

염소 난자등급, 수정시간, 체외배양 방법에 따른 수정란 발달 비교분석

이은도, 김동교, 김가은, 정상욱, 최봉환, 김관우*
농촌진흥청 국립축산과학원 가축유전자원센터

Comparative analysis of embryo development according to goat oocyte grade, fertilization time, *in vitro* culture method

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

요약 본 연구는 염소의 개량속도를 높이기 위해 염소의 난자등급, 수정시간 및 체외배양 방법에 따라 난자 체외성숙률과 수정란 체외발달률에 미치는 효과를 분석하기 위하여 6주간 진행되었다. 난자등급은 세포질, 난구세포에 따라 등급을 평가하였으며, 수정시간은 각각 6시간, 12시간, 18시간으로 진행하였다. 그리고 체외배양 시 단계별로 나누어 발달률을 비교분석하였다. 난자 등급에 따른 체외성숙률과 체외수정률에서는 A(81.55, 77.38%) ≥ B(71.05, 69.09%) ≥ C(65.08, 59.42%) > D(35.89, 29.28%) 순의 결과를 보였고, D등급은 다른 그룹에 비해 유의적으로 낮았다. 수정란 발달률에서는 A(36.36%), B(31.11%) 등급과 C(14.81%), D(8.71%) 등급의 결과를 보였고, A등급과 B등급에서는 유의적인 차이를 보이지 않았으나, C등급과 D등급에 비해 유의적인 차이를 보였다. 그리고 C등급과 D등급간 유의적인 차이를 보이지 않았다. 수정시간별로 분석한 결과 수정률과 배반포 발달률은 유의적인 차이를 보이지 않았다. 배양 단계별로 수정률과 배반포 발달률을 분석한 결과 유의적인 차이는 없었다. 이는 등급이 좋은 난자확보가 필요한 것으로 사료되며, 수정시간과 체외배양 단계에 따른 영향이 없는 것으로 보여진다. 더 나아가 염소 체외배양에 대한 추가적인 연구 진행이 필요하며, 염소 체외수정란 생산기술이 확립이 된다면 염소 개체 증식과 개량에 일조할 수 있을 것으로 사료된다.

Abstract This was a six-week study conducted to analyze the effects of goat oocyte grade, fertilization time, and *in vitro* culture methods on the *in vitro* maturation of goat oocytes and *in vitro* culture of embryos to speed up the improvement. The oocyte grades were evaluated according to the cytoplasm and cumulus cells and the fertilization times were 6, 12, and 18 hours, respectively. The *in-vitro* culture method was divided into culture steps and the development rates were compared and analyzed. The *in vitro* maturation and *in vitro* fertilization rates according to the oocyte grade were in the following descending order: A (81.55, 77.38%) ≥ B (71.05, 69.09%), ≥ C (65.08, 59.42%) > D (35.89, 29.28%). The Grade D rates were significantly lower than that of other groups. There were significant differences in embryo development rates between A (36.36%) and B (31.11%) grades and C (14.81%) and D (8.71%) grades. There was no significant difference between grades A and B, but there was a significant difference compared to grades C and D. There was no significant difference between grades C and D. An analysis of fertilization time revealed that there was no difference in the cleavage rate, and blastocyst rate between the grades. An analysis of the development rate of the embryos by culture step revealed no significant differences. To secure good-grade oocytes, fertilization time and *in vitro* culture steps appear to have a significant effect. In the future, additional research on the *in vitro* culture of goat embryos is necessary. If the production technology of goat *in vitro* embryo culture is established, it can contribute to the proliferation and improvement of goats.

Keywords : Goat, Embryo, Oocyte Grade, Fertilization Time, Culture Step

본 논문은 농촌진흥청 고유연구사업(PJ01723301) 지원과 2024년도 학·연협동연구과정 지원사업에 의해 수행되었다.

*Corresponding Author : Kwan-Woo Kim(National Institute of Animal Science, RDA)

email: bgring@korea.kr

Received May 2, 2024

Accepted August 2, 2024

Revised July 5, 2024

Published August 31, 2024

1. 서론

최근 귀농·귀촌 인구와 염소고기에 대한 수요가 증가하고, 염소 사육에 대한 관심이 높아졌다. 국내 염소 사육규모는 2021년 기준 약 44만두로 증가하고 있는 추세이다[1]. 주로 유용종 또는 육용종으로 사육되고 있으며, 일부 약용으로 이용되고 있다[2]. 염소에 대한 연구는 소·돼지 등 타 축종에 비해 부족하지만 국내에서 사양, 번식, 유전체 분석 및 육질특성 등 종합적인 사육기술 개발 연구가 진행되고 있다[3-7].

