 및 상용화를 하고 있으며,
- : 누리사이언스 사에서 항원-항체 반응을 이용한 정자 성감별 기술을 개발/시판하고 있음
- : 성감별 정자 이용한 OPU유래 수정란 생산기술을 경상대학교가 선도적으로 진행하고 있음

- 국외 기술개발 현황

- : 초음파 가이드를 이용한 질 경유 OPU기술 개발 (1988년)
- : 체내난자 흡입압에 따른 OPU유래 난자 및 수정란의 발달을 연구 (1992년)
- : OPU를 통한 소 체외수정란 생산에 필요한 난자의 질에 미치는 영향에 관한 연구 (2000년)
- : FSH, LH 처리를 통한 OPU 수정란 생산에 관한 연구 (2002년)
- : 반복적인 OPU를 통한 난소 내 난자채취 방법 향상을 위한 연구 (2005년)
- : 국외의 경우 Flow cytometry를 이용한 성감별 정자 개발 (1967년) 이후 미국 XY Inc, Sexing Technology 사에 의해 성감별 정자 생산에 대한 연구가 이루어지고 있으나, 아직

까지 체내유래 난자에 대한 수정란 생산효율이 미비하여 관련기술을 개발 중에 있다.

■ **도축우 등급 개선효과:** 고부가가치 창출을 위한 우량한우 암컷 수정란 생산을 위해서는 기존 개량방식인 인공수정 (AI)을 통한 한우 생산보다 OPU유래 수정란이식에 의한 한우 생산이 훨씬 더 효과적인 접근방법이다. 아래 그림 2와 같이 '16-'19년 까지의 전국 AI유래 도축한우와 OPU 수정란이식 유래 도축한우 총 1082두의 도체등급을 비교해본 결과에서 OPU 유래 수정란이식에서 **1++ 등급 출현율이 3배 이상 증가**(24.5%p 향상, AI유래 vs. OPU 수정란이식 = 10.6% vs. 35.1%)하였고, 1+ 등급 출현율은 8.9%p 향상 (31.4% vs. 40.3%)하여 OPU 수정란이식 유래 한우 도체등급의 경우 기존의 인공수정 방식과 비교하여 1++, 1+ 합계(1+등급 이상 출현율)에서 33.4%p 향상 (42.0% vs. 75.4%)되었음을 확인할 수 있다.

한우 사육농가에서 도체등급 1등급이란 손익이 없는 등급으로서 반드시 1+ 및 1++ 등급 이상을 받아야 실질적인 이익을 얻을 수 있다. 따라서 기존 인공수정 개량 결과와 비교하여 OPU 유래 수정란이식으로 생산된 도축우에서 1+ 등급 이상 출현율이 평균 33.4%p 이상의 향상된 결과를 얻을 수 있다는 것은 한우 사육 농가 소득증대에 결정적으로 기여할 수 있다는 것을 의미한다. 즉, 한우사육에 의한 고부가가치를 창출하기 위해서는 OPU 유래 수정란 이식 방식으로 한우집단의 개량이 반드시 필요하다는 것을 단적으로 보여주고 있는 것이다.

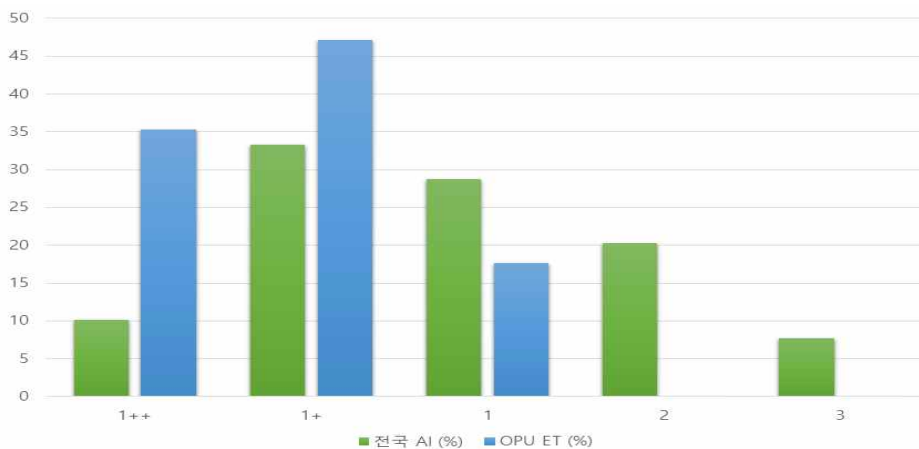


그림 2. OPU(전체) vs. 전국 AI(전체) 등급 출현율 비교 (2016-2019).

■ 또한 연도별 도체등급의 발현율을 보면 OPU유래 수정란 이식에서 1++ 출현율이 31.8%(2016년)에서 40.8%(2019년)으로 점진적으로 증가하고 있다. 이는 OPU유래 수정란 생산 시 우량한우를 공란우를 선발하는 엄격한 선발기준을 적용함으로써 그 후대에 얻어지는 송아지의 능력도 높게 나타남을 정확하게 보여주고 있다. 즉 엄격한 공란우의 선발기준으로 최고수준의 우량한우를 공란우로 선발 활용함으로써 개량하고자 하는 농가에서 보다 더 적극적인 자세로 한우개량에 임함으로써 대리모의 관리와 관심을 가짐으로써 실제 수정란이식에 긍정적인 효과가 매우 클 것이다. 공란우의 개체번호만으로 알면 일선 한우 사육 농가에서도 온라인을 통해 그 개체의 후대성적 등 유전적 능력을 실시간으로 확인하고 검토할 수 있기때문에 수정란의 수요, 즉 이식하고자 하는 욕구가 폭발적으로 증가하게 될 것이다.

■ **육질과 육량 등급에 따른 가격 차이 분석:** 2019년 축산품질평가원 통계에 따라 도체등급과 육량에 따른 예상수입을 시뮬레이션을 해보면 도체등급과 도체중의 중요성을 쉽게 확인할 수 있다(표 3). 육질등급 1등급 차이(1++ vs. 1+)에 따라 약 75만원, 2등급 차이(1++ vs.

1)는 216만원의 수익 차이가 발생한다. 도체중(50 kg)에 따라서는 약 100만 원 이상의 차이를 보이는 것을 확인할 수 있다. 따라서 한우농가에서는 육질등급과 도체중의 한우를 생산해야만 충분한 수익을 얻을 수 있다. OPU유래 수정란이식할 경우 높은 육질등급과 도체중의 출현을 기대할 수 있어 한우농가에서는 추가 고수익을 얻게 된다.

■ **암컷 수정란 생산기술 개발 필요성:** 상기 열거한 내용을 통하여 우리나라 한우산업을 고부가가치 산업으로 만들기 위해서는 개량의 중요성이 그 무엇보다 중요하다는 점을 확인하였다. 또한 한우개량을 ① 가장 단시간 내에 ② 효과적으로 ③ 집단 개량을 이룩할 수 있는 기술은 OPU 수정란이식기술이라는 것 역시 확인할 수 있었다. 특히 암컷 송아지의 선택적인 생산을 위하여 새로운 개념의 수정란 생산기술인 “성 감별 수정란 생산기술”의 개발 및 상용화가 시급하다.

표 3. 육질과 육량 등급에 따른 총 수익 및 순수익 차이

육질 등급	도체중 (Kg)	가격 (원)/Kg	총 수입 (원/US\$)	순수익 차이 (원/US\$)	도체중 (Kg)	육질 등급	가격 (원)/Kg	총 수입 (원/US\$)	순수익 차이 (원/US\$)
1++	500	26,432	13,216,000 / 11,727	-	500	1++	26,432	13,216,000 / 11,727	-
1+	500	23,326	11,663,000 / 10,349	-1,553,000 / 1,378	450	1++	26,432	11,894,400 / 10,554	- 1,321,600 / 1,173
1	500	20,480	10,240,000 / 9,086	-2,976,000 / 2,641	400	1++	26,432	10,572,800 / 9,381	- 2,643,200 / 2,346
2	500	14,465	7,232,500 / 5,310	-5,983,500 / 5,310	350	1++	26,432	9,251,200 / 8,209	- 3,964,800 / 3,518
3	500	9,341	4,670,500 / 4,114	-8,545,500 / 7,583	300	1++	26,432	7,929,600 / 7,036	- 5,286,400 / 4,691

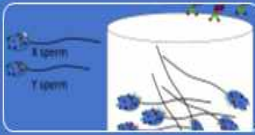
- 축산물품질평가원 도매시장 등급별 가격동향 (21.05.16)

■ 궁극적으로 성감별 수정란 생산 및 OPU유래 수정란 생산기술 시스템의 완성은 우리나라 한우농가에 최고의 유전능력과 최상의 품질을 가진 성감별 수정란을 제공함으로써 우량한우 집단을 조기에 구축하여 한우산업을 지속 가능한 고부가가치 산업으로 육성하는 주춧돌이 될 것이다. 이는 ① 개별 한우농가의 소득을 증대시킬 뿐만 아니라 ② 한우산업 자체의 체질을 강화시킴으로서 국가적으로 한우산업의 경쟁력을 높일 수 있고, 쇠고기 시장 개방에 능동적으로 대처할 수 있는 경쟁력을 확보할 수 있을 것이다.

1-3. 연구개발 추진전략


- 효율적인 성감별 수정란의 생산을 위해서는 다양한 기술이 요구되고 현재 시스템이 완성된 기반기술 위에서 필요한 기술들을 연구 개발하여 산업화 적용이 충분히 가능한 수준까지 효율을 높일 수 있는 기술을 개발하고자 한다.
- 본 연구의 최종목표를 달성하기 위해서는 가용할 수 있는 방법을 총동원하고 효과적으로 운용할 필요성이 있다. 본 회사는 국립대학교 교원 실험실 창업 벤처기업으로서 당사 소속 연구원의 교내실험공간 사용, 교내 연구인력과의 학술적 교류 등 산학(産-學)협력의 장점을 최대한으로 이끌어내 효율성을 최대치로 높일 수 있을 것으로 기대된다.
- 성감별 수정란을 생산하기 위한 mABs 공급은 Thailand의 국제공동연구자인 Prof. Rangsun Parnpai (Suranaree University of Technology)로 부처 이루어지고 있고, 이를 이용한 정자의 분리방법의 기술개발, 분리된 정자를 이용한 체외수정 및 배양기술은 본 연구팀에서 수행한다.

- 생산된 수정란의 이식은 지금까지 한우개량을 위해 본 연구팀에서 생산 공급되고 있는 OPU유래 수정란을 현장에서 이식을 수행하고 있는 단위지자체 3곳(경주시, 김해시, 밀양시)에서 본 연구를 위해 약 200두 정도의 대리모에 성감별 암컷 OPU 수정란을 이식을 수행할 예정이다.
- 이를 위해 우량한우를 공란우의 선발조건에 부합하는 총 4두를 선발하여 본 연구에 활용하고자 한다. 즉 단위지자체와 축협에서 확보하고 있는 후대검정의 테이타를 기반으로 후보공란우를 선발하여 혈액검사에 의한 질병검사를 실시하여 통과된 개체에 대하여 번식기관의 정상성, BCS 등을 현장검정으로 최종 선발하는 것으로 계획하였다.
- 이러한 연구 세부목표를 달성하기 위해 수행할 연구내용에서 가장 적합한 연구방법들을 정리하면 아래와 같이 정리할 수 있다(그림 3).




새로운 monoclonal antibody를 활용한 X-sperm 분리기술의 적정화 기술 개발

- mABs 처리 적정화(수컷 정자와 mABs 응집유도 및 보체에 의한 사멸위한 적정화 조건)
- Complement 처리에 의한 숫 정자의 사멸 및 암컷 정자만을 분리 방법 정립(약 50%의 암 정자만을 분리할 수 있는 기술개발)




분리된 X-sperm 활용한 X-bearing embryo 생산위한 체외배양기술 적정화 기술 개발

- 분리된 암 정자를 이용한 체외수정 및 체외배양 시스템 구축
- No serum culture media 활용한 체외배양체계 적용(SOF basic media에 ITS 첨가한 무혈청 배지 활용)



수정란이식에 활용할 수 있는 수준의 X-bearing embryo 생산효율 및 성비 검정 방법 개발

- Sexing 분석위한 primer, Blastocyst로 부터 DNA prep., PCR condition 정립
- 일반 대조군 수정란과 성감별 수정란의 성비 분석(약 85% 이상의 암컷 수정란 생산 효율 기대)



이식된 수정란의 수태율 분석 및 차년도 분만율과 암컷 송아지 생산 비율 추적 조사 실시

- 대리모 선발(BCS 3±0.5의 대리모 선발 활용), 성감별 수정란의 대리모 이식(3개 시의 약 200두 대리모에 이식 실시)
- 임신율 분석(이식 후 약 2-3개월 차에 임신감정 실시), 분만율 추적 조사(차년도 분만하는 모든 송아지의 성비 조사)

그림 3. 연구내용에 따른 세부 연구방법.

2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행 내용

2-1. 최종목표

- OPU유래 우량한우 암컷 수정란 대량 생산기술 개발하여 고부가가치 한우산업 육성

2-2. 세부목표

- ① 새로운 monoclonal antibody를 활용한 X-sperm 분리기술의 적정화
 - 일반 동결정액에서 암컷과 숫컷 정자의 비율이 약 50% 정도로 예상됨. 이들 50% 암컷 정자 중에서 약 85% 이상을 분리하여 체외수정란 생산하여 활용하고자 한다.
- ② 분리된 X-sperm 활용한 X-bearing embryo 생산위한 체외배양기술 적정화
 - 일반 체외수정란의 배반포 발달율과 유사한 발달율인 약 40% 이식 가능한 수정란의 생산 효율을 확보하고자 한다.
- ③ 수정란이식에 활용할 수 있는 수준의 X-bearing embryo 생산효율 및 성비검정
 - 분리된 암컷 정자를 이용한 체외수정란 암컷 비율이 약 85% 이상 생산효율을 확보하고자 한다.
- ④ 이식된 수정란의 수태율 분석 및 차년도 분만율과 암컷 송아지 생산 비율 추적 조사
 - 총 200개의 암컷 수정란을 이식하여 연구기간 내에 임신율을 검정하고, 연구종료 후(2021년)에 분만한 송아지의 성비를 검정하고자 한다. 이때 본 계획서의 약 85% 암송아지 생산 가능성을 최종 검정하여 사업 확대에 적용하고자 한다.

: 위 세부목표는 각각의 단계별 연구 개발 내용과 연구방법에 구체적으로 제시하였다.

: 세부 목표 중 ①, ②, ③은 지속적으로 연구를 진행 중으로 연구결과를 도출하고 있는 중임.

: 그러나 세부 목표 중 ④는 이식 후 수태율까지 1년 연구기간동안 결과 도출이 가능하고, 이식 후 산자 생산 및 이들의 성비 검정은 연구기간이 종료된 후에 추적 조사를 실시하여 확보할 예정임. 즉 생산된 송아지의 성비 중 암송아지의 비율이 본래 사업계획서와 같이 85% 이상의 성적을 얻는 것은 본 연구과제의 성공뿐만 아니라 사업의 확대, 전국적인 공급 확대에 필수적으로 요구되는 것이라 가장 중요한 결과로 판단됨.

2-3. 수행 과정 및 수행 내용

① 새로운 monoclonal antibody를 활용한 X-sperm 분리기술의 적정화

- 아래의 그림 4, 5와 같이 Y specific monoclonal antibody를 이용하여 Y-sperm 만을 분리 기술의 개발을 진행하고자 한다.
- Y-sperm과 결합하는 monoclonal antibody를 처리하여 Y-sperm들만 응집을 유도하여 본 mABs에 적합한 complement를 처리하여 Y-sperm 만을 사멸하는 방법으로 X-sperm 분리하는 기술을 정립하고자 한다.
- 이러한 방법을 활용함으로써 X-sperm 분리에 효율성, 즉 분리할 수 있는 X-sperm 총량(정자 수)를 최대치로 높일 수 있음으로써 향후 이를 이용한 체외수정과정에 효율적으로 활용할 수 있을 것이다.

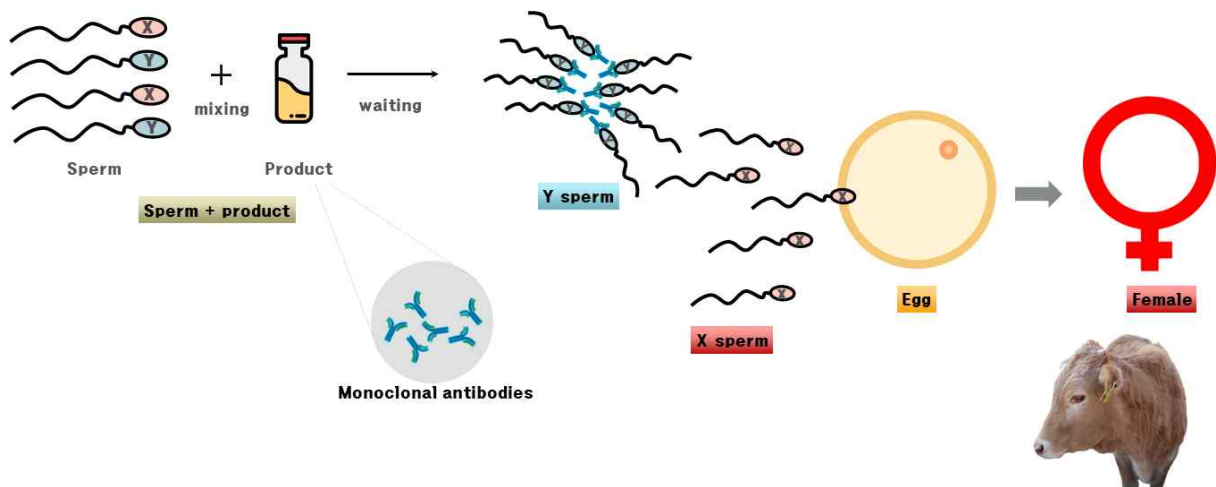


그림 4. Monoclonal antibody 이용한 정자분리 및 암컷 수정란 생산기술 모식도.

- Y-specific mABs 처리 시 단지 Y-sperm 두부에만 반응하는 mABs를 확인할 수 있고, 이러한 Y-specific mABs를 이용하여 Y-sperm 응집을 유도하여 처리한다.

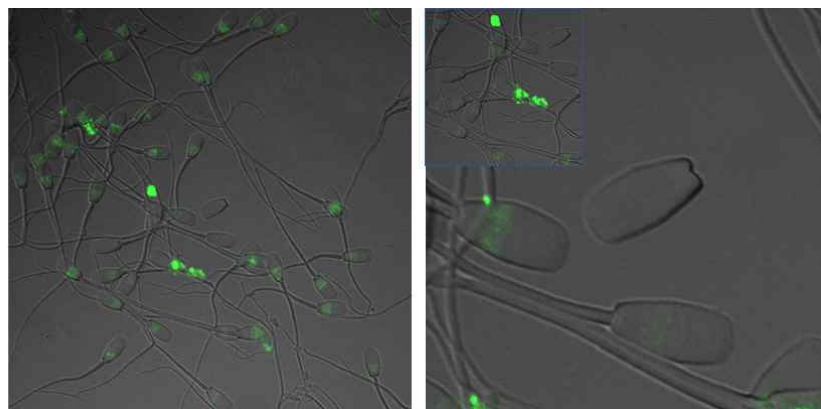


그림 5. Y-sperm에 대한 Monoclonal antibody 반응.

- mABs의 적정 농도와 노출시간 정립(그림 6)
 - : mABs 처리 시 Y-sperm과의 최적의 응집을 유도하면서 수정란의 이후 발달에 가장 적합한 농도와 노출시간의 적정화는 성감별 수정란의 생산에 가장 중요한 요인이다.
 - : 현재까지의 예비실험에서 다양한 농도의 mABs를 처리하여 최적의 농도로 3.5 μg mABs 농도로 판단된다.
 - : 이러한 농도에서 정자의 응집과 응집 후 complement 처리에 따른 정자의 사멸을 유도할 수 있는 효과적인 응집의 유도에는 다양한 시간을 처리한 결과 mABs에서 약 30분간의 처리시간이 수컷 정자의 사멸에 가장 효율적이다.
 - : 응집된 정자에 complement 처리시간, 즉 응집된 정자를 사멸시킬 수 있는 보체의 처리시간은 다양하게 처리한 결과 약 30분간 처리시간이 Y-sperm 사멸에 가장 효과적으로 판단되었다. 이러한 결과는 이후 수정율과 배반포 발달율에서 가장 효율적인 결과를 얻을 수 있는 조건이어야 할 것이다(그림 7).

