

1. 표지

<p>11-1543000-002134-01</p>	<p>발간등록번호 11-1543000-002134-01</p>
<p>동결정액 상용화를 위한 심부이식기 개발 최종 보고서 2018</p>	<p>Development of the deep intrauterine inseminator for the commercialization of cryopreserved semen</p>
<p>농림축산식품부</p>	<h1>동결정액 상용화를 위한 심부이식기 개발 최종보고서</h1>
	<p>2018. 2. 9.</p>
	<p>주관연구기관 / 충북대학교 산학협력단 참여기관 / 성원메디칼(주) 참여기관 / (주)송백농장</p>
	<h2>농림축산식품부</h2>

2. 제출문

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “동결정액 상용화를 위한 심부이식기 개발” (개발기간 : 2015. 12. 28. ~ 2017. 12. 27.) 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2018. 2. 9.

주관연구기관명 : 충북대학교 산학협력단 (대표자) 우수동 (인)



참여기관명 : 성원메디칼(주) (대표자) 이낙희 (인)



참여기관명 : (주)송백농장 (대표자) 고봉우



주관연구책임자 : 현 상 환  
제1세부연구책임자 : 현 상 환  
제2세부연구책임자 : 이 대 희  
제1협동연구책임자 : 고 봉 우

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

### 3. 보고서 요약서

#### 보고서 요약서

과제고유번호	115103-02	총 단 계 연구 기 간	2015.12.28. ~ 2017.12.27.	단 계 구 분	(해당단계)/ (총 단 계)
연구사업명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	첨단생산기술개발사업			
연구과제명	대 과 제 명	동결정액 상용화를 위한 심부이식기 개발			
	세 부 과 제 명	양돈 생산성 확대를 위한 동결정액 심부이식기 개발			
연구책임자	현상환	해당단계 참 여 연구원 수	총: 명 내부: 명 외부: 명	해당단계 연구 개발 비	정부: 천원 민간: 천원 계: 천원
		총 연구기간 참 여 연구원 수	총: 42 명 내부: 15 명 외부: 27 명	총 연구개발비	정부: 560,000 천원 민간: 202,000 천원 계: 762,000 천원
연구기관명 및 소속부서명	충북대학교			참여기업명 성원메디칼(주) 송백농장	
위탁연구	연구기관명: 해당사항 없음			연구책임자: 해당사항 없음	
요약 (연구개발성과 중심)				보고서 면수	
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 본 연구는 국내 양돈생산성 정체 및 기술적인 한계에 도달한 국내 양돈산업의 새로운 성장동력을 제시하고자, 기존의 자궁경 AI catheter를 대체할 수 있는 생체친화형 심부이식기를 개발하였음</li> <li>✓ 양돈생산성 향상을 위한 인공수정 기법 보급 및 양돈산업의 체질 개선 등 빠른 외부환경에 대응하고자, 효율적인 미성숙난자의 체외성숙 기전 연구 및 선도기술인 돼지 자궁 ex vivo 모델을 개발하여 체외 환경에서의 난관내 수정을 평가 기법을 구축하였음</li> <li>✓ In vivo 및 ex vivo 상태에서 심부이식기 기능평가를 하여 기존 심부이식기의 문제점 분석, 심부이식기의 디자인 개선, 최적의 심부이식조건 연구 및 심부이식기 기능평가 후, 약 95일 째에 2마리의 모돈에서 각각 14마리, 10마리의 자돈을 생산하였음</li> </ul>				총 85쪽	

#### 4. 국문 요약문

		코드번호	D-01	
연구의 목적 및 내용	<p>본 연구의 목적은 동결정액 상용화를 통해 고품질 양돈생산성을 확대하는 동결정액 심부이식기를 개발하여 한국 양돈 산업의 새로운 성장모델을 제공하고, 새로운 심부이식기를 사용한 인공수정을 통해 최적의 심부이식조건 개발 및 배아 생산 효율 평가가 가능한 시스템을 개발하는 것임</p>			
연구개발성과	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. <b>Ex vivo</b> 모델 개발과 이를 활용한 동결정액 심부이식기 기능평가 <ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Ex vivo</i> 모델을 활용한 심부이식기 기능평가</li> <li>- <i>체외수정 (IVF)</i> 과 <i>ex vivo fertilization</i>의 수정률 및 발달을 비교 분석</li> </ul> </li> <li>2. 효율적인 미성숙난자의 체외 성숙 기전 연구 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 체외성숙 실험 시, Zeaxanthin 및 GDF8 처리에 의한 체외성숙률 및 발달율에 미치는 영향인자 분석</li> </ul> </li> <li>3. 동결정액 심부이식기 (CBSII<sup>®</sup>) 시제품 테스트 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 동결정액 심부이식기의 스크류를 개선하여 시제품 평가</li> </ul> </li> <li>4. 2세대 동결정액주입기 설계 및 제작 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 정액 분출 압력을 높여주는 head 디자인 개선 및 삽입에 용이한 주입구 디자인 개선</li> </ul> </li> <li>5. 원정액 채취 및 가공 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 웅돈의 정액 채취 및 가공</li> </ul> </li> <li>6. 동결정액 심부이식기 <i>in vivo</i> 기능평가 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 농장에서 직접 가공한 정액을 사용한 동결정액 심부이식기 <i>in vivo</i> 기능평가</li> <li>- 동결정액 심부이식기로 인공수정한 후에 태어난 자돈의 관리</li> </ul> </li> </ol>			
연구개발성과의 활용계획 (기대효과)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 체외에서도 심부이식 기능평가가 가능한 <i>ex vivo</i> 모델을 개발함</li> <li>2. 체외배아생산에 있어서, 미성숙난자를 효율적으로 성숙시킬 수 있는 물질 탐색 및 체외성숙률과 배아발달율을 향상시킬 수 있는 기전을 연구</li> <li>3. 동결정액 심부이식기의 스크류 및 주입구의 디자인을 개선하여 삽입이 용이하며 모든 생식기에 친화적인 생체 친화형 심부이식기를 설계함</li> <li>4. 농장에서도 쉽게 사용할 수 있는 정액가공법 연구 및 실용화방법 모색</li> <li>5. 농장에서 직접 가공한 정액을 사용한 새로운 동결정액 심부이식기의 <i>in vivo</i> 평가 프로토콜을 개발함</li> <li>6. 동결정액 심부이식기를 사용한 인공수정으로 태어난 자돈 및 모든 관리 프로세스 구축</li> <li>7. 한국형 동결정액 심부이식기 생산으로, 기술적인 한계에 부딪혀 성장이 정체된 국내 양돈산업 발달에 기여함</li> </ol>			
중심어 (5개 이내)	동결정액	심부이식 인공수정	돼지	실용화

5. 영문 요약문

< SUMMARY >

		코드번호	D-02	
Purpose& Contents	The purpose of this study is to provide a new growth model for the Korean swine industry by developing cryopreserved semen deep intrauterine inseminator for expansion of pig production. Moreover, this research focus on the development of optimal deep intrauterine insemination conditions and a system capable of evaluating embryo production efficiency			
Results	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. <b>Development of <i>ex vivo</i> model and functional evaluation of the cryopreserved semen deep intrauterine inseminator</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Functional evaluation of the deep intrauterine inseminator using ex vivo porcine uterus model</li> <li>- Comparative analysis of <i>in vitro</i> and <i>ex vivo</i> experiments of fertilization rate and embryo development rate</li> </ul> </li> <li>2. <b>The study on the <i>in vitro</i> maturation mechanism of immature oocytes</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Addition of zeaxanthin and GDF8 to assess maturation and development rate during <i>in vitro</i> maturation experiments</li> </ul> </li> <li>3. <b>The prototype test of the cryopreserved semen deep intrauterine inseminator (CBSII®)</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Evaluation of the prototype by improving the screw design of deep intrauterine inseminator</li> </ul> </li> <li>4. <b>Design and manufacture of second generation deep intrauterine inseminator</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Improved head design which increases the injection pressure of the semen and inlet design for easy insertion</li> </ul> </li> <li>5. <b>Sampling and processing of semen</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Semen collection and processing</li> </ul> </li> <li>6. <b><i>In vivo</i> functional evaluation of the cryopreserved semen deep intrauterine inseminator</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- In vivo functional evaluation of deep intrauterine inseminator using semen</li> <li>- Management of piglets born after artificial insemination using deep intrauterine inseminator</li> </ul> </li> </ol>			
Expected Contribution	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Development of an <i>ex vivo</i> model capable of assessing deep intrauterine inseminator</li> <li>2. Investigation of the substances that can mature oocytes efficiently and the mechanism that can improve the <i>in vitro</i> maturation rate and embryo development rate</li> <li>3. Improved design of screw and inlet of deep intrauterine inseminator which is designed for easy insertion and biocompatible</li> <li>4. Study of the semen processing and commercialization methods in farm</li> <li>5. Development of an <i>in vivo</i> evaluation protocol for a new deep intrauterine inseminator using semen directly processed from the farm</li> <li>6. Establishment of piglet and sow management process by artificial insemination using the cryopreserved semen</li> <li>7. Contribution to the development of the Korean swine industry, which has suffered from technological limitations</li> </ol>			
Keywords	Cryopreserved semen	Deep intrauterine insemination	Pig	Commercialization

6. 영문목차

< **Contents** >

Chapter I . Introduction .....	10
Part 1. Research Objective .....	10
Part 2. The necessity of research .....	11
Part 3. Research range .....	18
Chapter II . Current status for technical development between domestic and overseas .....	36
Chapter III . Results .....	37
1. Development of <i>ex vivo</i> model and functional evaluation of the cryopreserved semen deep intrauterine inseminator .....	37
2. The study on the in vitro maturation mechanism of immature oocytes .....	41
3. The prototype test of the cryopreserved semen deep intrauterine inseminator (CBSII <sup>®</sup> ) .....	45
4. Design and manufacture of second generation deep intrauterine inseminator .....	47
5. Sampling and processing of semen .....	61
6. <i>In vivo</i> functional evaluation of the cryopreserved semen deep intrauterine inseminator .....	62
Chapter IV . Achievement of goal and expected contribution ..	65
Chapter V . Plan of practical application .....	66
Chapter VI . Science and technology information of other countries .....	67
Chapter VII . Security rating of R&D achievement .....	70
Chapter VIII . Research facilities .....	71
Chapter IX . Performance of safety measures .....	72

Chapter X . Representative studies ..... 75

Chapter XI. Etc. .... 75

Chapter XII. References ..... 76

## 7. 본문목차

### < 목 차 >

제1장 연구개발과제의 개요 .....	10
제1절 연구개발 목적 .....	10
제2절 연구개발의 필요성 .....	11
1. 양돈 산업의 생산성 혁신을 가져온 인공수정기술 .....	11
2. 기술의 한계로 생산성 정체에 갇힌 대한민국 .....	12
3. 국가주도 고속성장하는 중국 양돈산업으로부터 위협받는 미래 .....	13
4. 동결정액 심부이식기 개발의 필요성 .....	15
제3절 연구개발 범위 .....	18
1. 연구개발의 최종목표 및 주요내용 .....	18
2. 과제별(세부·협동) 연구개발의 목표 및 내용 .....	19
3. 연차별 연구개발의 목표 및 내용 .....	34
제2장 국내외 기술개발 현황 .....	36
제3장 연구수행 내용 및 결과 .....	37
제1절 동결정액 심부이식기 기능평가를 위한 <i>ex vivo</i> 모델 개발 .....	37
1. Ex vivo 모델 개발과 이를 활용한 동결정액 심부이식기 기능평가 .....	37
2. 효율적인 미성숙난자의 체외 성숙 기전 연구 .....	41
가. Zeaxanthin을 이용한 돼지 난자의 체외 성숙 연구 .....	41
나. 돼지 난자의 체외성숙률 및 발달율을 높이는 GDF8의 활성화기전연구 .....	43
제2절 동결정액 심부이식기 (CBSII <sup>®</sup> ) 생산 .....	45
1. 동결정액 심부이식기(CBSII <sup>®</sup> ) 시제품 테스트 .....	45
가. 임상시험용 동결정액 심부이식기 스크류를 개선하여 제품테스트 시행 .....	45
나. 금형 수정 및 2세대 제품 제작 .....	46
2. 2세대 동결정액 심부이식기 설계 및 제작 .....	47
가. 주입구 삽입 어려움에 의한 디자인 변경 .....	48
나. 2세대 시제품 제작 .....	51
다. 2세대 시제품 테스트 .....	51
라. 안정성 테스트 진행 .....	52
마. 제조공정 확립 .....	54
바. 동물의료기기 제조업/품목허가 완료 .....	55
사. 완제품의 품질검사 시험기준 및 시험방법 .....	56
아. 출하검사 관리 .....	57
자. 사업화 준비 .....	58
제3절 심부이식기 시제품 <i>in vivo</i> 평가 .....	61
1. 원정액 채취 .....	61

2. 심부이식기 <i>in vivo</i> 평가 .....	62
제4장 목표달성도 및 관련분야 기여도 .....	65
제5장 연구결과의 활용계획 .....	66
제6장 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보 .....	67
제1절 독일 MINITÜB GmbH사의 동결정액 상용화 시스템 .....	67
제2절 중국의 세계 양돈 산업 엑스포 개최 .....	69
제7장 연구개발성과의 보안등급 .....	70
제8장 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비현황 .....	71
제9장 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적 .....	72
제10장 연구개발과제의 대표적 연구실적 .....	75
제11장 기타사항 .....	75
제12장 참고문헌 .....	76
〈별첨〉 자체평가의견서	

## 8. 뒷면지

### 주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 첨단생산기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 첨단생산기술개발사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.

# 제1장 연구개발과제의 개요

코드번호	D-03
------	------

## 제1절 연구개발 목적



### 연구개발 목표

○ 양돈산업 발전의 역사인 인공수정 기술은 국가주도하에 96%라는 성공적인 국내 보급률을 기록하나 기술한계치까지 도달된 생산효율로 인하여 2009년부터 국내 양돈 생산량과 생산액이 정체되는 실정이며, 축산기술 후발주자인 중국의 양돈업계가 정부지원에 힘입어 빠르게 성장하면서 인공수정기술이 보급되고 대기업화가 진행되는 실정임

○ 기술적 한계로 인해 생산성 정체현상을 겪고 있는 한국 양돈산업이 중국의 과속성장 이후 다가올 저가다량 중국돈육의 물량공세를 이겨내기 위해서는 높은 생산효율로 우수한 형질돼지를 생산 할 수 있는 새로운 기술혁신이 필요하며, 이에 동결정액 심부이식기의 다목적 활용이 대안이 될 수 있음. 고품질 돼지의 효과적인 생산성 확대를 위하여 국내최초 한국형 동결정액 심부이식기를 상품개발하고, 이를 통해 미래 한국양돈 산업이 나아갈 비전을 제시하고자 함

- 1) 기존 인공수정기의 문제점을 해결 할 수 있는 돼지 해부생리학적 구조에 맞는 생체 친화적 심부이식기 디자인 고안 및 생산된 심부이식기의 시험관, 조직, 체내 평가 실시
- 2) 개선사항이 반영된 동결정액 심부이식기 시제품 제작 및 양산화를 위한 공정화 작업과 품질인증 시스템을 통한 상품생산
- 3) 효과적인 기능평가를 위한 균일화된 모든 공급 사양관리 시스템을 개발하고, 다양한 조건에서 주입 후 획득된 실험 결과를 통해 최적의 생산효과로 이끌 수 있는 사용 프로토콜 개발
- 4) 학교(발명자), 생산업체(생산자), 산업현장(구매자)이 유기적으로 연계하여 상품을 개발하는 산·학·현 연계 연구개발 시스템 확립을 통한 차세대 연구개발 시스템의 실용화
- 5) 국내 최초 심부주입기 개발 및 평가를 통해 정립화 되지 않은 국내 동결정액 심부이식 효율을 30% 상회하는 공식적인 결과발표를 통해 객관적인 국내 동결정액 심부이식 효율 근거를 마련함

- 사료효율이 5% 개선된 육돈의 경제적가치 : 2014년기준 국내 출하되는 육돈 1000만두의 연간사료소요량은 570만 톤이므로 사료효율 5%개선 시 연간 28.5만 톤의 사료를 절감할 수 있는데 경제적 가치는 연간 1조7천억원의 절감효과 전망
- 우수형질 도입을 통한 모돈의 산자수 증가와 경제적가치 : 산자수 0.1두 개량의 경제적 효과는 모돈 70만두(2.3회전×0.1두)의 경우 연간 16.1만두 더 생산하므로 1차년도 80억5천만원, 2차년도 161억원의 경제효과 예측

## 제2절 연구개발의 필요성

본 연구팀은 기술의 한계치에 도달하여 최근 5년간 성장이 정체된 국내 양돈산업의 새로운 성장동력을 제시하고, 정부지원을 통해 인공수정기술이 보급되고 대기업화가 진행되며 빠르게 성장하는 중국에서 미래에 유입되어질 저가다량의 물량공세로부터 농가들의 피해를 줄이는 대응방안이 될 동결정액 심부이식 기술을 개발하고자 함

### 국내여건

#### 1. 양돈 산업의 생산성 혁신을 가져온 인공수정기술

- 20년간 급속도로 보급되고 안정화된 돼지 인공수정기술은 손쉬운 종돈개량과 높은 생산성을 통해 한국 양돈업을 산업화의 단계로 이끌었음
- 1955년, 중앙축산기술원에서 암돼지 10두를 인공수정하여 80%의 수태율을 획득함으로써 우리나라 최초의 돼지인공수정이 시작됨
- 이후 1962년 농협중앙회 가축인공수정소의 설립을 통해 돼지 인공수정기술이 본격적으로 보급되기 시작하면서 1970년에는 전국 모돈의 40%에 달하는 26.7만두가 인공수정에 의해 번식될 정도로 활발히 보급되어짐
- 그러나, 이듬해인 1971년부터 번식성적의 저조 및 표준화의 실패로 인해 1990년까지 약 20년간 일부 전업 및 기업 양돈농가로 계승되는 정체기를 겪음
- 돼지 인공수정기술의 산업화는 1994년 농림부의 정액 등 처리업의 허가에 관한 축산법 시행규칙에 관한 법령(제20조)에 의해 관리 체계화되면서 실질적인 상업용 돼지 인공수정 보급이 시작됨
- 2014년 농림축산식품 주요통계에 따르면 전국의 돼지사육두수가 1000만두로 농림부에 의해 관리체계화가 이루어진 돼지 인공수정기술을 통해 20년간 약 1.5배 성장하였으며, 인공수정기술이 안정화된 2000년부터 2013년까지 13년간 연간 양돈생산액은 2배가 넘는 경제성장을 기록함

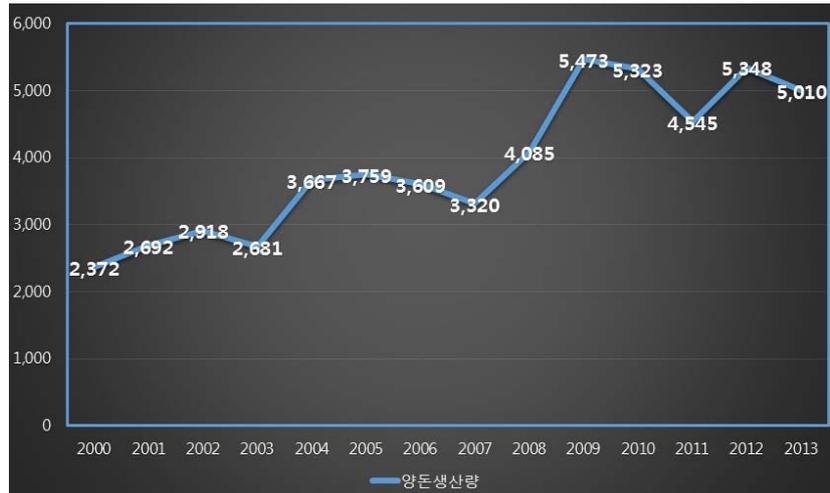


그림 1. 연간 양돈생산액 (10억원)\_2014 농림축산식품 주요통계

## 2. 기술의 한계로 생산성 정체에 갇힌 대한민국

- 양돈산업의 규모와 생산량은 인공수정기술의 도입으로 증가되었으나 2009년부터 2014년까지 5년간 양돈생산액(5.4 → 5.0조)과 출하량(9.6 → 9.9백만)은 성장이 정체되고 있음
- 이는 인공수정기술의 생산성이 한계에 다다른 것으로 분석되고 있으며, 국내 양돈산업의 지속적인 성장과 양돈 생산성 개선을 위한 새로운 돌파구가 필요함
- 기술의 한계로 정체기에 들어선 양돈 생산성 개선을 위한 방법으로 인공수정기가 자궁각 상단까지 들어가는 인공수정 심부이식기(Deep Intrauterine Inseminator) 개발이 그 대안으로서 많은 전문가들의 주목을 받고 있으며, 실제로 양돈 선진국들은 일찍이 이러한 문제점을 직면하고 인공수정 심부이식기 개발과 상용화에 박차를 가하고 있음
- 학계의 보고에 따르면 심부이식기를 사용할 경우 일반 인공수정대비 5%의 농도의 정자를 5% 용량의 인공수정용 정액으로 ( $3.0 \times 10^9$ /mL, 100mL VS  $1.5 \times 10^8$ /mL, 5mL) 상동한 산자율을 기록된 것을 볼 때 기존 인공수정대비 이식효율이 400배 높은 것으로 보여지며 (Martinez, et al., 2002, Rozeboom, et al., 2004), 이는 선별된 상위 1%의 응돈이 기존의 대리모돈을 다 대체 할 수 있는 수준이기 때문에 이를 통해 생산되는 산자의 평균 등급을 상승 시킬 수 있을 것으로 판단되어짐
- 스페인의 경우 이미 2001년부터 돼지 심부주입기에 관한 특허를 획득하였으며 이를 독일 Minitube사로 기술이전을 진행하여 DeepBlue AI Catheter라는 이름의 제품을 개발, 판매단계에 있는 실정이나, 한국은 심부주입기의 기술개발 및 생산이 전무함
- 따라서, 1994년 농림부의 주도하에 인공수정기술이 관리 체계화되면서 한국 양돈업이 산업으로 발돋움 하는 시발점이 되었던, 한국 양돈산업의 차세대 성장 모델로서 정부주도의 인공수정 심부이식기의 개발 및 표준화가 필요함

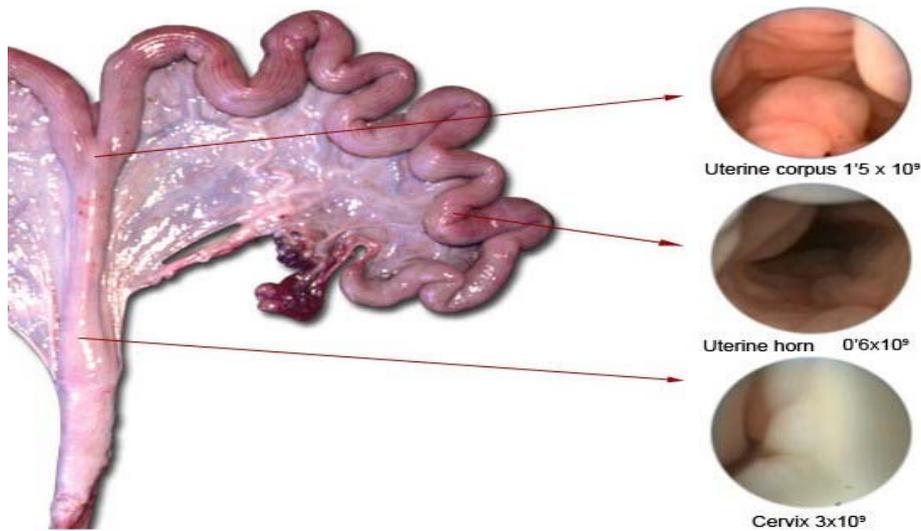
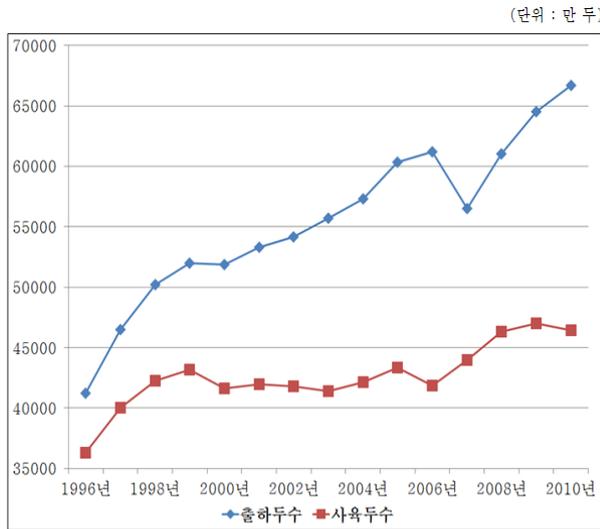