유용한 염소 생명자원을 증식하고 확보하기 위해서는 여러 번식기술 중 수정란이식 기술이 필요하다. 수정란 이식 기술은 과배란 처리를 통한 체내에서 수정된 체내 수정란 외에도 도축난소에서 채취한 난자를 체외수정 및 체외배양을 통하여 체외수정란을 생산하여 이식하는 기술이다. 염소의 수정란 체외배양 관련 기초적인 연구는 국내외 등지에서 발정동기화, 수정란 채취 및 이식에 관한 연구가 진행되었다[8-13]. 수정란 이식기술은 기존의 우수한 종모축뿐만 아니라 우수한 종빈축의 능력도 같이 이용하여 개량속도를 높일수 있는 기술이다.

포유동물에서 난자의 체외 성숙(*In vitro* maturation, IVM)과정은 난자의 품질, 배지의 구성성분, 공배양, 성장인자 및 호르몬 등 첨가물질의 종류 등에 영향이 있다고 다양하게 보고되고 있다[13-18]. 난자의 품질은 난자와 난구세포 결합체(cumulus oocyte comple, COC)의 형태학적 특성으로 등급을 나누어 평가한다. 난구세포(cumulus cell)는 영양 공급, 에너지원, 난자 발달을 위한 전달자 역할 및 난자와 난구세포 결합체(COC)의 호르몬 증대 역할을 하는 것으로 보고된 바 있다[15,19-21]. 이 외에도 체외 수정 시 정자 농도와 수정시간 및 체외 배양 조건에 따라 배발달 효율의 차이를 보인다. 기존의 체외수정시간은 보통 18~24시간을 위주로 진행이 되었으나 사람에서 수정시간이 길수록 배아 발달 효율이 낮아진다는 연구가 있다[22,23]. 염소에서도 짧은 수정시간으로 체외수정란 생산 연구를 해볼 필요성이 있다.

국내 염소의 체외 수정란 생산연구는 타 축종에 비해 부족한 상황으로, 체외배양 시스템 역시 소의 방법을 토대로 적용하고 있기 때문에 염소에 맞는 수정란 체외배양 방법의 확립이 필요하다. 따라서 본 연구에서는 염소의 난자 품질, 수정시간, 수정란 체외배양 방법에 따른 염소 난자 체외 성숙과 배발포 발달에 미치는 효과를 분석하기 위하여 진행하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 시약 및 동물실험윤리위원회 승인

본 연구에서 특별히 명시하지 않은 화학물질들은 Sigma-Aldrich Korea(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. 그리고 본 시험은 농촌진흥청 국립축산과학원 동물실험계획서에 의거(승인번호: 2023-597) 연구를 수행하였다.

2.2 난소 채취 및 난자 회수

도축장(경남 함양, 장현)에서 도축된 염소의 난소를 50µg/ml Gentamicin을 첨가한 0.9% 염화나트륨이 함유된 생리식염수에 담아 32°C를 유지하여 보온병에 담아 1-2시간 이내에 운반하였다. 항생제를 첨가한 새로운 32-35°C의 생리식염수를 이용하여 3회 세척하였다. 난포액을 회수하기 위하여 21G 바늘이 장착된 5ml 멸균 주사기를 이용하였다. 회수된 난포액의 상층액을 제거하고, 10mM HEPES, 0.013mM kanamycin이 포함된 TCM-199로 3회 세정한 후 현미경을 통해 난자를 탐색하였다.

2.3 체외성숙

회수된 난자의 세포질 및 난구세포의 유무에 따라 총 4단계로 등급을 나누어 평가하였다. A등급은 세포질이 균등하며 난구세포의 층이 2층 이상인 경우, B등급은 세포질이 균등하며 난구세포의 층이 한층 이상인 경우, C등급은 난구세포가 없는 경우, D등급은 난구세포가 없으며 세포질이 불량한 경우로 평가를 하였다[24]. 체외성숙은 TCM-199(Gibco)를 기본 배양액으로 하였으며, 10mM HEPES, 0.013mM Kanamycin, 0.2mM sodium pyruvate, 1µg/ml Follicular stimulating Hormone(FSH, Folltropin-V, Bioniche Co., Canada), 10% FBS(Gibco, Korea)와 10% gFF(goat follicular fluid)를 첨가한 후 38.5°C, 5% CO₂ 조건에서 24시간 배양하였다. 배양한 후 난구세포를 제거하고, 극체를 찾아 성숙률을 평가하였다.