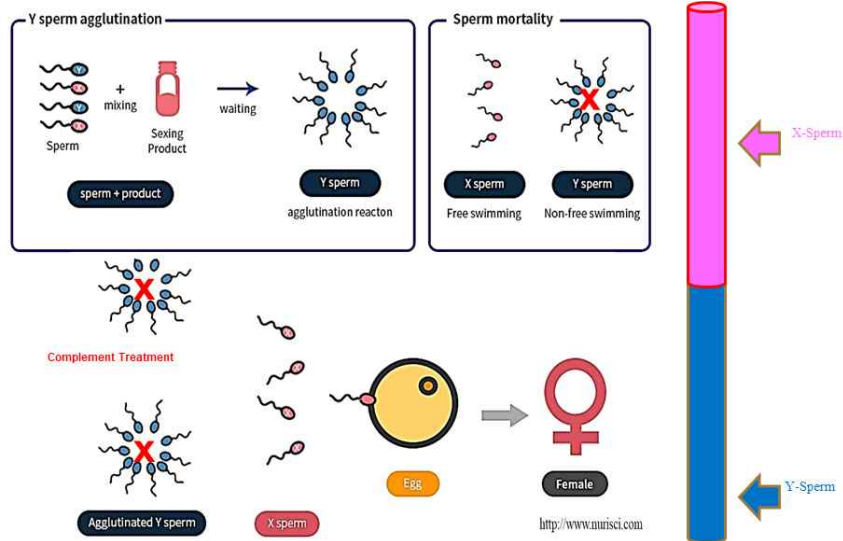


그림 6. mABs 처리 후 정자의 응집유도 및 사멸 처리 방법.

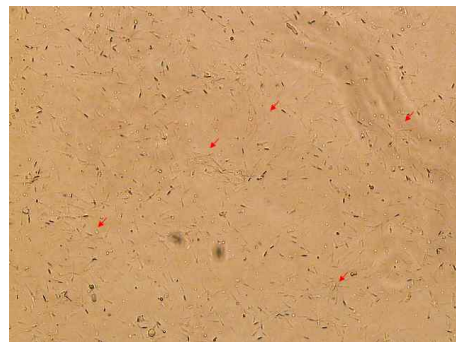


그림 7. mABs 처리 후 정자의 변화.

② 분리된 X-sperm 활용한 X-bearing embryo 생산위한 체외배양기술 적정화

- 분리된 X-sperm을 이용한 체외수정 및 체외배양에 의한 이식 가능한 수정란 생산과정의 모식도(그림 8)를 나타내고 있다.
- X-sperm 이용한 체외수정 및 체외배양에서 X-bearing embryo 생산을 위해 No serum culture media를 기반으로 하는 배양시스템을 활용하고자 한다. 본 연구실에서 개발(국내 특허출원) 및 적용하고 있는 배지를 활용하고자 한다.
- 체외수정란 생산 및 이식에서 가장 문제가 되는 것이 거대태아(Oversize offspring Syndrome)의 분만이다. 이러한 문제의 가장 큰 원인은 수정란의 배양과정에서 첨가하는 혈청으로 과다 영양공급이라고 알려져 있다. 즉 이러한 근본적인 문제를 해소하는 방법은 no serum culture system 활용으로 판단된다.
- No serum 유래 수정란의 장점은 이들 수정란의 세포질에 lipid contents 축적이 최소화되기 때문에 동결수정란의 생산에 적용하기에 매우 용이하다.
- 또한 이들 수정란의 이식 후 착상율을 높이기 위해서는 부화율이 높아야 하며 그들 수정란의 in vitro implantation 분석으로 검증된 배지를 적극적으로 활용하고자 한다.

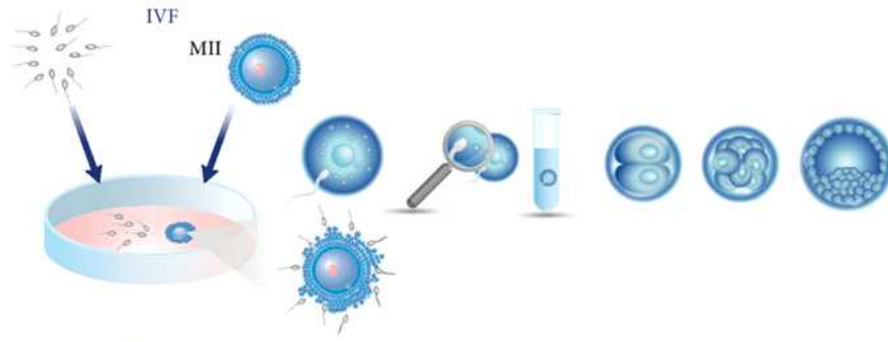


그림 8. Monoclonal antibody 이용한 체외수정란 생산기술 모식도.

- 암컷 수정란 생산을 위한 무혈청 배지의 적용

- : 체외배양기술의 적정화 구축을 위해 도축장 유래 난자를 활용하고자 한다. 즉 이는 체외배양 조건의 적정화를 위한 것이고, 실제 송아지를 생산하기 위한 수정란은 전부 OPU유래 우량 한우 수정란을 활용할 것이다. 그리하여 도축장 유래 한우의 유전능력은 큰 의미가 없다.
- : 체외성숙, 수정 및 배양에 적용되는 배양기술은 본 연구팀에서 루틴하게 활용하고 있는 방법을 적용하고, 특히 성감별 정자를 이용한 체외수정 시에 정자의 처리방법 및 배양시간 등을 최적의 조건으로 적용할 필요가 있다.
- : 체외성숙 배양액은 TCM-199 (10% (v/v) fetal bovine serum, 1 $\mu\text{g/ml}$ estradiol-17 β , 10 $\mu\text{g/ml}$ follicle-stimulating hormone, 0.6 mM cysteine, 0.2 mM sodium pyruvate) 약 600 μl 를 4-well dish에 전배양 후 약 50-60 개 정도의 COCs를 24시간 정도 배양을 실시한다. 체외성숙 후 선발된 동결정액으로 체외수정을 약 8시간 정도 실시 후 체외배양액으로 옮겨 배양을 실시한다. 이때 체외수정의 시간을 8시간 정도 실시하는 것이 이후 배양에서 수정란의 발달율을 높일 수 있다.
- : 체외수정은 성감별 정자를 이용하는 과정에서는 X-bearing sperm 분리와 체외수정 시간의 적정 조건을 확립이 매우 중요하다. 즉 complement 처리 후 약 절반의 정자(숫 정자)는 사멸하게 되므로 생존하고 있는 암정자의 분리과정을 정확하게 확립해야만 체외수정에 활용할 수 있는 암 정자를 분리할 수 있다.
- : mABs 처리에 의한 체외수정 전 과정의 프로토콜은 다음과 같다.
 - . 실험 전에 IVF media는 38.5 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 incubator에서 warming
 - . 1-5 μg mABs를 1.5 ml IVF media 넣고 15분 동안 배양
 - . 동결정액을 37 $^{\circ}\text{C}$ 온수에서 30초 동안 용해, 1.5 ml pre-incubated mABs에서 배양
 - . 보체를 첨가 및 처리하여 수컷 정자의 사멸을 유도
 - . 상층액을 채취하여 원심분리(540 x g) 후 펠릿을 다시 D-PBS에서 세척 후 다시 원심분리
 - . 세척된 펠릿을 3 ml IVF media로 re-suspended하고 정자의 swim-up을 유도
 - . 약 15분 후 상층액을 회수하여 다시 원심분리
 - . Heparin (200 μl) 처리하여 capacitation 유도하여 체외수정 준비
 - . Heparin 처리 후 2 ml IVF media 첨가하여 체외수정 실시한다.
- : 약 8시간 동안 체외수정 후 수정란의 주위에 붙어 있는 정자와 과립막세포를 제거하고 수정란으로 추정되는 수정란을 선발하여 체외배양액으로 옮겨 이식 가능한 단계까지 체외수정란의 발달을 유도한다. 이때 활용되는 체외배양액은 SOF를 기본배양액에 44 $\mu\text{g/ml}$ sodium pyruvate ($\text{C}_3\text{H}_3\text{NaO}_3$), 14.6 $\mu\text{g/ml}$ glutamine, 10 IU/ml penicillin, 0.1 mg/ml streptomycin, 3 mg/mL BSA, 및 310 $\mu\text{g/ml}$ glutathione을 첨가한 배지에 수정란을 약 8일까지 배양을 실시하여 이식 가능한 Expanded blastocyst까지 발달을 유도한다.

- 생산된 수정란의 질적 수준을 검정하기 위한 다양한 방법들을 적용하여 암컷 수정란의 질적 수준이 기존 대조군의 OPU유래 수정란과의 차이점 없이 유사한지를 검정하고자 한다.
- : 총 세포수에 의한 질적 평가를 위해 BrdU cell proliferation assay 실시하고자 한다. Day 7 BL를 4% paraformaldehyde에 30분간 고정 후 100 μM BrdU, 37°C에 6시간 배양 후 0.5% Triton Z-100에서 30분간 노출하면서 투과시키고, 3.0% BSA에 의한 blocking 시킨 후 1:100 희석된 mouse monoclonal anti-BrdU에서 overnight 시킨다. PBS/PVP 용액으로 세척 후 FITC-conjugated anti-mouse IgG에서 1시간 처리 후 강력한 세척 후 DAPI로 염색하여 BrdU 염색된 세포수를 계산한다.
- : 수정란 세포질에 존재하는 미토콘드리아의 분포도를 분석하기 위해 100 nM MitoTracker Red FM 에서 40분간 처리하여 고정 후 epifluorescence microscope에서 Images 촬영 후 미토콘드리아의 분포도의 패턴을 분석한다. 또한 fluorochrome dye는 미토콘드리아와 결합하여 membrane potential의 정도를 분석할 수 있음. 즉 low membrane potential (J-monomer) and high membran potential (J-aggregate)의 형태를 red fluorescence signal로 분석 가능하다.
- : ROS 분석은 2', 7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate molecules (DCHFDA, fluorescent probe, D-6883)을 사용하여 분석함. 즉 DCHFDA는 세포내 esterase에 의해 세포막에 확산되고 de-acetylated화 되고, 이후 ROS에 의해 산화되어 2', 7'-dichlorofluorescein (DCF)을 생산하게 되고, 높은 형광을 발하게 된다. 이렇게 발광되는 DCF는 ROCS의 지표로 계산되어질 수 있다.
- : 세포사멸 정도의 분석은 TUNEL 분석으로 가능하며, terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT) 2'-deoxyuridine, 5'-triphosphate (dUTP) nick-end labeling (TUNEL) 분석은 In Situ Cell Death Detection Kit (Roche Diagnostics Corp., Indianapolis, IN, USA)로 가능하다. 모든 실험방법은 회사의 정식 protocol에 준하여 실시한다.

③ 수정란이식에 활용할 수 있는 수준의 X-bearing embryo 생산효율 및 성비검정

- 분리된 X-sperm을 이용하여 OPU 유래 수정란의 생산효율을 검정하고자 한다. 즉 이식 가능한 수정란의 효율적인 생산체계를 확립하고자 한다.
- 기존의 배양체계에 X-bearing embryo 생산을 위해 적용함으로써 안정적인 수정란의 생산체계를 구축하고자 한다.
- 이렇게 생산된 수정란의 암컷 수정란의 비율을 검정하기 위해서 이식 단계인 blastocyst stage에서 PCR 분석을 실시하여 암컷 수정란의 생산비율을 분석한다.
- 우량한우를 공란우로 선발 활용하기 위해서는 공란우의 선발기준이 매우 중요한 요인에 해당한다. 즉 공란우의 선발기준을 엄격하게 적용하여 생산되는 송아지의 능력을 최대한으로 발휘될 수 있도록 적용할 필요성이 있다. 이에 공란우의 선발기준은 아래와 같다.
 - (1) 3계대 이상 혈통, 외조모·외조부가 등록된 개체(축산법 18조 참고)
 - (2) 우량(유전자) 암소: 후대성적을 기준으로 우량한우를 생산해본 경험이 있는 암소
 - (3) 출하등급 1++B, 도체중 500 kg 이상, 등심단면적 110 cm² 이상, 등지방 두께 15 mm 이하의 자손을 생산해본 경험이 있는 개체 및 그에 준하는 공란우 선발 활용한다. 이때 후대의 능력검정은 출하등급, 도체중, 등심단면적 및 등지방두께를 우선적 고려하여 가장 근접한 공란우를 선발·활용한다.
 - (4) 번식기관(난소, 자궁)의 기능이 충실한 개체를 선발한다. 아무리 좋은 유전능력을 가지고 있어도 생식기, 특히 난소의 기능이 저조하면 실제 미성숙 난자의 채취효율이 낮아 OPU수정란 생산을 위한 공란우로 적합하지 않다. 이렇게 선발된 개체를 종개협 외모심사 통과 개체로 한정하여 더욱더 엄격한 공란우 선발기준을 적용한다.
 - (5) 5대 질병(브루셀라, 요네, 우결핵, 구제역항체형성, 류코시스) 검사에서 통과된 개체를

선발한다. 다양한 질병 중에서 위의 5가지 정도는 반드시 검사하여 문제가 없는 개체를 공란우로 선발하여 수정란 생산에 활용한다.

- (6) 공란우로부터 미성숙난자의 채취효율을 높이기 위해서는 BCS 3±0.5 범위 내의 개체를 선발하는 것이 가장 바람직하며, 혹 이 범위에 들지 못하는 경우에는 이 범위 내로 관리하여 실제 채란에 활용하는 것이 효과적이다(그림 9).



그림 9. 공란우의 체형과 BCS 고려.

- (7) 후대능력, 육종가(EPD), 선대능력(정액), 및 형매능력 종합적 고려하여 선발.
- (8) 혈통/외모심사: 종개협 전문가 심사 선발.
- (9) 최근 활발하게 연구되고 있는 유전체분석에 의한 공란우 선발은 위에서 검토에 통과한 개체들을 Genome analysis에 적용하여 보완적인 자료로 활용한다. 향후 이러한 첨단유전체 분석기술이 높은 수준으로 정립되면 공란우의 선발 및 생산된 송아지의 능력검정에도 적극적으로 활용하여 선발강도의 증가뿐만 아니라 우량한우로의 개량에 의한 농가의 소득향상에 기여할 계획이다(그림 10).

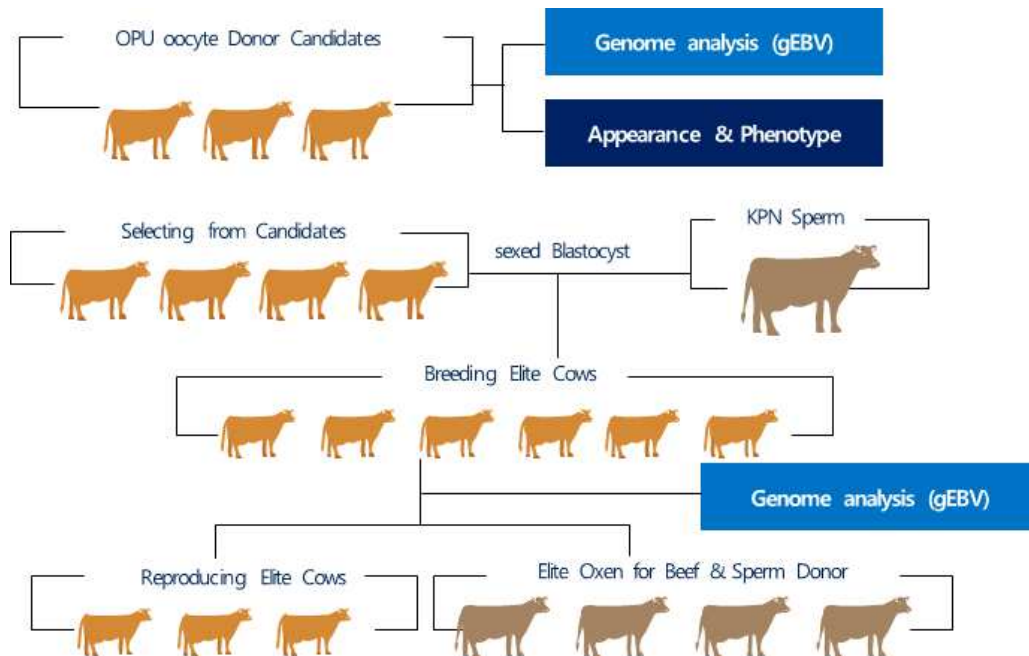


그림 10. 초우량 암소 집단 구축.

- 동결정액 선발기준 및 정보(그림 11)

: 동결정액의 선정은 우량한우 수정란 및 산자의 생산에서 매우 중요한 요인에 해당한다. 유전능력의 50%가 숫컷의 정액으로부터 전이되며 암소 공란우에 따른 적정 동결정액을 활용함으로써 근친도를 3.125% 이하로 유지할 수 있기 때문이다. 즉 아무리 좋은 유전능력의 동

결정액일 지라도 공란우와의 근친도가 높다면 수정란 생산에 활용할 수가 없을 것이다. 이러한 문제를 극복하기 위해서는 최소 3개체의 동결정액의 확보가 반드시 요구되며, 현장에서의 요구에 따라 최고 능력의 동결정액을 활용할 필요가 있다.

: 동결정액의 선발기준은 생산형질 관련 유전능력 고려하여 육질(근내지방도), 육량(냉도체중, 등심단면적), 등지방 두께, 체형 등을 고려하여 동결정액을 선발할 수 있다. 실제 한우개량 사업소의 홈페이지에서 다양한 종모우의 동결정액 정보를 확인할 수 있고 위의 생산형질 관련 유전능력을 확인하여 선발할 수 있다.

[축산법 시행규칙 제23조] 정액 및 인공수정 증명서

한우 씨수소 정액으로 태어난 자손에서 흑비, 이모색 등이 발현될 수 있습니다.

보증씨수소 후보씨수소

KPN 검색 SEARCH 정액판매현황

안내책자 엑셀저장 인쇄하기

유형	씨수소 (KPN)	생년월일	유전능력(EPD)				가결 (원)
			냉도체중 (kg)	배최장근 단면적 (cm ²)	등지방 두께 (mm)	근내지방도 (점)	
증체형	1203	2014-04-15	43.75	6.82	-0.01	1.14	10000
증체형	1212	2014-03-04	30.38	5.35	-0.01	0.12	10000
육질형	1213	2014-03-08	15.23	3.81	-0.86	0.95	10000
보급형	1214	2014-04-26	11.69	2.6	0.1	-0.01	3000
권장형	1215	2014-02-20	22.98	3.69	2.18	0.23	5000
등심형	1216	2014-03-13	25.24	6.71	-0.63	0.52	10000
권장형	1218	2014-03-27	15.85	4.61	-0.45	0.02	5000
육질형	1222	2014-03-18	17.51	2.87	-0.48	0.76	10000
증체형	1225	2014-08-22	26.01	4.96	-0.22	0.16	10000
증체형	1229	2014-09-05	29.32	3.1	1.9	0.52	10000

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

씨수소 특징

- 육질형 : 육질개량에 적합
- 등심형 : 등심면적 개량에 적합
- 권장형 : 육질과 육량 개량에 적합
- 증체형 : 냉도체중 개량에 적합
- 정육형(슬림형) : 등지방두께 개량하는데 적합
- 보급형 : 저렴한 가격으로 육량개량에 적합

그림 11. 동결정액 선택위한 종모우의 유전능력 검정(한우개량사업소).