그림 2. 돼지 자궁의 해부학적 분류에 따른 인공수정용 정액의 주입 위치

## ➡ 국외상황과 대응방안

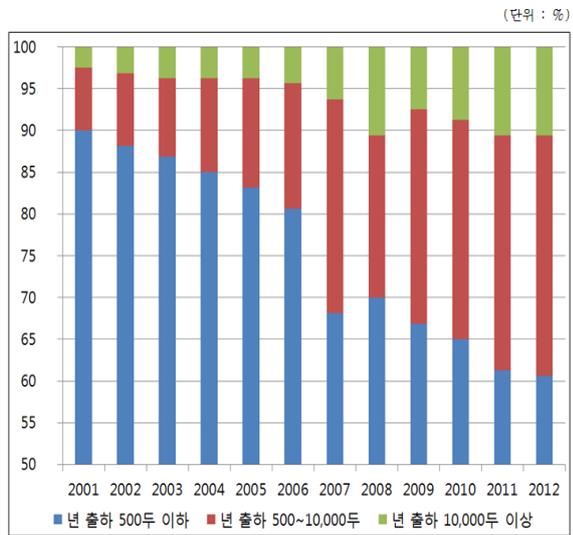
### 3. 국가주도 고속성장하는 중국 양돈산업으로부터 위협받는 미래

- 세계 50%에 해당하는 돼지를 생산하고 소비하는 초우량 양돈국가인 중국은 양돈업의 현대화·기업화를 통해 지속성장중에 있음
- 중국의 경제개방 이후 중국 양돈산업 또한 급속도로 성장하고 있으며, 2014년을 기준, 그 규모가 한국의 약 50배에 달하는 초거대 양돈 생산국임
- 그러나 2000년 이후 중국의 경제발전으로 가계 사정이 개선되고 돈육의 소비가 폭발적으로 증가되면서, 전세계 절반에 가까운 방대한 생산량에도 불구하고 일부 품목을 수입에 의존하는 돈육수입국가임
- 매년 70만톤의 돈육 수입으로 인한 무역적자를 줄이고, 식품의 외부의존도를 낮추고자 중국 정부는 제 12차 5개년 계획(12.5계획, 2011-2015)을 발표하여 전국 축산업 발전을 유도하여 자국 내 돈육자급력을 향상시키고자 노력함
- 정부의 장기간에 걸친 축산업 장려정책으로 중국의 돼지 생산량은 10년간 1.28배 증가하였으며, 중국 국무원에서는 농업과 대기업들간의 합병을 장려하는 정책을 내어놓으면서 중국의 양돈업은 농업수준에서 산업의 단계로 진화하고 있음
- 중국 양돈업의 산업화가 점차 증가됨에 따라 2000년 전체 출하량의 10%에 불과하면 중·대형 농가의 비중이 2012년 40%로 증가 하였으며, 중국내 출하두수/사육부수 비율이 점차 증가되는 것을 볼 때 중국 양돈이 성공적으로 산업화가 이루어지는 것으로 보여짐



자료: 중국통계연관, 각 연도

그림 3. 중국 연간 돼지 출하 및 사육현황



자료: 중국 농업부(農業部) 축산업(畜産業)사(司)

그림 4. 중국연간 사육규모별 출하두수비율

- 산업화로 인해 빠르게 생산량이 증가하는 중국의 양돈업이 10년후 만약 지금의 한국처럼 산업 정착을 통해 기술 생산성의 한계점까지 발전하였을 때 쏟아져 나올 중국산 돈육의 저가다량 물량공세는 국가적인 차원에서 대비 할 필요가 있음
- 다행히 한국 정부의 농가보호정책으로 돈육은 한-중 FTA에서 양허 대상 제외품목으로 보호받고 있지만, 한국에 비해 60%대로 낮게 형성되어있는 중국 돈육가는 관세인 25%를 적용하더라도 여전히 가격 경쟁력을 보유하고 있어 향후 농가의 직·간접적인 피해가 점차 증가 될 것으로 보여짐
- 중국 양돈의 대기업 중심 산업화는 기업 내 철저한 검수 및 검역기준을 갖추어 점차 한국의 수출기준을 맞추므로써 향후 추가 협의에서 관세가 철폐된다면, 국내 양돈농가는 견잡을 수 없는 치명타를 입게 될 것임
- 실제로 중국정부는 새로운 5개년인 13.5규획(2016-20)의 10대 목표에 ‘농업의 현대화 가속’이 들어있는 것으로 볼 때 중국 정부주도의 양돈 산업화는 계속 발전되어질 것으로 판단되어 짐
- 미래 거대한 중국 양돈산업에서 쏟아져나오게 될 방대한 분량의 값싼 돈육의 공격으로부터 한국의 양돈업을 보호하기 위해서 우수한 품질의 높은 생산성을 가지는 차별화 전략을 취할 필요가 있음

#### 4. 동결정액 심부이식기 개발의 필요성

- 동결정액 심부이식기술은 돈육의 차별화를 위해 농가에 요구되어지는 우수형질의 양돈 생산성 및 생산기술의 향상을 제공 할 수 있음
- 국내 산업동물의 번식 및 품종개량은 기존의 관습적인 암·수 직접교배와 국내 인공수정센터에서 제공받은 우수한 형질의 액상정액의 인공수정을 통해 이루어짐
- 하지만 국내 돼지들만을 사용하여 교배가 실시 될 경우 국내돼지 유전자 풀에 간히게 되어 품종개량 효율감소 및 근친의 위험성이 증가하고, 그 경우 특정 질병이나 전염병으로부터 취약해지는 현상이 나타남
- 유전자 풀의 딜레마로부터 벗어나고 다양성을 확보하기 위해 **외국의 우수한 종돈을 한국으로 수입하는 방법**이 있는데, 그 경우 **값비싼 로열티와 운송비용과 검역비용** 등을 지불함으로써 **양돈 생산단가 증가의 원인**이 되며, 해외에서 들여오게 되는 웅돈의 형질 또한 최상위 등급이 아닌 **최상위 웅돈에서 파생한 웅돈만을 구매** 할 수 있어 **형질개량의 한계**를 가져오게 됨
- 상위 0.01%의 초우량 종돈의 유전형질을 도입하기 위해 수입 액상정액의 인공수정도 고려되어질 수 있으나, 액상정액 특이의 짧은 활성기간으로 인해 이송거리 및 검역단계에서 그 기능을 상실함으로써 실제적용이 불가함



그림 5. 5mL 용량의 동결정액 스트로

- 액체 질소내에서 반영구적으로 **우수한 형질의 유전정보의 보관이 가능한 동결정액**은 이러한 문제점을 해결 할 수 있으며, **상위 0.01%의 초우량 종돈의 동결정액의 구매를 통해 효과적인 돼지 육종개량**을 이끌 수 있음
- 동결정액은 동결간 받게 되는 충격으로 해동시 정자의 활력 및 생존율이 절반이하로 떨어지기 때문에 2000년대 초반 동결정액의 실용화를 위해 시도되었던 많은 실험들이 액상정액 인공수정 대비 동결정액 인공수정의 효율은 매우 낮다 보고되어 왔음 (Michae *et al.*, 2000, Jordi *et al.*, 2003)
- 이는 동결정액의 주입시간, 주입정자수, 주입횟수, 개체별 품종 및 동결성, 보존기간 및 동결 보존 형태에 대한 연구부족으로 인해 발생되어진 결과이며, 최근 2010년 이후 심부이식기를 활용한 동결정액 인공수정에서 최적화된 정액의 해동 및 정치, 적정농도와 용량의 정액을 주입시 액상정액과 상동하거나 오히려 증가된 산자효율을 보이는 것을 볼 때 **한국 양돈업계로의 도입이 필요함** (Pursel *et al.*, 1978, Channapiwat *et al.*, 2014, Gonzalez-Peña *et al.*, 2014)

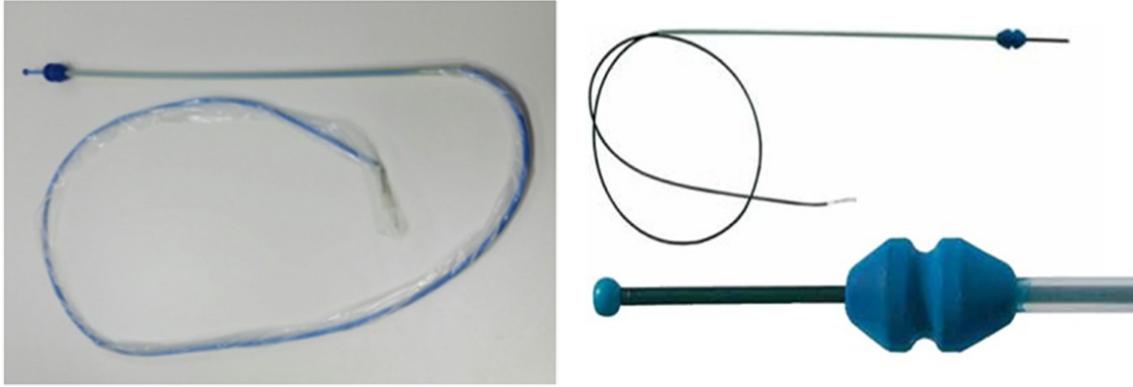


그림 6. 독일 MINITÜB GmbH사의 DeepBlue AI Catheter

- 미국(SGI, IBS), 프랑스(AND Genetics, Gene+), 영국(Deerpark), 스페인(Semen Cardona)과 같은 축산선진국에서는 이미 **검역증까지 준비된 동결정액을 상품화** 하여 판매중에 있음
- 이러한 시대의 흐름에 발맞추고자 **한국에서는 국책사업으로 Golden Seed Project**를 계획, 2013-2016년 1단계 동결정액 생산기술 향상을 위해 연구개발하고 있으며, 이후 2017-2021년 2 단계 사업인 동결정액 생산기술의 실용화 사업이 예정되어 있음
- 정부지원으로 뒤늦게 후발주자로서 동결정액 기술이 개발되고 있는 현실이나 안타깝게도 생산된 동결정액을 이식할 수 있는 동결정액 심부이식기는 개발되어있지 않음
- 비록 동결정액 생산기술 개발과 상용화를 하더라도 이를 적용 할 수 있는 동결정액 심부 이식기를 개발하지 않는다면, 우리는 **기술중속국으로서 해당부분의 수입을 위한 지속적인 국부의 유출이 발생될 것으로 예측됨**
- 반대로 동결정액의 실용화를 위해 **한국형 동결정액 심부 이식기를 개발한다면 국부의 유출을 방지**하고, 돈체 친화적인 동결정액 심부이식기 생산을 통해 과거 제작된 외국형 동결정액 이식기보다 편의성과 생산효율에서 경쟁력을 가질수 있음
- **지속적으로 성장하는 중국 양돈산업이** 향후 정체기를 맞이하고, 경쟁력 강화를 위해 동결정액 시장에 뛰어들 때 중국시장에서 **한국형 동결정액 심부이식기의 수요가 발생**한다면 지역수출 주력상품으로서의 가능성이 보임
- 따라서 과거 혁신적이었던 **인공수정기술의 한계로 정체기에** 들어선 대한민국 양돈산업의 새로운 성장모델로서 **고능력 종돈의 동결정액 이식기술이** 고려되고, 이를 실용화할 수 있는 동결정액 심부이식기와 사용 가이드라인의 개발이 요구됨



+



-



**-11,000 kg Feed**

**470 kg more Lean Meat**

**+0.9 Day/pig**

그림 7. 동결정액을 활용한 고품질양돈 출하 시 육돈 2000마리가 가져올 수 있는 생산성 확대 (예시)



## 연구개발의 필요성 요약

기술의 한계장벽에 정체된 한국 양돈산업과 국가주도의 발전으로 기술보급과 기업화를 통해 빠르게 성장중인 중국 양돈시장에서 발생될 저가다량의 중국산 돈육의 물량공세로부터 국내 농가를 보호 할 수 있는 새로운 전략이 필요함. 이를 개선하기 위한 대안으로 고능력 우수종돈의 동결정액을 활용한 인공수정 기술의 적용가능성이 대두되는데, 이미 국책사업인 Golden Seed Project를 통해 정부주도의 동결정액 기술개발이 진행되고 있음. 하지만 동결정액의 실용화하기 위한 동결정액 심부이식기의 국내 개발은 전무하고, 수입에 의존하고 있는 것이 현실임. 본 연구팀은 동결정액 실용화를 통해 고품질 양돈생산성을 확대하는 동결정액 심부이식기를 개발하여 한국 양돈 산업의 새로운 성장모델을 제공하고, 향후 지역주력 수출상품으로서의 비전을 제시함

## 제3절 연구개발 범위

### 1. 연구개발의 최종목표 및 주요내용

#### 목표1 기존 인공수정기 문제점을 개선할 심부이식기 디자인과 안정성 평가

##### 내용

학계에 보고된 자궁내막증, 자궁경 파열 등 번식질환의 주요 원인이 되는 인공수정기의 문제점을 개선하는 돼지 해부생리학적 구조에 적합한 모든 생체 친화적 심부이식기의 주요부품들을 재설계하고 시험관 및 조직수준에서 평가하여 생산된 부품의 안정성을 검증

#### 목표2

#### 제작된 제품의 기능평가 및 최적의 사용 프로토콜 개발

##### 내용

효과적인 기능평가를 위해 균일화된 모든 공급이 가능한 사양환경을 조성. 제작된 심부이식기 시제품 사용시 현장에서 발생되어지는 문제점을 연구하고, 완성되어진 동결정액 심부이식기를 활용하여 시기, 종류, 농도, 횟수 등 다양한 조건에서 획득된 주입실험 결과를 활용하여 최적의 사용효율을 이끌 수 있는 동결정액 심부이식기 프로토콜을 개발함

#### 목표3 동결정액 심부이식기 상품화 - CBSII®

##### 내용

개선 사항이 반영된 동결정액 심부이식기 부품생산과 안정성 평가, 시제품생산과 현장적용 가능성, 심부이식기 생산과 동결정액 이식효율 평가, 대량생산을 위한 공정화 작업과 품질인증과 같은 단계적 생산과 검증을 통해 현장에 바로 적용이 가능한 동결정액 심부이식기 제품 생산 - CBSII®

## 목표4

### 산·학·현 연계 연구개발 시스템 확립

#### 내용

제품의 발명과 문제점 개선 및 학술연구를 담당하는 **학교**와 제품의 생산 및 공정화 작업을 통하여 정형화된 제품의 생산 및 판매를 담당하는 **산업체**, 그리고 판매되는 제품을 구매하여 실제로 현장에서 사용하는 **농장**을 상호 연결하는 **산·학·현 연계 연구개발 시스템을 확립**하여 현장에서 바로 사용이 가능한 제품개발에 있어 시너지 효과를 극대화 할 수 있는 **차세대 연구개발 전략**을 제시함

## 2. 과제별(세부협동) 연구개발의 목표 및 내용



### 제 1 세부과제

#### 고품질 양돈 생산성 확대를 위한 동결정액 심부이식기 개발

**목표** : 학계에 보고된 자궁내막증, 자궁경 파열 등 번식 질환의 주요 원인이 되는 인공 수정기의 문제점을 개선하는 돼지 해부생리학적 구조에 적합한 생체 친화적 심부이식기의 주요부품들을 재설계하고 시험관 및 조직수준에서 평가하여 생산된 부품의 안정성을 검증

#### 선행연구1

#### 한국형 수정란 이식기 개발 (2015 산학협력 우수사례 선정)

□ **활용방안** : 우수한 형질 또는 삽입유전자를 보유한 체외생산 수정란의 비외과적 이식을 통해 산자 생산을 현실화

#### □ 선행연구결과

▷ 세계적 수준의 기업인 Minitube사의 수정란이식기의 강도, 삽입부 분석, 사용 시 기능성 등을 종합평가하여 개선방향을 제시하였으며, 제 2세부과제 (주)성원메디컬과 산학협력을 통해 한국형 수정란 이식기를 제작, 2015 산학협력 우수사례 대표 제품으로 전시 및 산업특허를 출원함 (출원번호 :10-2015-0056103)



그림 8. 2015 산학협력 우수사례로 출시된 수정란 이식기의 3D 도면(상)과 실제 제작된 시제품(하)

□ 선행연구결과

: 체외 생산된 수정란을 모든 자궁각 상단에 주입하여 인공 수정하는 기술을 확보하고 있으며, 이를 이용하여 개발 제품 분석 및 생산성을 평가함.

- 보유하고 있는 비외과적 수정란 이식 기술을 활용한 수정율 검증을 위해 제품 사용 결과에 대한 비교 시스템 구축
- 기존 제품의 단점을 보완한 제품 구조 설계 및 1차 평가 실시
- 국내 사양 환경으로 적용가능성을 평가하고, 실험 및 검증에 대한 방법 제시
- 본 연구과정을 통해 동결정액 심부이식기의 활용의 중요성이 대두됨



그림 9. 국내 사양환경에서 기존 카테터를 사용한 비외과적 수정란이식 비교평가

□ 선행연구결과

: Tetracycline on/off 시스템으로 유전자 발현조절을 할 수 있는 형질전환 돼지를 수정란 이식기술을 통해 생산함 (PLOS one, 2014 9(1): e86146)

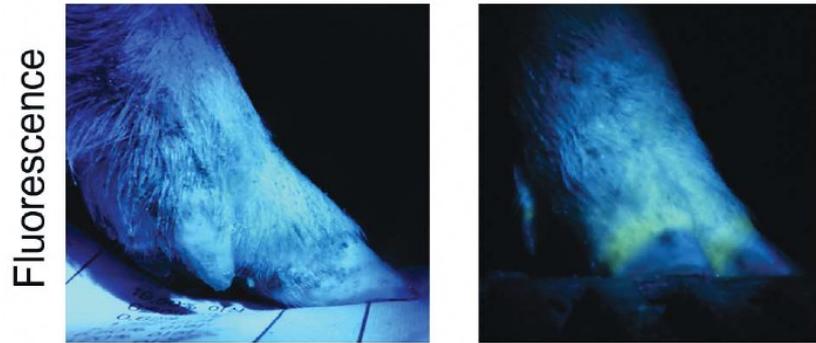


그림 10. 생산된 Tet on/off 시스템 형질전환 돼지의 유전자 발현 (좌) 유도 전 돼지발굽 (우) 유도 후 eGFP를 발현하는 돼지발굽

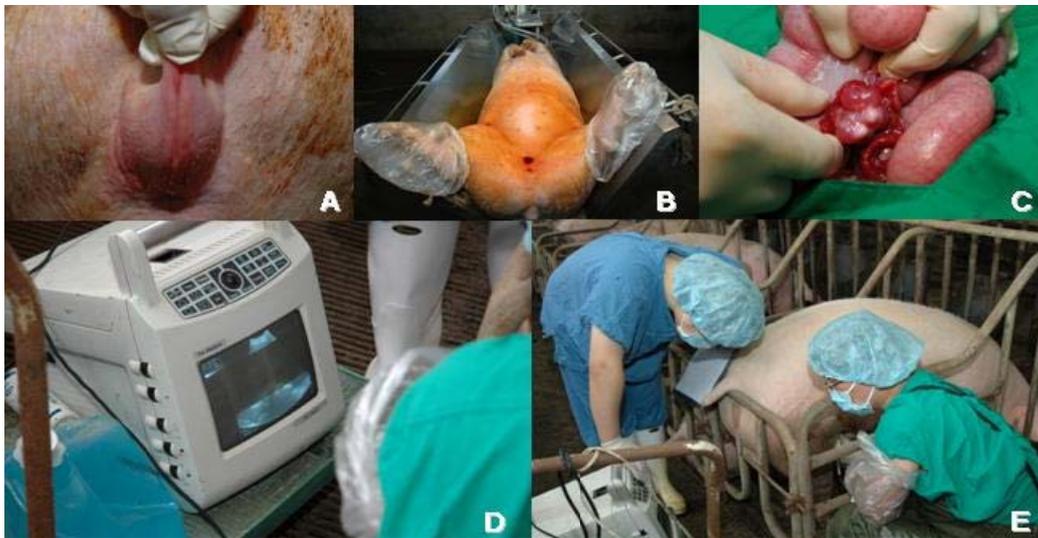


그림 11. 발정체크 및 외과적 수술을 통한 수정란 이식과 임신진단

□ 선행연구결과

: 대리모돈 선발 기준을 확립하여 복제돼지 수정란 이식 및 생산 효율을 개선함(한국임상수의학회지, 2006 23(2):123-128)

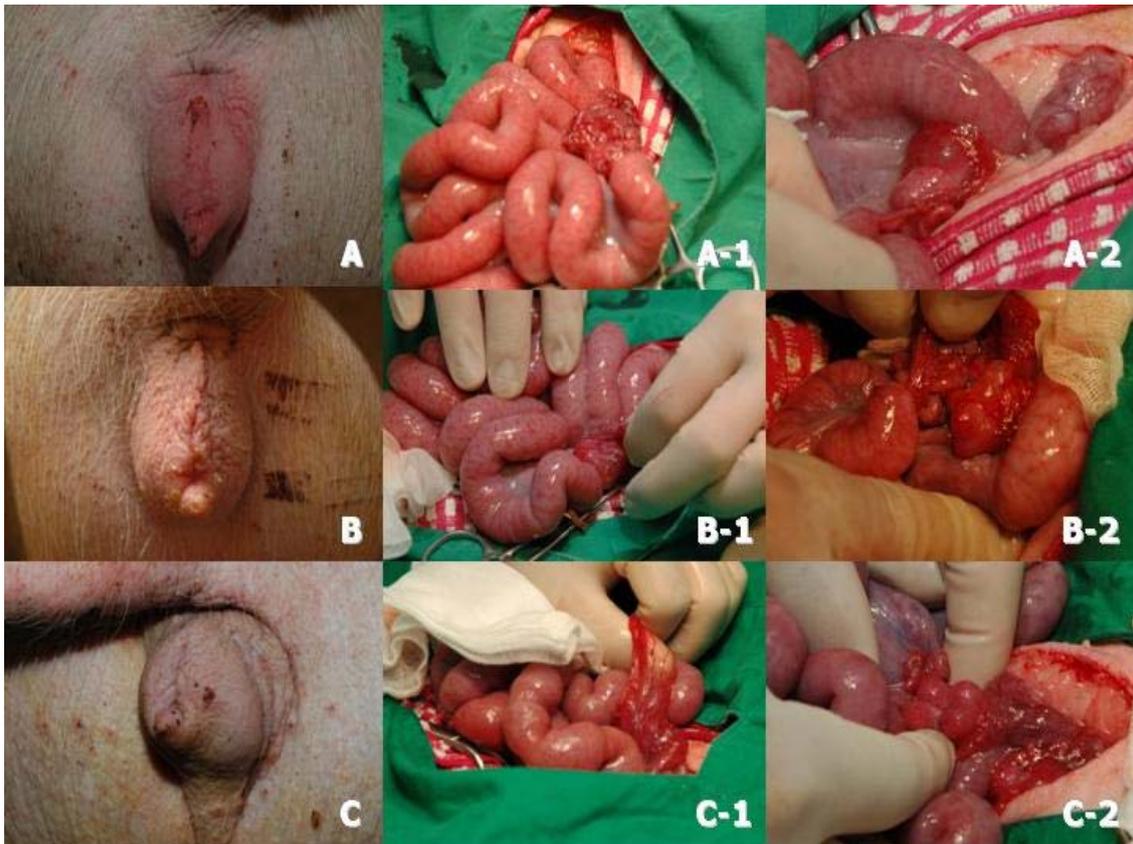


그림 12. 외형상 발정 특징에 따른 자궁 및 난소 배란 상태. 배란직전의 외음부 (A), 배란 직전의 자궁 (A-1), 배란직전의 난소 (A-2), 배란중 외음부 (B), 배란중의 자궁 (B-1), 배란중의 난소 (B-2), 배란후의 외음부 (C), 배란후의 자궁 (C-1), 배란후의 난소 (C-2).

## ▶ 선행연구 활용방안

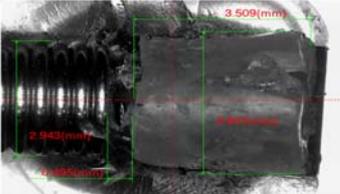
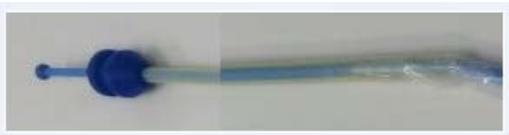
: 효과적인 동결정액 심부이식기를 제작하기 위해서는 동물번식, 해부생리, 외과학적인 전문 학술적 지식 외에도, 기기공정, 압출 및 사출과 같은 의료공학 및 산업적 지식, 그리고 제품이 현장에 적용가능한지에 대한 현장 정보 등 총괄적인 기준이 확립되어야함. 선행연구에서 볼 수 있듯이 본 연구팀은 다년간 산업동물번식 및 형질전환 동물생산에 대한 다양한 연구결과를 보유하고 있으며, 무엇보다 산학협력을 통하여 실제 사용이 가능한 수정란 이식기를 생산하여 2015년 우수사례 제품으로 선정된 바 있음. 이러한 산학협력 경험을 우수한 형질의 돼지 생산성을 증대시킬 수 있는 동결정액 심부이식기의 생산에 활용할 것임.