2.4 체외수정

체외수정에 사용된 동결정액은 국립 축산과학원 가축 유전자원센터에서 생산하였다. 생산된 동결정액 스트로우를 37.5°C에서 1분동안 용해하였다. 2회에 걸쳐 300×g의 속도로 6분간 원심분리 하고, 상층액을 분리한 후 최종 농도를 2×10⁶ sperm/ml로 맞추었다. 114mM

NaCl, 3.1mM KCl, 25mM NaHCO₃, 0.4mM NaH₂PO₄·2H₂O, 15mM sodium lactate, 2mM CaCl₂·2H₂O, 0.5mM MgCl₂·6H₂O, 0.5mM sodium pyruvate, 8mg/ml bovine serum albumin(BSA), 0.75µg/ml kanamycin으로 이루어진 체외수정용 배지를 사용하였다[13]. 정자와 난자를 38.5°C, 5% CO₂ 조건의 배양기에서 각각 6시간, 12시간, 18시간 동안 공배양 시켰다.

2.5 체외배양

체외수정이 끝난 후, 수정된 난자와 난구세포 그리고 남아 있는 정자들을 피펫팅을 통하여 제거한 후 mSOF 배지에 옮겨 배양시켰다. 초기 mSOF배지는 103mM NaCl, 7.2mM KCl, 1.2mM KH₂PO₄, 5.6ml/L Na-lactate, 0.13mM kanamycin, 25mM NaHCO₃, 0.3mM Na-pyruvate, 0.5mM MgCl₂·6H₂O, 1.7mM CaCl₂·2H₂O, 1.5mM D-glucose, 2% essential amino acids, 1% non-essential amino acids, 1mM L-gultamin, 10ng/ml EGF로 구성되어 있다. 그리고 후기 mSOF 배지는 초기 배지에서 2.8ml/L Na-lactate, 0.15mM Na-pyruvate의 용량만 바꾸어 사용하였다[25]. 38.5°C, 5% CO₂, 5% O₂ 조건의 인큐베이터에서 7일 동안 배양한 그룹과 4일 초기 배양 후 배지를 교체하고 나머지 3일을 후기 배양한 그룹으로 나누어 배반포 발달을 확인하였다.

2.6 통계분석

본 연구에서 얻은 모든 결과는 평균±평균의 표준오차(SEM)로 나타내었다. 실험결과의 통계적 분석을 위하여 R(4.1.1)을 이용하여 ANOVA분석과 독립 2표본 t-검정(Independent Samples t-test) 그리고 Tukey 사후 분석을 통해 통계적 유의차가 $p < .05$ 이한 것만 표기하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 염소 난자 및 난구세포 등급조사

본 연구는 염소 난자의 체외배양에 있어, 난자의 형태학적 등급에 따라 차이가 있는지 알아보기 위하여 난자 등급, 체외 성숙률과 배 발달률을 조사하였다. 염소 도축장 유래 난소에서 얻은 난자를 형태학적 등급을 나누어 평가하였고, 그 등급에 따른 성숙률을 조사하였다. (총

168개의 난자를 회수하여, A등급 22개(13.28%), B등급 45개(26.8%), C등급 54개(32.1%), D등급 47개(28.0%)의 결과를 보였다(Table 1).

Table 1. The distribution of goat oocyte grade

No. COCs	Oocyte quality [n. mean ± SE(%)]			
	A	B	C	D
168	22 (13.28 ± 1.69)	45 (26.8 ± 0.58)	54 (32.1 ± 0.52)	47 (28.0 ± 1.71)

난자의 품질은 난소의 난포크기 및 상태, 난자 회수 조건 그리고 공시축에 호르몬 처리 등에 많은 영향을 받는다. 젖소에서는 중간정도 난포크기(6-9mm)가 A, B등급의 효율이 높다고 보고된바 있다[19]. 염소에서는 중간정도 난포크기(3mm)에서 난소 및 난구세포충이 더 두텁게 나온다는 보고가 있다[26]. 소에 비해 염소의 난소 크기는 현저히 작다. 소에서 이용되는 주사바늘을 이용하였기에 난소크기가 작은 염소에서 압력에 따른 차이로 회수되는 난자의 품질이 다를수도 있다고 생각된다. 이를 통해 염소 축종에 맞는 회수방법과 A, B등급을 높일 수 있는 조건 확립에 대한 연구가 더 필요하다.

3.2 염소 난자 등급별 성숙률 조사

염소 난자 등급별 성숙률에 있어서는 A등급 (81.55%), B등급(71.05%), C등급(65.08%), D등급(35.89%)의 결과를 보였다. A등급은 B등급과는 유의적인 차이를 보이지 않았고, 다른 등급들에 비해 유의적인 차이를 보였다. B등급은 C등급과는 성숙률에서 유의적 차이를 보이지 않았으나, D등급과는 유의적인 차이를 보였다. C등급은 D등급과 성숙률에서 유의적인 차이를 보였다(Table 2).