: 공란우와의 근친도 검정에서 근친도 3.125% 이하의 동결정액을 선택하여 실제 OPU유래 수정란의 생산에 활용해야 한다. 왜냐하면 근친도가 높으면 개량의 효과가 없어질 것이고 우량한우의 밀소를 생산하기 위해서는 반드시 최소한 근친도 3.125% 이하의 조건을 충족하는 동결정액의 선발 활용이 필요하다.

: 우량한우일지라도 공란우에 따른 장점과 약점이 존재하고 있다. 즉 이러한 약점을 최대한으로 보완하고 후대의 능력을 최대치로 높이기 위해서는 공란우의 특성에 맞춰 종모우의 동결

정액을 선택하여 수정란 생산에 활용이 요구된다.

: 적당한 종모우의 동결정액의 후보군을 최소 3개체 이상을 선정하고, 수정란 생산을 위해서는 반드시 검정이 필요한 것은 그 batch의 동결정액의 quality 검정, 즉 오염도, 체외수정에 의한 체외수정란의 발달율 등 OPU유래 수정란의 생산효율의 검정이 필요하다. 종모우의 개체별 동결용해 후 생존율과 활력도 및 체외수정에 의한 수정란의 발달율에 차이가 존재하고 있으며, 동결정액의 batch에 따라 동결정액의 quality가 차이를 보이고 있음으로써 사전에 선발된 개체의 동결정액의 수정란 생산효율의 검정이 요구된다.

- OPU유래 수정란 생산기술 정립 및 효율 개선

: OPU 유래 수정란의 생산효율의 개선은 지속적으로 요구된다. 현재 수준에서 이식 가능한 수정란의 수를 증가시킨다면 그만큼 우량한우의 생산 가능성을 높일 수 있을 것이다. 아래의 그림12 은 OPU유래 수정란생산 전과정을 보여준다. 즉 공란우의 선발, Ovum Pick-up에 의한 미성숙난자의 채취, 채취된 난자의 체외성숙, 체외수정, 체외배양에 의한 이식 가능한 수정란의 생산, 이들 수정란을 발정동기화된 대리모의 자궁에 이식, 임신감정 및 송아지 생산 전과정을 나타낸다.

: 각 단계별 효율 개선은 최종적으로 이식 가능한 수정란의 생산효율과 송아지 생산 효율의 개선으로 이어진다.

: 본 연구과제에서 암컷 수정란의 생산과 이의 이식으로 암송아지의 생산비율을 85% 이상으로 생산하고자 하는 단계, 즉 체외수정단계에 집중적으로 연구가 수행될 예정이다.

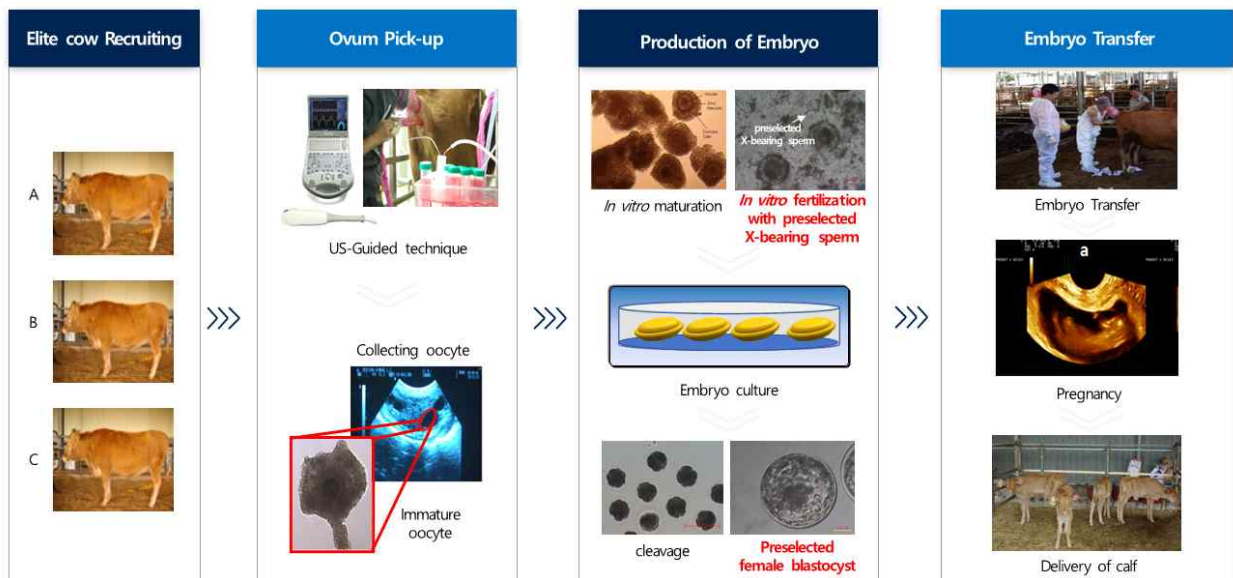


그림 12. OPU유래 수정란생산 및 이식 전체과정.

- PCR 조건 정립, Primer information

: 생산된 암컷 수정란의 성비율 분석을 위해서는 성비를 분석기술이 필요하며, 이때 X, Y sperm의 특정 유전자(SRY, Amelogenin 등)를 이용한 PCR 분석 등을 통해 암컷 수정란 개별 기술을 확보한다. 이를 통해, 암컷 수정란의 대리모 이식 전 성 감별된 sperm을 이용해 암컷 수정란을 85% 이상 확보하여 수정란 이식을 진행하고자 한다.

: 이때 활용할 primer 정보는 아래의 표 4와 같다.

: 위의 Primers로 control embryos에서 DNA 추출하여 PCR 분석으로 primers의 작동여부를 판단한 결과 정상적인 검정이 확인되어 향후 얻어지는 수정란의 성비 확인에 활용하는데 적합한 것으로 판단된다(그림 13).

표 4. Primers sequence (Bos taurus sequence) for PCR analysis of preselected sexing embryos

AMEL-forward	5'-CAG CCA AAC CTC CCT CTG C-3'
AMEL-Reverse	5'-CCC GCT TGG TCT TGT CTG TTG C-3'

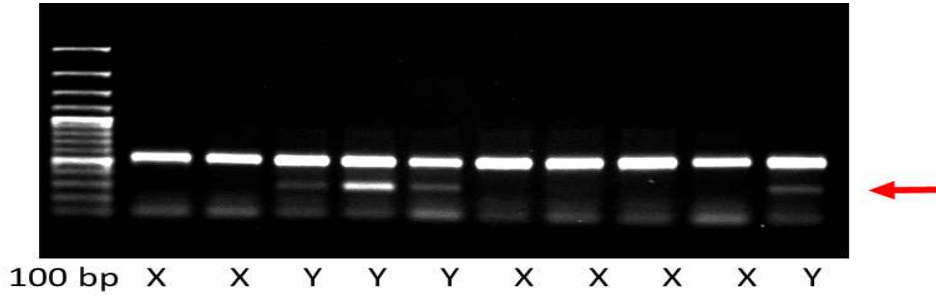


그림 13. 성감별을 위한 PCR primer 검정.

④ 이식된 수정란의 수태율 분석 및 차년도 분만율과 암컷 송아지 생산 비율 추적 조사

- X-bearing embryo 이식은 기존의 이식체계를 적용하여 현장에서 약 200여 두 이식을 시도하여 이식 후 수태율을 검정하고자 한다.
- 연구기간이 1년이기에 실제 분만율과 암컷 송아지의 비율 등을 연구기간 내에 검정은 불가능하지만 차년도에 지속적인 모니터링에 의해 생산된 송아지의 분만율, 암송아지 비율 등을 추적 분석하고자 한다.
- 이러한 결과, 분만율, 암송아지 비율 등은 본 사업에 가장 중요한 결과로서 계획한 바와 같은 수준의 분만율과 암송아지 생산비율의 확보는 향후 사업의 확대와 전국적인 사업 확장에 결정적인 요인으로 작용할 수 있기에 최대의 관심으로 추적 조사하고자 한다.
- 대리모 선발기준은 유전능력은 고려하지 않고 번식능력을 고려하여 선발할 필요가 있다. 즉 대리모의 선발기준은 아래와 같다.
 - : BCS BCS 3±0.5 범위 내의 개체 선발이 절대적으로 필요하다. 왜냐하면 비만일 경우 절대적으로 수태율에 negative 영향을 미치게 된다. 그러나 현장에서의 대리모 후보인 번식우의 사양체계를 살펴보면 거의 대부분 BCS 4정도 또는 그 이상의 수준을 유지하고 있어 수태율에 절대적으로 나쁜 영향을 미친다. 따라서 대리모로 활용될 개체는 적어도 2-3개월 전부터 풀사료 위주로 급여하면서 BCS 조절에 많은 관심을 가져야 한다(그림 14).
 - : 수정란이식에 의한 수태율을 농가별로 조사해 보면 큰 차이를 보인다. 즉 농장에 따라 10%-70% 정도의 차이를 보이고 있어, 원인분석을 해보면 목장별로 사육형태와 급여수준의 차이 등이 번식우의 번식효율에 엄청난 차이를 보인다. 즉 10% 수태율의 목장은 거의 대부분 비만형태의 사육, 즉 농후사료를 높은 수준으로 급여함과 동시에 사양체계가 좋지 않고, 70% 높은 수태율의 목장은 건초, 즉 풀 위주의 사양으로 BCS 3±0.5 정도를 유지하고 있다. 1차 AI 수태율 70% 이상의 목장은 수정란이식에서도 높은 수태율을 보인다.
 - : 번식기관의 정상성을 유지하고 있는 개체, 즉 정상적인 발정주기 반복하는 개체 및 포유능력이 우수한 개체를 선발하여 대리모로 활용한다. 이것은 대리모의 번식기관의 정상성과 유사한 의미이며 이러한 개체의 번식능력, 즉 번식기관은 매우 바람직한 상태를 유지하고 있음으로써 번식효율이 높아진다.
 - : OPU유래 수정란이식의 경우 우량한우를 선발하여 공란우로 활용함으로써 산자가 기존의 일반 송아지보다 훨씬 클 경우가 있다. 이렇기에 대리모는 송아지를 분만한 경험이 있는 경산

우를 선발하여 활용하는 것이 분만사, 난산 등의 문제를 사전에 방지할 수 있다.

: 번식우 사양체계 활용하여 대리모의 관리가 요구된다. 즉 단백질 사료는 최소로 유지하면서 조사료 충분히 급여함과 동시에 번식관련 사료첨가제(Mineral), 특히 Vitamin-B 등을 급여하여 번식기관의 정상성을 유도해 주는 것이 좋은 방법이다.



그림 14. 대리모의 선발 및 BCS 적합 대리모.

- 수정란이식 후 임신감정은 대리모의 활용 측면과 한우 사육농가의 비용 절감을 위해서 매우 중요한 단계이다. 즉 이식 후 2주 정도에 착상 여부에 따라 재발정이 올 것이고, 재발정이 없었다면 그로부터 3주 후 재발정 여부를 면밀히 관찰 후 약 40-60일 경에 감정을 실시하여 판단할 수 있다.
- 생산된 송아지의 성비를 차년도에 추적 조사하여 본 계획서와 같이 85% 정도의 암송아지의 생산 여부를 확인하고자 한다. 목표와 같이 85% 정도의 암송아지 생산이 확인되면 본 사업의 성공을 최종적으로 검정하는 것뿐만 아니라 본 회사의 사업 확장에 결정적인 영향을 미칠 수 있기에 최고 중요한 결과이다. 이러한 연구결과는 궁극적으로 한우개량에 엄청난 영향을 미칠 것이며 지속 가능한 한우산업으로의 발전에 큰 기여를 할 것으로 판단된다.
- : 성분리 및 일반 수정란의 이식으로 생산된 송아지의 성비를 조사하여 실제 성비의 변화, 즉 암컷과 일반 수정란이식 시 성비의 차이를 직접 비교분석을 실시한다.
- OPU유래 수정란이식으로 생산된 모든 산자는 친자완전일치 검증을 반드시 실시하여 검정과 함께 개체의 혈통등록을 실시하여 차별화를 꾀하고자 한다. 수정란이식으로 생산된 산자의 친자완전일치를 검정하지 않거나 할 수 없다고 하는 것은 수정란의 생산 및 이식 등의 전 과정에 큰 문제를 제기할 수 있다. 현재 한국종축개량협회(종개협)에서 수정란증명서만으로 등록을 시키는 것은 그 개체의 친자완전일치를 증명해 준다고 할 수 없으며, 문제는 이러한 개체를 우량한 송아지로 판단하고 고가로 구입하여 사육 후 출하 시 기대치에 훨씬 미치지 못하는 판매가를 얻거나, 암소일 경우 그 개체가 번식우로 활용되면서 번식체계에 진입하게 됨으로써 혼란을 발생시킬 수 있다.

2-4. 연구개발 추진체계

- 본 사업계획은 연구를 위한 연구가 아니라 철저한 현장적용 및 사업 확장에 적용할 수 있는 기술개발을 최고의 목적으로 수행될 예정이다. 이와 관련된 연구개발 추진 체계도는 아래 그림과 같다(그림 15).
- 이러한 목적으로 수행으로 얻어진 결과는 현장에 접목하여 바로 사업화 가능한 제품을 생산할 계획이고, 이를 특정 지역에 한정된 공급망에서 전국적인 공급망으로 확대할 계획이다.

- 이러한 목적하에서 가장 효율적으로 연구개발을 추진하기 위해서는 회사의 연구인력뿐만 아니라 교원창업으로서 학교 연구실의 연구인력도 적절한 수준에서 참여시키고, 실제 암컷 수정란의 이식을 위해서는 기존 한우개량을 추진하고 있는 단위 지자체와 협력하에 시범연구용으로 약 200두의 대리모에 암컷 수정란을 이식하여 임신율과 분만 후 암송아지의 생산비율을 차년도 추적조사를 실시하여 검정하고자 한다.
- 본 연구팀에서 약 3,500개/년 정도 OPU유래 수정란을 생산 공급하고 있으나, 본 사업에 의한 암컷 수정란이식은 현장적용 위한 사전연구과제로 수행하고 차년도 실제 기대한 성적이 확보되었을 시 전국적 확대 공급을 할 계획이다.
- 그리하여 추진체계도와 같이 상호 보완적이면서 시너지 효과를 거둘 수 있는 시스템을 구축하여 최고로 효율적인 연구개발을 수행하고자 한다.

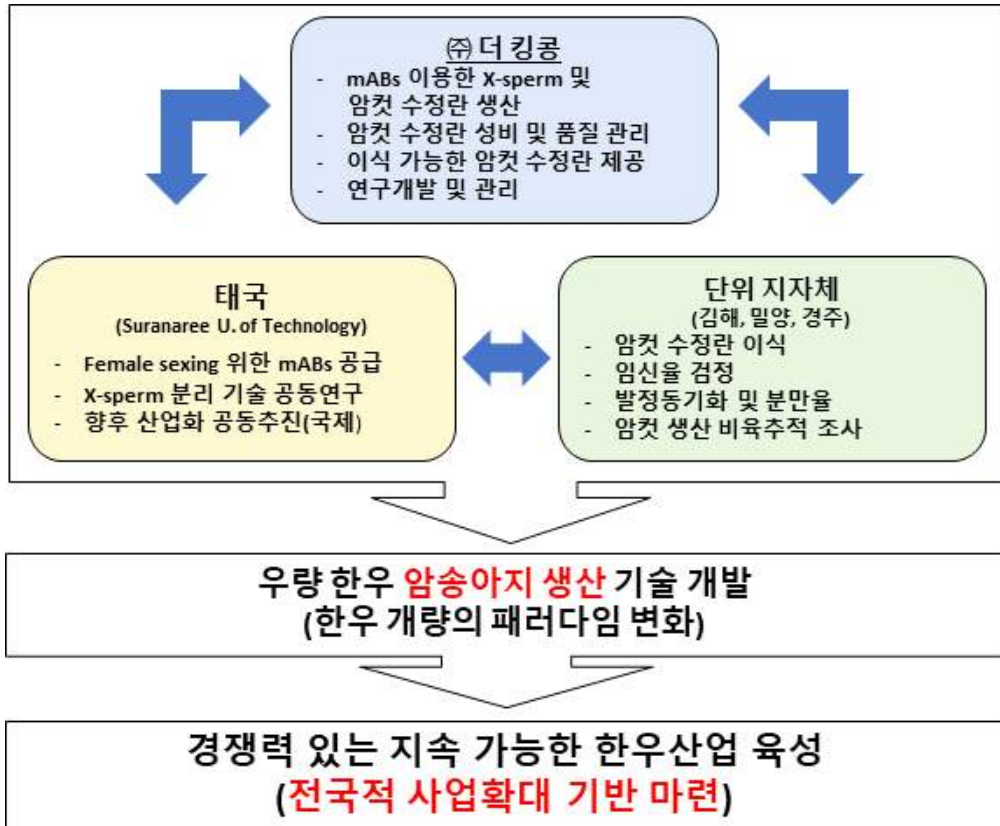


그림 15. 연구 개발을 위한 추진체계도.

3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도

1) 연구수행 결과

(1) 정성적 연구개발성과

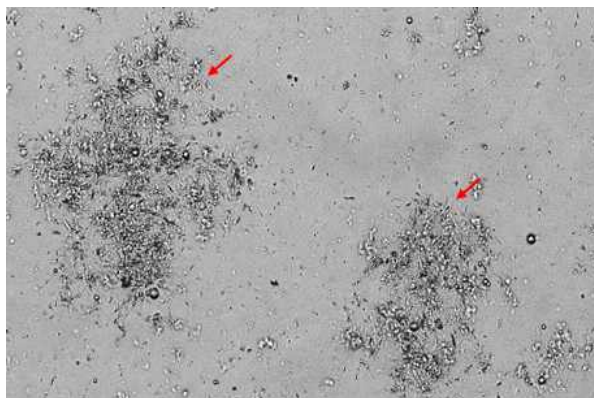
① 새로운 monoclonal antibody를 활용한 X-sperm 분리기술의 적정화

- 새로운 mABs의 최적처리 조건을 확인하기 위하여 정자와 mAB 반응 후 final 수정배양액 volume에 따른 배반포 발달을 확인하였다(표 5).

표 5. Optimal concentration of 3.5 ug mABs for preselected embryo production.

Groups	Oocytes, n	Speculated zygote, n	Cleaved, n	Cleavage %	Total Blastocysts, n	Blastocysts %
Control	157	147	114	77.7	40	27.2
700 uL	100	96	74	77.5	25	26.0
1 mL	74	69	54	78.0	17	24.5
2 mL	73	66	50	76.0	16	24.0
3 mL	76	70	52	74.5	17	24.0

- 대조군과 비교하였을 때, 수정배양액 최종 volume에 따른 배반포 발달에서 유의차 없이 비슷한 발달을 수준을 나타내었다.
- 표 5에서는 new mAB가 Y sperm과 반응하여 제대로 성분리가 된다면, 최종 수정배양액의 적정범위 volume 내에서는 배발달에 크게 영향을 미치지 않는다는 것을 알 수 있다. 이는 새로운 monoclonal antibody의 사용효율을 최대 3 mL까지 넓혀 처리할 수 있는 난자 수가 많아진다는 것이고, 기존 mAB와 비교하였을 때 사용량 대비 생산할 수 있는 수정란 수도 많아 질 수 있다는 것이 확인되었다.
- 이는 새로운 mAB 사용 효율을 높여 수정란 생산비 절감할 수 있는 결과가 된다.
- mABs 처리 후 정자 응집유도를 기존과 개선된 mAB간 차이를 확인하였다(그림 16).



기존 mABs



새로운 mABs

그림 16. 항체 처리 후 관찰 된 Y sperm 응집현상 비교.

- 기존 mAB의 경우 antibody와 Y-sperm의 응집반응이 일정하게 일어나지 않으며, 제대로 응

집되지 않을 경우 그림 16(왼쪽)과 같은 결과가 나타남을 확인 할 수 있었다.