### 1차년도

#### 돼지해부생리학적 구조에 적합한 동결정액 심부이식기 디자인 제작

- 기존 상용화 제품군 비교분석
- 주입구 막힘현상 방지를 위한 주입구 디자인 개선
- 자궁경 손상 및 자궁내막염을 방지하는 자궁경 개구부 연구개발
- 이식기 내관, 이식튜브 길이 등 생물학적 구조설계
  
- 기존 시판 제품군의 파성분석을 통하여 제품의 구성에 대해 이해하고 각 주요 부품별 발생된 기존의 문제점을 개선 할 수 있는 디자인을 제작한다.  
이식기 내관 및 이식튜브 길이 등 국내 모돈의 특성에 맞는 생물학적 구조설계를 반영하는데 이러한 분석에 대한 예시는 다음과 같다.

표 1. Minitube사 수정란 이식기 제품과 산학협력을 통해 개발된 제품의 상세 비교분석

	DeepBlue® ET Catheter	개발제품
디자인		
주입부		
카테터		
외부 프로브		
장점	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 주입부에 윤활제 코팅</li> <li>• 부드러운 카테터 경도</li> <li>• 자궁 벽에 자극이 적은 팁</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 매끄러운 팁 및 카테터 표면</li> <li>• 직진성이 뛰어난 카테터</li> <li>• 모든 모돈에 사용가능한 스크류구조</li> <li>• 미끄럼 방지 손잡이 기능 추가</li> <li>• 3방향 주입부</li> <li>• 자궁각까지 도달 가능</li> </ul>
단점	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 직선형 구조의 주입부</li> <li>• 자궁각까지 도달하지 못함</li> <li>• 삽입 시 미끄러움</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 보다 부드러운 소재의 스크류 필요</li> <li>• 카테터 유연성 보완 필요</li> </ul>

## 2차년도

### 동결정액 심부이식기 주요부품 안정성 평가

- 이식기 주입헤드 배지 압출량 평가
- 액상정액을 활용한 이식기 내관 세포독성 및 Ex vivo 평가
  - 이식기 내관 관류 전·후 정자 생존성·활성평가
  - 관류 전·후 정자를 활용한 체외수정을 평가
  - 관류 전·후 정자를 활용한 체외수정 배아 발달평가
  - 관류 전·후 배아를 활용한 발달을 평가
- 발생하는 문제점을 정리하여 보완 및 개선
- 개선된 디자인을 통해 생산되어진 주요부품들이 기존의 목표에 부합하는지, 또는 제작되어진 소재의 세포독성 및 생식세포에 미치는 영향에 대하여 시험관 수준에서 분석을 실시한다. 자궁경 손상 또는 자궁내막염이 발생하는 문제점을 개선하기 위해 고안되어진 자궁경 개구부는 돼지 자궁조직을 활용하여 조직수준에서 작동기전 및 안정성을 평가한다. 조직평가에 대한 예시는 다음과 같다.



그림 13. 자궁경 개구부 작동기전 연구



## 제 2 세부과제

고품질 양돈 생산확대를 위한 한국형 동결정액 심부이식기  
공정기술 개발 및 상품화 - CBSII®

**목표** : 현행 제품들이 보유한 기능 및 구조적 문제점을 개선할 수 있는 심부이식기 세부설계 및 3D 프린팅을 활용한 예상구조 평가와 문제점 개선이 반영된 동결정액 심부이식기 시제품을 개발하고, 기술공정을 통하여 동결정액 심부이식기 양산화를 위한 생산 프로세스 구축 및 생산라인 확보, 품질인증 및 상표등록을 통해 최종적으로 현장판매가 가능한 동결정액 심부이식기 - CBSII®를 개발함

### 선행연구1

### 수정란 이식기의 구조특성 및 정밀도 분석 노하우

□ **활용방안** : 수정란 이식기 개발(제1 세부과 공동연구)에서 획득한 파성분석 노하우를 통해 기존제품에 대한 이해도를 높임

### □ 선행연구결과

▷ 해외 수정란 이식기의 구조적 특성 및 정밀도 분석과 개발제품과의 비교를 통해 카테터 정보 수집 및 개발제품의 사양 및 디자인을 구상하였으며, 사용 프로세스 개념 및 그에 따른 시스템 구성을 정립하여 수정란 이식기의 공정 정밀도를 높임

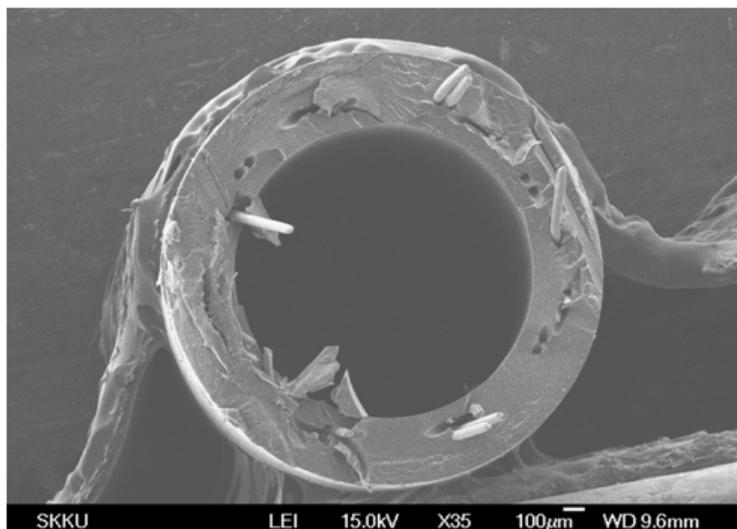


그림 14. 파성분석을 통한 카테터 구조분석의 예시

□ 선행연구결과

: 동결정액 심부이식기 개발에 있어서 제2 세부과제인 성원메디칼(주)은 10년간 축적한 카테터 제조 기술을 활용하여 카테터 및 자궁경 개구부 정밀 제작 및 사용자와 농장 환경에 최적화된 심부이식기를 개발하고자함. 성원메디칼(주)은 인의용 카테터 제조를 주력하는 업체로써 혈관 및 인체 기관에 사용되는 제품을 제조하고 있기 때문에 삽입되는 제품의 ID, OD, Wall Thickness 등 제품 성능 및 품질적 측면을 극대화 시킬 수 있을 것으로 판단된다. 본 기업이 보유한 혈관내튜브카테터, 혈관조영용카테터 등 고유의 제조기술을 이용한다면 본 과제인 동결정액 심부이식기 개발을 성공적으로 이끌 수 있을 것으로 판단됨

표 2. 성원메디칼(주) 자체기술개발 수행실적

기관명	과 제 명	연구기간	총사업비 (천원)
성원메디칼(주)	Enpure IV Set	'12.11 ~ '14.11	100,000
성원메디칼(주)	S/Max-PICC	'12.10 ~ '14.10	150,000
성원메디칼(주)	L-Fix	'13.09 ~ '14.09	40,000
성원메디칼(주)	MAD, Micro Sheath Set	'12.08 ~ '14.08	60,000
성원메디칼(주)	Crescendo / Guidewire	'12.06 ~ '14.06	800,000
성원메디칼(주)	Port	'10.04 ~ '14.04	400,000
성원메디칼(주)	Inno-Fuser	'11.09 ~ '13.09	200,000
성원메디칼(주)	Dilator	'12.08 ~ '13.08	60,000
성원메디칼(주)	Safe-Port Trocar Set	'10.12 ~ '12.12	300,000
성원메디칼(주)	Inno-Multi Filter / Smoke Filter	'11.11 ~ '12.11	120,000
성원메디칼(주)	Max-T Guidewire	'10.11 ~ '12.11	200,000
성원메디칼(주)	Inno-Vac	'10.08 ~ 12.08	280,000
성원메디칼(주)	Sigma port Access Infusion Set	'10.04 ~ '12.04	130,000

표 3. 성원메디칼(주) 사업화 실적

기관명	개발제품명	매출액(천원)		수출액(천원)		비 고
		2013년	2014년	2013년	2014년	
성원메디칼(주)	Central Venous Catheter	820,000	900,000	631,400	693,000	
성원메디칼(주)	Drainage Catheter	830,000	750,000	51,700	35,200	
성원메디칼(주)	Accu-Sheath Introducer	950,000	750,000	104,500	180,400	
성원메디칼(주)	Prime-S CVC	890,000	870,000	-	-	

○ 기술확보 현황

- PU, HDPE, PP 등 튜브 소재에 대한 성형 및 가공 기술 확보
  - 마찰력 감소를 위한 카테터 구조 설계 기술
  - 튜브 소재에 따른 카테터 성형 기술 확보
- 카테터 구조 설계 기술 확보
  - 다이스·내경 내측 치수, 브레이딩 설계 및 가공된 구조 설계 기술

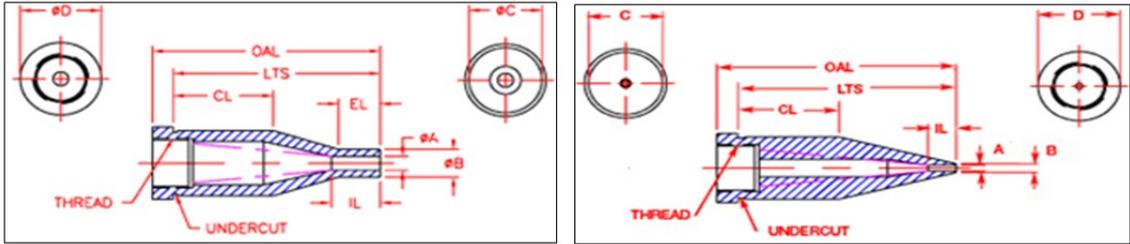


그림 15. 카테터 및 혈관확장기 Dies 도면

- Hemostatic valve 제작 기술 확보
  - Cross cut 및 2중 밸브 시스템을 적용한 역류방지용 밸브(hemostatic valve) 제작 기술
- 플라스틱 사출성형 기술 확보
  - 온도, 압력, 냉각, 시간, 원료 혼합비 등 가공 변수에 따른 성형 조건 정립
  - 소재별 사출 금형 설계 기술



그림 16. 플라스틱 사출 성형기

## 1차년도 동결정액 심부이식기 초기 핵심부품 제작

- 초기 디자인에 따른 이식튜브 제작
  - 심부이식기 주입 헤드 제작
  - 심부이식기 자궁경 개구부 제작
- 제1 세부에서 제공받은 기존 제품군에서 발생된 문제점을 개선한 디자인을 근거한 핵심부품을 제작 할 수 있는 기기설계와 제작시 반영할 적합 소재를 선정하여 실제 부품을 생산한다. 이러한 생산과정에 대한 예시는 다음 그림과 같다.

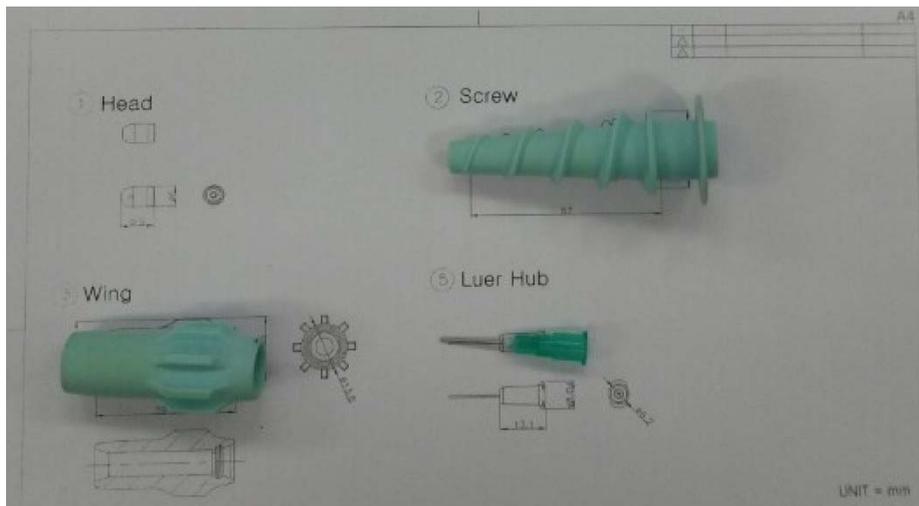
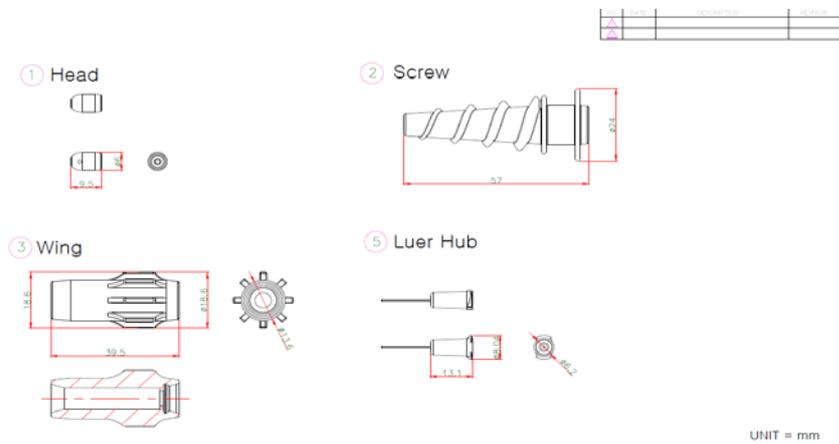


그림 17. 고안된 디자인을 생산적용 가능한 기기설계 및 제작된 핵심부품

## 2차년도

### 동결정액 심부이식기 시제품 제작

- 2D/3D 시제품 설계도 제작
  - 3D 프린팅을 이용한 모형 제작 및 생산 구조해석
  - 시제품제작을 위한 금형제작 및 사출
  - 시제품 조립/제작
- 제1 세부에서 안정성 검사가 통과된 핵심부품의 실제 적용을 위해서 동결정액 심부이식기 시제품을 제작한다. 제작전 3D work-station을 기술을 활용하여 도면에 따른 실제 제작시 발생 될 수 있는 구조적 문제들을 예측하여 발생되어지는 연구비의 소모를 최소화한다. 이러한 작업과정에 대한 일례는 다음과 같다.

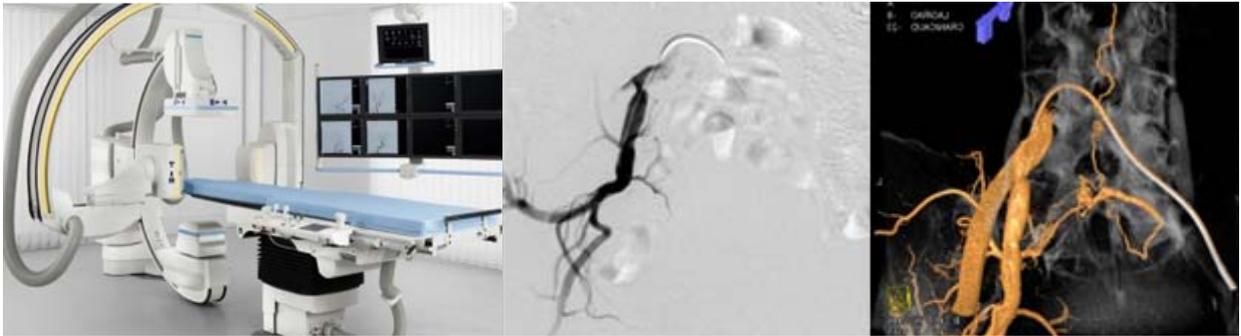


그림 18. 3D work-station 이용한 2D, 3D 조영 영상



그림 19. 3D 프린팅을 이용한 실리콘 모델 제작



## 제 1 협동과제

효과적인 동결정액 심부이식을 위한 모돈관리 시스템  
최적화 및 동결정액 심부이식기 사용법 개발

**목표** : 효과적인 동결정액 심부이식기 기능평가를 위한 연구농장 수준의 균일화된 모돈 공급이 가능한 사양환경 연구 및 조성하고, 동결정액 심부이식기 시제품을 현장적용시 발생되어지는 문제점을 분석함. 완성되어진 동결정액 심부이식기를 시기, 종류, 농도, 횟수 등 다양한 조건에서 주입실험을 실시하여 최적의 생산효율을 이끌어 낼 수 있는 동결정액 심부이식기 프로토콜을 개발함.

### 선행연구1

수란돈 선발 및 공급을 위한 체계적 사양 시스템 보유

□ **활용방안** : 동결정액 심부이식기의 객관적 평가가 가능한 연구농장 수준의 모돈관리 체계 및 사양환경 유지에 대한 이해도를 높임

### □ 선행연구결과

- ▷ 포유돈에서 분만된 자돈 선발 → 자돈 3단계 사료 급여 → 육성-비육돈 사료 급여 → 후보돈 사료급여 → 인공수정을 위한 체계적인 모돈확보
- ▷ 유두, 발굽 및 체형 등을 고려하여 후보돈 선별



그림 20. 송백농장에서 보유하고있는 모돈관리 프로세스 예시

## 1차년도

### 효과적인 동결정액 심부이식을 위한 사양환경 조성

- 우수한 형질의 청정 종모돈 선별
  - 임신돈 관리환경 규격화 및 체계정비
  - 동결정액 주입시기 구별법 연구
- 동결정액 심부이식기의 제작 단계별 객관적인 실험을 실시하기 위한 체계적인 모돈관리 시스템 정립 및 심부이식기를 활용한 주입시기를 판단하는 기준을 세운다. 주입시기를 구별하는 작업의 예시는 다음과 같다.



그림 21. 인공수정 시기를 판단하기 위한 외음부 평가 및 등지방 측정

## 2차년도

### 시제품 사용 동결정액 심부이식기 현장평가

- 발정주기에 따른 동결정액 심부이식
  - 동결정액 심부이식 최적시기 평가
- 주입 정자수에 따른 동결정액 심부이식
  - 동결정액 심부이식 최적 농도 평가
- 주입횟수에 따른 동결정액 심부이식
  - 동결정액 심부이식 최적효율 평가
  
- 제2 세부에서 제작되어진 동결정액 심부이식기 시제품을 활용하여 다양한 조건에서 심부이식을 실시함으로써 동결정액 심부이식기의 적용방법을 연구하고, 시제품을 사용할 때 현장에서 발생되어질 수 있는 문제점을 파악하여 피드백을 통한 예측되어지는 제품의 문제점을 조기 개선한다.

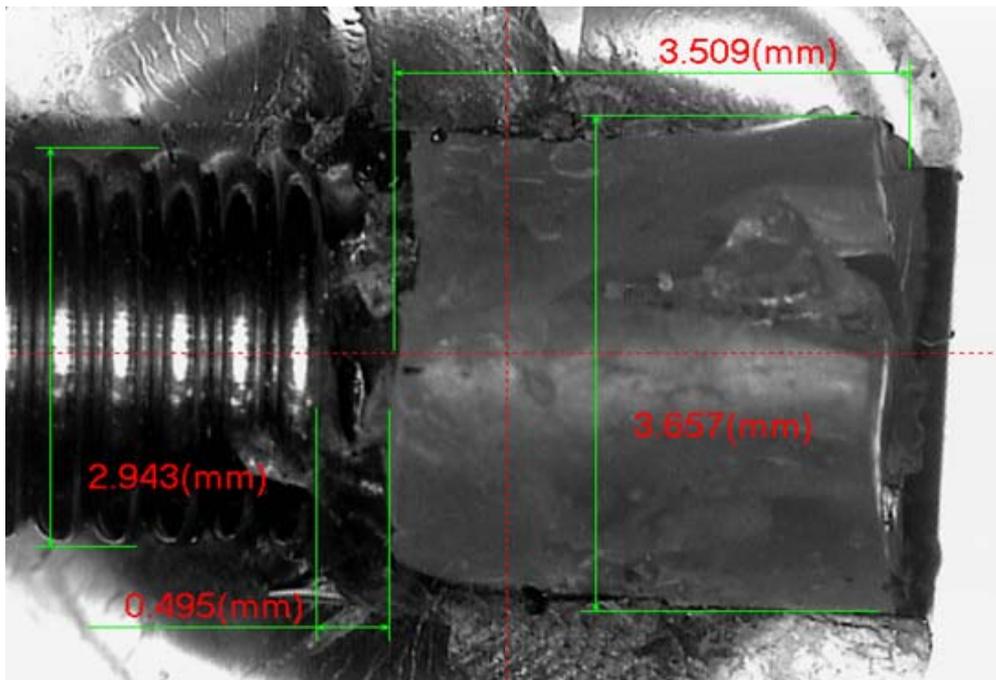


그림 22. 제작되어진 수정란 이식기의 주입부 직경이 오차범위 밖으로 제작되어 수정란 이식헤드 밖으로 배지주입 속도가 낮아지는 문제 발견 (예시)

### 3. 연차별 연구개발의 목표 및 내용

구분	연도	연구개발의 목표	연구개발의 내용
1차년도	2015	돼지해부생리학적 구조에 적합한 심부이식기 부품 디자인 개선	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 기존 상용화 제품군 비교분석                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 상용화된 심부 이식기에서 발생하는 문제점 분석</li> <li>- 발견된 문제점 해부학적 구조에 적합하게 재구성</li> </ul> </li> <li>○ 학계에 보고된 문제점 개선                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 주입구 막힘현상 방지</li> <li>- 개구부의 자궁경 손상을 방지하는 디자인 개선</li> </ul> </li> </ul>
		효과적인 모돈공급을 위한 사양환경 조성	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 우수한 형질의 청정 모돈 선별                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 질병없는 우수한 모돈의 균일한 공급을 위한 모돈 관리기법 연구</li> <li>- 약물을 이용하는 발정동기화가 아닌 사양관리를 통한 자연 발정일자 예측 시스템 개발</li> </ul> </li> <li>○ 관리환경 규격화 및 체계정비                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 실험 모돈의 균일한 공급을 위한 사양환경 개선</li> <li>- 모든 실험 모돈들이 동일한 환경에 노출 될 수 있도록 모돈관리 체계정비</li> </ul> </li> </ul>
		동결정액 심부이식기 주요부품 안정성 평가	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 부품 기능성 평가                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 제작된 이식기 주입헤드의 배지 압출량 평가</li> <li>- 개선된 자궁경 개구부가 어떻게 반영되는지 실제 자궁조직에서 평가 및 개선</li> </ul> </li> <li>○ 부품 세포독성 평가                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 이식기 내관 관류 전·후 정자 생존성/활성평가</li> <li>- 관류 전·후 정자를 활용한 체외 수정율평가 / 체외수정된 배아의 발달평가 실시</li> </ul> </li> </ul>
		동결정액 심부이식기 시제품 제작	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 현행 제품 및 기술 파악, 현행 제품의 문제점 해결                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 기존 심부 이식기를 활용 이식간 문제점 분석</li> <li>- 기능적 문제점 / 소재 개선</li> </ul> </li> <li>○ 3D simulation을 통한 심부이식기 구조 설계 및 검토</li> <li>○ 3D프린팅을 이용한 심부이식기 디자인 및 구조 평가</li> <li>○ 최적화된 주입기 설계도 작성                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 3D 설계 기법을 이용한 카테터 구조 설계</li> <li>- 카테터 삽입 시 마찰 저항을 감소시키는 주입부 구조 설계 및 튜브별 치수설계</li> <li>- 주입부 성형을 위한 dies 및 내측핀 구조 설계</li> </ul> </li> </ul>

2차년도	2016	<p>동결정액 심부이식기 시제품 성능평가</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 발정주기에 따른 동결정액 심부이식 효율평가 - 동결정액 심부이식 최적시기 평가</li> <li>○ 주입 정자수에 따른 동결정액 심부이식 효율평가 - 동결정액 심부이식 용량에 따른 수태율 분석 - 동결정액용량에 따른 인공수정 효율평가</li> <li>○ 주입횟수에 따른 동결정액 심부이식 - 동결정액 주입횟수에 따른 임신율과 산자수 계수</li> <li>○ 최적의 동결정액 심부이식조건 연구</li> </ul>
		<p>동결정액 심부이식기 시제품 <i>in vivo</i> 평가</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 제작된 시제품의 인공수정기로서의 성능분석 - 선별된 모돈 내 시제품을 사용하여 액상정액 주입시 수태율·산자수 평가 - 선별된 모돈 내 시제품을 사용하여 동결정액 주입시 수태율·산자수 평가</li> <li>○ 제작된 시제품의 수정란 이식기로서의 교차사용 가능성 연구 - 선별된 모돈 내 시제품을 사용하여 체외수정배아, 체세포 핵이식배아, 키메라 배아 등 수정란 이식기로서의 활용가능성 연구 - 수정란이 이식된 모돈의 수태율·산자수 평가</li> <li>○ <u>국내 최초 심부주입기 개발 및 평가를 통해 정립화 되지 않은 국내 동결정액 심부이식효율을 30%을 상회하는 실험결과 발표를 통해 객관적인 국내 동결정액 심부이식효율 근거를 마련</u></li> </ul>
		<p>동결정액 심부이식기 (CBSII®) 생산</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 카테터 정밀 압출 기술 개발 - 튜브 소재별 압출 조건 정립 등 압출 기술 개발 - 튜브 Dies 설계 및 제작 - Coiling 기술 개발 및 적용</li> <li>○ 이식기 주입부 및 외부 프로브 가공 기술 개발</li> <li>○ 심부이식기 시제품 개발 - 기존 시장 제품과 비교 평가 - 기계적 검증 및 성능 평가 방법 개발</li> <li>○ 동물 실험을 위한 샘플 제작 및 기계적 검증</li> </ul>