Table 2. Maturation rate according to oocyte grade

Grade	COCs	Mature oocytes	Maturation rate (mean±SE)
A	22	18	81.55±8.81 ^a
B	45	32	71.05±2.09 ^{ab}
C	54	35	65.08±2.75 ^b
D	47	17	35.89±3.71 ^c

a-b-c Means in a column without common superscripts are significantly different ($p < .05$)

이전 연구들에서 난자의 등급에 따라 성숙률에서 차이

를 보이는 연구가 보고되었다. 난구세포(cumulus cell)는 난자를 둘러싸고 있는 과립막세포 무리로 구성되어 있고, 영양 공급, 에너지원, 난자 발달을 위한 전달자 역할 및 난자와 난구세포 결합체(COC)의 호르몬 증재해주는 역할을 하는 것으로 알려져 있다[27,28]. 염소에서 난구세포가 많을수록, 성숙률에 효과가 있음을 확인할 수 있었다.

3.3 염소 난자 등급별 수정률 및 배반포 발달률 조사

염소 난자 등급별 수정률과 배반포 발달률을 조사하였다. 수정률은 각각 A등급(77.38%), B등급(69.09%), C등급(59.12%), D등급(29.28%)의 결과를 보였다. A등급과 B등급사이에는 유의적인 차이를 보이지 않았다. 그러나 A등급과 B등급에서는 다른 그룹에 비해 유의적으로 높았고, C등급, D등급 순으로 유의적인 차이를 보였다. 배반포 발달률에 있어서는 A등급(36.3%), B등급(31.1%), C등급(17.7%), D등급(8.5%)의 결과를 보였다. 배반포 발달률은 A등급과 B등급에서는 유의적인 차이를 보이지 않았으나, C등급과 D등급에 비해 유의적인 차이를 보였다. 그리고 C등급과 D등급간 유의적인 차이를 보이지 않았다(Table 3).

Table 3. Blastocysts development rate according to oocyte grade

Grade	Oocytes	Embryos developed to (mean±SE)	
		2-cell	Blastocyst
A	22	16 (77.38 ± 7.43 ^a)	8 (36.36 ± 5.50 ^a)
B	45	31 (69.09 ± 4.32 ^{ab})	14 (31.11 ± 4.15 ^a)
C	54	34 (59.42 ± 2.05 ^b)	8 (14.81 ± 2.46 ^b)
D	47	14 (29.28 ± 3.71 ^c)	4 (8.37 ± 2.14 ^b)

a-b-c Means in a column without common superscripts are significantly different ($p < .05$)

소에서는 난구세포가 정자를 유인하고 가두어 선택, 정자의 수정능 획득, 아크로솜 반응 및 침투 촉진 또는 투명대의 조숙 경화방지 등 수정과정에 이로운 효과를 가진다고 알려져 있다[27,28]. 본 연구를 통해 염소에서도 A, B등급의 난자들의 수정률과 배반포 발달률이 높은 것을 확인하였다. A, B등급의 난자를 회수하는 조건과 더불어 체외수정 및 체외배양 조건에 대한 확립이 필요하다.

3.4 체외수정 시간별 수정률 및 배반포 발달률 조사

염소 수정란 체외 배양 과정 중 수정 시간에 따른 수정란의 수정률과 배반포 발달률을 조사하였다. 수정률에 있어서는 6시간(86.72%), 12시간(84.87%), 18시간(85.56%)의 결과를 보였다. 배반포 발달률의 경우 6시간(31.30%), 12시간(25.37%), 18시간(33.26%)의 결과를 보였다. 수정률과 배반포 발달률 모두에서 각 그룹간의 유의적인 차이를 보이지 않았다(Table 4).

Table 4. Fertilization and blastocyst development rate according to fertilization time

Group	Oocytes	Embryos developed to (mean±SE)	
		2-cell	Blastocyst
6H	103	90 (86.72 ± 2.77)	32 (31.30 ± 4.89)
12H	99	84 (84.87 ± 2.53)	25 (25.37 ± 3.61)
18H	107	95 (85.56 ± 4.60)	35 (33.26 ± 6.67)

염소에서는 체외수정 시 정자의 농도를 4×10^6 sperm/ml, 수정시간을 12-14시간으로 하였을 때 효율적으로 나타났다[29]. 그러나 이전연구에서 소의 체외 수정시간을 3시간, 6시간, 18시간 다르게 하였을 때 수정률과 배반포 발생률의 유의적인 차이를 보이지 않았고, 수정시간이 길어질수록 배아발달에 해로운 영향을 미칠 수 있다는 결과를 보였다[23]. 다른 연구에서는 소에서 6, 9, 12, 18시간 동안 수정시간을 가졌을 때 6시간에서 수정란 발달 효율이 높은 결과를 보였다[30]. 본 연구의 결과가 체외 수정 시간마다 유의적인 차이를 보이지 않으므로, 수정시간을 짧게 가지는 것이 효율적인 것으로 사료된다.