- 새로운 mAB는 Y-sperm과 반응하여 확실하게 응집되는 것을 확인 할 수 있었다.
- 현재까지 확인된 농도에서 정자 응집반응 후 불필요한 Y-sperm을 처리하기 위하여 complement를 처리하였고, Y-sperm이 사멸한 것을 그림 17과 같이 확인 할 수 있었다. complement 처리 시간은 30분 처리하였을 때 가장 효율적인 것을 확인 할 수 있었다.

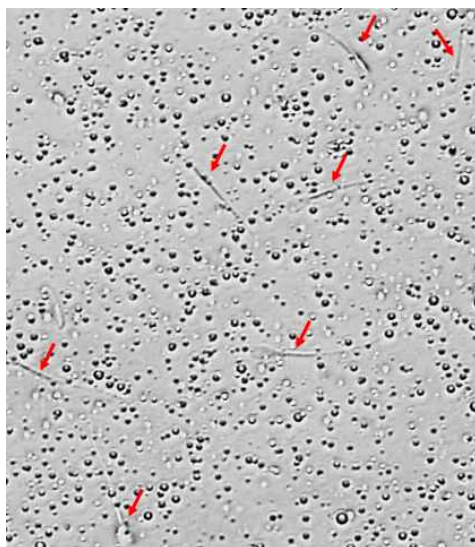


그림 17. Sera complement 30분 처리 시 정자생존력 테스트

② 분리된 X-sperm 활용한 X-bearing embryo 생산 위한 체외배양기술 적정화

- 현재까지 배아발달과 관련된 연구들을 보면 소를 포함한 여러 포유류 종에서 수컷배아가 암컷배아보다 배반포 단계로 빨리 발달하는 것으로 알려져 있다. 수컷배아와 암컷배아의 발달 차이 원인을 확인하기 위하여 wholemom antibody를 이용해 성분리 배반포를 생산하고 생산된 배반포를 이용하여 몇 가지 확인 실험을 실시하였다.
- mABs를 이용하여 암컷 수정란 23%와 수컷 수정란 15.7%를 표 6과 같이 획득하였다.

표 6. Percentage of cleavage and blastocyst produced from un-sorted and sex-sorted sperm with mABs antibody.

Groups	Oocytes, n	Speculated zygote, n	Cleaved embryos, n (%)	Total blastocysts, n (%)
Control	285	279	218 (78.0 ± 0.3) ^a	78 (28.0 ± 0.4) ^a
X-sperm sorted	441	423	221 (52.3 ± 1.1) ^b	97 (23.1 ± 0.8) ^b
Y-sperm sorted	413	386	180 (46.7 ± 0.6) ^c	59 (15.7 ± 1.0) ^c

^{a,b} $p < 0.05$ with different superscript in the column indicate significant difference.

- 총 세포 수에 의한 질적 평가를 위해 획득한 배반포를 이용하여 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) cell proliferation assay를 실시하였고, 결과는 다음과 같다(그림 18).
- BrdU 염색된 세포수를 계산한 결과 Y-sperm 유래 배반포 그룹이 X-sperm 유래 배반포 보다 높은 세포증식 비율을 나타내었다.

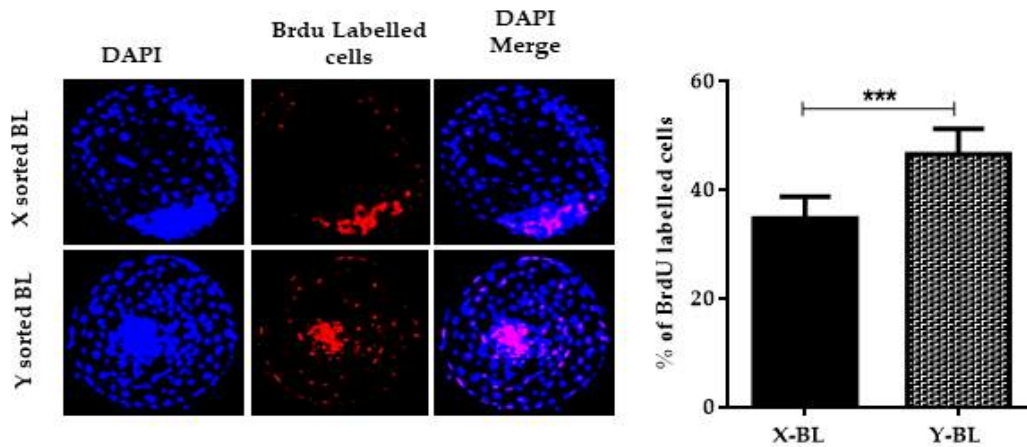


그림 18. 7일째 배반포에서 X-sperm과 Y-sperm의 5-bromo-2'-deoxyuridine(BrdU) 면역형광 염색.

- 수정란 세포질에 존재하는 미토콘드리아의 분포도를 분석하기 위하여 mitotracker를 염색하였고, 그 결과는 그림 19와 같이 나타났다.

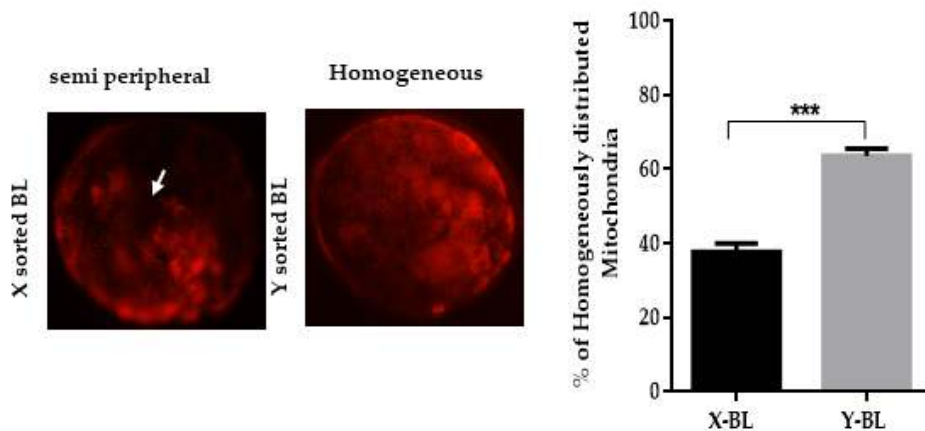


그림 19. 미토콘드리아 분포도 측정.

- 미토콘드리아 막전위에서는 ATP 생성을 위한 미토콘드리아 대사활동에 기인하는데, ATP는 난자의 성숙과 수정 및 후속 배아발달에 중요한 역할을 한다. 수컷 배반포는 암컷 배반포에 비해 미토콘드리아가 균일하게 분포되어 있는 것을 확인할 수 있었고, 암컷 배반포는 미토콘드리아가 균일하지 못하고 어느 정도 범위에만 분포되어 있는 것을 확인할 수 있었다.
- 다음으로 활성산소(ROS)생성 정도를 분석하였다. 미토콘드리아 활동이 낮으면 세포에서 활성산소를 활발하게 제거할 수 없고, 이는 활성산소의 축적을 불러와 초기 단계에서 발달을 더디게 하는 데 영향을 미친다.
- 그림 20과 같이 수컷 배반포보다 암컷 배반포에서 ROS 활성이 높게 나타난 것을 확인하였다.

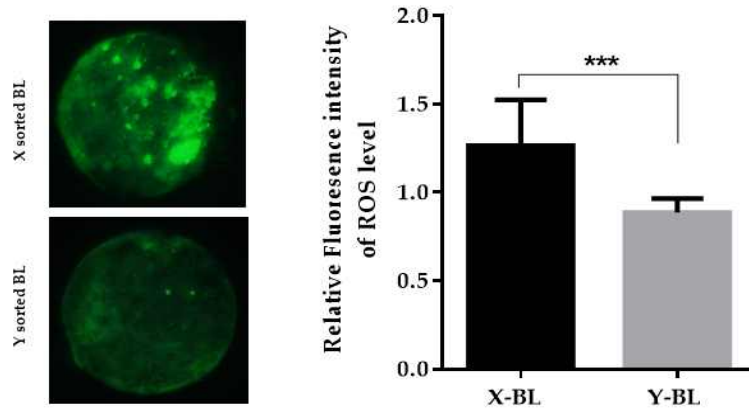


그림 20. 성분리 배반포에서 ROS 분석.

- 수컷배반포가 암컷배반포에 비해 세포증식율이 높았고, 미토콘드리아 분포가 균질하였으며, 이는 미토콘드리아 대사활동을 높여 ROS를 낮추는 결과를 가져온다는 것을 그림 18~20을 통해 확인할 수 있었다. 수컷수정란이 암컷수정란 보다 배반포 단계로 빨리 발달하는 이유 (미토콘드리아 대사활동과 ROS 수준이 소의 배반포 발달능력에 중요한 요소)를 확인하는 결과라고 할 수 있다.
- 소에서 수정란을 공급 및 이식할 때 빨리 생산되는 배반포를 우선적으로 사용하게 되는데, 빨리 자라는 배반포 중에서 수컷 배반포가 차지하는 확률이 높기 때문에 일반적인 수정란이식에서 수컷을 생산할 확률이 높다.
- 따라서, monoclonal antibody를 이용한 성분리 수정란 생산방법이 농가소득 증대를 불러오는데 기여할 수 있을 것이다.

③ 수정란이식에 활용할 수 있는 수준의 X-bearing embryo 생산효율 및 성비 검정

- 도축장 수정란을 이용하여 새로운 mAb를 처리하여 성감별 수정란을 생산하고 암컷 수정란 생산효율 및 성비검정을 확인하기 위해 PCR을 수행하였다(그림21).

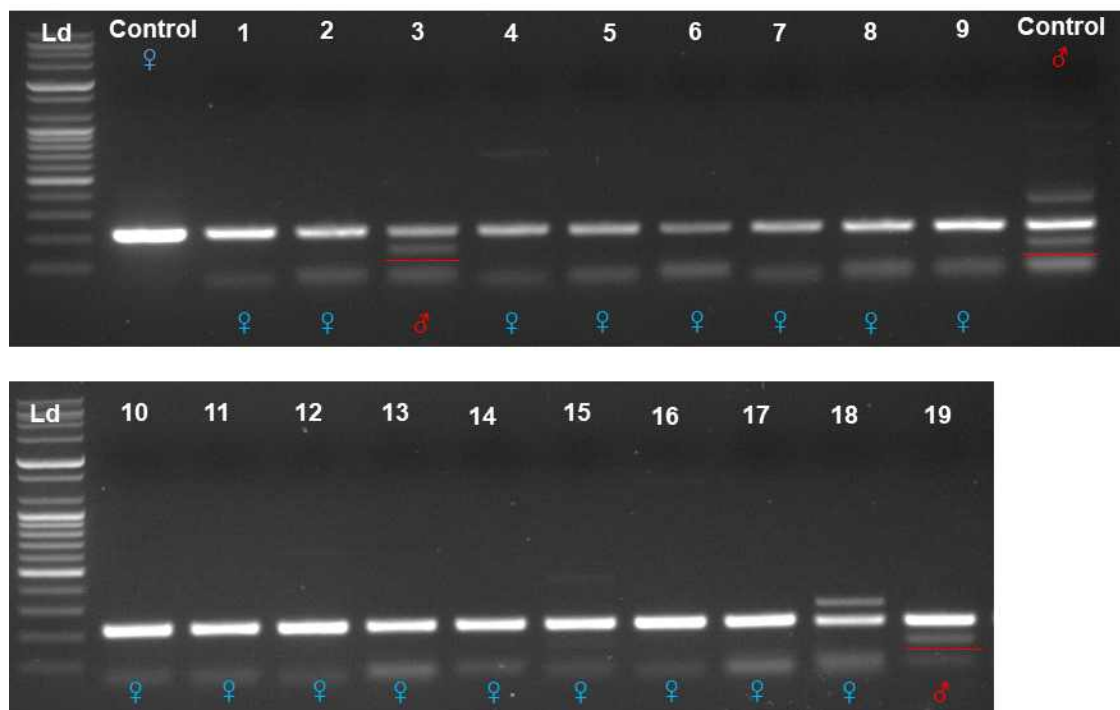


그림 21. 성분리 배반포에서 PCR 분석

- 수정란의 성별 확인을 위하여 control female과 control male을 함께 전기영동하였다. 그 결과 배반포 19개 중에서 암컷수정란은 17개(89.5%), 수컷수정란은 2개(10.5%)로 확인되었다. 기존 mAB에 비해 암컷수정란 생산효율이 높아진 것을 확인할 수 있었다.

- 검증된 새로운 mAB 처리 방법을 이용해 암컷 수정란을 생산하기 위해 사용된 공란우의 정보는 다음과 같다(그림 22).

개체 기본정보						
등록번호	등록구분	생년월일	영양(회수)	계대	개체서열번호	성형
22619620	고유	2013-09-14	한정13-03-6028T	3	002306160260	암
구분	장액/부/호	생년월일	개체서열번호	등록구분	등록번호	
♂-주부	KP9387	1998-03-05	00015570510	고유	221352161	
♂-부	KP9768	2006-02-19	000188490297	합동	223238314	
♀-주부	홍진04-02-1054	2004-02-20	000182189598	고유	221981439	
♀-부	KP9421	1998-09-01		합동	221378608	
♂	한정02-02-2098	2007-04-13	020207420983	고유	223064712	
♀-주부	한정05-01-1700	2005-03-23	000184417007	고유	223265948	
번식여 영향	임+	번식여 주수	임상 임신은 무관함***			
소유자 영향	임+	소유자 주수	임상 임신은 무관함***			
특징						
유역	연안	이산	해안	불	기타	
항	중	양	중	양	중	

개체유전능력				
구분	생도체중(kg)	체지방간단분석(%)	동시행동계	근대체중(kg)
유전능력	3.24	0.91	0.041	0.538
영양능력	D	D	D	A

개체유전능력 검증결과 유전능력 평가기준을 충족하며 사용가능(가)입니다.
영양능력 검증결과 영양능력 평가기준(1)을 충족하며 사용가능(가)입니다. 육종가를 평가해 주시기 바랍니다.

개체 기본정보						
등록번호	등록구분	생년월일	영양(회수)	계대	개체서열번호	성형
22619620	고유	2013-09-14	한정13-03-6028T	3	002306160260	암
구분	장액/부/호	생년월일	개체서열번호	등록구분	등록번호	
♂-주부	KP9147	1990-03-30	000150167750	고유	221023200	
♂-부	KP9390	1998-03-14	000155320279	합동	221352171	
♀-주부	65520	1996-02-19	00012680952	합동	221233093	
♀-부	KP9333	1997-09-02	000140049033	고유	221292432	
♂	한정04-02-0137	2004-03-15	000186173345	고유	221898960	
♀-주부	한정05-01-0810	2006-01-25	000163027180	고유	221419987	
번식여 영향	임+	번식여 주수	임상 임신은 무관함***			
소유자 영향	임+	소유자 주수	임상 임신은 무관함***			
특징						
유역	연안	이산	해안	불	기타	
항	중	양	중	양	중	

개체유전능력				
구분	생도체중(kg)	체지방간단분석(%)	동시행동계	근대체중(kg)
유전능력	6.752	-0.139	-0.817	-0.139
영양능력	D	D	A	D

개체유전능력 검증결과 유전능력 평가기준을 충족하며 사용가능(가)입니다.
영양능력 검증결과 영양능력 평가기준(1)을 충족하며 사용가능(가)입니다. 육종가를 평가해 주시기 바랍니다.

개체 기본정보						
등록번호	등록구분	생년월일	영양(회수)	계대	개체서열번호	성형
22619620	고유	2013-09-14	한정13-03-6028T	4	002306160260	암
구분	장액/부/호	생년월일	개체서열번호	등록구분	등록번호	
♂-주부	KP9334	1997-01-19	000140270373	합동	221275782	
♂	KP9737	2004-05-07	000182193119	합동	221866077	
♀-주부	한정04-01-8003	1999-01-01	000165100037	합동	221417065	
♀-부	KP9426	2002-12-04	000175576829	고유	221564071	
♂	한정04-02-3181	2008-04-28	020202231817	고유	224227176	
♀-주부	한정05-02-0254	2005-02-02	000195168888	합동	223139548	
번식여 영향	임+	번식여 주수	임상 임신은 무관함***			
소유자 영향	임+	소유자 주수	임상 임신은 무관함***			
특징						
유역	연안	이산	해안	불	기타	
항	중	양	중	양	중	

개체유전능력				
구분	생도체중(kg)	체지방간단분석(%)	동시행동계	근대체중(kg)
유전능력	0.537	1.806	-1.479	0.695
영양능력	D	D	A	A

개체유전능력 검증결과 유전능력 평가기준을 충족하며 사용가능(가)입니다.
영양능력 검증결과 영양능력 평가기준(1)을 충족하며 사용가능(가)입니다. 육종가를 평가해 주시기 바랍니다.

개체 기본정보						
등록번호	등록구분	생년월일	영양(회수)	계대	개체서열번호	성형
22619620	고유	2013-09-14	한정13-03-6028T	4	002306160260	암
구분	장액/부/호	생년월일	개체서열번호	등록구분	등록번호	
♂-주부	KP9338	2000-04-14	000164849328	합동	221467810	
♂	KP9802	2007-03-13	000190395475	고유	223218375	
♀-주부	한정04-02-2899	2003-04-21	000191998093	고유	223014627	
♀-부	KP9622	2002-12-07	000174172626	고유	221644410	
♂	한정04-02-0388	2010-04-03	020205300938	고유	224784077	
♀-주부	한정04-02-2090	2003-05-21	000165757492	고유	221705377	
번식여 영향	임+	번식여 주수	임상 임신은 무관함***			
소유자 영향	임+	소유자 주수	임상 임신은 무관함***			
특징						
유역	연안	이산	해안	불	기타	
항	중	양	중	양	중	

개체유전능력				
구분	생도체중(kg)	체지방간단분석(%)	동시행동계	근대체중(kg)
유전능력	12.535	2.319	-0.195	0.289
영양능력	B	C	C	C

개체유전능력 검증결과 유전능력 평가기준을 충족하며 사용가능(가)입니다.
영양능력 검증결과 영양능력 평가기준(1)을 충족하며 사용가능(가)입니다. 육종가를 평가해 주시기 바랍니다.

개체 기본정보						
등록번호	등록구분	생년월일	영양(회수)	계대	개체서열번호	성형
22619620	합동	2014-08-05	한정14-04-68728T	6	002306487222	암
구분	장액/부/호	생년월일	개체서열번호	등록구분	등록번호	
♂-주부	KP9338	2000-04-14	000164849328	합동	221467810	
♂	KP9828	2007-08-23	020200859133	고유	223790178	
♀-주부	99637	1999-09-06	000143211621	합동	221418886	
♀-부	KP9404	2000-02-13	020200834750	고유	221451164	
♂	한정06-05-3814	2006-05-11	000199938146	고유	223386425	
♀-주부	한정04-04-1784	2004-08-30	000184117646	고유	221919314	
번식여 영향	임+	번식여 주수	임상 임신은 무관함***			
소유자 영향	임+	소유자 주수	임상 임신은 무관함***			
특징						
유역	연안	이산	해안	불	기타	
항	중	양	중	양	중	

개체유전능력				
구분	생도체중(kg)	체지방간단분석(%)	동시행동계	근대체중(kg)
유전능력	12.51	2.339	-0.626	0.184
영양능력	B	B	B	D

개체유전능력 검증결과 유전능력 평가기준을 충족하며 사용가능(가)입니다.
영양능력 검증결과 영양능력 평가기준(1)을 충족하며 사용가능(가)입니다. 육종가를 평가해 주시기 바랍니다.