## 제 2장 국내외 기술개발 현황

코드번호

D-04

- 2000년도부터 본격적으로 돼지동결정액 효율향상 및 상용화를 위해 기술개발을 시작한 동결정액 선도국보다 한국은 약 10년 늦게 돼지 동결정액 시장에 참여였으며, 현재까지는 후발주자로서 동결기술 개발단계에 머물러 있음
- 동결정액 선도국인 미국, 독일, 네덜란드의 경우 1980년대 초반부터 돼지 인공수정 및 동결정액에 관한 연구개발을 지속적으로 진행하여 실제로 프랑스의 IMV technologies사와 독일의 Minitube사는 돼지정액 동결에 관한 동결액, 용해액, 동결정액, 동결정액용 이식기, 동결정액 운반기까지 모든 관련 부분에 대하여 상용화 단계를 거친 뒤 상품화하여 전세계 양돈 산업을 대상으로 판매함
- 특히, 2014년 스페인의 무르시아 대학 연구팀은 독일 Minitub 사의 제품인 Deep Blue ET catheter를 이용하여 돼지 인공수정을 실시한 결과, 체내에서 상실배 (morula) 단계까지 배아가 발달하는 것을 관찰했으며 이후 상실배 상태의 배아를 체외로 회수해 체외에서 배양했을때 chemically defined medium에서 배반포 (blastocyst) 단계까지도 배양이 가능함을 확인하여 심부이식기의 성능을 평가함 (E.A. Martinez *et al.*, 2014., *Plos One*)
- 우리나라의 경우 지난 2012년 12월 캐나다 제네수스사의 동결정액 660팩이 국내 최소 수입되어 양돈산업에 동결정액 실용화를 시도하였으며, 2013년부터 정부주도하에 국책사업인 **Golden Seed Project**를 통하여 본격적으로 동결정액의 국내 시험상용화가 시작됨
- 하지만 축산기술연구소에 따르면 국내 동결정액의 성과는 액상정액에 비해 수태율, 분만율이 약 13%씩 감소되고, 결과적으로 약 33%가량 산자효율이 감소되는 것으로 보고하기에 국내 동결정액시장의 수준은 아직은 수입의존적인 미개발 상태임
- 한편, 국립축산과학원은 돼지의 성호르몬 중 하나인 에스트로젠 수용체 (ESR1)를 만드는 유전자 중 1번 염색체에 존재하는 알파 유전자의 염기서열 35756째 염기 T와 C가 서로 바뀌는 (치환) 변이체를 찾았으며, 이러한 유전체 변이가 돼지 정액의 내동성에 영향을 미친다는 연구결과는 유전자 변이에 따라 동결정액의 내동성을 판별할 수 있는 근거로써 동결정액의 상용화를 이끌 수 있다는 점이 인정되어 2017년에는 특허로 등록되었음 (등록번호 : 10-17463960000)
- 그러나 이는 단순히 이미 제조된 동결정액의 품질 판별용 수단으로 사용하는데 그쳤을 뿐, 동결정액의 품질을 향상시키기 위한 방법은 아니므로 수태율 및 분만율을 증가시킬 수 있는 궁극적인 해결책은 아님
- 종합하면, **한국 양돈산업의 동결정액 상용화**를 위해 우선적으로 동결정액 인공수정 효율을 **액상정액 인공수정 수준으로 수태율과 산자수를 끌어올릴 필요가** 있으며, 이러한 문제점을 개선 할 수 있는 **한국형 돼지 동결정액 심부 이식기의 개발이 필요함**

### 제3장 연구수행 내용 및 결과

코드번호

D-05

#### 제1절 동결정액 심부이식기 기능평가를 위한 *ex vivo* 모델 개발

##### 1. *Ex vivo* 모델 개발과 이를 활용한 동결정액 심부이식기 기능평가 (Han *et al.*, 2017, Unpublished)

- *Ex vivo*란 생체 내에서 분리된 장기나 조직을 가지고 생체 외에서 연구하거나, 생체 외에서 일정 연구를 수행한 후 다시 생체 내로 이식하는 실험을 일컫는 것으로, 조직 및 세포에 대한 생리학적, 병리학적 및 대사 과정을 조사하는 이식 의학 분야에서 처음으로 사용되기 시작했음 (Clift MJ *et al.*, 2011, *Arch Toxicol*)
- 현재 *ex vivo* model을 활용한 간, 폐, 위, 신장 등에 대한 연구가 성공적으로 진행되고 있으며, 생체 내에서 분리된 장기를 이용한 관류모델을 만드는데 있어서 간이나 폐 이외에도 자궁을 이용하게 되면, 보다 다양한 장기에서 약물의 효과를 다방면으로 연구할 수 있을 것임
- 특히 돼지의 자궁은 인간의 자궁과는 해부학적, 생리학적인 차이가 존재하지만 자궁내막, 난관 및 난관 상피세포의 미세 구조가 유사하기 때문에 카테터, 심부이식기 및 내시경 등의 의료기기 개발시 생체적합성 평가모델 및 전임상모델로서의 *ex vivo* porcine uterus model은 활용 가치가 있는 유용한 도구임
- 또한 선행연구를 통해 *ex vivo* porcine uterus model의 경우, vitality parameter가 최대 8시간 동안 생리학적 범위 내에서 유지 될 수 있다는 것이 밝혀졌음 (Dittrich R *et al.*, 2003, *Horm Metab Res*). 현재는 이러한 모델을 사용하여 자궁 내에서 옥시토신, 에스트로젠, 프로게스테론, 프로스타글란딘과 같은 호르몬의 영향을 알아보는 연구 (Mueller A *et al.*, 2006, *Hum Reprod*) 와 자궁 내 우성난포 (dominant follicle) 수송 기전을 분석하는 연구도 활발히 진행되고 있음 (Mueller A *et al.*, 2006, *J Reprod Dev*)
- *ex vivo* uterus model을 활용한 선행연구들은 주로 자궁의 수축성을 평가하여 다양한 약물의 효과를 분석하는데 사용되었지만 아직 *ex vivo* 시스템을 접목하여 포유동물의 체외 배아 생산 및 의료기 소재 생체적합성 평가를 진행한 연구는 보고된바 없음
- 한편, 돼지의 인공수정 (Artificial insemination, AI)에 대한 연구는 많이 발전되고 있지만 실질적으로 양돈 산업에 필요한 돼지 생산을 효율적으로 달성하는 것에는 한계가 있어, 모든 인공수정 연구의 궁극적인 목적은 유전적으로 가장 좋은 돼지에서 얻은 최소한의 정액을 활용한 인공수정 방법으로 수정률을 높이는 것임
- 다양한 인공수정 방법 중에서도 기존의 자궁경 AI 카테터를 이용한 심부이식법 (Deep intrauterine insemination, DIU-AI)은 보편적인 인공수정 방법보다 침습적이며 자궁경 및 자궁내막 손상을 통한 염증유발 및 감염의 위험성이 있음. 이에 *ex vivo* uterus model을 통한 생체적합성 있는 소재 개발 및 카테터 선단 디자인을 개선하였고, 본 과제를 통해 개발된 이식기의 전임상실험으로 심부이식 조건을 분석하였음

■ 따라서, 본 연구의 목적은 *ex vivo* 상태에서 돼지 자궁각에 정자를 주입하고, 자궁 협부에 난자를 이식한 후, 심부이식기를 사용한 수정을 통해 최적의 심부이식조건 개발 및 배아 생산 효율 평가가 가능한 *ex vivo* porcine uterus model을 개발하였음

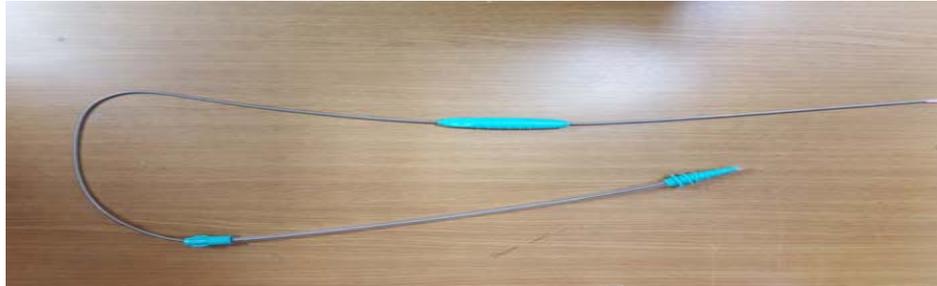


그림 23. *Ex vivo* porcine uterus model 개발에 사용된 동결정액 심부이식기

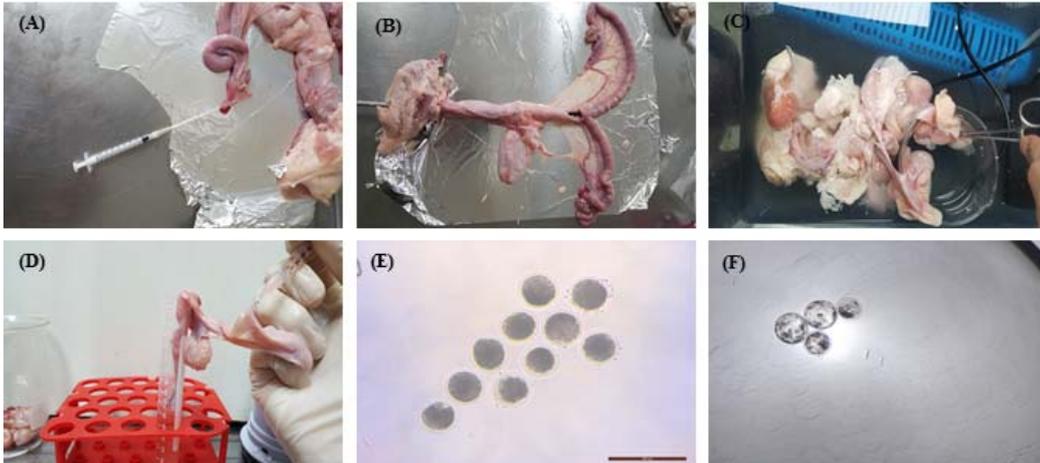


그림 24. *Ex vivo* porcine uterus model을 사용한 전체적인 *ex vivo* fertilization 과정. (A) 스트로를 이용하여 난관 누두부에 액상정액을 주입하는 모습. (B) 자궁각 상단까지 들어간 동결정액 심부이식기의 모습. (C) 자궁을 37도가 유지되는 organ bath에 넣어 20분간 정치시키는 모습. (D) 20분 후, 난관에서 zygote를 회수하는 모습. (E) 회수 후, 페트리 디쉬 위에서 관찰되는 zygote의 모습. (F) *ex vivo* fertilization 과정을 통해 획득된 배반포 (Blastocyst, BL).

표 4. *ex vivo* fertilization 후 10시간째에 관찰되는 다양한 정자 농도에 따른 수정률 평가

Sperm concentration ( $\times 10^7$ /mL)	No. of oocytes, N		No. (%) of sperm penetrated oocytes				
	Transferred	Retrieved	Penetrated(%) <sup>d</sup>	MPN formed(%) <sup>e</sup>	Monospermy(%) <sup>e</sup>	Polyspermy(%) <sup>e</sup>	Efficiency of fertilization(%) <sup>f</sup>
Control <sup>1</sup>	-	90	72(80.0 $\pm$ 1.7 <sup>b</sup> )	63(87.7 $\pm$ 4.2)	39(53.7 $\pm$ 6.1 <sup>a</sup> )	24(33.7 $\pm$ 9.5 <sup>b</sup> )	43(43.0 $\pm$ 5.8 <sup>c</sup> )
Control <sup>2</sup>	120	89	65(73.0 $\pm$ 4.2 <sup>b</sup> )	64(98.7 $\pm$ 1.3)	34(52.7 $\pm$ 3.7 <sup>a</sup> )	30(46.0 $\pm$ 3.1 <sup>b</sup> )	38(38.3 $\pm$ 2.9 <sup>b</sup> )
7.5	127	79	24(29.7 $\pm$ 4.4 <sup>a</sup> )	21(87.7 $\pm$ 8.6)	19(82.0 $\pm$ 9.1 <sup>b</sup> )	2(5.70 $\pm$ 5.7 <sup>a</sup> )	24(23.7 $\pm$ 2.3 <sup>a</sup> )
15	127	82	29(34.3 $\pm$ 3.2 <sup>a</sup> )	27(95.0 $\pm$ 7.2)	25(85.2 $\pm$ 3.2 <sup>b</sup> )	2(9.70 $\pm$ 5.8 <sup>a</sup> )	29(29.0 $\pm$ 3.6 <sup>b</sup> )
30	127	73	33(44.3 $\pm$ 7.4 <sup>a</sup> )	28(88.0 $\pm$ 7.2)	26(80.3 $\pm$ 3.9 <sup>b</sup> )	2(8.0 $\pm$ 4.0 <sup>a</sup> )	35(35.0 $\pm$ 4.6 <sup>b</sup> )

<sup>a,b,c</sup>Values with different superscript letters within rows are significantly different ( $P < 0.05$ ).

Data are provided as the mean standard error of the mean (SEM).

The experiment was repeated three times.

Abbreviation: MPN; male pronucleus.

Control<sup>1</sup>: The immature oocytes were matured and fertilized *in vitro* (Sperm concentration :  $5 \times 10^5$ /mL).

Control<sup>2</sup>: The matured oocytes *in vitro* were transferred to porcine uterine isthmus for 20 minutes and retrieved again and then the retrieved oocytes were fertilized *in vitro* (Sperm concentration :  $5 \times 10^5$ /mL).

<sup>d</sup> Percentage of the number of oocytes examined.

<sup>e</sup> Percentage of the number of oocytes penetrated.

<sup>f</sup> Efficiency of fertilization was the percentage of monospermic oocytes from total examined.

- ▶ 보다 최적의 생체적합성 조건을 도출하기 위해, 도축장에서 미경산돈 돼지의 자궁을 획득하여 자궁에 동결정액 심부이식기를 삽입하고 동결정액을 주입하여 수정률 평가와 배아 발달 평가를 실시하였음. 미경산돈 자궁의 경우, 경산돈보다 내부직경이 좁은 이유로 자궁까지 도달하는 정도분석 및 이식기 선단 디자인 분석에서 보다 세밀한 생체적합성 평가를 분석할 수 있었음
- ▶ *Ex vivo* porcine uterus model을 사용하여 *ex vivo* fertilization을 실시한 후, 10시간째에 수정률 평가를 수행했을 때, control<sup>1</sup> 과 control<sup>2</sup> 대비 모든 실험군에서 홀정자수정률(monospermy)은 유의적으로 높게 나타났고, 못정자수정률(polyspermy)은 유의적으로 낮게 나타났음. 이는 체외수정(IVF)에서의 수정률이 *in vivo*의 재현성을 보장 할 수 없음을 보여주는 결과임. 또한 *ex vivo* model을 사용하는 경우에도  $30 \times 10^7$  / ml 정자처리군에서는 전체 수정률에서는 control<sup>1</sup> 대비 유의적 차이가 없으나,  $7.5 \times 10^7$  / ml 및  $15 \times 10^7$  / ml 정자처리군에서는 체외수정(IVF) 보다는 전체적인 수정률은 낮게 나타나는 것으로 보아 *ex vivo* 실험시 정자농도가 최소  $30 \times 10^7$  / ml 이어야 하며, 이에 대한 영향인자 분석 연구의 필요성도 제기됨. 향후, 추가 연구지원이 가능한 경우, *ex vivo* model 조건의 최적화를 위한 분자생물학적인 기전 분석을 진행할 예정임

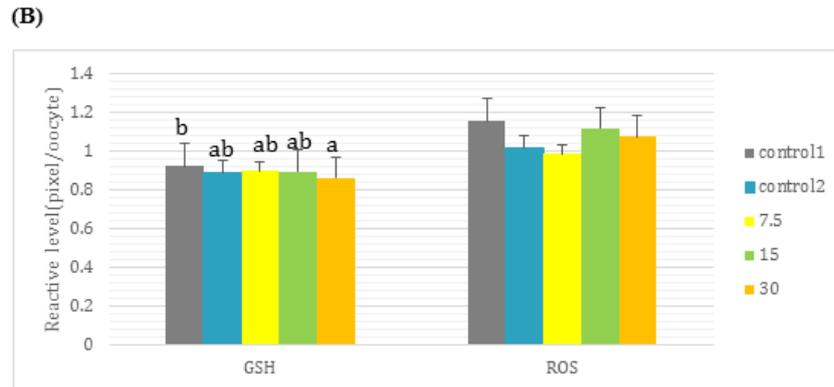
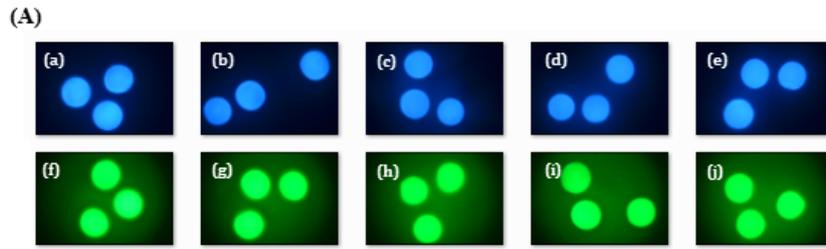


그림 25. 세포질 성숙 평가 (GSH & ROS)를 통한 *ex vivo* 수정란의 정상성 확인. (A) *Ex vivo*에서 수정된 돼지 배아의 형광이미지 사진. (a), (f) : control<sup>1</sup>, (b), (g) : control<sup>2</sup>, (c), (h) :  $7.5 \times 10^7$ /mL, (d), (i) :  $15 \times 10^7$ /mL, (e), (j) :  $30 \times 10^7$ /mL, (a-e : CellTracker Blue로 염색된 수정란의 사진; GSH 측정, f-j : 2', 7' -dichlorodihydrofluorescein diacetate (H2DCFDA)로 염색된 수정란의 사진; ROS 측정). (B) *Ex vivo* model을 통해 생산된 돼지 수정란의 세포질 내에 있는 GSH 및 ROS의 상대적인 레벨 측정.

- ▶ 체외수정(IVF)과 *ex vivo* fertilization의 차이를 알아보기 위하여 세포질 성숙 정도를 평가해본 결과, ROS (Reactive Oxygen Species, 활성산소종) 수준은 체외수정(IVF)이나 *ex vivo* 상태에서 서로 유의미한 차이를 확인해 볼 수 없었지만, GSH (Glutathione, 글루타치온) 수준은 체외수정(IVF)를 시행했을 때가 *ex vivo* fertilization에 비해 유의적으로 높게 나타난 것으로 보아 세포질 성숙에 미치는 영향에 있어 현 수준에서의 *ex vivo* 조건 개선이 요구됨. 이는 실험 중 난관 및 자궁의 일시적 실온으로의 노출이 주요 인자로 분석되며, 향후 이를 보완할 *ex vivo* 전용 chamber 개선으로 보완할 예정임

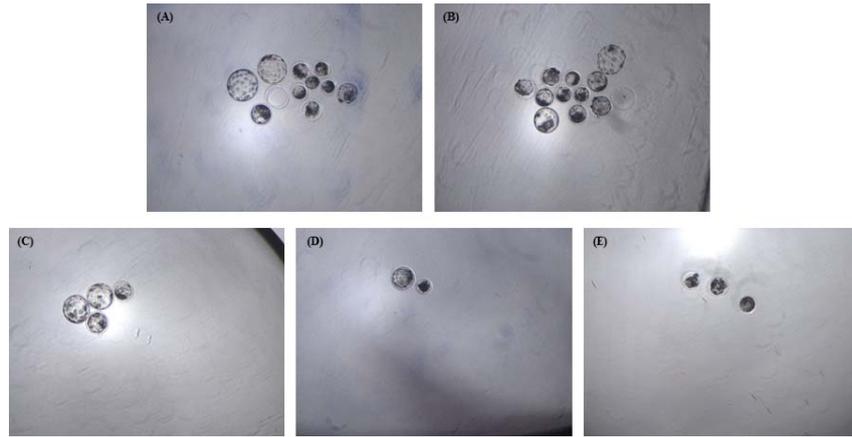


그림 26. In vitro fertilization 및 ex vivo fertilization으로 획득된 배반포 사진. (A) control<sup>1</sup> (in vitro fertilization한 결과), (B) control<sup>2</sup> (Ex vivo uterus model에 20분간 난자를 정치시킨 후 회수하여 in vitro fertilization한 결과), (C)  $7.5 \times 10^7/\text{mL}$  농도의 정자를 이용한 ex vivo fertilization 후에 획득한 배반포, (D)  $15 \times 10^7/\text{mL}$  농도의 정자를 이용한 ex vivo fertilization 후에 획득한 배반포, (E)  $30 \times 10^7/\text{mL}$  농도의 정자를 이용한 ex vivo fertilization 후에 획득한 배반포.

- ▶ 체외수정(IVF) 뿐만 아니라, 동결정액 심부이식기와 ex vivo uterus model을 활용한 ex vivo fertilization 후에도 수정란이 배반포까지 발달하는 것을 확인함
- ▶ 따라서 본 연구 결과는 동결정액 심부이식기를 생체 내로 직접 주입하기 전에 ex vivo 상태에서 기능평가가 가능함을 증명하였으며, 최적의 심부이식조건을 확립하는 데에도 유용하게 사용가능한 모델을 제시하고 있음

## 2. 효율적인 미성숙난자의 체외 성숙 기전 연구

### 가. Zeaxanthin을 이용한 돼지 난자의 체외 성숙 연구

(Park et al., 2017, J Biomed Res)

표 5. 체외성숙 동안 Zeaxanthin 처리가 핵성숙에 미치는 영향

Zeaxanthin concentration ( $\mu\text{mol/L}$ )	Oocytes cultured for maturation*	Number of oocytes			
		Germinal vesicle(%)	Metaphase I (%)	Anaphase and telophase I (%)	Metaphase II (%)
0	126	4 (3.2±0.9)	13 (10.2±1.8) <sup>a</sup>	4 (3.2±0.8)	105 (83.4±0.9) <sup>a</sup>
0.01	121	6 (5.1±1.6)	9 (7.5±0.3) <sup>a,b</sup>	6 (4.9±2.5)	101 (83.4±0.9) <sup>a</sup>
0.05	120	3 (2.5±0.1)	11 (9.2±1.0) <sup>a,b</sup>	2 (1.6±0.8)	104 (86.7±0.9) <sup>a,b</sup>
0.1	122	4 (3.1±2.0)	13 (10.6±1.4) <sup>a</sup>	2 (1.5±0.8)	103 (84.6±2.6) <sup>a</sup>
0.5	117	4 (3.0±1.5)	6 (5.5±1.0) <sup>b</sup>	2 (1.9±1.1)	105 (89.6±0.3) <sup>b</sup>

Values with different superscript letters within a column are significantly different ( $P < 0.05$ ). The data represents the mean±SEM.  
\* Experiment was replicated three times.

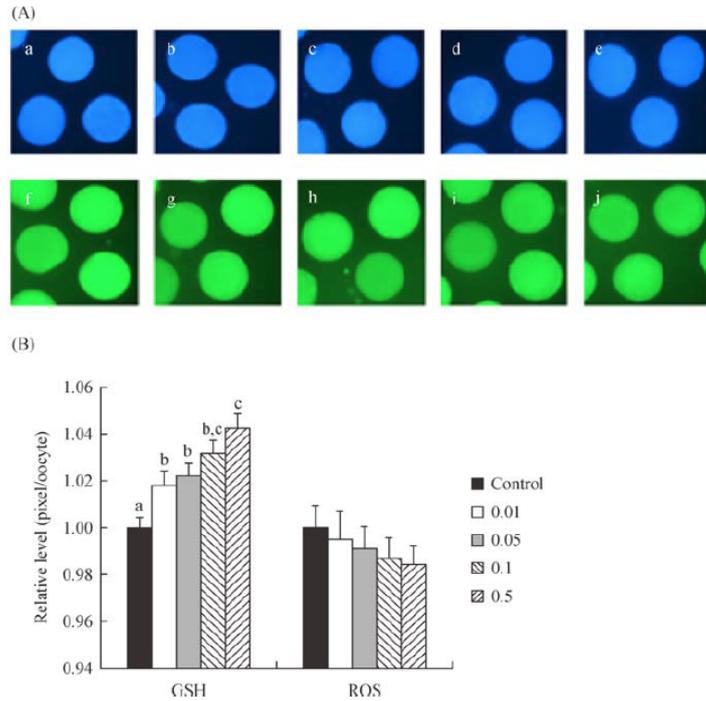


그림 27. 체외 성숙 기간 동안 zeaxanthin 처리 후, 세포질 성숙 평가 (GSH & ROS)

표 6. 체외 성숙 동안 zeaxanthin 처리 시, 단위생식 후 배아 발달에 미친 영향

Zeaxanthin concentration (μmol/L)	No. of embryos cultured*	No. of embryos developed into(%)		Cell number in blastocyst**
		≥2-cell embryos	Blastocysts	
0(Control)	90	46 (51.2±1.4)	30 (32.9±3.4)	100.8±6.9(19)
0.01	89	46 (51.4±2.0)	31 (35.4±5.6)	103.9±4.2(16)
0.05	95	54 (56.3±5.5)	42 (43.6±4.5)	103.6±3.8(21)
0.1	92	55 (59.1±4.6)	33 (35.9±2.5)	106.9±7.9(20)
0.5	99	56 (55.3±7.3)	33 (32.3±5.4)	108.5±1.2(17)

\*Three replications. \*\*Number of examined blastocysts.