개체 기본정보						
등록번호	등록구분	생년월일	영양(회수)	계대	개체서열번호	성형
22619620	합동	2014-08-05	한정14-03-7057	3	002306495074	암
구분	장액/부/호	생년월일	개체서열번호	등록구분	등록번호	
♂-주부	KP9338	1997-03-10	000140240673	고유	221282827	
♂	KP9768	2006-02-19	000188490297	고유	221995935	
♀-주부	한정02-05-0509	2002-01-01	000164719325	고유	221379799	
♀-부	KP9471	1999-05-05	000162568566	고유	221402375	
♂	한정02-03-0175	2007-07-16	020205468340	고유	223711204	
♀-주부	한정04-01-6270	2004-04-04	000188163261	고유	221483679	
번식여 영향	임+	번식여 주수	임상 임신은 무관함***			
소유자 영향	임+	소유자 주수	임상 임신은 무관함***			
특징						
유역	연안	이산	해안	불	기타	
항	중	양	중	양	중	

개체유전능력				
구분	생도체중(kg)	체지방간단분석(%)	동시행동계	근대체중(kg)
유전능력	1.145	0.695	0.092	-0.046
영양능력	D	D	C	D

개체유전능력 검증결과 유전능력 평가기준을 충족하며 사용가능(가)입니다.
영양능력 검증결과 영양능력 평가기준(1)을 충족하며 사용가능(가)입니다. 육종가를 평가해 주시기 바랍니다.

개체 기본정보						
등록번호	등록구분	생년월일	영양(회수)	계대	개체서열번호	성형
22619620	고유	2013-09-14	한정13-03-6028T	4	002306160260	암
구분	장액/부/호	생년월일	개체서열번호	등록구분	등록번호	
♂-주부	KP9338	1997-03-10	000140240673	고유	221282827	
♂	KP9768	2006-02-19	000188490297	고유	221995935	
♀-주부	한정02-05-0509	2002-01-01	000164719325	고유	221379799	
♀-부	KP9471	1999-05-05	000162568566	고유	221402375	
♂	한정02-03-0175	2007-07-16	020205468340	고유	223711204	
♀-주부	한정04-01-6270	2004-04-04	000188163261	고유	221483679	
번식여 영향	임+	번식여 주수	임상 임신은 무관함***			
소유자 영향	임+	소유자 주수	임상 임신은 무관함***			
특징						
유역	연안	이산	해안	불	기타	
항	중	양	중	양	중	

개체유전능력				
구분	생도체중(kg)	체지방간단분석(%)	동시행동계	근대체중(kg)
유전능력	6.18	1.548	-0.338	0.169
영양능력	D	D	B	D

개체유전능력 검증결과 유전능력 평가기준을 충족하며 사용가능(가)입니다.
영양능력 검증결과 영양능력 평가기준(1)을 충족하며 사용가능(가)입니다. 육종가를 평가해 주시기 바랍니다.

개체 기본정보						
등록번호	등록구분	생년월일	영양(회수)	계대	개체서열번호	성형
22619620	고유	2013-09-14	한정13-03-6028T	4	002306160260	암
구분	장액/부/호	생년월일	개체서열번호	등록구분	등록번호	
♂-주부	KP9387	1998-03-05	00015570510	고유	221352161	
♂	KP9768	2006-02-19	000188490297	합동	223238314	
♀-주부	한정04-02-1054	2004-02-20	000182189598	고유	221981439	
♀-부	KP9662	2002-08-07	000171728284	합동	221616971	
♂	한정03-03-0005	2009-03-16	020204052054	고유	224623775	
♀-주부	한정04-02-9869	2006-07-31	000195568886	고유	223468704	
번식여 영향	임+	번식여 주수	임상 임신은 무관함***			
소유자 영향	임+	소유자 주수	임상 임신은 무관함***			
특징						
유역	연안	이산	해안	불	기타	
항	중	양	중	양	중	

개체유전능력				
구분	생도체중(kg)	체지방간단분석(%)	동시행동계	근대체중(kg)
유전능력	7.45	2.448	-0.175	0.868
영양능력	D	C	C	A

개체유전능력 검증결과 유전능력 평가기준을 충족하며 사용가능(가)입니다.
영양능력 검증결과 영양능력 평가기준(1)을 충족하며 사용가능(가)입니다. 육종가를 평가해 주시기 바랍니다.

개체 기본정보						
등록번호	등록구분	생년월일	영양(회수)	계대	개체서열번호	성형
22619620	고유	2008-05-03	한정08-04-1538	4	002307315888	암
구분	장액/부/호	생년월일	개체서열번호	등록구분	등록번호	
♂-주부	KP9310	1996-09-18				

월 사이에 진행하였다. 공란우의 선발은 기본적으로 정상적인 번식능력을 가지고 있으며 특히 감염성 질병이 없으며 번식기관의 능력에 문제가 없는 개체를 선발하도록 하였다. 공란우에서 채취한 난자와 체외수정을 유도할 정액은 선정된 공란우와의 근친도를 1차적으로 고려하였고 2차적으로 등심단면도, 등지방두께, 도체중, 근내 지방도의 유전능력이 모두 우수하며 신뢰도가 높은 정액을 선정하였다. OPU 채란은 주 2회 실시하였다.

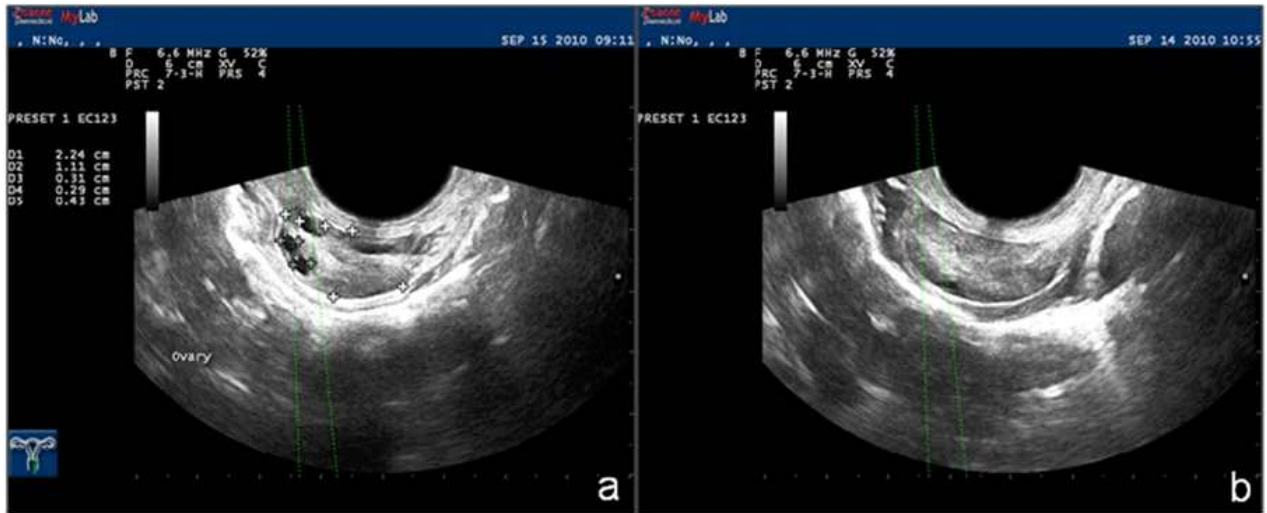


그림 23. 초음파기기를 이용한 난포란의 채취모습.

표 7. 공란우 25두의 난포란의 채란과 난자의 회수

채란횟수	개체번호	난포수	난자수	Grade			
				G1	G2	G3	G4
15	6026	337	156	20	38	86	12
14	8872	343	203	19	42	118	24
2	1538	20	6	0	2	4	0
15	7194	278	142	6	23	75	38
15	1507	365	156	14	29	88	25
9	4069	180	89	11	25	45	8
1	6877	20	5	1	1	2	1
15	0976	295	141	10	38	72	21
15	9839	390	198	7	43	124	24
15	0861	370	219	23	79	103	14
15	1104	253	135	28	38	61	8
15	6337	356	205	24	42	110	29
15	8235	411	211	24	58	107	22
1	6995	18	9	1	1	4	3
15	8827	311	158	28	54	65	11
15	6841	378	190	24	54	98	14
10	2035	217	110	19	38	48	5
14	6877	314	208	23	41	119	25
14	6863	324	179	16	68	88	7
14	7391	314	151	8	36	90	17
12	7633	314	193	23	55	100	15
13	0007	301	172	17	46	90	19
16	2177	393	239	30	55	124	30
15	9003	289	146	17	31	67	31
15	2971	348	180	37	73	61	9
315	합계	7139	3801	430	1010	1949	412

- 표 7을 보면 본 연구실에서 정립한 OPU 채란방법으로 공란우 25두에서 총 315회 채란하여 3801개의 난자를 회수하였다. 이는 1회 채취 시 1두당 약 12.0개의 난자를 채취한 것으로 써 기존의 보고된 연구와 비교하여 많은 난자를 채취한 것으로 판단된다.

표 8. 공란우 25두의 배아발달 효율 조사

개체번호	난자수	수정률(%)	배아발달율(%)
6026	156	52 (33.3)	35 (22.4)
8872	203	82 (40.4)	43 (21.2)
1538	6	2 (33.3)	1 (16.7)
7194	142	38 (26.8)	21 (14.8)
1507	156	55 (35.3)	32 (20.5)
4069	89	32 (36.0)	17 (19.1)
6877	5	2 (40.0)	1 (20.0)
0976	141	70 (49.6)	36 (25.5)
9839	198	79 (39.9)	47 (23.7)
0861	219	101 (46.1)	40 (18.3)
1104	135	64 (47.4)	41 (30.4)
6337	205	71 (34.6)	43 (21.0)
8235	211	95 (45.0)	62 (29.4)
6995	9	2 (22.2)	1 (11.1)
8827	158	64 (40.5)	35 (22.2)
6841	190	83 (43.7)	37 (19.5)
2035	110	56 (50.9)	35 (31.8)
6877	208	82 (39.4)	42 (20.2)
6863	179	55 (30.7)	25 (14.0)
7391	151	53 (35.1)	25 (16.6)
7633	193	68 (35.2)	36 (18.7)
0007	172	55 (32.0)	23 (13.4)
2177	239	136 (56.9)	87 (36.4)
9003	146	70 (47.9)	44 (30.1)
2971	180	107 (59.4)	72 (40.0)
합계	3801	1574 (41.4)	881 (23.2)

- 공란우 25두로부터 채취한 난포란을 각 개체별 체외성숙 및 체외수정 후 배반포의 발생율을 표 8에서 나타낸 결과와 같다. 각 개체별 수정율은 개체에 따라 22.2% ~ 56.9%로 개체간의 차이가 존재하였으며 배아 발달율에서도 개체에 따라 11.1% ~ 40.0%로 차이가 나타나는 것을 확인하였다. 수정율과 배발달율은 난자의 등급에 영향을 받는데, 등급이 낮은 G3, G4의 난자가 많이 채란 된 개체일수록 수정율과 배발달율이 낮게 나온다. 1회 채란 시 얻게 되는 난자는 등급에 따라 나누지 않고 해당 개체의 난자를 함께 배양하기 때문에 데이터 상 으론 수정율과 배발달율이 낮게 나오게 된다. 암컷 수정란의 생산된 총 수량은 881개로 확인되었다.

④ 이식된 수정란의 수태율 분석 및 차년도 분만율과 암컷 송아지 생산 비율 추적 조사

- 본 연구에서는 생산된 암컷 수정란의 수태율 및 분만율, 암컷 송아지 생산비율을 추적조사하기 위하여 15개 지역의 20명의 수정사에게 수정란을 공급하여 대리모에 이식하였다. 2020년 9월부터 11월까지 총 228개의 수정란을 대리모에 이식하였다. 각 지역은 편의상 대문자

A,B,C 수정사는 소문자 a,b,c 로 구분하여 자료를 작성하였다. 대리모에게 이식한 결과는 다음과 같다(표 9).

표 9. 지역별 수정사 별 암컷 수정란 이식 현황

지역	수정사	이식 두수	비 고
A	a	10	
	b	20	
B	c	36	
C	d	36	
D	e	12	
	f	35	
E	g	5	
F	h	7	
G	i	2	
H	j	1	
I	k	1	
J	l	3	
K	m	1	
L	n	3	
M	o	5	
N	p	29	
	q	4	
	r	9	
	s	7	
	t	2	
합계		228	

- 수정란 이식계획은 기존 3개의 지역에만 공급하려 했으나 지역 간 편차를 줄이기 위하여 공급지역을 늘려 15개 지역 20명의 수정사가 수정란이식을 실시하였다. 이식된 수정란의 수태율을 조사하기 위하여 지역을 선별, 일반 수정란과 암컷 수정란을 이식한 결과를 조사하였다. 이식을 실시한 이식자의 자료 보고의 원활하지 않은 문제점으로 인하여 신뢰할 수 있는 지역의 자료를 공시하였으며, 공시된 지역은 수정란 이식을 3월~11월까지 실시하였다. 그 기간 중 9월에서 11월까지의 암컷 수정란을 이식하였으며 결과는 다음과 같다(표10).

표 10. 일반 수정란과 암컷 수정란의 수태율 비교

분 류	총 이식 두수	수태율	비 고
일반 수정란	512	261 (51.0)	
암컷 수정란	35	17 (48.5)	
합 계	547	278 (50.8)	

- 현재까지 취합된 수태율 데이터에서, 일반수정란과 암컷수정란의 수태율을 비교한 결과 일반수정란의 수태율은 51.0%, 암컷수정란의 수태율은 48.5%로 나타났으며 일반수정란과 비교하여 암컷수정란 수태율이 크게 차이나지 않음을 확인하였다.
- 일반적으로 수정란 이식 후 송아지의 분만까지는 약 10개월의 임신기간이 필요하다. 따라서 암컷수정란의 분만율과 생산된 송아지의 성비의 확인은 이번 연구기간 내에는 알기 어려웠다. 암컷수정란의 이식은 2020년 9월부터 시작하였으며 올해 7월부터 송아지의 생산이 시작될 것으로 보인다.
- 암컷수정란 이식데이터(암송아지 생산 비율)를 확보하기 위해 시술자의 협조 요청을 하고 있으며, 7~8월경 대부분의 암송아지 생산효율에 대한 결과를 취합할 수 있을 것으로 예상된다. 이후 생산된 송아지의 추적을 실시하여 자료를 보강하고자 한다.

(2) 정량적 연구개발성과

- 정량적 연구개발성과 목표로 다음과 같이 설정하였으며, 총 실적은 목표대비 82.8%를 달성하였다. 중요 연구성과로 암컷수정란을 제품화하여 판매하였으며 매출액 1.9억 원을 달성하였다. 해당 연구관련 사업화로 인해 필요 인원을 다수 고용하여 연구인력을 확보하여 전국적인 공급을 위한 인력확보에 최선을 다하였다. 해당 연구의 투자가치평가를 받아 투자 20억을 유치하는데 성공하였다. 이러한 성과를 기반으로 올 하반기에 암컷 송아지의 생산 비율이 실제 현장에서의 결과가 나오면 Mass Media를 통한 홍보를 통하여 전국적인 공급 체계를 구축하고자 한다.

< 정량적 연구개발성과표 >

(단위 : 건, 천원)

성과지표명		연도	1단계 (2020~2021)	계	가중치 (%)
전담기관 등록·기탁 지표 ¹⁾	학술발표	목표(단계별)	1	1	4
		실적(누적)	1	1	4
연구개발과제 특성 반영 지표 ²⁾	기술이전	목표(단계별)	1	1	5
		실적(누적)	0	0	0
	기술료	목표(단계별)	100	100	10
		실적(누적)	0	0	0
	제품화	목표(단계별)	1	1	10
		실적(누적)	1	1	10
	매출액	목표(단계별)	200,000	200,000	25
		실적(누적)	197,750	197,750	24.6
	고용창출	목표(단계별)	2	2	20
		실적(누적)	10	10	20
	투자유치	목표(단계별)	2,000,000	2,000,000	20
		실적(누적)	2,000,000	2,000,000	20
	교육지도	목표(단계별)	1	1	3
		실적(누적)	1	1	3
	인력양성	목표(단계별)	2	2	3
		실적(누적)	1	1	1.5
계					100
					83.1

(3) 세부 정량적 연구개발성과

[과학적 성과]

□ 국내 및 국제 학술회의 발표

번호	회의 명칭	발표자	발표 일시	장소	국명
1	한국동물생명공학회	이○림	2020.08.10	KT대전인제개발원	대한민국

[경제적 성과]

□ 사업화 투자실적

번호	추가 연구개발 투자	설비 투자	기타 투자	합계	투자 자금 성격*
1	100,000,000원	1,009,780,000원	390,220,000원	1,500,000,000원	투자유치
2	-	500,000,000	-	500,000,000원	투자유치

* 내부 자금, 신용 대출, 담보 대출, 투자 유치, 기타 등

□ 사업화 현황

번호	사업화 방식 ¹⁾	사업화 형태 ²⁾	지역 ³⁾	사업화명	내용	업체명	매출액		매출 발생 연도	기술 수명
							국내 (천원)	국외 (달러)		
1	자가실시	신제품 개발	경남, 경북, 전남	OPU유래 한우수정란	고능력우 생산	농업회사법인(주) 더킹콩	197,750		2020	30년

* 1) 기술이전 또는 자기실시

* 2) 신제품 개발, 기존 제품 개선, 신공정 개발, 기존 공정 개선 등

* 3) 국내 또는 국외

□ 매출 실적(누적)

사업화명	발생 연도	매출액		합계	산정 방법
		국내(천원)	국외(달러)		
OPU유래 한우수정란	2020	197,750		197,750	세금계산서, 매출원장
합계					

□ 고용 창출

순번	사업화명	사업화 업체	고용창출 인원(명)		합계
			2020년	2021년	
1	우량한우 암컷수정란 생산기술 개발	농업회사법인(주)더킹콩	1	9	10
	합계		1	9	10

□ 고용 효과

고용 효과	구분		고용 효과(명)
	개발 전	개발 후	
		연구인력	3
		생산인력	0
		연구인력	4
		생산인력	9

□ 경제적 파급 효과

(단위: 천원/년)

구분	사업화명	수입 대체	수출 증대	매출 증대	생산성 향상	고용 창출 (인력 양성 수)	기타
해당 연도	우량한우 암컷수정란	-	-	190,000	200개	10	
기대 목표	"	-	-	500,000	1000개	+3	

□ 산업 지원(기술지도)

순번	내용	기간	참석 대상	장소	인원
1	우량한우 개량위한 대리모 선발기준 및 관리요령	2020.10.06	창원 한우사육농가	창원축협	10

[사회적 성과]

□ 전문 연구 인력 양성

번호	분류	기준 연도	현황										
			학위별				성별		지역별				
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타
1	오○화	2020		1				1			1		

[인프라 성과]

□ 연구시설·장비

구축기관	연구시설/연구장비명	규격 (모델명)	개발여부 (○/×)	연구시설·장비 종합정보시스템* 등록여부	연구시설·장비 종합정보시스템* 등록번호	구축일자 (YY.MM.DD)	구축비용 (천원)	비고 (설치 장소)
더킹콩	사료급여기	3.6m ² ND-E1300	X	X	X	20.07.15	21,600	더킹콩 농장
더킹콩	초음파진단기	BLUE VET Ultrasound scanner	X	X	X	2020.07.17	29,000	더킹콩 농장
더킹콩	초음파프로브	BLUE초음 파진단기프 로브	X	X	X	2020.07.17	21,000	더킹콩 농장
더킹콩	생화학분석기	Catalyst One	X	X	X	20.08.28	23,000	더킹콩 연구실
더킹콩	뱃집절단기	170cm CAMCAT- 9	X	X	X	20.09.15	20,000	더킹콩 농장

* 「과학기술기초법 시행령」 제42조제4항제2호에 따른 연구시설·장비 종합정보시스템을 의미합니다.

[그 밖의 성과](해당 시 작성합니다)

타 축종의 성감별 정자를 분리하여 수정란을 생산할 수 있는 즉, 종 특이성의 mABs 연구개발 가능성을 제시하고 있음.