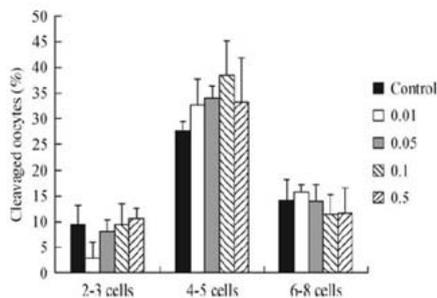


Fig. 28 Effect of different concentrations of zeaxanthin treatment during *in vitro* maturation on cleavage pattern of parthenogenetic activation embryos on day 2.

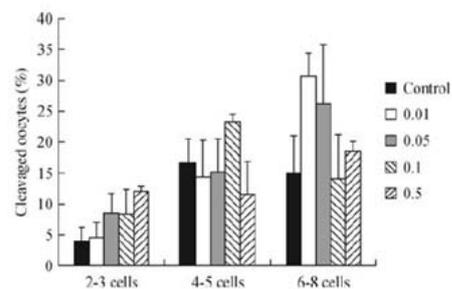


Fig. 29 Effect of different concentrations of zeaxanthin treatment during *in vitro* fertilization on cleavage pattern of *in vitro* fertilization embryos on day 2.

그림 28. 체외 성숙 동안 zeaxanthin 처리 시, 단위생식 및 체외수정 후 이틀째의 분할 양상

표 7. 체외성숙 동안 zeaxanthin 처리 시, 체외수정 후 배아 발달에 미친 영향

Zeaxanthin concentration (μM)	No. of embryos cultured*	No. of embryos developed into(%)		Cell number in blastocyst**
		≥2-cell embryos	Blastocysts	
0	91	33 (36.2±0.9)	24 (26.4±0.6)	96.0±6.0(11)
0.01	91	46 (50.0±3.1)	21 (22.5±5.4)	95.7±3.3(11)
0.05	86	44 (50.5±3.3)	25 (30.0±5.1)	99.2±3.7(12)
0.1	94	43 (46.2±10.0)	29 (31.1±6.1)	100.±9.5(13)
0.5	98	41 (42.5±5.9)	15 (14.4±6.3)	117.1±13.0(7)

\* Three replications.  
\*\* Number of examined blastocysts.

- ▶ Zeaxanthin은 자연계에 흔히 존재하는 카로티노이드 및 항산화물질로 알려져있음
- ▶ 미성숙난자의 체외성숙 시, 0.5 μM의 zeaxanthin을 처리했을 때 가장 효과적으로 핵성숙 및 세포질성숙이 일어남을 관찰하였음

나. 돼지 난자의 체외성숙률 및 발달율을 높이는 GDF8의 활성화 기전 연구  
(Yoon *et al.*, 2017, *Theriogenology*)

표 8. 체외 성숙 동안 GDF8을 처리했을 때, 단위생식 후 배아 발달에 미친 영향

GDF 8 concentration (ng/ml)	No. of embryos cultured*	No. (%) of embryos developed to		Total cell number (n)**
		≥2-cell	Blastocyst	
0	168	109 (64.9 ± 1.7) <sup>a</sup>	70 (41.7 ± 5.9) <sup>a</sup>	99.3 ± 6.4 (33) <sup>a</sup>
1	168	126 (75.0 ± 4.0) <sup>ab</sup>	72 (42.9 ± 3.3) <sup>a</sup>	111.5 ± 10.5 (23) <sup>a</sup>
10	162	131 (80.9 ± 3.8) <sup>b</sup>	98 (60.5 ± 2.4) <sup>b</sup>	134.1 ± 8.4 (34) <sup>b</sup>
100	169	139 (82.2 ± 3.6) <sup>b</sup>	106 (62.7 ± 5.7) <sup>b</sup>	120.7 ± 6.5 (30) <sup>b</sup>

\*Four replicate experiments.  
\*\*Number of blastocysts examined.  
<sup>ab</sup> Values with different superscripts within a row column differ significantly ( $P < 0.05$ ).

- ▶ 체외성숙 동안 다양한 농도의 GDF8를 처리하여 단위발생 후 배아 발달율을 측정했을 때 10, 100ng/mL의 GDF8을 처리한 군에서 control 대비 유의적으로 배반포 형성율이나 총 세포수가 증가하는 것을 관찰함. 따라서 체외성숙 배지에 GDF8을 첨가하면 배아 발달율이 증가하는 것을 확인함

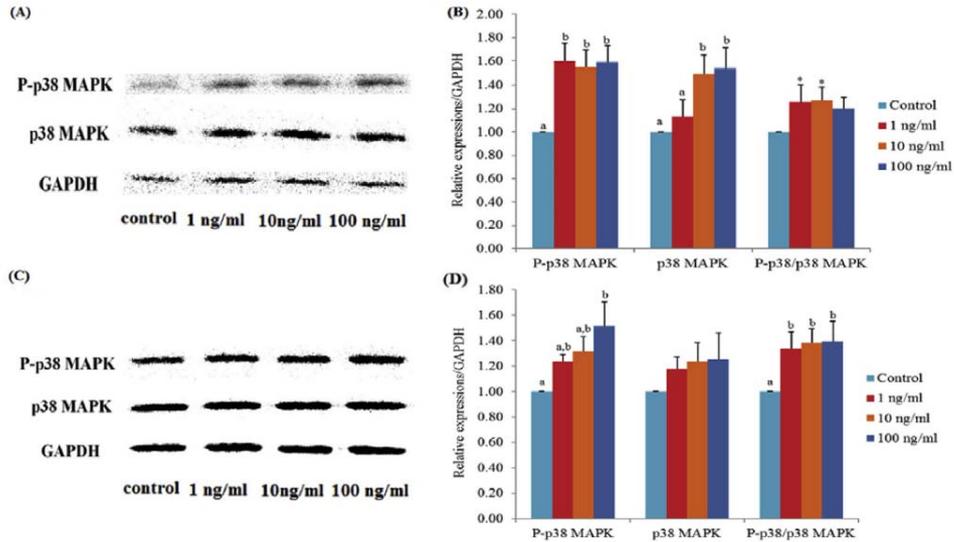


그림 29. 다양한 농도의 GDF8을 첨가하여 체외 성숙시킨 후, 난구 세포 내에 있는 난포 발달 조절자인 p38 MAPK의 단백질 발현량 확인. (A-B: 난구세포, C-D: 난자)

- ▶ 또한 다양한 농도의 GDF8을 첨가하여 체외성숙 시킨 후, 각각 난구세포와 난자로 나누어 western blot을 실시. 각 세포 내에 있는 p38-MAPK와 P-p38 MAPK의 단백질 발현 정도를 측정된 결과, 특히 GDF8을 10, 100ng/mL의 농도로 체외성숙 과정에 처리했을 때 난구세포 내에 있는 p38-MAPK 단백질의 발현량이 control 대비 유의적으로 증가하는 것을 확인해 볼 수 있었음
- ▶ 따라서, 이는 GDF8이 돼지 난자의 체외성숙 기간 동안 p38 MAPK 인산화 조절과 배아 발달을 증가시키고, 난자의 성숙에 관여하는 paracrine factor 라는 사실을 처음으로 입증한 결과임
- 종합하면, *ex vivo* porcine uterus model을 통한 동결정액 심부이식기의 기능평가 및 최적의 심부이식조건 연구와 미성숙 난자의 효율적인 체외성숙 연구를 병행한다면 기존 동결정액 심부이식기의 문제점을 좀 더 효과적으로 개선할 수 있는 방안을 제시할 수 있음

## 제2절 동결정액 심부이식기 (CBSII®) 생산

### 1. 동결정액 심부이식기 (CBSII®) 시제품 테스트

○ 모든 세부과제 기관이 모여 송백농장에서 현장 시제품 테스트 및 의견 교류를 진행

#### 가. 임상시험용 동결정액 심부이식기 스크류를 개선하여 제품 테스트 시행

- ▶ 고무재질의 스크류보다 자궁경관부위 주입 시 경도가 약함  
→ 기존 고무 재질의 스크류로 변경
- ▶ 내측카테터를 사용한 동결정액 주입시 높은 압력발생으로 인해 주입의 어려움  
→ Head 디자인 개선 또는 내측 카테터 내경 확장 고려하여 수정 진행할 것
- ▶ 임상시험용 이외 농가에서 저렴하게 사용할 수 있는 동결정액주입기 제작 요청  
→ 내측카테터를 제외한 외측카테터를 활용한 시제품 제작



그림 30. 임상시험용전용 동결정액 심부이식기 시제품A 테스트



그림 31. 임상시험용전용 동결정액 심부이식기 시제품B 테스트



## 2. 2세대 동결정액 심부이식기 설계 및 제작

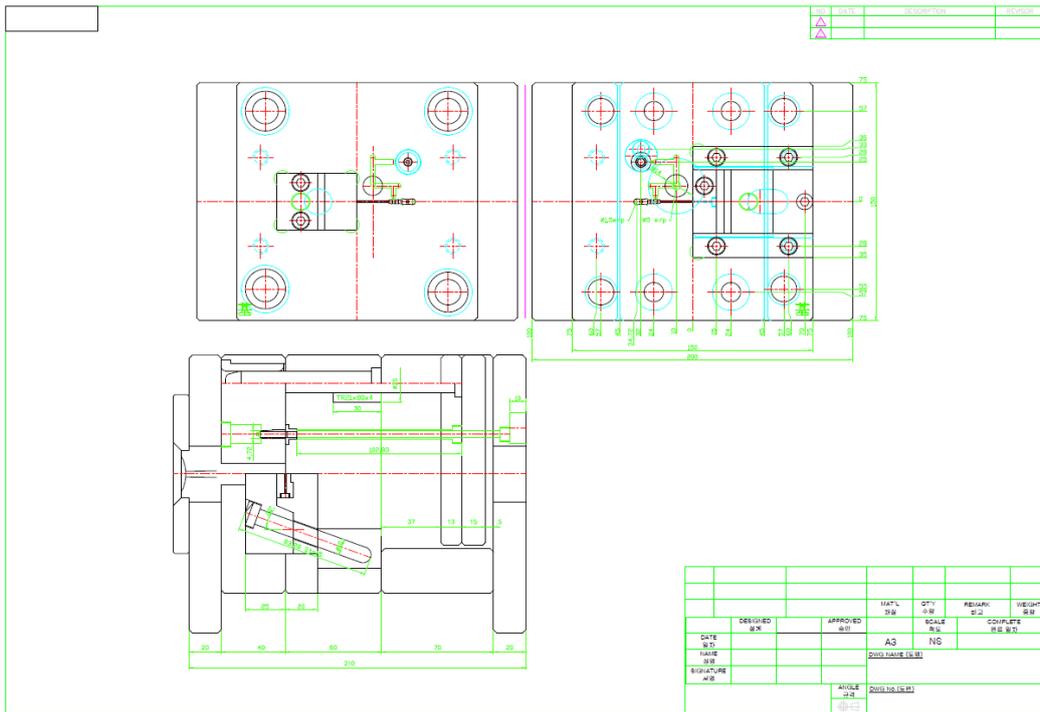


그림 33. 2세대 Head 사출 금형 조립 도면

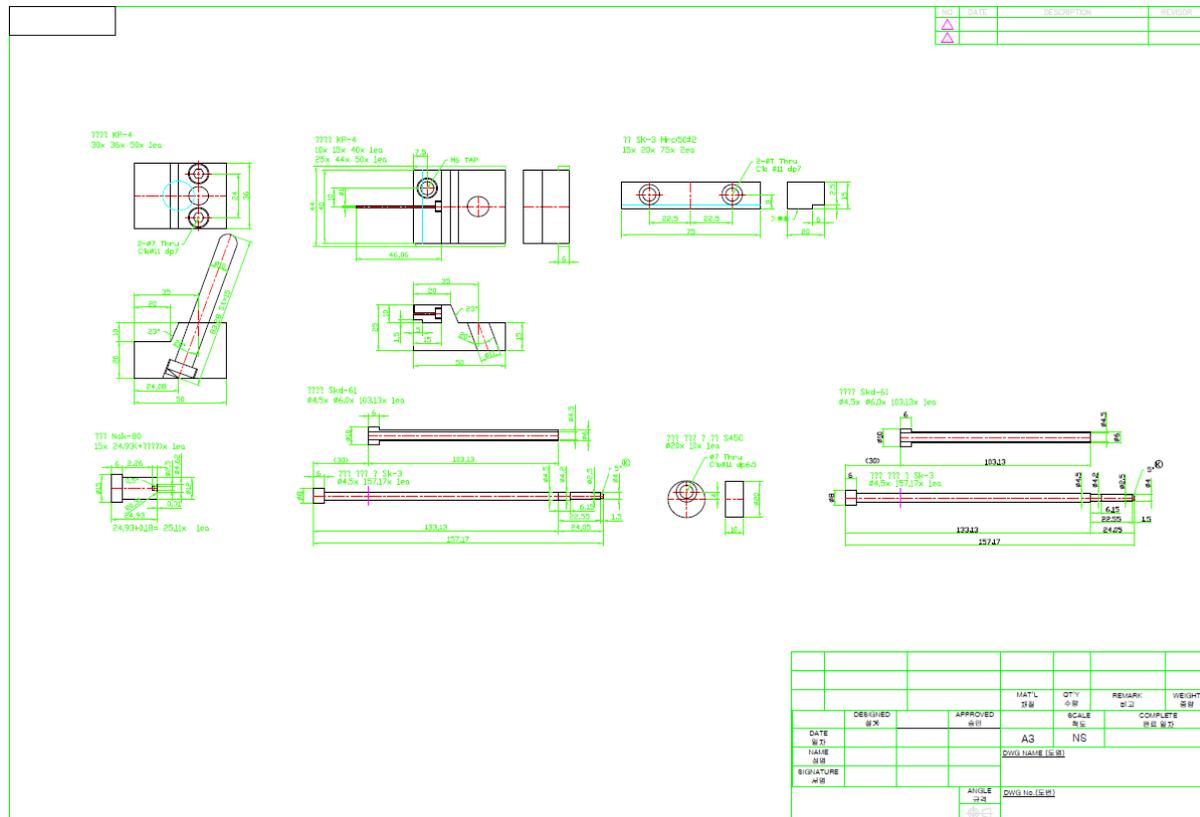
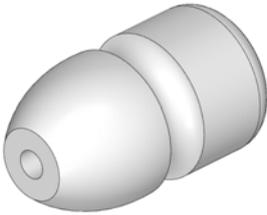


그림 34. 2세대 Head 사출 금형 부품 도면

가. 주입구 삽입 어려움에 의한 디자인 변경

개선 전	개선 후
 <p data-bbox="210 645 758 719">▶주입부가 두껍고 곡선처리가 잘 되지 않아 삽입이 어려움</p>	 <p data-bbox="826 667 1396 705">▶주입부가 얇고 곡선처리를 하여 삽입에 용이</p>

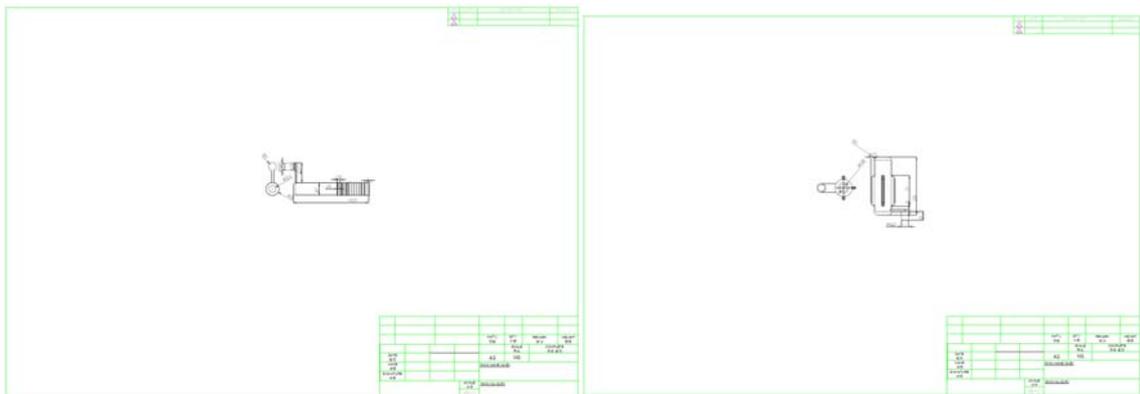


그림 35. 2세대 Hub 제작 도면

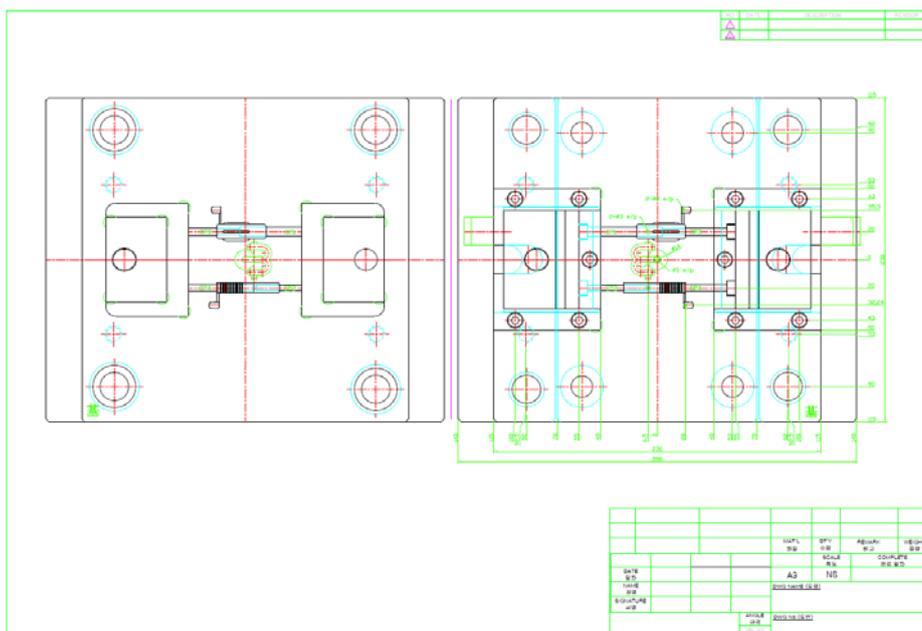


그림 36. 2세대 Hub 사출 금형 조립 도면 (1)

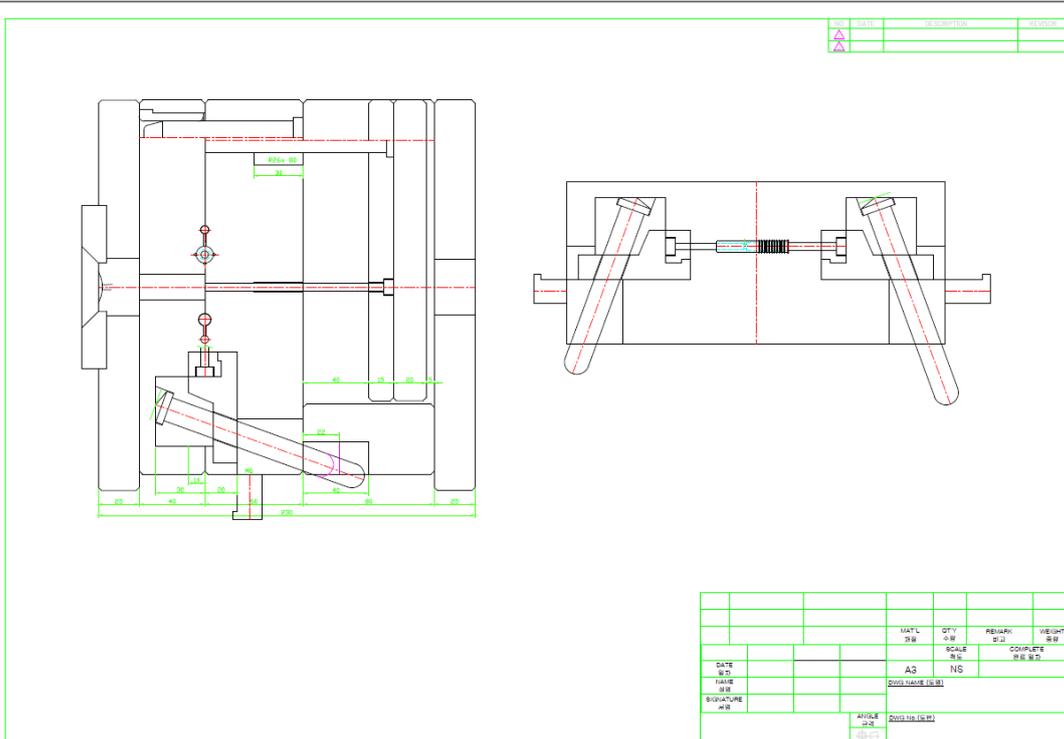


그림 37. 2세대 Hub 사출 금형 조립 도면 (2)

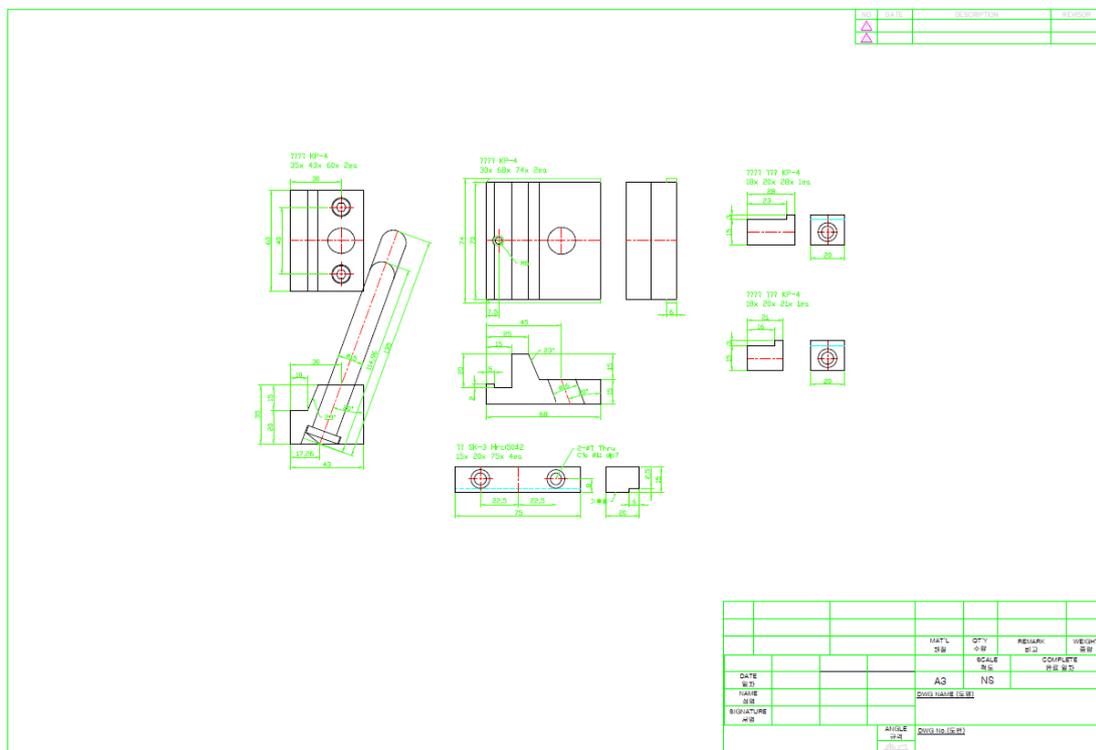


그림 38. 2세대 Hub 사출 금형 부품 도면 (1)



## 나. 2세대 시제품 제작

① 주입구 스펀지 스크류가 사다리꼴 원기둥 형태를 지니고 있는 미경산돈 전용 인공수정용 이식기는 출산한적이 없는 1세 미만의 암돼지(초임돈 포함)에 사용



그림 41. 미경산돈 전용 인공수정 가이드 시제품

② 주입구 스펀지 스크류가 둥근 형태를 지니고 있는 경산돈 전용 인공수정용 심부 이식기는 출산한 적이 있는 암돼지에 사용되며 내측 카테터로 미경산돈 전용 인공수정 가이드에 내측 카테터가 추가되어 있는 형태.



그림 42. 경산돈 전용 인공수정용 심부이식기 시제품

## 다. 2세대 시제품 테스트

- 송백농장에서 2세대 제품 2가지를 대상으로 테스트를 진행함.



그림 43. 경산돈 전용 인공수정용 심부이식기 시제품 테스트

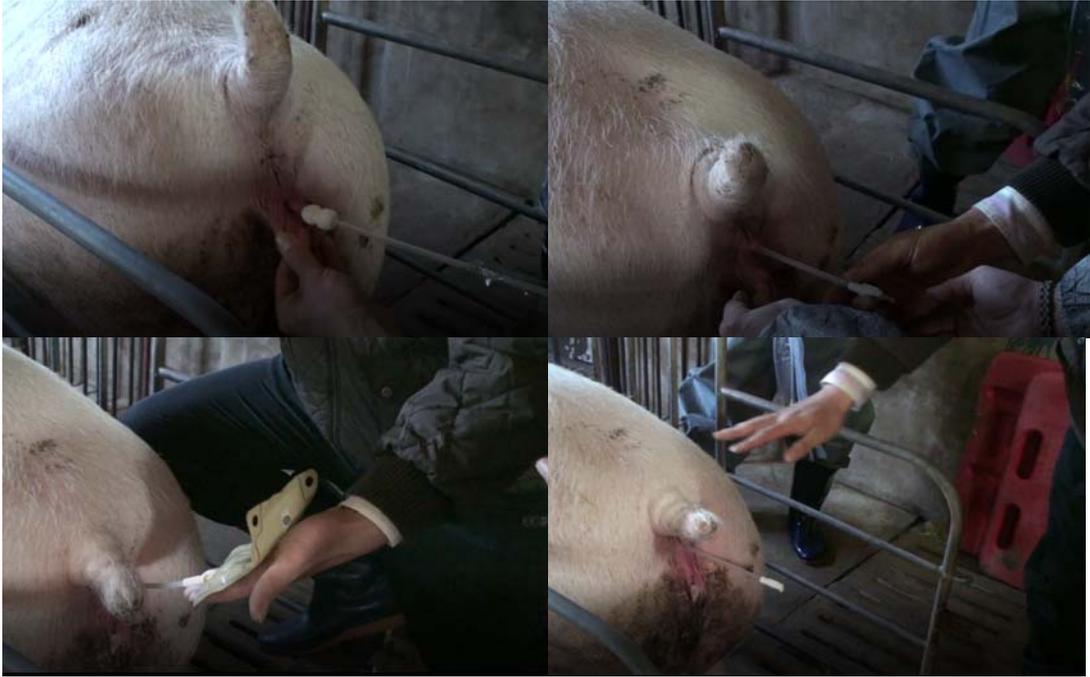


그림 44. 미경산돈 전용 인공수정 가이드 시제품 테스트

#### 라. 안정성 테스트 진행

##### ① 외관시험

- 시험기준 : 제품의 흠이나 파손이 없어야 함
- 시험방법 : 육안으로 면밀히 확인

##### ② 치수

- 시험기준 : 허용 오차가 표시된 범위 내  $\pm 5\%$  이내
- 시험방법 : 버니어 캘리퍼스 또는 바이알 게이지로 측정

##### ③ 용출물 시험-중금속

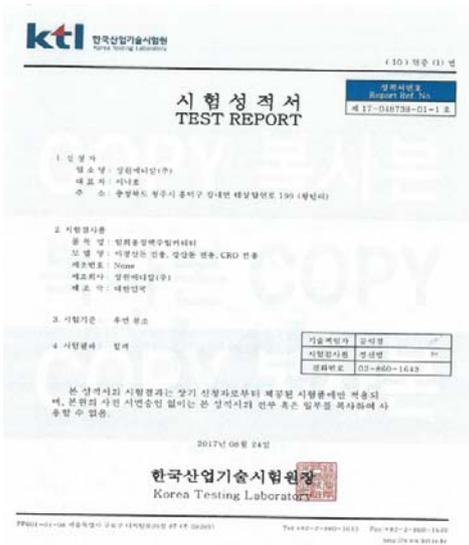
- 시험기준 : 비교액에는 납 표준액 2.0ml를 넣고 검액과 비교할 때, 검액이 비교액보다 열거나 같아야 함.
- 시험방법 : 검액 10.0ml를 취하여 대한약전 일반시험법 중금속시험법의 제1법에 따라 시험

##### ④ 용출물 시험-자외선흡수스펙트럼

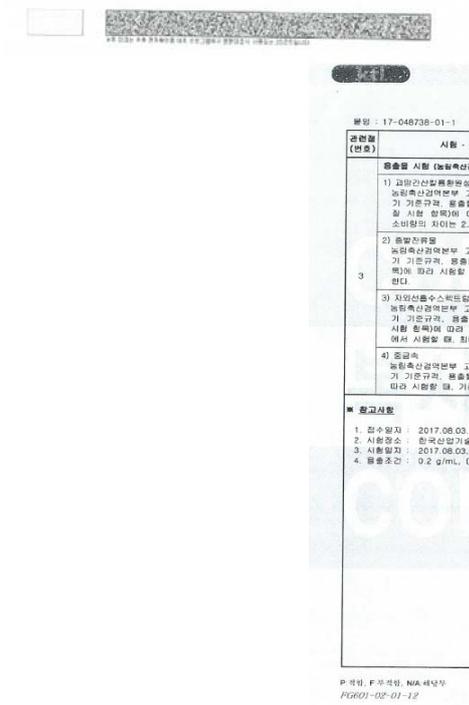
- 시험기준 : 검액과 공시험액의 흡광도를 측정하였을 때 두 액의 흡광도 차는 0.1이하여야 함
- 시험방법 : 자외선흡수스펙트럼을 이용하여 250~320mm의 파장에서 검액과 공시험액의 흡광도를 측정

⑤ 용출물 시험-과망간산칼륨 환원성물질

- 시험기준 : 과망간산칼륨소비량의 차는 2.0ml 이하로 유지하여야 함
- 시험방법 : 검액 10.0ml를 마개 있는 삼각플라스크에 취하고, 0.002mol/L농도의 묽은 황산을 1ml를 넣어 잘 섞은 후, 실온에 15분간 방치한 다음, 여기에 요오드화칼륨 0.10g을 넣은 후, 0.005mol/L 치오황산나트륨액으로 밝은 갈색이 될 때까지 적정 확인 후, 전분시액 5방울을 넣어, 푸른색이 사라질 때까지 적정한 뒤, 따로 공시험액 10.0ml를 써서 방법으로 동시에 시험함.



과목명 (번호)	시험·검사 항목 및 기준	시험·검사 결과 및 비고	판정 P F N/A
<b>용출물 시험 (농축산균액분부 고시 제2015-07호, 동물용의약품 기준규격) (시험법: 동물용의약품)</b>			
1	1) 과망간산칼륨환원성물질 농축산균액분부 고시 제2015-07호, 동물용의약품 기준규격, 용출물 시험법 (과망간산칼륨환원성물질 시험 항목)에 따라 시험할 때, 과망간산칼륨의 소비량의 차이는 2.0 mL 이하이어야 한다.	[첨부 1] 참조	(✓) ( ) ( )
	2) 중금속 농축산균액분부 고시 제2015-07호, 동물용의약품 기준규격, 용출물 시험법 (중금속 시험 항목)에 따라 시험할 때, 잔류량은 5.0 mg 이하이어야 한다.		(✓) ( ) ( )
	3) 자외선흡수능시험 농축산균액분부 고시 제2015-07호, 동물용의약품 기준규격, 용출물 시험법 (자외선흡수능시험 시험 항목)에 따라 시험할 때, 피광 (250 ~ 320 nm) 구간에서 시험할 때, 최대흡광도는 0.1 이하이어야 한다.		(✓) ( ) ( )
	4) 중금속 농축산균액분부 고시 제2015-07호, 동물용의약품 기준규격, 용출물 시험법 (중금속 시험 항목)에 따라 시험할 때, 기준에 적합하여야 한다.		(✓) ( ) ( )
<b>용출물 시험 (농축산균액분부 고시 제2015-07호, 동물용의약품 기준규격) (시험법: 동물용의약품)</b>			
2	1) 과망간산칼륨환원성물질 농축산균액분부 고시 제2015-07호, 동물용의약품 기준규격, 용출물 시험법 (과망간산칼륨환원성물질 시험 항목)에 따라 시험할 때, 과망간산칼륨의 소비량의 차이는 2.0 mL 이하이어야 한다.	[첨부 2] 참조	(✓) ( ) ( )
	2) 중금속 농축산균액분부 고시 제2015-07호, 동물용의약품 기준규격, 용출물 시험법 (중금속 시험 항목)에 따라 시험할 때, 잔류량은 5.0 mg 이하이어야 한다.		(✓) ( ) ( )
	3) 자외선흡수능시험 농축산균액분부 고시 제2015-07호, 동물용의약품 기준규격, 용출물 시험법 (자외선흡수능시험 시험 항목)에 따라 시험할 때, 피광 (250 ~ 320 nm) 구간에서 시험할 때, 최대흡광도는 0.1 이하이어야 한다.		(✓) ( ) ( )
	4) 중금속 농축산균액분부 고시 제2015-07호, 동물용의약품 기준규격, 용출물 시험법 (중금속 시험 항목)에 따라 시험할 때, 기준에 적합하여야 한다.		(✓) ( ) ( )



과목명 (번호)	시험·검사 항목 및 기준	시험·검사 결과 및 비고	판정 P F N/A
<b>용출물 시험 (농축산균액분부 고시 제2015-07호, 동물용의약품 기준규격) (시험법: CHO 전분)</b>			
3	1) 과망간산칼륨환원성물질 농축산균액분부 고시 제2015-07호, 동물용의약품 기준규격, 용출물 시험법 (과망간산칼륨환원성물질 시험 항목)에 따라 시험할 때, 과망간산칼륨의 소비량의 차이는 2.0 mL 이하이어야 한다.	[첨부 3] 참조	(✓) ( ) ( )
	2) 중금속 농축산균액분부 고시 제2015-07호, 동물용의약품 기준규격, 용출물 시험법 (중금속 시험 항목)에 따라 시험할 때, 잔류량은 5.0 mg 이하이어야 한다.		(✓) ( ) ( )
	3) 자외선흡수능시험 농축산균액분부 고시 제2015-07호, 동물용의약품 기준규격, 용출물 시험법 (자외선흡수능시험 시험 항목)에 따라 시험할 때, 피광 (250 ~ 320 nm) 구간에서 시험할 때, 최대흡광도는 0.1 이하이어야 한다.		(✓) ( ) ( )
	4) 중금속 농축산균액분부 고시 제2015-07호, 동물용의약품 기준규격, 용출물 시험법 (중금속 시험 항목)에 따라 시험할 때, 기준에 적합하여야 한다.		(✓) ( ) ( )
<b>※ 참고사항</b>			
1. 접수일자 : 2017.08.03. 2. 시험장소 : 한국산업기술시험원 3. 시험일자 : 2017.08.03. ~ 2017.08.24. 4. 유효수명 : 0.2 g/mL, (37 ± 1) °C, (12 ± 2) h.			

그림 45. 용출물시험 공인성적서

⑥ 인장강도 시험

- 시험기준 : 다음과 같이 시험할 때 손상되어서는 안 됨
- 시험방법 : 정액 투여 관 각 연결 부위를 세로 방향으로 15N 이상의 시험 가하여 15초 동안 잡아당김

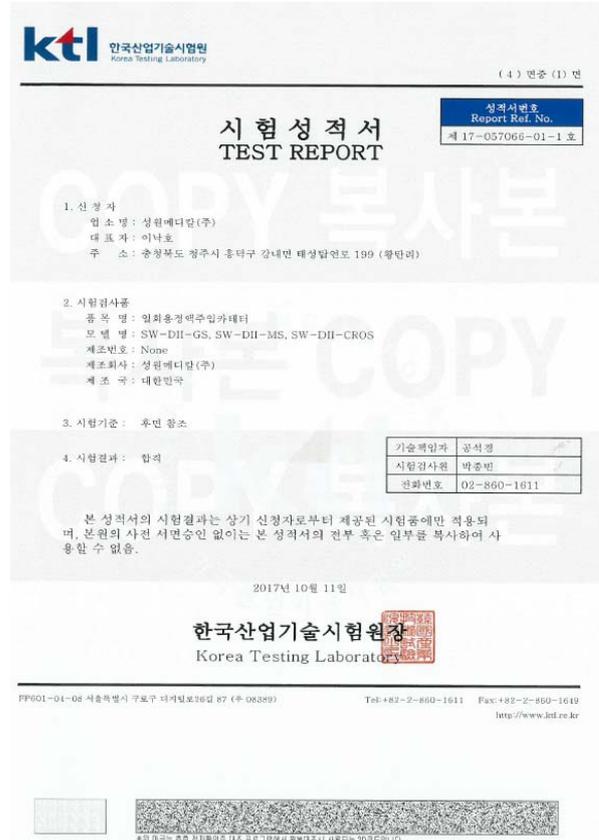


그림 46. 인장강도 시험성적서(합격)

마. 제조공정 확립

- ① 원자재 구매 및 검사 : 안정성 확보, 원자재(원료) 구입 및 자재검사 기준에 따라 입고 검사 실시
- ② 사출 : 부품 사출 및 성형 가공
- ③ 세척 : 초음파 세척으로 각종 이물질을 제거
- ④ 조립 : 각 사출물의 연결부위를 조립
- ⑤ 품질검사 : 정해진 규격 및 치수 만족 여부를 검사
- ⑥ 마킹 : 제품 표면에 모델명 및 제작사 로고를 새김
- ⑦ 최종품질검사 : 최종품질검사 실시 및 외관상대 검사
- ⑧ 포장 : 플라스틱 비닐 및 종이박스로 포장 후 표시사항을 기재
- ⑨ 출하 : 생산기록과 시험기록을 점검하여 합격제품만을 출고



그림 47. 제조공정 프로세스

바. 동물의료기기 제조업/품목허가 완료

허가번호 제 161 호

**동물용의료기기 제조업 허가(신고)증**

- 업종 : 동물용의료기기 제조업
- 업소명 : 성원메디칼(주)
- 소재지 (본사) : 충북 청주시 흥덕구 강내면 태성탑연로 199  
(제조소) : 충북 청주시 흥덕구 강내면 태성탑연로 199
- 대표자성명 : 이낙호
- 대표자생년월일 : 1957년01월01일
- 허가조건 :
- 최초허가(신고)연월일 : 2017.10.24

「동물용의약품등 취급규칙」 제 11 조의 규정에 따라 위와 같이 허가(조건부허가, 신고수리)합니다.

2017년 10월 24일

**농림축산검역본부장**

그림 48. 동물의료기기 제조업 허가증

제 161 - 001 호

**동물용의약품등 [■]제조 [ ]수입 품목 허가증**

- 업체명 : 성원메디칼(주)
- 종류 : 동물용의약품등 제조업
- 제품명 : 인공수정용주입기(SW-DII-GS-35 외 10종)[2]
- 구분 : 동물용의료기기
- 허가조건 : \_
- 허가번호 : 제 161 - 001 호
- 최초허가연월일 : 2017.10.24
- 부표 : 별첨

동물용의약품등취급규칙 제 11 조 및 제 16 조 제 4 항 따라 위와 같이 허가(조건부허가)합니다.

2017년 10월 24일

**농림축산검역본부장**

그림 49. 동물의료기기 품목 허가증

사. 완제품의 품질검사 시험기준 및 시험방법

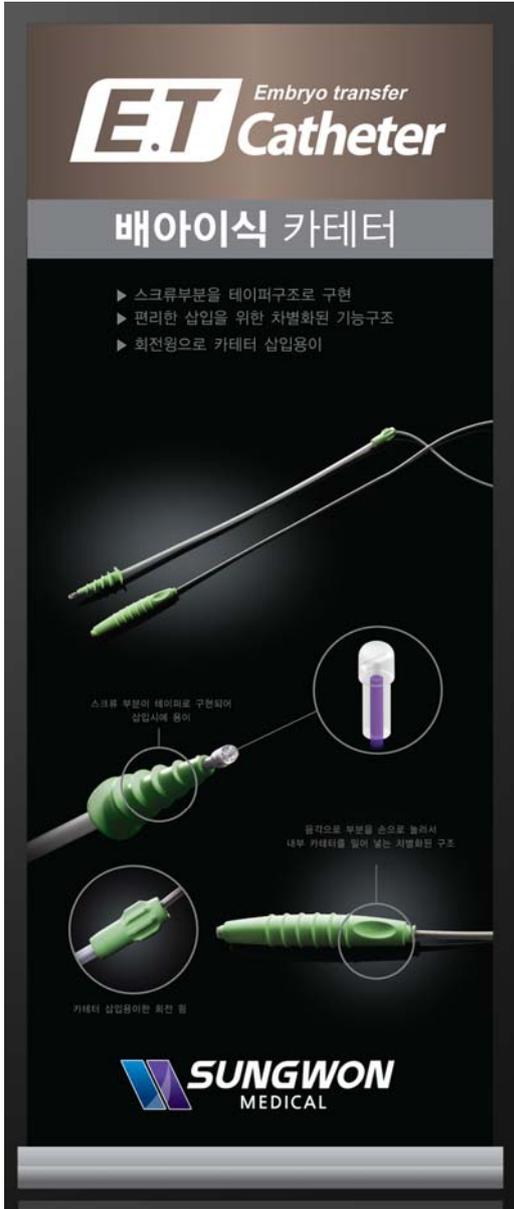
시험 항목		기 준	시 험 방 법	비 고
물리 ·기계적 시험	외관	형상 및 구조부분과 동일하며, 파손 및 흠집 등이 없어야 한다.	육안으로 관찰한다.	수입/공정 검사
	치수	형상 및 구조부분과 동일하여야 함(허용오차 : 기준치± 5%).	버니어 캘리퍼스 및 길이측정용 자로 측정한다.	
용출물 시험	성상	검액은 무색투명하고 이물이 없어야 함.	시험액의 조제 : 적당량의 샘플을 취하여 경질 유리용기에 넣고 그 무게의 10배량의 물을 정확하게 넣고, 고압증기멸균기를 써서 121℃에서 60분간 가열한 다음 경질유리용기를 꺼내어 실온이 될 때까지 방치한 다음 검체를 꺼내고 용액을 시험액으로 한다. 따로 같은 방법으로 공시험 액을 만들고 시험액 및 공 시험액을 가지고 다음의 시험을 한다. 육안으로 관찰한다.	최초허가 로 같음
	ph	두 액의 ph 차는 1.5 이하 이다.	검액과 공시험액 각 20ml씩 취하여 염화칼륨 1.0g을 물에 녹여 1ℓ로 한 액 1ml씩을 넣고 두 액의 ph를 측정한다.	
	중금속	검액이 나타내는 색은 비교 액이 나타내는 색보다 진하지 않다.	검액 10ml를 취하여 대한약전(KP 8) 일반시험법 중금속시험법의 제1법에 따라 시험한다.(비교 액에는 납표준액 2.0ml를 넣는다.)	
	과망간산칼륨 환원성 물질	0.01N 과망간산칼륨 액의 소비량의 차는 1.0ml 이하이다.	검액 20ml를 마개달린 삼각플라스크에 취하고 0.01N과망간산칼륨 20.0ml 및 묽은 황산 1ml를 넣어 3분간 끓여 식힌 다음 요오드화칼륨.010g을 넣어 마개를 하고 흔들어 섞고 10분간 방치한 다음 0.01N 치오황산나트륨액으로 적정한다.(지시약 : 전분지시액 5방울) 따로 공시험액 20.0ml를 써서 같은 방법으로 조작한다.	
	증발잔 유물	잔유물의 양은 1.0mg 이하이다.	시험액 20ml를 수욕 상에서 증발 건조시키고 잔유물을 105℃에서 1시간 건조시킬 때 잔유물의 양을 측정한다.	



자. 사업화 준비

1) 임상시험용 동결정액 심부이식기 사업화

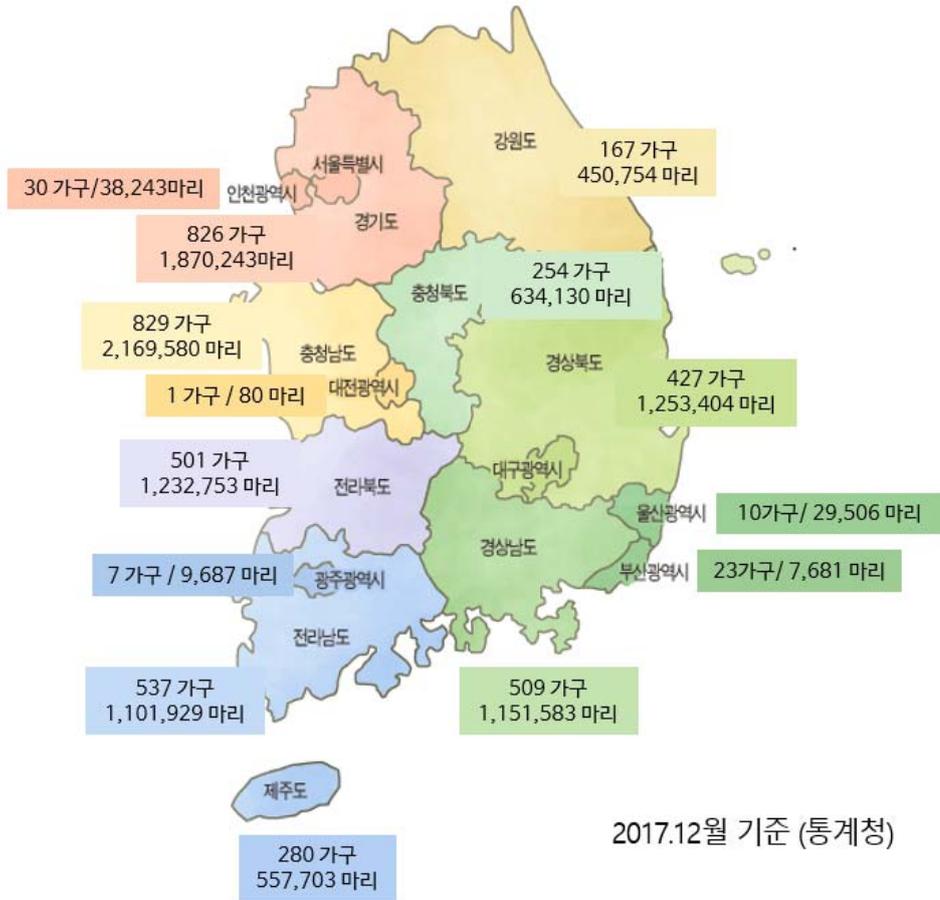
- 홍보물 제작



- 대한수의학회에서 주관하는 춘계/추계 학술대회 참여를 통한 제품 홍보
- 동물병원을 대상으로 Sample 배포
- 국내·외 학회 및 전시회를 참여하여 제품 홍보 및 판매

2) 2세대 인공수정용 심부이식기 사업화

- 경북/전남/경기/충남 지역의 1,000 마리수 이상의 농가를 대상으로 우선 샘플 배포
- 동물의료기자재 유통을 전문적으로 하고 있는 대리점을 우선 접촉하여 개발 제품에 대한 Pre-marketing과 함께 해당 대리점과 협력 예정.