(4) 계획하지 않은 성과 및 관련 분야 기여사항(해당 시 작성합니다)

2) 목표 달성 수준

추진 목표	달성 내용	달성도(%)
<ul style="list-style-type: none"> ○ 새로운 monoclonal antibody를 활용한 X-sperm 분리기술의 적정화 - 일반 동결정액에서 암컷과 수컷 정자의 비율이 약 50% 정도로 예상됨. 이들 50% 암컷 정자 중에서 약 85% 이상을 분리하여 체외수정란 생산하여 활용하고자 함 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 기존 mABs와 비교하여 새로운 mABs의 응집도를 개선하였으며, 적정농도 3.5 ug의 사용효율을 높이기 위한 검증을 실시함. 최종 수정배양액의 사용 가능 볼륨을 높임으로써 사용하는 mABs 양 대비, 적용할 수 있는 난자 수를 높여, 수정란 생산에 들어가는 mABs 및 수정란 생산 단가를 낮출 수 있는 결과를 확인하였다. ○ 새로운 mAB를 이용한 암컷 수정란 생산 검증 결과 19개중 17개가 암컷수정란으로 나타났다. 암컷정자 분리 효율이 89.5%로 목표설정보다 높게 달성하였다. 	○ 100%
<ul style="list-style-type: none"> ○ 분리된 X-sperm 활용한 X-bearing embryo 생산위한 체외배양기술 적정화 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 무혈정배양액을 이용하여 배양기술 적정화를 하였으며, 표 5에서와 같이 도축장 난자실험에서 일반 체외수정란 27%과 비교하여 유사한 암컷수정란 생산효율 23%을 나타내었다. 	○ 100%
<ul style="list-style-type: none"> ○ 수정란이식에 활용할 수 있는 수준의 X-bearing embryo 생산효율 및 성비 검정 - 분리된 암컷 정자를 이용한 체외수정란 암컷 비율이 약 85% 이상 생산효율을 확보하고자 함 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 성비검정은 도축장 수정란을 이용하여 89.5%의 분리효율을 확인하였다. ○ 성감별된 암컷 수정란의 배반포 발달율을 조사하기 위해 2020년 9월부터 10월까지 25두의 공란우를 대상으로 OPU 유래 수정란 생산 방법을 활용하여 수정란을 생산하였다. 기간 내에 채란된 총 난자의 수는 3,801개로 확인되었으며 cleavage는 1,574개, 생산된 blastocyst는 881개로 확인되었다. 두당 채란된 난자 및 생산된 blastocyst를 확인한 결과, 난자는 평균 12.1개가 채란이 되었으며 cleavage는 5.0개, blastocyst는 2.8개를 확인하였다. 난자에서 blastocyst 까지의 발달율은 23.1%, cleavage에서 blastocyst 까지의 발달율은 56.0%로 확인되었다. 	○ 100%
<ul style="list-style-type: none"> ○ 이식된 수정란의 수태율 분석 및 차년도 분만율과 암컷 송아지 생산 비율 추적 조사 - 총 200개의 암컷 수정란을 이식하여 연구기간 내에 임신율을 검정하고, 연구종료 후(2021년)에 분만한 송아지의 성비를 검정하고자 함. 이때 본 계획서의 약 85% 암송아지 생산 가능성을 최종 검정하여 사업 확대에 적용하고자 함 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 본 연구에서는 '20.09-11월까지 암컷수정란을 이식하였고, 수정란은 총 228개를 사용하였으며 목표 계획인 200개 이식을 초과하여 달성하였다. 그리고 수정란이식을 실시한 지역의 수태율을 확인하기 위하여 표본조사를 실시한 결과 48.5%의 수태율을 확인하여 암컷수정란 이식이 일반수정란과의 수태율 차이를 보이지 않았다. 다만, 분만한 송아지의 성비 조사는 최초분만일이 7월로 예정되어 있어 자료를 기재하지 못하였으나 추후 생산된 송아지의 개체 추적을 실시하여 보완하고자 한다. 	○ 50%

4. 목표 미달 시 원인분석

1) 목표 미달 원인(사유) 자체분석 내용

- 일반적으로 수정란 이식 후 송아지의 분만까지는 약 10개월의 임신기간이 필요하다. 따라서 암컷수정란의 분만율과 생산된 송아지의 성비의 확인은 이번 연구기간 내에는 알기 어려웠다. 암컷수정란의 이식은 2020년 9월부터 시작하였으며 올해년도 7월부터 송아지의 생산이 시작될 것으로 보인다.
-

2) 자체 보완활동

- 암컷수정란 이식데이터(암송아지 생산 비율)를 확보하기 위해 시술자의 협조 요청을 하고 있으며, 7~8월경 대부분의 암송아지 생산효율에 대한 결과를 취합할 수 있을 것으로 예상된다. 이후 생산된 송아지의 추적을 실시하여 자료를 보강하고자 한다.
-

3) 연구개발 과정의 성실성

- 암컷수정란 이식개수를 200개 목표보다 28개 더 많이 이식하였으며, 이식 지역을 15군데로 넓게 설정하여 지역 간 편차를 줄이고자 하였다.
-

5. 연구개발성과의 관련 분야에 대한 기여 정도

- 연구개발의 성장성, 확장성으로 인해 고용창출 목표 2명에서 10명으로 초과달성하여, 농축산 분야의 청년취업난을 해소하고 취업률을 상승시키는데 기여하였다.
 - 과제 종료 후에도 암컷수정란을 생산하여 판매를 계속 진행하고 있으며, 농가 소비 촉진 및 농가소득 확대 그리고 수정란 매출 또한 계속해서 상승할 것으로 기대된다.
-

6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획

- 암컷 수정란의 생산 기술을 활용한 우량 암소 생산 연구과제를 성공적으로 수행하여 얻어지는 모든 성과물은 즉시 현장 적용 가능하기 때문에 사업화 등을 통해 농가의 수익 증대 및 한우 산업에 크게 기여할 것을 기대한다.

: 농가의 소득증가 예상액 추정

. 총 암소 약 200만두(전국) = 200만 두 x 216만원/두 (1등급 차이) = 4.32조원

. 암소 중 약 10% 적용 시 (총 20만두) = 20만두 x 216만원 = 4,300억원

- 연구사업 종료 후 차년도에 현장에서의 암송아지 생산비율이 확인되면 전국적인 사업 확대를 쉽게 꾀할 수 있을 것이다. 즉 우량한우 집단을 조기에 구축하고자 하는 전국의 많은 한우농가에 효과적으로 공급할 수 있는 공급체계를 구축함으로써 개발된 암컷 수정란 생산 기술의 산업화·대중화의 기폭제가 될 것으로 예상된다.

- 현재 당사가 보유한 160두 규모의 목장을 OPU 채란 목장으로 전환하여 연간 100여두 규모의 공란우 채란규모 확보하여 향후 5년 후(2025년)부터 연간 18,000개 이상의 수정란 생산·공급 이 가능한 OPU Donor Center구축하여 전국적인 수정란 공급체계를 구축하고자 한

다(표 11).

- : 100두 공란우 x 60개 수정란/3-4개월 = 6,000개 x 3회/년 = 18,000개
- : 수정란 18,000 Straws x 20만원/Straw = 36억 원
- : 향후 시범사업이 성공하여, 암송아지 생산비율 85% 이상 시 가격조정
 . 18,000 Straws x 25만원/Straw = 45억 원

표 11. 암컷 수정란의 공급 예상 및 사업규모 확대 예상 계획

년도	계산식	비고
2021 (사업종료 후)	1,000개 x 20만원 = 2억 원	. 사업종료 후 암송아지 생산비율 검정 . 하반기 시범사업 지자체 공급
2022 (종료 후 1년차)	4,000개 x 25만원 = 10억 원	. 점진적 사업 확대 . 전국적 공급망 확충 . 암송아지 성비 검정 후 가격 상향 조정 (20만원 → 25만원)
2023 (종료 후 2년차)	10,000개 x 25만원 = 25억 원	. 전국적인 공급 확대 . 신선란 및 동결란 공급체계 구축 . 채란용 목장 확대 구축
2024 (종료 후 3년차)	15,000개 x 25만원 = 37.5억 원	. 전국적 공급 확대
2025 (종료 후 4년차)	18,000개 x 25만원 = 45억 원	. 전국적 공급 확대

- 본 연구개발 성과는 실험실 수준의 논문 발표가 아니라 일선 한우 사육 농가에 즉시 직접적 적용을 목표로 한다. 암소 수정란 대량 생산·공급의 성공을 통하여, 당사로부터 암소 수정란을 공급받은 개별 한우 농가들은 우량한우집단으로 개량시켜 고부가가치를 창출하는 강소부농으로 발돋움할 것이며 이는 장기적으로 국가적인 한우산업의 육성에 크게 기여할 것이다. 이를 위하여 당사는 암소 수정란 수요 확대에 적극적으로 대처하여 산업화를 성공시키고자 한다.
- 현재 OPU 수정란 공급이 3,500개/년 규모에서 전체 공급규모의 확대뿐만 아니라 암컷 수정란의 비중이 증가 예상된다. 즉 연구종료 후 암송아지 생산비율이 약 85% 이상이 검정된 후에는 전국적인 수요는 폭발적으로 증가될 것으로 예상된다. 이러한 사업규모의 확대는 현재 매우 보수적인 계산이다.
- 생산된 우량한우의 암송아지들은 우량한우를 생산하는 번식우로 활용함으로써 개량효율을 극대화시킬 수 있을 뿐만 아니라 지속적으로 활용 가능함으로써 농가의 한우사육에 큰 기여가 예상된다. 또한 번식우는 번식우와 같이, 즉 번식우를 비육우와 같이 사육하지 않는 보다 더 체계적인 사양관리가 가능할 것이다.
- 앞에서 설명한 바와 같이 도체우의 도체등급은 사육농가의 순이익에 직접적으로 관련이 있다. 높은 도체등급과 도체중의 확보는 궁극적으로 우수한 유전자원의 개량에 의해서 얻어질 수 있는 것이다. 암컷 수정란 생산 기술을 완성하여 우량 암소 수정란의 대량생산 및 공급이 이루어지면 개별 한우 사육 농가를 고부가가치 창출이 가능한 경쟁력 있는 한우농가로 육성할 수 있다. 이러한 우량한우의 확대보급으로 사육농가의 우량 암소 집단화의 구축과 이를

통한 순이익의 증가에 의한 경영합리화로 한우 사육 농가의 고부가가치 창출 가능한 한우산업으로 발전이 가능할 것이다. 즉 조기에 우량한우 암소집단의 구축에 가장 효율적으로 대처가 가능하다.

- 우량한우 OPU 유래 성감별 수정란 생산 및 공급체계의 구축함으로써 친자감정이 가능한 정확한 수정란의 공급하여 우량한우의 암소 생산을 가속화시켜 한우산업의 경쟁력 확보가 가능해진다. 수정란이식은 선대 암, 수컷의 유전자원을 이용한 개량으로서 당대에 개량을 완성시킬 수 있는 기술로서 특히 암, 수의 친자감정이 그 무엇보다 중요한 요인이기 때문에 수정란이식에 의해 생산된 송아지는 반드시 친자검정이 가능해야 하며, 친자완전일치(아버지, 어머니와 송아지의 친자완전일치)에 의해 검정이 확인된 개체만이 등록을 시켜주는 법적, 제도적 개선이 필요하다. 이러한 친자완전일치에 의한 검정으로 한우개량의 정확도와 신뢰도를 높여 우량한우의 집단을 구축하여 지속 가능한 한우산업을 경영할 수 있을 것이다.
- 한우개량의 패러다임의 변화<기존 KPN정액 인공수정 방식 → OPU 수정란 이식 방식>를 가져와 우량한우의 조기 개량을 위한 개량기술로 OPU 유래 수정란이식의 활용 범위의 적극적 확대 가능할 것이다. 현재 국내의 수정란이식사업에서 우량한우의 대량생산을 위해서는 OPU유래 수정란이식이 가장 큰 비중을 가지고 개량기술로 패러다임의 변화를 가져오고 있다. 왜냐하면 정확한 어머니, 아버지의 친자검정이 가능하고, 태어날 송아지의 유전능력을 예측 가능함으로써 개량방향을 계획하고 미리 결정하면서 진행시킬 수 있기 때문이다.
- 지속 가능한 한우산업으로 육성 : 우량한우 및 초우량한우 유래 수정란이식으로 생산된 암 송아지의 유전능력은 기존 한우보다 월등히 높은 도체등급 및 도체중을 얻을 수 있게 된다. 앞서 제시한 OPU유래 수정란 이식을 통해 생산한 한우의 도체등급의 결과에서 검증된 것과 같이 이러한 후보축의 확보함으로써 최종적으로 각 한우 농가에 고수익을 보장할 수 있는 지속 가능한 한우산업 육성이 가능하다.

< 연구개발성과 활용계획표 >

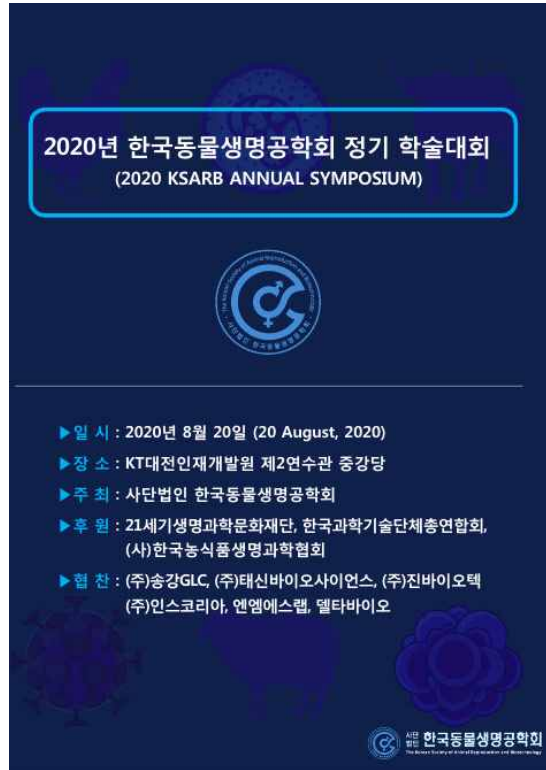
구분(정량 및 정성적 성과 항목)		연구개발 종료 후 5년 이내
사업화	상품출시	2021-하반기: 약 1000여두 암컷수정란 생산 및 공급
	기술이전	
	공정개발	

< 별첨 자료 >

중앙행정기관 요구사항	별첨 자료
	1) 세부정량적 연구성과 증빙자료
	2) 초록
	3) 자체평가 의견서
	4) 연구결과 활용계획서

세부 정량적 연구개발성과 증빙자료

□ 국내 및 국제 학술회의 발표



2020 KSARB Annual Symposium

Reprogramming, Epigenetic

P 67

Additional supplementary cytoplasm enhances telomeric DNA quantity and improves development competence of cloned embryos from aged donor cows

Kyeong-Lim Lee⁴, Lianguang Xu¹, Seon-Hwa Oh¹, Seok-Hwan Song⁴, Jong-Hyeok Ko⁶, Eun-Jung Cho³, Sea-Hwan Sohn³ and Il-Keun Kong^{1,2,4}

¹Department of Animal Science, Division of Applied Life Science (BK21 Plus), ²Institute of Agriculture and Life Science, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Gyeongnam Province, Republic of Korea, ³Department of Animal Science & Biotechnology, Gyeongnam National University of Science and Technology, Jinju 52725, Gyeongnam Province, Republic of Korea, ⁴The King Kong Corp. Ltd., Gyeongsang National University, Jinju 52828, Gyeongnam Province, Republic of Korea

Telomere play a role in protecting the chromosomes and maintaining genomic integrity. Length of telomeres were shortened by the aging. The purpose of this study was to restore the telomere length using cytoplasm injection cloning technology (CICT). We injected additional cytoplasm of a donor oocyte into a perivitelline space of the enucleated recipient oocyte to recover the cytoplasmic volume. In this study, CICT was applied to restore the length of telomere. The results show that the quantity of telomeric DNA in ten-year-old donor cells was significantly higher in the CICT group than in the SCNT (Somatic cell nuclear transfer) group. The cloned embryos using ten-year-old donor cells, CICT and SCNT groups had significantly more telomeric DNA than of ten-year-old fibroblast cells. The cloned embryos of eighteen-year-old CICT and SCNT groups had significantly more telomeric DNA than of ten-year-old fibroblast cells. The amount of telomeric DNA was significantly decreased according to increasing of donor age in fibroblasts and lymphocytes. The amount of telomeric DNA of cloned embryos was much higher than of donor somatic cells. The CICT derived cloned embryos showed significantly higher telomeric DNA content than in SCNT derived ones. These results indicate that CICT help to increase the embryo reprogramming efficiency and it can be used to restore the shortened telomeres in aged donor cells.

*This work was partly supported by the NRF grant funded by the MSIT (No. 2020R1A2C2006614), IPET through Agri-Bio industry Technology Development Program, funded by MAFRA (No. 120066-01) and a scholarship from the BK21 plus program.

Key words: bovine, cloned embryo, telomere, CICT, aged donor

E-mail: 0920-0728@hanmail.net

□ 사업화 투자실적

농업회사법인 ㈜ 더킹콩의 보통주 투자계약서

2020. 06. 24

투자자 : 포스코 고급기술인력 창업펀드

투자기업 : 농업회사법인㈜더킹콩



전환사채 인수계약서

2020. 09. 22.

농업회사법인㈜더킹콩



제2장 신주의 인수에 관한 사항

제3조 신주의 발행과 인수

- ① 회사는 본 계약에 따라 다음과 같은 본권 보통주를 발행하고, 투자자는 이를 인수한다.
 1. 기 발행주식의 총수: 기형식 보통주 200,604주
 2. 1주의 금액(액면가): 금 500원
 3. 본권보통주식의 1주당 발행가액(인수가액): 금 49,849원
 4. 본권보통주식의 납입기일: 2020년 6월 24일
 5. 투자자에게 배정할 본권 보통주식의 총수: 30,091주
 6. 투자자에게 배정할 본권 보통주식의 총인수대금: 금1,500,006,259원
- ② 회사는 납입기일로부터 3영업일 전까지 투자자에게 주권의 납입을 위한 은행의 발단예금계좌를 통지하여야 하고, 투자자는 납입기일까지 본권보통주식의 인수대금 전액을 회사가 통지하는 은행의 발단예금 계좌에 송금하여야 한다.
- ③ 회사는 거래완료일로부터 1주 이내에 본권 보통주식을 발행하여 주주명부에 변동사항을 기재하고, 본회주의 실입기록을 작성하여야 하며, 김수중명원을 투자자에게 교부하여야 한다. 다만, 주권은 회사와 투자자 사이의 협의에 의하여 발행되지 아니할 수 있다.
- ④ 회사는 납입기일 다음날에 다음 각 호의 서류를 투자자에게 교부하여야 한다. 단, 2호의 서류는 투자자의 요청이 있을 경우 납입기일에 투자자에게 교부하여야 한다.
 1. 본 계약에 의한 주주권을 표상하는 주권, 만약 주권이 발행되지 않는 경우에는 주주로서의 권리를 증명하는 주주권증서 및 주권이발행확인서
 2. 본권보통주식의 인수대금의 납입영수증
 3. 기타 본 계약상의 주권인수를 적법, 유효하게 하는 것으로서 투자자가 요청하는 자료

제4조 투자의 선행조건

- 본 계약은 주권의 납입기일 현재 다음 각호의 조건이 충족되는 것을 그 이행 및 효력발생의 선행조건으로 한다.
- 1. 회사 및 이해관계인이 본 계약에 따라 이행하여야 할 의무를 이행하였을 것
 - 2. 회사 및 이해관계인이 본 계약에서 행한 권술과 보장이 진실되고 정확할 것
 - 3. 본 계약에 따라 투자자가 인수하기로 예정된 본권보통주식의 발행을 금지하거나 제한하는



- 3. 본권 전환사채의 종류: 기형식 전환사채
- 4. 본권 전환사채의 권면총액: 금 일억만원(W500,000,000)
- 5. 본권 전환사채의 권면금액 및 권종수: 금1억원권 5매
- 6. 본권 전환사채의 발행가액: 사채의 권면금액의 100%
- 7. 본권 전환사채의 이율: 표면이율 연 2%, 만기보장수익률 연복리 5.0%
- 8. 본권 전환사채의 납입기일: 2020년 9월 24일
- 9. 본권 전환사채의 만기일: 2025년 9월 24일
- 10. 투자자의 본권 전환사채 인수금액

투자자명	배정할 전환사채 총액	권면금액 및 권종수
마그나 FRESH 펀드	₩500,000,000	금1억원권 5매

- 11. 본권 전환사채의 권리금 지급장소: 투자자가 지정하는 상환 수탁기관의 계좌 또는 투자자가 지정하여 통보하는 은행지점
- 12. 본권 전환사채의 분할 및 병합: 본권 전환사채권은 기형식으로만 발행하고 그 권면의 매수가 50매 미만이어야 하며, 본권 전환사채권은 발행일로부터 1년 이내에는 권면분할과 50인 이상에게 전매할 수 없고 그 복약이 권면에 기재되어야 한다.
- 13. 투자자의 조기상환권: 투자자는 본권 전환사채의 발행일로부터 3년이 되는 날인 2023년 9월 23일 및 이후 매 3개월마다 본권 전환사채의 원금에 해당하는 금액의 전부 또는 일부에 대하여 만기 전 조기상환을 청구할 수 있다. 다만, 조기상환의 청구기간은 조기상환일 전 60일 이후 30일 이전의 기간으로 하고, 조기상환수익률은 연 5.0%로 한다.
- ② 회사는 납입기일로부터 3 영업일 전까지 투자자에게 본권 전환사채 인수대금의 납입을 위한 은행의 발단예금 계좌를 통지하여야 하고, 투자자는 납입기일까지 본권 전환사채 인수대금 전액을 회사가 통지하는 은행의 발단예금 계좌에 송금하여야 한다.
- ③ 회사는 납입기일 다음날에 본권 전환사채를 발행하고 전환사채의 상환등기를 이행하여야 한다.
- ④ 회사는 납입기일 다음날에 다음 각 호의 서류를 투자자에게 교부하여야 한다.
 1. 본권 전환사채 사채권(또는 사채권가증권), 단, 사채권 발행 교부 전까지 사채권은 사채납입보증증서 또는 사채권미발행확인서로 대체할 수 있다.
 2. 본권 전환사채의 인수대금 납입영수증
 3. 기타 본 계약상의 전환사채 발행을 적법, 유효하게 하는 것으로서 투자자가 요청하는 자료

제 2 조 투자의 선행조건

본 계약은 전환사채 인수대금의 납입기일 현재 다음 각호의 조건이 충족되는 것을 그 이행 및 효력발생의 선행조건으로 한다.