2017.12월 기준 (통계청)

○ 사업화 성과 및 매출실적

- 사업화 성과

항목	세부항목			성 과	
사업화 성과	매출액	개발제품	개발후 현재까지	0.1억원	
			향후 3년간 매출	3 억원	
		관련제품	개발후 현재까지	억원	
			향후 3년간 매출	3 억원	
	시장 점유율	개발제품	개발후 현재까지	국내 : 0 % 국외 : 0 %	
			향후 3년간 매출	국내 : 10 % 국외 : 10 %	
		관련제품	개발후 현재까지	국내 : 0 % 국외 : 0 %	
			향후 3년간 매출	국내 : 5 % 국외 : 7 %	
	세계시장 경쟁력 순위	현재 제품 세계시장 경쟁력 순위			15 위
		3년 후 제품 세계 시장경쟁력 순위			10 위

- 사업화 계획 및 매출실적

항 목	세부 항목		성 과		
사업화 계획	사업화 소요기간(년)		1		
	소요예산(백만원)		200		
	예상 매출규모 (억원)		현재까지	3년후	5년후
			0	1.5	5
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년후	5년후
		국내	0	10	40
		국외	0	10	15
향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획		개발된 동결정액주입기에 활용된 기술을 바탕으로 돼지 이외의 말, 양, 소 등과 같은 가축에 활용될 수 있는 인공수정기를 개발할 계획임.			
무역 수지 개선 효과	(단위: 억원)		현재	3년후	5년후
	수입대체(내수)		0	1.5	5
	수 출		0	3	10

### 제3절 심부이식기 시제품 *in vivo* 평가

#### 1. 원정액 채취

- 본 농장에서는 우수한 형질을 지닌 웅돈의 정액을 채취하여 정제 과정을 거친 후, 카테터를 이용한 인공수정에 사용하고 있음
- 의빈대를 사용하여 웅돈의 정액을 직접 채취함



그림 50. 의빈대를 이용해 정액을 채취하는 모습

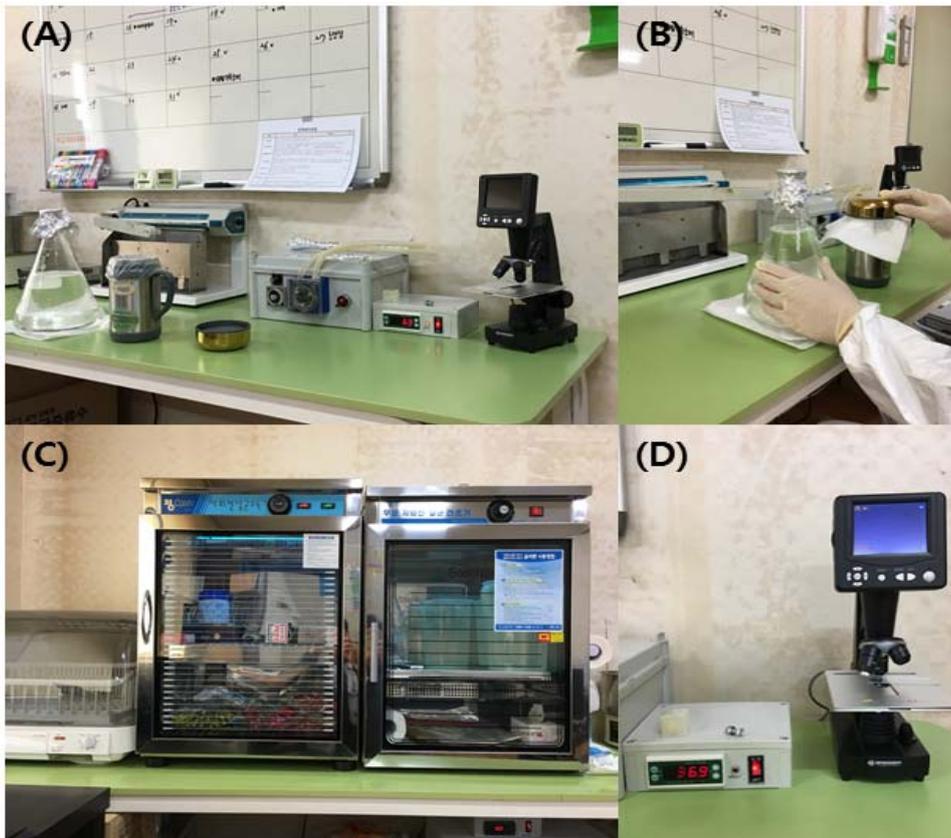


그림 51. 원정액 채취 후 정제 및 운동성 평가. (A) 원정액을 정제하는 실험대, (B) 삼각플라스크로 희석액을 만드는 모습, (C) 원정액 정제 시 필요한 실험도구들을 살균하는 살균기, (D) 정자의 운동성을 측정하는 현미경

▶ 원정액을 채취한 이후에는 정액량을 늘리고, 정자의 생존시간을 연장시키기 위해 희석액을 만들어 원정액에 섞어줌

▶ 액상정액 제조법은 다음과 같음

- ① 준비단계 : 항온수조 예열 및 정액 채취 기구 준비
- ② 희석액 제조 : 삼각플라스크에 마그네틱바를 넣고 멸균증류수를 계량하여 넣어준 후, glucose 같은 영양물질과 pH, 삼투압을 조절할 수 있는 물질, 항생제 등을 넣어 교반기 위에서 섞어준다.
- ③ 정액 채취병 준비 : 채취병 내에 비닐을 깔아두고, 거름종이를 병 위에 걸쳐 고무줄로 묶어준다. 의빈대를 이용해 승가를 유도한 후, 채취된 정액은 아이스박스에 보관한다.
- ④ 정액 1차 희석 : 원정액과 같은 온도의 희석액을 1:1로 서서히 희석. 1차 희석액을 넣어준 후 약 10-15분간 처리한다. 남은 희석액은 실온에 유지한다. 마이크로피펫을 이용해 희석된 정액을 슬라이드 글라스 위에 올리고, 현미경으로 정자의 운동성을 관찰한다.
- ⑤ 정액 2차 희석 : 1차 희석한 정액을 비커에 옮겨 담고 남은 희석액을 1:1 비율로 넣어주어 한 번 더 희석한다.
- ⑥ 정액팩 주입 : 희석된 정액은 정자의 운동성을 평가한 후, 팩에 분주한다.
- ⑦ 정액보관고 보관 : 실온에 잠시 놓아둔 후, 17도로 유지되는 보관고에 보관한다.

## 2. 심부이식기 *in vivo* 평가



그림 52. 심부이식기를 사용한 *in vivo* 기능평가. (A) 모돈에 심부이식기 삽입, (B-E) 액상정액 주입, (F) 심부이식기 회수

▶ 옹돈으로부터 정액을 채취한 후, 본 과제에서 개발된 심부이식기 시제품을 직접 사용하여 *in vivo* 기능평가를 실시하였음

- ▶ 양돈장 현장에서의 심부이식기를 사용한 *in vivo* 기능평가 방법은 다음과 같음
- ① 활성화가 완료된 액상정액, 발정동기화가 완료된 모돈, 심부이식기, 윤활액을 준비한다.
  - ② 심부이식기 헤드와 개구부에 윤활액을 충분히 바른다.
  - ③ 모돈의 질 내부에 심부이식기를 삽입한다.
  - ④ 개구부가 자궁경 말단에 도달하였을 때, 이식관 날개를 시계방향으로 회전시켜 자궁경부를 물리적으로 개방시켜준다.
  - ⑤ 자궁경부가 개방되면 이식관 삽입을 멈추고 카테터 주입 손잡이를 사용해 카테터 헤드를 전진시킨다.
  - ⑥ 정액 주입구가 자궁각 상단에 도달하면 이식 손잡이를 이식관 말단에 체결해 고정시킨다.
  - ⑦ 활성화된 액상정액을 주입구를 통해 자궁각 내로 권장량 넣어준다.
  - ⑧ 정액 주입이 완료되면 역순으로 카테터를 당겨 최하단에 위치시킨다.
  - ⑨ 이식관 날개를 시계 반대방향으로 회전시켜 개방된 자궁경부를 닫는다.
  - ⑩ 모돈으로부터 심부이식기를 회수한다.

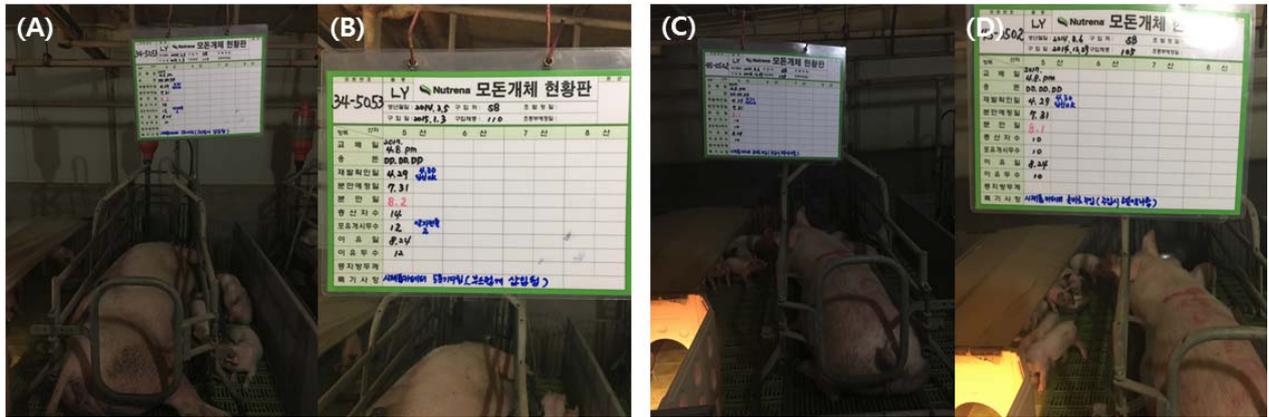


그림 53. 심부이식기를 사용하여 태어난 자돈. (A-B) 심부이식기로 액상정액을 5분간 주입했을 때 태어난 자돈들, (C-D) 심부이식기로 액상정액 주입이 끝난 후 바로 회수했을 때 태어난 자돈들.



그림 54. 심부이식기를 사용해 태어난 이유자돈의 관리

- ▶ 심부이식기 기능평가 후, 약 95일 쯤에 2두의 모돈에서 각각 14두, 10두의 자돈을 획득하였음
- ▶ 2006년 국내 기준, 인공수정에 의한 평균 산자수가 10.8두 인 것을 감안해 보았을 때 본 연구팀의 동결정액 심부이식기를 사용한 산자수 생산 성적은 평균산자수를 넘는 긍정적인 결과임
- ▶ 이를 바탕으로 더 많은 수의 모돈에 심부이식기를 사용한다면 인공수정 효율이 좀 더 높아질 것으로 기대됨
- ▶ 다만 모돈 1마리(10두 산자 생산 모돈의 경우)에서는 심부이식기를 삽입하였을 때 약간의 혈액이 나온 것으로 관찰됐지만, 동결정액 심부이식기를 삽입 시, 가능한 한 자궁경관 추벽 깊숙이 삽입되게 하되 무리하지 않고 좀 더 부드럽게 주입하는 노하우에 대한 현장의 사양가 대상 교육이 필요함

## 제 4장 목표달성도 및 관련분야 기여도

			코드번호	D-06
구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
1차 년도 (2016)	<제1세부> 양돈 생산성 확대를 위한 동결정액 심부이식기 개발	동결정액 제조	100	- 원정액을 사용한 동결정액 제조
		동결정액 심부이식기 초기 디자인 제작 및 주요부품 안정성 평가	100	- 기존 이식기의 문제점을 개선한 초기 디자인 제작 - 이식기 내관 세포 독성 및 <i>ex vivo</i> 평가
		동결정액 심부이식기 사용 효율 증진을 위한 항산화 물질 처리 및 체외 배아 발달을 평가	100	- 체외 배양 과정에서 LPA 처리 후 착상 전 배아 발달을 평가
	<제2세부> 동결정액 심부이식기 제작기술 개발 및 상품화	심부이식기 설계	100	- 심부이식기 주입헤드 제작 - 심부이식기 자궁경 개구부 제작
		심부이식기 제작을 위한 금형 설계 및 제작	100	- 고무 금형 제작 - 사출 금형 제작
	<제1협동> 동결정액 심부이식기 기능평가 및 최적화를 위한 모돈관리 시스템 개발	우수한 형질의 청정 모돈 선별	100	- 질병 없는 우수한 모돈의 균일한 공급을 위한 모돈 관리기법 연구
관리환경 규격화 및 체계정비		100	- 실험 모돈의 균일한 공급을 위한 사양환경 개선	
2차 년도 (2017)	<제1세부> 양돈 생산성 확대를 위한 동결정액 심부이식기 개발	<i>Ex vivo</i> 모델 개발과 이를 활용한 동결정액 심부이식기 기능평가	100	- <i>Ex vivo</i> 모델을 활용한 심부이식 기 기능평가 - <i>In vitro</i> fertilization과 <i>ex vivo</i> fertilization의 수정률 및 발달을 비교 분석
		효율적인 미성숙난자의 체외 성숙 기전 연구	100	- 체외성숙 실험 시, Zeaxanthin 및 GDF8을 첨가하여 체외성숙률 및 발달을 평가
	<제2세부> 동결정액 심부이식기 제작기술 개발 및 상품화	동결정액 심부이식기 (CBSII®) 시제품 테스트	100	- 동결정액 심부이식기의 스크류를 개선하여 시제품 평가
		2세대 동결정액주입기 설계 및 제작	100	- 정액 분출 압력을 높여주는 head 디자인 개선 및 삽입에 용이한 주입구 디자인 개선
	<제1협동> 동결정액 심부이식기 기능평가 및 최적화를 위한 모돈관리 시스템 개발	원정액 채취 및 가공	100	- 옹돈의 정액 채취 및 가공
동결정액 심부이식기 <i>in vivo</i> 기능평가		100	- 농장에서 직접 가공한 정액을 사용한 동결정액 심부이식기 <i>in vivo</i> 기능평가 - 동결정액 심부이식기로 인공수정 한 후에 태어난 자돈의 관리	

## 제5장 연구결과의 활용계획

		정량지표										정성지표							
성과 목표		지식 재산권			기술 실시 (이전)	사업화					기술 인증	학술성과		교육 지도	인력 양성	정책 활용· 홍보		기타 (타 연구 활용 등)	
		특허 출원	특허 등록	품종 등록		제품 화	매출 액	수출 액	고용 창출	투자 유치		논문				학술 발표	정 책 활 용		홍 보 전 시
												SCI	비 SCI						
최종 목표		3	1		2				2			3	14		1				
1 차 년 도	목 표	1										1	5						
	실 적	1			4							1	5		1				
2 차 년 도	목 표	2	1		2				2			2	9		1				
	실 적	2	1		4				2			2	9		1				
소 계	목 표	3	1		2				2			3	14		1				
	실 적	3	1		8				2			3	14		2				
종료 1차 년도		1	1						3			1	5		1				
종료 2차 년도																			
소 계																			
합 계		4	2		8				5			4	19		3				

## 제6장 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보

코드번호

D-08

### 제 1절 독일 MINITÜB GmbH사의 동결정액 상용화 시스템



Minitube is the world-wide leading supplier of systems for the field of assisted animal reproduction.

With our expansive range of products and services for artificial insemination, embryo transfer and associated biotechniques, we are able to effectively support our customers working in animal breeding, veterinary medicine and research around the globe.

Our team of specialists are continually working for the further advancement and development of reproductive technologies.

#### CONTACT

- ✉ Send us a message
- ☎ +49 8709 92290
- 📍 Minitube offices worldwide

#### Product selection



> All products

<https://www.minitube.com/en/>



minitube

ABOUT US PRODUCTS NEWS EVENTS MEDIA LIBRARY

Language Watch list



Home > Products > Semen Freezing

## Semen Freezing



Semen of nearly all species can be successfully frozen in semen straws for extended storage and preservation. Minitube offers a complete line of products including semen straws, automatic, semi-automatic and manual straw filling and sealing machines, straw printers, cooling cabinets, semen freezers, liquid nitrogen storage containers and all necessary accessories and consumables.

For information regarding freezing extenders, please refer to the respective species section.

- > Semen Straws
- > Straw Fillers, Sealers and Printers
- > Cold Handling Cabinets
- > Freezing Systems
- > Cryo Storage
- > Equipment for ET Lab

### CONTACT

- Send us a message
- +49 8709 92290
- Minitube International



Successful re-certification: audit confirms GMP norms for Minitub's extender production facility

[> Read more](#)

### Downloads

- AndroVision® - More than CASA (3.7 MB)**



그림 . Minitube 사의 technical report

- ▶ 독일의 minitube 사는 DeepBlue AI catheter 라는 심부이식기를 제작해 동결정액 상용화를 가속시켰음
- ▶ 또한 동결정액 제조 과정에 필요한 모든 제품들을 판매하고 있으며, 관련 학회지에도 학술 결과를 정리하여 꾸준히 투고하고 있음

## 제2절 중국의 세계 양돈 산업 엑스포 개최

그림 . 중국 국제 축산업 엑스포 (China International Animal Husbandry Expo, CAHE) 홈페이지

<http://www.caaa.com.cn/2018/en/>

- ▶ 중국의 양돈산업은 중국 농업의 우위산업으로, 중국의 돼지고기 생산량은 해마다 증가하고 있음. 또한 돼지고기 수출 측면에서 중국은 지리적인 장점을 가지고 있을 뿐만 아니라 중국 정부의 전폭적인 지원에 힘입어 매우 큰 수출 잠재력을 가지고 있음
- ▶ 이에 China International Animal Husbandry Expo (CAHE), Lemam China Swine Conference 등과 같은 국제 양돈 산업 엑스포를 개최하여 매년 국제 축산업계의 연구동향 및 관련 정보를 전세계 축산업계 관련자들과 공유하고 중국 축산업의 전망을 제시하고 있음



## COLLEGE OF VETERINARY MEDICINE

Current Students >

About ▾ Education ▾ Research ▾ Centers & Programs ▾ Departments ▾ Alumni ▾ Donors ▾ News & Events ▾ Give

Home > News & Events > Leman China Swine Conference

# Leman China Swine Conference

### < News & Events

Program

Past Conferences

Speakers

Exhibition

Registration & Important Deadlines

Poster Session

Sponsorship

Hotel and Travel

Contact

Friday, October 19, 2018 - Sunday, October 21, 2018

Zhengzhou International Convention and Exhibition Centre – Zhengzhou, China

[进入会议中文网站](#) 了解更多信息

Visit our [Chinese Website](#) for More Information

### Allen D. Leman Swine Conference

The University of Minnesota [Allen D. Leman](#) Swine Conference is the world's largest annual educational event for the global swine industry, with a 27-year history. It is internationally acclaimed for bringing science-driven solutions to the complex challenges facing the industry.

### 关于李曼养猪大会

美国明尼苏达大学李曼养猪大会 (Allen D. Leman Swine Conference) 有27年历史, 是世界上规模最大的以教育和推广为主, 每年一度的养猪行业高端会议。李曼养猪大会是国际公认的为养猪行业面临的复杂挑战提供科学解决方案的盛会。

그림 . Leman China Swine Conference 홈페이지

<https://www.vetmed.umn.edu/news-events/leman-china-swine-conference>

## 제7장 연구개발결과의 보안등급

		코드번호	D-09
보안등급 분류	보안	일반	
		√	
결정 사유	국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제24조의4에 해당하지 않음		

## 제8장 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

구입 기관	연구시설/ 연구장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	코드번호		D-10	
					구입 가격 (천원)	구입처 (전화번호)	비고 (설치 장소)	NTIS장비 등록번호
해당사항 없음								

# 제9장 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적

## ■ 연구실 안전조치 이행계획

### ○ 기술적 위험요소 분석

- 연구실 안전조치 이행계획
- 실험실 안전 점검 체계

※ 위험등급별로 환경안전점검을 단계별로 체계화하여 관리

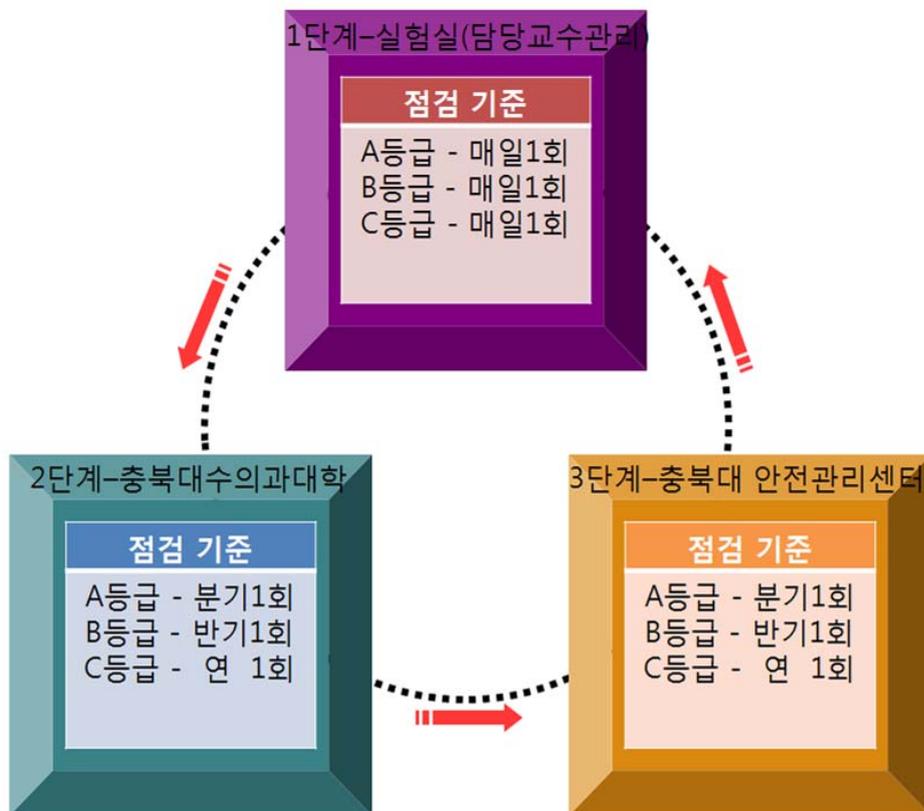
※ 관리위험등급의 지정

- A등급 : 가연성가스, 인화성 시약, 유해화학물질, 다량의 폐액배출, 독극물, 생물 및 동물,

방사성 동위원소, 위험성이 높은 기계장비가 설치된 실험실

- B 등급 : 일반시약, 소규모 인화성 시약, 불연성가스, 소량의 폐수발생실험실
- C 등급 : 이화학실험을 수행하지 않는 전기, 설계, 컴퓨터 관련 실험실

### ○ 안전관리대책



### - 실험실 안전진단 실시

- 실시 : 충북대학교 연구실 안전관리 센터의 정기 점검을 통하여 매년 1회 실시

## 1. 교육 훈련

- 1) 개요 : 실험실의 안전을 확보하고 종사자의 건강을 보호하여 실험 및 연구활동에 기여하고, 또한 연구실 안전환경조성을 위하여 실험실에 포함된 담당교수 이하 학부생, 대학원생 및 연구 보조원 전원이 환경안전교육을 의무적으로 수강함
- 2) 교육대상 : 교수, 대학원생, 실험조교, 소속연구원, 실험참여 학부생 등
- 3) 단계별 교육 이수과정 :
  - 1단계 : 연구활동종사자 공통안전교육
  - 2단계 : 연구실 안전관리팀 주관 연구실 안전환경관리 특별교육
- 4) 교육구분
  - 정기교육 : 모든 연구활동 종사자는 반기별 6시간 이상 안전관리 정기교육 실시
  - 비정기 임시교육 :
    - o 대상 : 신규채용 및 교육 미 이수자(신입 학부생/대학원생, 연구원, 유해물질 취급자 등)
    - o 방법 : 대학 연구실 안전관리팀 홈페이지를 통한 사이버 교육 실시 (<http://safe.chungbuk.ac.kr/>), 자료/유인물, 외부강사, 전문교육기관의뢰 등 8시간 이상 안전교육 실시
  - 특별교육: 충북대 연구실 안전관리팀에서 자체 또는 외부의 전문기관에 의뢰하여 위탁교육 실시

## 2. 보험 가입 현황

보험명	보상내용(한도)	대상	주관부서
건물 및 물품* 보험	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ 건물</li> <li>- 화재(벼락), 폭발, 붕괴, 태풍, 홍수, 호우, 강풍, 풍랑, 해일, 대설 그 밖에 이와 유사한 사고로 인한 피해</li> <li>▶ 신체손해</li> <li>- 공제가입한 교육연구시설의 화재(벼락), 폭발, 붕괴, 태풍, 홍수, 호우, 강풍, 풍랑, 해일, 대설로 인한 신체손해</li> <li>- 사망/후유장애 : 호프만계수에 의해 산출한 실손해액 지급</li> <li>- 부상 : 치료실비</li> </ul>	건물 및 신체손해 대상자	경리과
학교경영자배상 책임보험	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ 신입생 상해손해 : 1인당 사망·후유장애 1억/의료비 5백만원 (보험기간 관계없이 O/T 기간내 보상)</li> <li>▶ 대인배상 : 1인당 1억/1사고당 30억(자기부담금100,000원)</li> <li>▶ 대물배상 : 1사고당 3천만원(자기부담금100,000원)</li> <li>▶ 구내외 치료비 : 1인당 5백만원/1사고당 5백만원(자기부담금 없음)</li> </ul>	신입생 및 재학생	학생처
교직원 단체보험	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ 생명/상해 보장보험 : 1인당 5천만원</li> <li>▶ 의료비 보장보험 : 1인당 1천만원</li> </ul>	교직원 (공무원 및 기성회직)	총무과
연구실 안전공제 보험	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ 사망/후유장애 : 1인당 1억원</li> <li>▶ 상해 : 1인당 1천만원</li> </ul>	연구활동종사자	연구실 안전관리팀

## 3. 기타 안전관리 사항

구분	내용	비고
1) 연구실 안전관리규정	충북대학교 연구실 안전관리규정 비치	연구실 안전관리 시스템

		( <a href="http://safe.chungbuk.ac.kr">http://safe.chungbuk.ac.kr</a> )
2) 화학약품 관리	연구실별 보유 화학약품 등록 및 폐기 관리	연구실 안전관리시스템 ( <a href="http://safe.chungbuk.ac.kr">http://safe.chungbuk.ac.kr</a> )
3) MSDS 관리	연구실별 보유 화학약품의 MSDS 비치	연구실 안전관리시스템 ( <a href="http://safe.chungbuk.ac.kr">http://safe.chungbuk.ac.kr</a> )
4) 실험폐기물 관리	실험폐기물처리 준수사항 이행 및 위탁 처리 관리	연구실 안전관리시스템 ( <a href="http://safe.chungbuk.ac.kr">http://safe.chungbuk.ac.kr</a> )
5) 안전시설 점검 및 보수	비상샤워기, 세안기 등 작동 점검 및 보수	연구실 안전관리팀
6) 연구실험실 배치도 관리	주요 연구실험실 배치도 작성 관리	연구실 안전관리팀
7) 연구실험실 유해물질 관리	유해물질농도 측정	연구실 안전관리팀
8) 연구실험실 환기 등 연구환경 개선	연구실험실 환기 등 연구환경 개선공사 시행	
9) 특수위험 실험실에 별도의 소화설비 설치	위험성이 큰 실험실에 별도의 특수소화 설비를 설치하여 사고 확산을 예방	
10) 유기용매 보관시설 설치 등 및 액체질소 통합관리	1. 보관창고를 설치하여 통합관리 2. 액체질소를 통합관리	
11) 연구실험실 안전관리수칙 작성	연구실험실 안전수칙 보완 설치	
12) 가스 안전관리	고압가스용기 설치시 가스누설경보기, 전도방지장치 등 가스안전시설 설치	
13) 안전보호장비 시설 보완	안전보호장비와 안전표지 설치	
14) 개인보호구 지급	개인보호구 지급	
15) 연구실험실 출입자 관리	연구실험실별 출입자 관리	
16) 기타	기타 안전관리사항	

## 제10장 연구개발과제의 대표적 연구실적

구분 번호 (논문 /특허 /기타)	논문명/특허명/기타	소속 기관명	역할	논문게재지/ 특허등록국가	코드번호		D-12		
					Impact Factor	논문게재일 /특허등록일	사사여부 (단독사사 또는 중복사사)	특기사항 (SCI여부 /인용횟수 등)	
1	논문	Absence of nucleolus formation in raccoon dog-porcine interspecies somatic cell nuclear transfer embryos results in embryonic developmental failure	충북대학교	교신 저자	Journal of reproduction and development	1.453	2016.08.25	중복사사	SCI
2	논문	Apoptosis in Porcine Pluripotent Cells: From ICM to iPSCs	충북대학교	교신 저자	International Journal of Molecular Sciences	3.257	2017.09.12	중복사사	SCI
3	논문	GDF8 activates p38 MAPK signaling during porcine oocyte maturation in vitro	충북대학교	교신 저자	Theriogenology	1.986	2017.10.01	중복사사	SCI
4	논문	Carboxyethylgerm-anium sesquioxide (Ge-132) treatment during in vitro culture protects fertilized porcine embryos against oxidative stress induced apoptosis	충북대학교	교신 저자	Journal of reproduction and development	1.424	2017.12.15	중복사사	SCI
5	특허	유기 게르마늄을 함유한 카테터 및 이의 제조방법	충북대학교	등록인	대한민국	-	2017.08.30	단독사사	등록 특허

## 제11장 기타사항

코드번호	D-13
해당사항 없음	

## 제12장 참고문헌

	코드번호	D-14
1. Clift MJ, Gehr P, Rothen-Rutishauser B (2011). Nanotoxicology: a perspective and discussion of whether or not in vitro testing is a valid alternative. <i>Archives of toxicology</i> <b>85</b> : 723-731.		
2. Dittrich R, Maltaris T, Müller A, Dragonas C, Scalera F, Beckmann M (2003). The extracorporeal perfusion of swine uterus as an experimental model: the effect of oxytocic drugs. <i>Hormone and metabolic research</i> <b>35</b> : 517-522.		
3. Dusinska M, Runden-Pran E, Carreira SC, Saunders M (2012). Critical evaluation of toxicity tests. <i>Adverse Effects of Engineered Nanomaterials</i> . Elsevier. pp 63-83.		
4. Ferraz MA, Henning HH, Stout TA, Vos PL, Gadella BM (2017). Designing 3-dimensional in vitro oviduct culture systems to study mammalian fertilization and embryo production. <i>Annals of biomedical engineering</i> <b>45</b> : 1731-1744.		
5. Geisler K, Künzel J, Grundtner P, Müller A, Beckmann MW, Dittrich R (2012). The perfused swine uterus model: long-term perfusion. <i>Reproductive Biology and Endocrinology</i> <b>10</b> : 110.		
6. Levanon K, Ng V, Piao H-Y, Zhang Y, Chang MC, Roh MH <i>et al</i> (2010). Primary ex vivo cultures of human fallopian tube epithelium as a model for serous ovarian carcinogenesis. <i>Oncogene</i> <b>29</b> : 1103.		
7. Martinez C, Nohalez A, Parrilla I, Vazquez J, Roca J, Cuello C <i>et al</i> (2017). Surgical embryo collection but not nonsurgical embryo transfer compromises postintervention prolificacy in sows. <i>Theriogenology</i> <b>87</b> : 316-320.		
8. Martinez EA, Angel MA, Cuello C, Sanchez-Osorio J, Gomis J, Parrilla I <i>et al</i> (2014). Successful non-surgical deep uterine transfer of porcine morulae after 24 hour culture in a chemically defined medium. <i>PloS one</i> <b>9</b> : e104696.		
9. Martinez EA, Martinez CA, Nohalez A, Sanchez-Osorio J, Vazquez JM, Roca J <i>et al</i> (2015). Nonsurgical deep uterine transfer of vitrified, in vivo-derived, porcine embryos is as effective as the default surgical approach. <i>Scientific reports</i> <b>5</b> : 10587.		
10. Mueller A, Maltaris T, Siemer J, Binder H, Hoffmann I, Beckmann MW <i>et al</i> (2006). Uterine contractility in response to different prostaglandins: results from extracorporeally perfused non-pregnant swine uteri. <i>Human reproduction</i> <b>21</b> : 2000-2005.		
11. 전형진 외, 2012, 중국 축산업의 성장 특성 및 지역화정책 연구. 페이지 12-33, 대외경제 정책연구원.		
12. 전나경, 2013, 중국 양돈산업 동향과 전망. 페이지 1-19, 한국농촌경제연구원.		

<별첨작성 양식>

[별첨 1]

## 연구개발보고서 초록

과 제 명	(국문) 동결정액 상용화를 위한 심부이식기 개발				
	(영문) Development of the deep intrauterine inseminator for the commercialization of cryopreserved semen				
주관연구기관	충북대학교		주 관 연 구 채 임 자	(소속) 충북대학교	
참 여 기 업	성원메디칼(주), 송백농장			(성명) 현상환	
총연구개발비 (762,000천원)	계	762,000	총 연 구 기 간	2015. 12. 28. ~ 2017. 12. 27. (2년)	
	정부출연 연구개발비	560,000		총 인 원	42
	기업부담금	202,000	총 참 여 연 구 원 수	내부인원	42
	연구기관부담금	0		외부인원	0
<b>○ 연구개발 목표 및 성과</b>					
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. <i>Ex vivo</i> 모델 개발과 이를 활용한 동결정액 심부이식기 기능평가</li> <li>2. 효율적인 미성숙난자의 체외 성숙 기전 연구</li> <li>3. 동결정액 심부이식기 (CBSII<sup>®</sup>) 시제품 테스트</li> <li>4. 2세대 동결정액주입기 설계 및 제작, 동물의료기기 제조업 허가증 및 품목허가증 획득</li> <li>5. 원정액 채취 및 가공</li> <li>6. 동결정액 심부이식기 <i>in vivo</i> 기능평가</li> </ol>					
<b>○ 연구성과 활용실적 및 계획</b>					
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 체외에서도 심부이식 기능평가가 가능한 <i>ex vivo</i> 모델을 개발함</li> <li>2. 체외배아생산에 있어서, 미성숙난자를 효율적으로 성숙시킬 수 있는 물질 탐색 및 체외 성숙률과 배아발달율을 향상시킬 수 있는 기전을 연구</li> <li>3. 동결정액 심부이식기의 스크류 및 주입구의 디자인을 개선하여 삽입이 용이하며 단체 친화적인 심부이식기를 설계함</li> <li>4. 농장에서도 쉽게 사용할 수 있는 정액가공법 연구 및 실용화방법 모색</li> <li>5. 농장에서 직접 가공한 정액을 사용한 새로운 동결정액 심부이식기의 <i>in vivo</i> 평가 프로토콜을 개발함</li> <li>6. 동결정액 심부이식기를 사용한 인공수정으로 태어난 자돈 및 모돈 관리 프로세스 구축</li> <li>7. 한국형 동결정액 심부이식기 생산으로, 기술적인 한계에 부딪혀 성장이 정체된 국내 양돈 산업 발달에 기여함</li> </ol>					

[별첨 2]

## 자체평가의견서

### 1. 과제현황

			코드번호	D-15	
			과제번호	115103-02	
사업구분	농식품기술개발사업				
연구분야	-		과제구분	단위	
사업명	첨단생산기술개발사업			(주관)	
총괄과제	동결정액 상용화를 위한 심부이식기 개발		총괄책임자	현상환	
과제명	양돈 생산성 확대를 위한 동결정액 심부이식기 개발		과제유형	(기초)응용,개발)	
연구기관	충북대학교		연구책임자	현상환	
연구기간 연구비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차년도	2015.12.28. ~ 2016.12.27.	280,000	101,000	381,000
	2차년도	2016.12.28. ~ 2017.12.27.	280,000	101,000	381,000
	계	2015.12.28. ~ 2017.12.27.	560,000	202,000	762,000
참여기업	성원메디칼(주), 송백농장				
상대국	-	상대국연구기관	-		

※ 총 연구기간이 5차년도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망

2. 평가일 : 2018.02.01.

3. 평가자(연구책임자) :

소속	직위	성명
충북대학교	교수	현상환

4. 평가자(연구책임자) 확인 :

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

확약	
----	---

## 자체평가의견서

### 1. 과제현황

			코드번호	D-15	
			과제번호	115103-02	
사업구분	농식품기술개발사업				
연구분야	-		과제구분	단위	
사업명	첨단생산기술개발사업			(주관)	
총괄과제	동결정액 상용화를 위한 심부이식기 개발		총괄책임자	현상환	
과제명	양돈 생산성 확대를 위한 동결정액 심부이식기 개발		과제유형	(기초)응용,개발)	
연구기관	충북대학교		연구책임자	현상환	
연구기간 연구비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차년도	2015.12.28. ~ 2016.12.27.	280,000	101,000	381,000
	2차년도	2016.12.28. ~ 2017.12.27.	280,000	101,000	381,000
	계	2015.12.28. ~ 2017.12.27.	560,000	202,000	762,000
참여기업	성원메디칼(주), 송백농장				
상대국	-	상대국연구기관	-		

※ 총 연구기간이 5차년도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망

2. 평가일 : 2018.02.01.

3. 평가자(연구책임자) :

소속	직위	성명
충북대학교	교수	현상환

4. 평가자(연구책임자) 확인 :

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

확약	
----	--

## I. 연구개발실적

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

### 1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : (아주우수), 우수, 보통, 미흡, 불량)

본 연구팀은 기술적 한계에 부딪혀 최근 5년간 생산성이 정체된 국내 양돈 산업의 새로운 성장 동력을 제시할 수 있는 한국형 동결정액 심부이식기를 개발하였음. 이와 더불어, 인공수정 기법 보급 및 양돈 산업의 체질 개선 등 빠른 외부환경에 대응하고자, 생체적합성 소재 개발 및 *in vivo* 환경에 보다 적합한 수정을 평가 분석을 위한 *ex vivo* 모델을 개발하였으며, 이를 활용한 결과, 기존의 자궁경 AI 카테터 대비 자궁경 손상이 덜하며, 체외수정(IVF) 대비, 정상적인 수정율(monospermy rate)이 유의적으로 높았음을 증명함. 시제품으로 개발된 심부이식기의 임상시험돈 시험결과, 2두의 모돈에서 각각 14두, 10두의 산자를 생산하였음. 또한, 이의 제품 상업화를 위하여, 국내에서 최초로 농림축산검역본부로부터 동물의료기기 품목 허가증을 획득하였음

### 2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : (아주우수), 우수, 보통, 미흡, 불량)

기존의 심부이식기들이 가지고 있었던 문제점인 이식기 삽입의 어려움이나, 주입구 삽입 시에 돼지의 자궁경이 손상되거나 파열되는 문제를 해결하기 위해 보완한 본 연구팀의 동결정액 심부이식기는 주입구의 디자인을 1세대 심부이식기보다 더 얇고 곡선처리를 하여 삽입이 용이하도록 제작했음. 따라서, 이는 심부이식기를 주입했을 때 가장 빈번하게 나타나는 돼지의 자궁경 손상 또는 자궁내막염 발생 문제를 최소화하여 인공수정효율을 극대화 시킬 수 있음

선진국 대비 국내의 양돈생산성 파급효과를 고려할시, 정부차원의 전국단위 심부이식기 보급사업이 지원되는 경우, 국내 양돈생산성 증대 및 수익 창출이 기대됨

### 3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : (아주우수), 우수, 보통, 미흡, 불량)

본 연구팀의 동결정액 심부이식기는 체내에서 이식기 기능평가를 하기 전에 도축장에서 공수해 온 미경산돈의 자궁을 가지고 인공수정효율을 평가한 바 있음. 초기 시제품의 경우 이 과정에서 이식기의 헤드가 접혀진 자궁각에 걸리는 문제점이 발생하여, 이를 개선하기 위한 방안에 대해 지속적으로 논의한 결과 2017년에 용도에 따라 주입구 선택이 가능한 '선택형 동결정액 이식기' 라는 특허를 출원하였음. 따라서 본 기술을 활용하면 농장에서도 손쉽게 심부이식기를 사용하여 인공수정을 시도할 수 있고, 인공수정효율을 좀 더 향상시킬 수 있음. 궁극적으로는 동결정액 상용화에 앞서, 동결정액도 활용이 가능한 심부이식기를 개발하였으므로 국내 양돈 생산성 확대에 큰 기여를 할 수 있을 것이라고 사료됨

#### 4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : (아주우수), 우수, 보통, 미흡, 불량)

본 연구를 위해 1세부 및 2세부, 1협동 기관이 정기적 회의를 진행하였고, 양돈장 현장에 세 기관의 연구자들이 모여 직접 동결정액 심부이식기 시제품 기능평가 및 2세대 심부이식기 기능평가를 실시함. 또한 체외에서도 심부이식기 기능평가가 가능한 *ex vivo* 모델을 개발하기 위해, 매주 3회 이상 도축장에서 가져온 자궁을 가지고 직접 기능평가를 실시하여 심부이식기의 문제점 확인 및 이를 개선하기 위한 이식기 디자인을 고안하였으며, *ex vivo* model을 통해 최적의 심부이식조건을 찾기 위한 연구를 지속적으로 수행하였음

#### 5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : (아주우수), 우수, 보통, 미흡, 불량)

본 연구팀은 총 2년간의 연구기간동안 SCI급 논문 4편(JCR 학문분야 상위 20%이내 3편)을 게재하였고, 관련특허 출원 3건 및 등록 1건을 한 바 있으며, 국내외학회에 총 14건의 학술발표를 하였음 또한, 국내최초 동물의료기기 품목 허가를 득하였으며, 이 과정에서 농림축산검역본부에서는 동물의료기기 품목 허가에 관한 절차를 수립하는 계기가 되었음

## II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
생체 친화적인 심부이식기 디자인 고안 및 생산된 심부이식기의 시험관, 조직, 체내 평가 실시	30	100	주입구 디자인 및 정액 분출 튜브의 디자인을 변경하여 삽입이 원활하고 정액 분출량을 늘임
개선사항이 반영된 동결정액 심부이식기 시제품 제작	20	100	금형 보완 및 수정하여 2세대 동결정액 심부이식기 제작
효과적인 기능평가를 위한 균일화된 모든 공급 사양관리 시스템 개발	20	100	모든의 등지방, 체중 측정 등을 이용하여 발정 동기화된 모든들을 체계적으로 관리함
최적의 심부이식조건 개발	30	100	돼지의 자궁을 이용한 <i>ex vivo</i> 모델 개발 및 이를 이용한 수정률 평가와 배 발달을 평가를 실시함
합계	100점	100	모든 세부연구목표를 달성하였음

## III. 종합의견

### 1. 연구개발결과에 대한 종합의견

본 연구는 제1세부, 제2세부, 제1협동 기관이 유기적으로 협력하여 공동연구개발한 바, 국내 최초 품목허가, 심부이식기 개발, *ex vivo* 모델 개발 및 평가 기법 수립을 통해 국내에 도입되지 않은 동결정액 심부이식효율을 향상 시킬 수 있는 기반을 마련하였으며, 선진국 수준의 양돈 생산성 증대를 도모할 수 있는 주요 결과임

### 2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

- ✓ 연구기간이 2년으로 단기간 연구과제였으나, 체계적이고 조직적으로 수행되어 계획 대비 정량치 목표지표를 초과 달성하였음
- ✓ 단기간내 국내 최초 품목허가, 한국형 동결정액 심부이식기 개발 및 관련 선도기술을 개발하게 된 배경 및 일련의 성실한 연구 수행 과정들을 정성적 평가지표로서 높이 평가해주시길 것을 요청함
- ✓ 시제품의 상업화를 위하여 양돈현장에서의 임상시험 확대 연구가 절실하며, 이에 대한 후속연구를 위한 지원 확대가 필요함

### 3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

- ✓ 기술적 측면에서는 동결정액 심부이식기의 산업적 활용이 가능한 표준화를 통해 상품가치를 향상시키고 최적의 생산효과를 이룰 수 있는 동결정액 심부이식 가이드라인을 제시하여 양돈 산업 및 관련 축산분야 활성화와 전체적인 생산성을 향상시킬 수 있을 것임
- ✓ 또한, 동결정액 심부이식기의 국산화를 통하여 세계 양돈산업에서 국가 브랜드 인지도를 높이고, 안정화된 돼지 동결정액 인공수정기술을 기반으로 하는 다양한 파생기술 생산유도효과를 통해 세계 축산업으로의 원천기술 및 파생상품수출 증대에 기여하고자 함

#### IV. 보안성 검토

○ 연구책임자의 보안성 검토의견, 연구기관 자체의 보안성 검토결과를 기재함

※ 보안성이 필요하다고 판단되는 경우 작성함.

1. 연구책임자의 의견

해당사항 없음

2. 연구기관 자체의 검토결과

해당사항 없음

## 연구성과 활용계획서

### 1. 연구과제 개요

사업추진형태	<input checked="" type="checkbox"/> 자유응모과제 <input type="checkbox"/> 지정공모과제	분 야	-	
연구과제명	동결정액 상용화를 위한 심부이식기 개발			
주관연구기관	충북대학교	주관연구책임자	현상환	
연구개발비	정부출연 연구개발비	기업부담금	연구기관부담금	총연구개발비
	560,000	202,000	-	762,000
연구개발기간	2015.12.28. ~ 2017.12.27.			
주요활용유형	<input checked="" type="checkbox"/> 산업체이전 <input checked="" type="checkbox"/> 교육 및 지도 <input type="checkbox"/> 정책자료 <input type="checkbox"/> 기타(                      ) <input type="checkbox"/> 미활용 (사유:                      )			

### 2. 연구목표 대비 결과

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
<p>① 기존 인공수정기 문제점을 개선할 심부이식기 디자인과 안정성 평가</p>	<p><input type="checkbox"/> <i>ex vivo</i> 모델 개발과 이를 활용한 동결정액 심부이식기 기능평가</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>ex vivo</i> 모델을 활용한 심부이식기 기능평가</li> <li>- 체외수정 (IVF) 과 <i>ex vivo</i> fertilization의 수정률 및 발달을 비교 분석</li> <li>■ 단계별 기능평가간 발생되어진 문제점들을 해결하기 위한 디자인 개선 및 특허출원을 통한 지적 재산화</li> <li>■ 2세대 동결정액 심부이식기 개발</li> </ul>
<p>② 제작된 제품의 기능평가 및 최적의 사용 프로토콜 개발</p>	<p><input type="checkbox"/> 동결정액 심부이식기 (CBSII<sup>®</sup>) 시제품 테스트</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 동결정액 심부이식기의 스크류를 개선하여 시제품 평가</li> <li><input type="checkbox"/> 동결정액 심부이식기 <i>in vivo</i> 기능평가</li> <li>- 농장에서 직접 가공한 정액을 사용한 동결정액 심부이식기 <i>in vivo</i> 기능평가</li> <li>- 동결정액 심부이식기로 인공수정한 후에 태어난 자돈의 관리</li> <li>■ 동결정액 심부이식기 활용 프로토콜 구축</li> </ul>
<p>③ 동결정액 심부이식기 상품화</p>	<p><input type="checkbox"/> 동결정액 심부이식기 (CBSII<sup>®</sup>) 시제품생산</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 농장내 공급을 통한 상품 이미지구축 및 효율성 평가실시</li> <li>■ 2세대 동결정액주입기 설계 및 제작</li> <li>- 정액 분출 압력을 높여주는 head 디자인 개선 및 삽입에 용이한 주입구 디자인 개선</li> </ul>

\* 결과에 대한 의견 첨부 가능

### 3. 연구목표 대비 성과

성과 목표	사업화지표										연구기반지표									
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학술성과				교육 지도	인력 양성	정책 활용·홍보		기 타 (타 연 구 활 용 등)
	특 허 출 원	특 허 등 록	품 종 등 록	건 수	기 술 료	제 품 화	매 출 액	수 출 액	고 용 창 출	투 자 유 치		논문		학 술 발 표	정 책 활 용			홍 보 전 시		
												SC I	비 SC I						논 문 평 균 IF	
단위	건	건	건	건	백만원	백만원	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건	명	건	건			
가중치	30	20		20					10				10		10					
최종목표	3	1		2					2			3		14		1				
연구기간내 달성실적	3	1		8					2			3		14		2				
달성율(%)	100	100		100					100			100		100		100				

### 4. 핵심기술

구분	핵심기술명
①	유기 게르마늄을 함유한 카테터 및 이의 제조방법
②	선택형 동결정액 심부이식기
③	나선형 주입헤드를 포함하는 동결정액 심부이식기

### 5. 연구결과별 기술적 수준

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

\* 각 해당란에 v 표시

6. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
①의 기술	체외 및 동결보존으로 인한 동결정액의 산화적 스트레스를 감소시킴으로써 동결정액의 운동성 및 수정효율을 높일 수 있는 항산화 물질이 코팅되어진 항산화 카테터 소재를 활용한 동결정액 심부이식기 생산
②의 기술	기존에 개발되어진 외산 동결정액 심부이식기의 경우 카테터 가이드부와 동결정액 이식튜브가 일체형으로 되어있어 장비의 가격이 고가로 형성되어지고, 두 개의 부재중 하나만 파손되더라도 전체를 교체해야 하기 때문에 실제 사용농가에 부담이 되어져왔음, 이러한 문제점을 개선하기 위해 카테터 가이드부와 이식튜브가 분리형으로 구성되어 이식상황에 맞는 적합한 튜브를 선택적으로 사용할 수 있어 이식효율의 증가 및 농가의 부담을 낮출 수 있음
③의 기술	ex vivo 모델링 실험결과 3D 모델링 실험과는 다르게 자궁내부가 매끈하지 못하고 굽이져있어 이식기 주입헤드가 자궁고랑에 딱혀 자궁뿔 상단까지의 진입이 정체되는 현상이 관찰되어짐 이는 동결정액 심부이식 처치시간을 증가시킴으로써 결과적으로 수정효율을 낮추는 원인이 되며 기존 개발되어진 주요 동결정액 심부이식기에서 공통적으로 발견되어지는 문제점임, 이러한 문제점을 개선하기 위하여 이식기 주입헤드 외벽에 나선의 양각을 도입함으로써 자궁뿔 고랑에 정체시 주입되는 이식튜브를 회전시킴으로써 보다 쉽게 빠져나올 수 있도록 구성함

7. 연구종료 후 성과창출 계획

성과목표	사업화지표										연구기반지표									
	지식 재산권			기술실시 (이전)		사업화					기술인증	학술성과				교육지도	인력양성	정책 활용-홍보		기타 (타 연구활용등)
	특허출원	특허등록	품종등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용창출	투자유치		SCI	비SCI	논문평균IF	학술발표			정책활용	홍보전시	
단위	건	건	건	건	백만원	건	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건		명				
가중치	30	20		20					10					10		10				
최종목표																				
연구기간 내 달성실적	3	1		8					2			3		14		2				
연구종료 후 성과창출 계획		1		1																

8. 연구결과의 기술이전조건(산업체이전 및 상품화연구결과에 한함)

핵심기술명 <sup>1)</sup>	효과적인 동결정액 심부이식을 위한 나선형 이식기 헤드 개발		
이전형태	<input type="checkbox"/> 무상 <input checked="" type="checkbox"/> 유상	기술료 예정액	5,000천원
이전방식 <sup>2)</sup>	<input type="checkbox"/> 소유권이전 <input type="checkbox"/> 전용실시권 <input type="checkbox"/> 통상실시권 <input checked="" type="checkbox"/> 협의결정 <input type="checkbox"/> 기타( )		
이전소요기간	2018.03.18. - 2018.11.15.	실용화예상시기 <sup>3)</sup>	2019.03.05. (추정)
기술이전시 선행조건 <sup>4)</sup>	각 공정 단계별 연결부재들에 대한 구조평가 및 양산을 위한 최적화		

- 1) 핵심기술이 2개 이상일 경우에는 각 핵심기술별로 위의 표를 별도로 작성
- 2) 전용실시 : 특허권자가 그 발명에 대해 기간·장소 및 내용을 제한하여 다른 1인에게 독점적으로 허락한 권리  
 통상실시 : 특허권자가 그 발명에 대해 기간·장소 및 내용을 제한하여 제3자에게 중복적으로 허락한 권리
- 3) 실용화예상시기 : 상품화인 경우 상품의 최초 출시 시기, 공정개선인 경우 공정개선 완료시기 등
- 4) 기술 이전 시 선행요건 : 기술실시계약을 체결하기 위한 제반 사전협의사항(기술지도, 설비 및 장비 등 기술이전 전에 실시기업에서 갖추어야 할 조건을 기재)