[별첨 1]

□ 사업화 현황

<양식>

농림축산식품 연구개발과제 제품출시 확인서

과제명	우량 한우 암컷 수정란 생산기술 개발			
주관연구기관	농업회사법인(주)더킹콩	참여기관	-	
연구책임자	공 일 근	연구기간	20년 04월 ~ 21년 04월 (총 1년)	
총 정부출연금	200,000,000원			
해당 기술의 제품출시 유형				
시제품(제품출시 예정)	()	기존 제품 공정개선	()	
신제품(제품출시 완료)	(○)	기 타	()	
제품 출시 실적				
제품명	제품사진	제품용도	제품 출시일	해당 기술의 제품출시 기여율(%)
OPU유래 한우 수정란	 <p>최종 생산물 생산물을 담은 스트로우 배송용 제품사진 (제품 정보 부착)</p>	고능력우 생산	2020.05.01	100
<p>* 첨부 : 당해연도 제품출시 여부를 확인할 수 있는 자료(제조년월일 표기사진, 제품등록번호 등) **식품R&D는 품목제조보고서 제출 필수</p> <p style="text-align: center;">상기와 같이 R&D 기술을 제품화한 실적을 보고합니다.</p>				

2021년 01월 08일

연구책임자 : 공 일 근


(서명 인)




[별첨 1]

매출 실적(누적)

농림축산식품 연구개발과제 매출 확인서

과제명	우량 한우 암컷 수정란 생산기술 개발		
주관연구기관	농업회사법인(주)더킹콩	참여기관	-
연구책임자	공 일 근	연구기간	20년 04월~ 21년 04월 (총 1년)
기업 정보	기업 매출 총액 : 502,392,424 원		
관련 실적	특허() , 품종() , 소프트웨어() , 디자인() , 상표() , 기타(상생)		
	명칭(번호) : 예. 전분을 이용한 쌀과자 개발(특허등록 10-1999771)		
	기술실시 명칭 :		
해당제품의 매출 실적			
제품명	제품사진	매출액(원)	해당 과제의 매출액 기여율(%)
OPU유래 한우 수정란	 <p>최종 생산물 생산물을 담은 스트로우 배송용 제품사진 (제품 정보 부착)</p>	국내 197,750,000 원	100
<p>* 첨부 : 당해연도 매출액을 확인할 수 있는 자료(매출전표, 세금계산서, 매출원장, 수출계약 등)</p> <p style="text-align: center;">상기와 같이 R&D 기술을 사업화하여 발생한 매출액을 보고합니다.</p>			

2021년 06 월 18 일

연구책임자 : 공 일 근 (서명  인)

매출 전자세금계산서 합계표 (2020년11월)

출력일자: 2021년 6월 18일

페이지: 1

인적사항

사업자번호	162-87-01138	중사업장번호		상호(법인명)	농업회사법인 (주)더킹콩
성명(대표자)	공일근	사업장소재지	경상남도 진주시 진주대로 501, 451동 243호(가좌동)		
거래기간	2020-11-01 - 2020-11-30				

매출 전자세금계산서 총합계

(단위 : 건,원)

구분	매출처수	매수	공급가액	세액	합계금액
합계	2	2	67,636,363	6,763,637	74,400,000
사업자등록번호 발급분	2	2	67,636,363	6,763,637	74,400,000
주민등록번호발급분	0	0	0	0	0

번호	공급받는자 등록번호	상호(법인명)	매수	공급가액	세액	합계금액
1	416-82-01383	순천공양축산업협동조합	1	7,272,727	727,273	8,000,000
2	611-82-00524	황천축산업협동조합	1	60,363,636	6,036,364	66,400,000

매출 전자세금계산서 합계표 (2020년12월)

출력일자: 2021년 6월 18일

페이지: 1

인적사항

사업자번호	162-87-01138	중사업장번호		상호(법인명)	농업회사법인 (주)더킹콩
성명(대표자)	공일근			사업장소재지	경상남도 진주시 진주대로 501, 451동 243호(가좌동)
거래기간	2020-12-01 - 2020-12-31				

매출 전자세금계산서 총합계

(단위 : 건,원)

구분	매출처수	매수	공급가액	세액	합계금액
합계	38	38	75,772,723	7,577,277	83,350,000
사업자등록번호 발급분	4	4	32,727,271	3,272,729	36,000,000
주민등록번호발급분	34	34	43,045,452	4,304,548	47,350,000

번호	공급받는자 등록번호	상호(법인명)	매수	공급가액	세액	합계금액
1	480129-*****	강봉달	1	681,818	68,182	750,000
2	611-82-00034	거창축산업협동조합	1	10,909,090	1,090,910	12,000,000
3	590407-*****	곽용일	1	681,818	68,182	750,000
4	580323-*****	곽현호	1	681,818	68,182	750,000
5	780923-*****	곽홍구	1	909,091	90,909	1,000,000
6	660723-*****	김경성	1	681,818	68,182	750,000
7	561214-*****	김경옥	1	681,818	68,182	750,000
8	560311-*****	김기영	1	681,818	68,182	750,000
9	630823-*****	김대식	1	681,818	68,182	750,000
10	790109-*****	김민우	1	909,091	90,909	1,000,000
11	500909-*****	김중봉	1	909,091	90,909	1,000,000
12	590906-*****	김현구	1	2,272,727	227,273	2,500,000
13	540212-*****	박동석	1	909,091	90,909	1,000,000
14	691127-*****	박영현	1	909,091	90,909	1,000,000
15	570511-*****	박준서	1	9,090,909	909,091	10,000,000
16	590222-*****	박태국	1	1,590,909	159,091	1,750,000
17	501030-*****	배해수	1	681,818	68,182	750,000
18	691105-*****	백상현	1	3,272,727	327,273	3,600,000
19	810227-*****	서척기	1	909,091	90,909	1,000,000

매출 전자세금계산서 합계표
(2020년12월)

출력일자: 2021년 6월 18일

페이지: 2

매출처별 명세

번호	공급받는자 등록번호	상호(법인명)	매수	공급가액	세액	합계금액
20	550522-*****	석동환	1	1,136,364	113,636	1,250,000
21	580303-*****	손수자	1	681,818	68,182	750,000
22	691015-*****	손재익	1	681,818	68,182	750,000
23	304-93-07251	송포목장	1	2,272,727	227,273	2,500,000
24	500426-*****	신동순	1	681,818	68,182	750,000
25	788-92-00600	실봉농장	1	11,363,636	1,136,364	12,500,000
26	691214-*****	오승열	1	681,818	68,182	750,000
27	508-90-52508	우량가족인공수정소	1	8,181,818	818,182	9,000,000
28	551216-*****	윤이복	1	1,136,364	113,636	1,250,000
29	470705-*****	이운형	1	681,818	68,182	750,000
30	511203-*****	이복득	1	681,818	68,182	750,000
31	750219-*****	이수길	1	1,136,364	113,636	1,250,000
32	590523-*****	이재근	1	681,818	68,182	750,000
33	590710-*****	이재우	1	2,272,727	227,273	2,500,000
34	500825-*****	이진우	1	681,818	68,182	750,000
35	550218-*****	조해제	1	681,818	68,182	750,000
36	540520-*****	최병도	1	909,091	90,909	1,000,000
37	660110-*****	최용훈	1	1,363,636	136,364	1,500,000
38	550806-*****	함인식	1	1,818,182	181,818	2,000,000

매출 전자계산서 합계표
(2020년05월)

출력일자: 2021년 6월 18일

페이지: 1

1.인적사항

사업자번호	490-85-01121	중사업장번호		상호(법인명)	농업회사법인 주식회사 더링콩
성명(대표자)	공밀근			사업장소재지	경상남도 진주시 대곡면 오방로 120-42
거래기간	2020-05-01 - 2020-05-31				

2.매출 전자계산서 총합계

(단위 : 건,원)

구분	매출처수	매수	공급가액
합계	1	1	40,000,000
사업자등록번호 발급분	0	0	0
주민등록번호발급분	1	1	40,000,000

번호	공급받는자 등록번호	상호(법인명)	매수	공급가액
1	871124-*****	홍성익	1	40,000,000

[별첨 1]

고용 창출

출력 일자 : 2021.06.14 09:43

4대 사회보험 사업장 가입자 명부						
발급번호	20210614236088	발급일시	2021-06-14 09:43	사업장 관리번호	16287011380	
구분	국민연금	건강보험	산재보험	고용보험		
사업자등록번호	162-87-01138	162-87-01138	162-87-01138	162-87-01138		
사업장 명칭	(주)더킹콩	(주)더킹콩	(주)더킹콩	(주)더킹콩		
■ 가입 내역(발급일자 현재기준)				1 / 2		
연번	주민(외국인) 등록번호	성명	자격 취득 일			
			국민연금	건강보험	산재보험	고용보험
1	610810-1*****	김진술	2021.02.08	2021.02.08	2021.02.08	2021.02.08
2	630817-1*****	진종인	2021.03.01	2021.03.01	2021.03.01	2021.03.01
3	640419-2*****	하선애	2021.03.01	2021.03.01	2021.03.01	2021.03.01
4	781023-1*****	김화현	2021.03.01	2021.03.01	2021.03.01	2021.03.01
5	831201-1*****	최병현	2021.03.01	2021.03.01	2021.03.01	2021.03.01
6	841203-2*****	박변영	2021.03.01	2021.03.01	2021.03.01	2021.03.01
7	880821-1*****	고종혁	2020.04.01	2020.04.01	2020.04.01	2020.04.01
8	880920-2*****	이경림	2019.04.01	2019.04.01	2019.04.01	2019.04.01
9	900101-1*****	송석환	2020.03.02	2020.03.02	2020.03.02	2020.03.02
10	911011-2*****	공라미	2021.03.01	2021.03.01		
11	930306-2*****	손미주	2021.03.01	2021.03.01	2021.03.01	2021.03.01
12	930613-1*****	박찬상	2021.03.01	2021.03.01	2021.03.01	2021.03.01
13	950121-2*****	오선화	2020.05.11	2020.05.11	2020.05.11	2020.05.11
						
<p>▷ 위 사업장 가입자 명부는 4대사회보험 정보연계시스템이 국민연금공단 국민건강보험공단 근로복지공단의 가입자 정보를 실시간 연계받아 제공하는 것이며, 발급사실 여부는 발급일로부터 90일까지 4대사회보험 포털사이트(www.4insure.or.kr)의 [발급사실확인] 메뉴에서 확인 가능합니다. *정밀한 정보연계서비스, 4대 사회보험이 함께 합니다.*</p>						

[별첨 1]

□ 산업 지원(기술지도)

교육 결과보고서	작성자	공 일 근
	작성일자	2020.10.06

아래와 같이 교육 결과보고서를 제출합니다.

일 시	2020년 10월 06일		
장 사	공 일 근	대 상	한우사육 농가
장 소	경남 창원시 의창구 북면 신촌본포로 63번길 226-26	참석인원	10명
과 목	우량한우 개량위한 대리모 선발기준 및 관리요령		
<p>■ 교육내용</p> <p>- 창원축협 소속 한우사육농가들의 우량한우 개량위한 OPU유래 수정란이식의 사업화를 위한 사전협의 및 공란우, 대리모 선발과 관리 요령에 대한 현장컨설팅 실시</p> <p>- 특히 수태율에 결정적인 영향을 미치는 대리모의 BCS 관리기준과 요령에 대한 현장 컨설팅 실시</p> <p>- 대리모의 BCS는 3±0.5 범위에서 관리가 절대적으로 필요함</p> <p>- 절대 비만하지 않게 대리모의 관리가 수정란이식 후 수태율에 절대적으로 영향을 미침</p>			

[별첨 1]

□ 전문 연구 인력 양성



제 출 용 도 : 증명서류
제 출 처 : (주)더킹공

발 급 일 : 2020/10/27
유 효 기 간 : 2021/01/25

제 2020-0090606 호

학 위 증 명 서

성 명 : 오선화
생 년 월 일 : 1995년 1월 21일
소 속 : 대학원 석사과정 응용생명과학부
진 공 : 응용생명과학
입 학 일 자 : 2018년 3월 2일
학 위 명 : 이학석사
학위등록번호 : 경상대2019(석)473
학위수여일자 : 2020년 8월 28일

위의 사실을 증명합니다.

2020년 10월 27일

경 상 대 학 교 총



본 증명서는 전자증명서(파일)이므로 타임스탬프 및 인증서명에 따른 증명력은 위조로 간주되며 과감 허위와 불이익은 자중합니다.

(INTERNET NO) 3935668709023999

본 증명서는 전자증명서(PDF파일)로 발급되었습니다. 전자증명서는 출력시 출력물은 사본으로 인정됩니다.
전자증명서 확인용 전용뷰어가 아닌 경우 진본 여부 및 전자서명을 확인 할 수 없으며 진본여부가 표시되지 않습니다.
전자증명서 확인용 전용뷰어는 www.certpia.com/eDown 에서 다운 받을 수 있습니다.

[별첨 2]

연구개발보고서 초록

과 제 명	(국문) 우량한우 암컷 수정란 생산기술 개발				
	(영문) Development of Preselected Female Embryo Production in bovine				
주관연구기관	농업회사법인(주)더킹콩		주 관 연 구 책 임 자	(소속) 농업회사법인(주)더킹콩	
참 여 기 업				(성명) 공 일 근	
총연구개발비 (400,000천원)	계	400,000	총 연 구 기 간	2020.04.29. ~ 2021.04.28. (12개월)	
	정부출연 연구개발비	200,000	총 참 여 연 구 원 수	총 인 원	5명
	기업부담금	200,000		내부인원	5명
	연구기관부담 금			외부인원	

○ 연구개발 목표 및 성과

- ▶ 본 연구과제는 ‘우량한우 암컷 수정란 생산기술 개발’의 연구 주제로서 최종 목표는 “OPU유래 우량한우 암컷 수정란 대량 생산기술을 개발하여 고부가가치 한우산업 육성”으로서 지속 가능한 한우산업에 기여하고자 한다. 세부목표로는 ① 새로운 monoclonal antibody를 활용한 X-sperm 분리기술 적정화, ② 분리된 X-sperm 활용한 X-bearing embryo 생산위한 체외배양기술 적정화, ③ 수정란이식에 활용할 수 있는 수준의 X-bearing embryo 생산효율 및 성비검정, ④ 이식된 수정란의 수태율 분석 및 차년도 분만율과 암컷 송아지 생산비율 추적 조사를 정하고 목표를 달성하여 산업화에 적용할 수 있는 기술 수준을 개발하고자 한다.

○ 연구내용 및 결과

- ▶ 본 연구계획의 필요성은, ① 빠른 개량속도와 개량을 촉진시킬 수 있는 수정란이식, ② 우량한우의 집단화 구축을 위해서는 암송아지의 생산 필요, ③ 암송아지의 생산위해서는 암컷 정자의 분리기술의 개발과 OPU유래 수정란 생산 기술의 접목으로 효과적인 암컷 수정란 생산 기술 개발 필요, ④ 고부가가치 창출 가능한 한우산업 육성위해 암송아지의 생산 기술개발이 시급히 필요, ⑤ 한우개량의 패러다임의 변화로 가장 효율적이고 단기간에 개량효율을 극대화시킬 수 있는 우량 암송아지의 생산 기술의 필요성이 있다. 연구개발의 연구내용은 ① mABs 이용한 암컷 정자의 분리기술 적정화를 위한 mABs 적정농도, 노출시간, ② 생산된 X-bearing embryo 체외성숙, 수정, 배양기술의 적정화, 즉 이를 위해서 무혈청배지의 개발과 이의 적절한 활용으로 이식 가능한 수정란의 생산효율 개선, ③ X-bearing sperm과 OPU 유래 수정란 생산기술의 효과적인 접목으로 OPU유래 우량한우 암컷 수정란의 대량 생산 기술의 개발, ④ 생산된 X-bearing 수정란의 QC와 이식 및 임신감정과 분만 후 추적조사 등을 수행하고자 한다. 연구과제의 독창성은 암컷 수정란의 효과적인 생산, 약 85% 이상의 암컷 수정란의 생산기술 개발과 OPU유래 암컷 수정란의 생산에 접목하여 우량한우 암컷 송아지를 약 85% 이상 생산할 수 있는 기술개발이다. 이전의 mABs와의 큰 차이점은 암컷 정자 대부분을 분리하여 활용할 수 있는 점이 가장 큰 차이점이다. 과학/기술적 의미는 암컷 정자의 분리와 이를 이용한 수정란의 생산기술은 소(한우)뿐만 아니라 타 가축과 인간에게도 적용될 수 있는 기술로서 적용 가능성이 매우 높은 기술개발이다. 한우개량에 적용함으로써 단기간에 우량한우의 개량으로 한우산업의 경쟁력 강화에 의한 지속 가능한 한우산업을 육성하는데 크게 기여할 것이다.

○ 연구성과 활용실적 및 계획

- 본 연구개발 성과는 실험실 수준의 논문 발표가 아니라 일선 한우 사육 농가에 즉시 직접적 적용을 목표로 한다. 암소 수정란 대량 생산·공급의 성공을 통하여, 당사로부터 암컷 수정란을 공급받은 개별 한우 농가들은 우량한우 집단으로 개량시켜 고부가가치를 창출하는 강소부농으로 발돋움할 것이며 이는 장기적으로 국가적인 한우산업의 육성에 크게 기여할 것이다. 이를 위하여 당사는 암컷 수정란 수요 확대에 적극적으로 대처하여 산업화를 성공시키고자 한다.
- 현재 OPU수정란 공급이 3,500개/년 규모에서 전체 공급 규모의 확대뿐만 아니라 암컷 수정란의 비중이 증가가 예상된다. 즉 연구종료 후 암송아지 생산비율이 약 85% 이상이 검정된 후에는 전국적인 수요는 폭발적으로 증가될 것으로 예상된다. 이러한 사업규모의 확대는 현재 매우 보수적인 계산이다.
- 생산된 우량한우의 암송아지들은 우량한우를 생산하는 번식우로 활용함으로써 개량효율을 극대화시킬 수 있을 뿐만 아니라 지속적으로 활용 가능함으로써 농가의 한우 사육에 큰 기여가 예상된다. 또한 번식우는 번식우와 같이, 즉 번식우를 비육우와 같이 사육하지 않는 보다 더 체계적인 사양관리가 가능할 것이다.
- 도체우의 도체등급은 사육농가의 순이익에 직접적으로 관련이 있다. 높은 도체등급과 도체중의 확보는 궁극적으로 우수한 유전자원의 개량으로 얻어질 수 있는 것이다. 암컷 수정란 생산 기술을 완성하여 우량암소 수정란의 대량 생산 및 공급이 이루어지면 개별 한우 사육농가를 고부가가치 창출이 가능한 경쟁력 있는 한우농가로 육성할 수 있을 것이다. 이러한 우량한우의 확대보급으로 한우농가의 우량암소 집단화 구축과 이를 통한 순이익의 증가에 의한 경영 합리화로 한우 사육농가의 고부가가치 창출 가능한 한우산업으로 발전이 가능할 것이다. 즉 조기에 우량한우 암소집단의 구축에 가장 효율적으로 대처가 가능하다.
- 우량한우 OPU 유래 성감별 수정란 생산 및 공급체계의 구축함으로써 친자검정이 가능한 정확한 수정란의 공급하여 우량한우의 암소 생산을 가속화시켜 한우산업의 경쟁력 확보가 가능해진다. 수정란 이식은 선대 암, 수컷의 유전자원을 이용한 개량으로서 당대에 개량을 완성시킬 수 있는 기술로서 특히 암, 수의 친자검정이 그 무엇보다 중요한 요인이기 때문에 수정란이식에 의해 생산된 송아지는 반드시 친자검정이 가능해야 하며, 완전한 친자일치(아버, 어미와 송아지의 친자완전일치)에 의해 검정이 확인된 개체만이 등록을 시켜주는 법적, 제도적 개선이 필요하다. 이러한 친자완전일치에 의한 검정으로 한우개량의 정확도와 신뢰도를 높여 우량한우의 집단을 구축하여 지속 가능한 한우산업을 경영할 수 있을 것이다.
- 한우개량의 패러다임의 변화<기존 KPN정액 인공수정 방식 → OPU 수정란 이식 방식>를 가져와 우량한우의 조기 개량을 위한 개량기술로 OPU 유래 수정란이식의 활용 범위의 적극적 확대 가능할 것이다. 현재 국내의 수정란이식사업에서 우량한우의 대량생산을 위해서는 OPU유래 수정란이식이 가장 큰 비중을 가지고 개량기술로 패러다임의 변화를 가져오고 있다. 왜냐하면 정확한 어미, 아버와의 친자검정이 가능하고, 태어날 송아지의 유전능력을 예측 가능함으로써 개량 방향을 계획하고 미리 결정하면서 진행시킬 수 있기 때문이다.
- 지속 가능한 한우산업으로 육성: 우량한우 및 초우량한우 유래 수정란이식으로 생산된 암송아지의 유전능력은 기존 한우보다 월등히 높은 도체등급 및 도체중을 얻을 수 있게 된다. 앞서 제시한 OPU유래 수정란이식을 통해 생산한 한우의 도체등급의 결과에서 검증된 것과 같이 이러한 후보축의 확보함으로써 최종적으로 각 한우 농가에 고수익을 보장할 수 있는 지속 가능한 한우산업 육성이 가능하다.

자체평가의견서

1. 과제현황

		과제번호	12006-01		
사업구분	정부·민간 공동펀딩(역매칭) 연구개발사업				
연구분야	LB06 동물자원과학, AB01 동물육종번식		과제구분	단위	
사업명	농축산물안전유통소비기술개발사업			주관	
총괄과제	기재하지 않음		총괄책임자	기재하지 않음	
과제명	우량 한우 암컷 수정란 생산기술 개발		과제유형	(응용)	
연구개발기관	농업회사법인(주)더킹콩		연구책임자	공 일 근	
연구기간 연구개발비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차년도	2020.04.29.~ 2021.04.28	200,000	200,000	400,000
	계		200,000	200,000	400,000
참여기업					
상대국			상대국연구개발기관		

※ 총 연구기간이 5차년도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망


2. 평가일 : 2021.06.02

3. 평가자(연구책임자) : 공 일 근

소속	직위	성명
농업회사법인(주)더킹콩	대표이사	공 일 근

4. 평가자(연구책임자) 확인 :

본인은 평가대상 과제에 대한 연구결과에 대하여 객관적으로 기술하였으며, 공정하게 평가하였음을 확인하며, 본 자료가 전문가 및 전문기관 평가 시에 기초자료로 활용되기를 바랍니다.

확 약	
-----	---

[별첨 3]

I. 연구개발실적

※ 다음 각 평가항목에 따라 자체평가한 등급 및 실적을 간략하게 기술(200자 이내)

1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : 우수, 보통, 미흡, 극히불량)

우량한우 개량을 위해서는 암컷 송아지의 생산이 절대적으로 요구된다. 그러나 수정란이식 시 약 50% vs. 50% 비율로 암컷이 생산되기에 후대축을 생산하기 위한 암컷송아지의 생산은 장기간이 소요될 수밖에 없다. 그러나 성감별 수정란이식으로 당대에 우량한우 암컷 송아지의 대량생산이 가능성과 농가의 소득향상에 크게 기여할 수 있는 것들을 고려할 시 연구개발결과의 우수성/창의성은 매우 높다고 판단됨.

2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : 우수, 보통, 미흡, 극히 불량)

암컷 송아지의 생산으로 우량한우 개량을 완성하고자 하는 농민들의 열망이 매우 크다. 암컷 수정란을 생산 및 이식으로 이러한 목표를 충분히 달성할 수 있을 것으로 판단된다. 즉 암컷 수정란의 생산비율은 89.5%를 얻었고, 이를 다시 대리모에 이식하여 분만을 기다리고 있음.

3. 연구개발결과에 대한 활용 가능성

■ 등급 : 우수, 보통, 미흡, 극히 불량)

암컷수정란의 생산비율은 약 89.5%로서 이들 수정란을 이식하였을 때 얻을 수 있는 암컷 송아지의 비율도 비슷할 것으로 예상되고 있음. 이러한 결과를 얻을 수 있다면, 전국적으로 우량한우 개량을 열망하는 많은 한우사육 농민들에게 우량한우 암컷 수정란을 생산 및 공급할 수 있을 것이다. 이에 따라 연구개발결과에 대한 활용 가능성은 그 어떠한 연구결과보다 클 것으로 기대하고 있음.

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : 우수, 보통, 미흡, 극히불량)

본 회사의 연구팀은 과제수행으로 목표한 결과를 도출하기 위해 매우 성실하게 연구과제를 수행하였으며, 현장 관련된 연구는 결코 쉽지 않은 연구임에도 불구하고 성실하게 임하여 훌륭한 결과까지 도출하였다고 판단됨.

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : 우수, 보통, 미흡, 극히불량)

본 연구과제를 수행하면서 얻어진 연구결과는 논문보다는 실제 현장적용, 이후 사업화를 위한 현장연구를 적극적으로 수행하였음. 그리하여 논문, 지적소유권 등의 실적에 크게 과념치 않고 수행하였음.

II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
○ 새로운 monoclonal antibody를 활용한 X-sperm 분리기술의 적정화 기술 개발 - 총 정자의 50% 암컷 정자의 분리 수준: 85% 이상	20	20	- 암컷 정자의 분리기술은 X-specific monoclonal antibody & complement를 활용기술을 확립하여 효과적으로 생산 가능함. - 기존의 약 15% 정도의 암컷 정자분리에서 암컷 대부분인 약 50% 암컷 정자를 분리할 수 있는 기술을 확보하여 이를 이용한 체외수정란의 암컷 수정란의 비율은 89.5% 정도임.
○ 분리된 X-sperm 활용한 X-bearing embryo 생산위한 체외배양기술 적정화 기술 개발 - X-bearing embryo 배양: 40% 이상 이식 가능한 blastocyst 발달율 (채취된 OPU 남자 전체 대비)	20	19	- 암컷 수정란을 생산하기 위해 mAB의 적정 처리 농도, 적정 처리 시간을 정립하였음, - 도축장 수정란을 이용한 체외 배양 결과는 대조군 27%, 암컷수정란 23%로 크게 차이하지 않음을 확인하였고, OPU유래 암컷수정란은 최대 40%의 배발달율을 확인하였음
○ 수정란이식에 활용할 수 있는 수준의 X-bearing embryo 생산효율 및 성비 검정 기술 확립 - X-bearing embryo 성비: 85% 이상 암컷 수정란 생산	20	19	- 암컷 수정란을 생산하기 위한 정자 처리기술, 암컷 수정란의 배양체계 구축 등은 완벽하게 구축하였음. - 암컷 수정란의 비율은 89.5%로서 목표치 초과달성 하였음.
○ 이식된 수정란의 수태율 분석 및 차년도 분만율과 암컷 송아지 생산 비율 추적 조사 실시 - 수태율: 대조군 일반 수정란이식과 유사한 수준인 50% 이상 - 암컷 송아지: 차년도 추적 조사 후 85% 이상 암송아지 생산	35	33	- 수태율을 조사한 결과 대조군에서 51%, 암컷 수정란이식에서 48.5%로서 유의적인 차이가 없이 거의 유사한 결과를 얻었음. - 암컷 송아지의 분만율은 아직 분만을 위한 시기가 되지 않아 추적조사를 실시하여 결과를 확보하고자 함.
○ 연구결과 분석 및 보고서작성	5	5	- 연구결과를 충분히 분석하고, 이를 바탕으로 보고서 작성을 충실히 수행하였음.
합계	100점	96	

[별첨 3]

III. 종합의견

1. 연구개발결과에 대한 종합의견

한우농가의 가장 큰 기대는 우량한우 개량집단의 구축으로 고수익을 창출하는 것이다. 이를 위해 수정란이식기술을 이용한 우량한우 개량을 실시하고 있으나, 생산되는 송아지의 성비는 암/수 50% vs. 50%로서 암송아지의 후보축의 확보는 쉽지 않다. 이러한 한우사육농민들의 열망을 해결하기 위해 암컷 수정란의 생산비율을 약 89.5%까지 높일 수 있는 기술을 개발하고, 이렇게 생산된 암컷 수정란이식으로 암송아지의 생산비율도 약 85%까지 얻을 수 있는 연구과를 수행하였다. 현재까지의 연구결과는 매우 만족스러운 성과를 얻었고, 이식한 대리모의 분만 및 생산될 암송아지의 비율은 추적조사를 실시하고, 이러한 결과를 기반으로 사업을 전국적으로 확대하고자 한다.

이러한 전반적인 연구결과를 기반으로 본 연구과제의 수행은 매우 만족스러운 결과로 판단되고, 실제 현장에서 큰 호응을 얻고 있어서 전국적인 사업 확대에 큰 기여를 할 것으로 판단된다.

2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

이식한 송아지의 분만은 전체 연구기간 1년 안에 결과를 얻기는 불가능하다. 즉 암컷 송아지의 분만을 위해서는 임신기간이 약 10개월로서 연구기간 내에 송아지의 생산 비율 등에 대한 결과의 도출은 불가능하기에, 연구기간은 종료되지만 이러한 연구결과는 지속적인 추적조사를 실시하여 최종적인 연구결과를 확보할 수밖에 없는 현실을 고려해야 할 것이다.

3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

실험실에서의 암컷수정란의 생산비율과 이들의 이식 후 수태율의 결과만으로도 많은 단위지자체 등에서 암컷 수정란의 생산 및 이식에 대한 사업을 요청하고 있어서, 실제 암컷 송아지의 분만결과가 확보된다면 전국적인 암컷 수정란의 생산 및 공급에 크게 영향을 미칠 것으로 판단된다.

이러한 연구결과가 정리된다면 암컷 수정란의 생산 및 공급을 전국적으로 확대 보급하기 위한 사업확장을 적극적으로 실시할 계획임.

IV. 보안성 검토

○ 연구책임자의 보안성 검토의견, 연구개발기관 자체의 보안성 검토결과를 기재함

※ 보안성이 필요하다고 판단되는 경우 작성함.

1. 연구책임자의 의견

- 태국으로부터 새로운 mAB에 대한 사업계약이 진행 중에 있으며, mAB에 대한 특허권이 태국대학에 있음. 당사와의 사업화 및 영업비밀과 관련하여 결과보고서를 비공개하고자 함.

2. 연구개발기관 자체의 검토결과

- 연구 수행자들의 연구노트관리 필요
- 연구데이터 유실 방지를 위한 데이터 보안 점검필요
- 결과보고서 비공개 검토

연구성과 활용계획서

1. 연구과제 개요

사업추진형태	<input checked="" type="checkbox"/> 자유응모과제 <input type="checkbox"/> 지정공모과제		분 야	
연구과제명	우량 한우 암컷 수정란 생산기술 개발			
주관연구개발기관	농업회사법인(주)더킹콩		주관연구책임자	공 일 근
연구개발비	정부지원 연구개발비	기관부담연구개발비	기타	총연구개발비
	200,000,000원	200,000,000원		400,000,000원
연구개발기간	2020.04.29. ~ 2021.04.28. (12개월)			
주요활용유형	<input type="checkbox"/> 산업체이전 <input type="checkbox"/> 교육 및 지도 <input type="checkbox"/> 정책자료 <input checked="" type="checkbox"/> 기타(사업화)			
	<input type="checkbox"/> 미활용 (사유:)			

2. 연구목표 대비 결과

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
① 새로운 monoclonal antibody를 활용한 X-sperm 분리기술의 적정화 기술 개발 - 총 정자의 50% 암컷 정자의 분리 수준: 85% 이상	- 암컷 정자의 분리기술은 X-specific monoclonal antibody & complement를 활용기술을 확립하여 효과적으로 생산 가능함. - 기존의 약 15% 정도의 암컷 정자분리에서 암컷 대부분인 약 50% 암컷 정자를 분리할 수 있는 기술을 확보하여 이를 이용한 체외수정란의 암컷 수정란의 비율은 89.5% 정도임.
② 분리된 X-sperm 활용한 X-bearing embryo 생산위한 체외배양기술 적정화 기술 개발 - X-bearing embryo 배양: 40% 이상 이식 가능한 blastocyst 발달율	- 암컷 수정란을 생산하기 위해 mAB의 적정 처리 농도, 적정 처리 시간을 정립하였음, - 도축장 수정란을 이용한 체외 배양결과는 대조군 27%, 암컷수정란 23%로 크게 차이나지 않음을 확인하였고, OPU유래 암컷수정란은 최대 40%의 배발달율을 확인하였음
③ 수정란이식에 활용할 수 있는 수준의 X-bearing embryo 생산효율 및 성비 검정 기술 확립 - X-bearing embryo 성비: 85% 이상 암컷 수정란 생산	- 암컷 수정란을 생산하기 위한 정자처리기술, 암컷 수정란의 배양체계 구축 등은 완벽하게 구축하였음. - 암컷 수정란의 비율은 89.5%로서 목표치 초과 달성 하였음.
④ 이식된 수정란의 수태율 분석 및 차년도 분만율과 암컷 송아지 생산 비율 추적 조사 실시 - 수태율: 대조군 일반 수정란이식과 유사한 수준인 50% 이상 암컷 송아지: 차년도 추적 조사 후 85% 이상 암송아지 생산	- 수태율을 조사한 결과 대조군에서 51%, 암컷 수정란이식에서 48.5%로서 유의적인 차이가 없이 거의 유사한 결과를 얻었음. - 암컷 송아지의 분만율은 아직 분만을 위한 시기가 되지 않아 추적조사를 실시하여 결과를 확보하고자 함.

* 결과에 대한 의견 첨부 가능

3. 연구목표 대비 성과

(단위 : 건수, 백만원, 명)

성과 목표	사업화지표											연구기반지표										
	지식 재산권				기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학술성과			교육 지도	인력 양성	정책 활용· 홍보		기타 (타연구 활용등)		
	특허 출원	특허 등록	품종 등록	S M A R T 평 가 건 수	건 수	기술 료	제 품 화	매 출 액	수 출 액	고 용 창 출	투 자 유 치		논 문	SCI	비 SCI			논 문 평 가 건 수	학 술 발 표		정 책 활 용	홍 보 전 시
단위	건	건	건	건	건	백 만 원	건	백 만 원	백 만 원	명	백 만 원	건	건	건	건	명	건	건				
가중치					5	10	10	25	-	20	20				4	3	3					
최종 목표					1	10	1	200	-	2	2,000				1	1	2					
당해 년도	목표				1	10	1	200	-	2	2,000				1	1	2					
	실적				0	0	1	197	-	10	2,000				1	1	1					
달성률 (%)					0	0	100	98.5	-	100	100				100	100	50					

4. 핵심기술

구분	핵심기술명
①	OPU유래 수정란 생산기술
②	monoclonal antibody를 활용한 X-sperm 분리기술
③	분리된 X-sperm을 활용한 체외수정란 배양기술

5. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)					
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복	외국기술 제	외국기술 소화·흡수	특허 출원	산업체이전 (상품화)	현장애로 해	결	정책 자료	기타
①의 기술		●					●				
②의 기술				●							●
③의 기술						●	●	●			

* 각 해당란에 v 표시

6. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
OPU유래 수정란 생산기술	OPU유래 수정란의 생산기술은 다양한 요인들을 고려한 기술개발이 이루어져 왔고, 이러한 기반기술을 활용하여 효과적으로 OPU수정란을 생산하고 있음. 이러한 OPU수정란 생산기술을 암컷 정자의 분리와 분리된 정자를 이용한 암컷 수정란의 생산기술과 접목시켜 우량한우 암컷 수정란의 생산 및 공급을 할 수 있는 체계를 구축하고, 전국적인 사업확대를 꾀하고자 함.
monoclonal antibody를 활용한 X-sperm 분리기술	Y-specific monoclonal antibody를 활용하여 X-sperm aggregation 유도하고 응집된 Y-sperm을 complement처리로 사멸시킴으로서 X-sperm 비율이 높은 정자를 회수하는 방법임. 이러한 전 과정을 본 연구팀에 확보하게 되었고, 그 효율이 매우 높을 뿐 만 아니라 일정한 수준의 정자분리와 수정란생산이 가능함. 이러한 기술을 기반으로 암컷 수정란의 생산 및 공급을 전국적으로 확대하고자 함.
분리된 X-sperm을 활용한 체외수정란 배양기술	OPU유래 수정란의 생산효율을 극대화하기 위해 무혈청기반 배양액을 활용한 수정란 생산체계를 구축하고자 함. 즉 항상 일정한 수준의 우량한우 수정란을 효율적으로 생산하는 체계의 구축은 산업화에 매우 중요한 요인으로 판단됨.

7. 연구종료 후 성과창출 계획

(단위 : 건수, 백만원, 명)

성과 목표	사업화지표										연구기반지표									
	지식 재산권				기술 실시 (이전)		사업화				기술 인증	학술성과			교 육 지 도	인 력 양 성	정책 활용·홍보		기 타 (타연구활용액) (이)	
	특 허 출 원	특 허 등 록	품 종 등 록	S M A R T 평 가 제 도	건 수	기 술 료	제 품 화	매 출 액	수 출 액	고 용 창 출		투 자 유 치	논 문				학 술 발 표	정 책 활 용		홍 보 전 시
													S C I	비 S C I						
단위	건	건	건	평 가 제 도	건	백 만 원	건	백 만 원	백 만 원	명	백 만 원	건	건	건	명	건	건			
가중치								100												
최종목표								1,000												
연구기간내 달성실적								197												
연구종료후 성과장출 계획								1,000												

8. 연구결과의 기술이전조건(산업체이전 및 상품화연구결과에 한함)

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 농축산물안전유통소비기술개발 사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 농축산물안전유통소비기술 개발 사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀 유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 됩니다.