3.5 체외배양시 배양방법에 따른 배반포 발달률 조사

염소 수정란 체외 배양 과정 중 배양배지를 단계별로 배양을 했을 때 배반포 발달률에서는 1단계 배양(26.11%), 2단계 배양(24.38%)의 결과를 보였다(Table 5).

소에서는 배양 배지를 1단계로 배양하는 것에 비해 2단계로 나누어 배양하는 것이 수정률에서는 유의적인 차이를 보이지 않았지만, 배반포 발달률에서는 유의적으로 높은 결과를 보인 연구가 있었다[31]. 그러나 사람에서는 1단계로 배양하는 것이 2단계로 배양하는 것보다 수정률은 유의적인 차이가 없지만 배반포의 형태학적 품질은 높았다는 결과가 있었다[32]. 본 연구를 통해 염소에서는

배양단계에 따른 배반포 발달률에 있어서 유의적인 차이가 없었다. 이는 기본 배양매지가 소 자궁과 유사한 배지를 이용하였기 때문이라 생각되고, 염소에 맞는 체외수정란 배양 배지에 대한 추가적인 연구가 필요하다.

Table 5. Fertilization and blastocyst development rate according to different culture steps

Group	Oocytes	Embryos developed to (mean±SE)	
		2-cell	Blastocyst
1 step	76	71 (78.20 ± 2.80)	24 (26.11 ± 3.59)
2 step	83	67 (80.89 ± 4.81)	4 (24.38 ± 4.60)

4. 결론

본 연구는 염소 도축장 유래난소에서 얻은 미성숙된 난자의 등급 외에도 수정시간과 체외배양 방법에 따른 체외 성숙률, 수정률, 수정란 발달률을 비교하기 위하여 수행하였다.

난자 등급이 높을수록 체외성숙률은 낮은 등급의 난자의 체외성숙률에 비해 높게 나타났다. 더불어 높은 등급의 난자가 체외수정률과 배반포 발달률이 높게 나타난 것을 확인하였다. 체외수정시간을 3그룹으로 나누어 체외배양 했을 때 시간에 따른 수정률 및 배반포 발달률에 유의적인 차이를 보이지 않았다. 체외배양 시 단계에 따라 수정률 및 배반포 발달률에 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다. 본 연구결과는 염소 체외수정란은 난자 등급에 따라 난자 성숙과 체외수정란 발달률에 영향을 미치는 것으로 확인하였다. 더 나아가 염소 체외배양에 대한 추가적인 연구 진행이 필요할 것으로 사료되며 염소 체외수정란 생산기술이 확립이 된다면 개량속도를 극대화시켜 개체 증식과 경쟁력을 가지는 생산성 향상에 일조할 수 있을 것으로 사료된다.

References

[1] Ministry of Agriculture Food and Rural Affairs, "Other livestock statistics", *Ministry of Agriculture Food and Rural Affairs*, pp. 4-9, 2022.

[2] C. I. Park, Y. J. Kim, "Composition in amino acid and changes in protein, mineral contents during storage

of black goat extracts", *Food Science of Animal Resources*, Vol. 20, No.4, pp. 257-263, Dec. 2000.

[3] Y. S. Yun, S. Y. Jang, H. J. Seong, Y. J. Tang, Y. L. Ding, J. H. Park, S. H. Moon, "Study on the determination of crude protein requirement for maintenance of fattening black goat(Capra hircus coreanae)", *Journal of The Korean Society of Grassland and Forage Science*, Vol. 37, No. 2, pp. 176-182, Jun. 2017.
DOI: <https://doi.org/10.5333/KGFS.2017.37.2.176>

[4] Y. S. Yun, H. J. Seong, Q. M. Zhang, S. U. Chung, G. E. Lee, J. H. Park, E. Y. Jang, J. W. Lee, K. W. Kim, S. H. Moon, "Changes in feed value, forage productivity, and grazing intensity at native pasture grazed by growing korean native female goat(Capra hircus coreanae)", *Journal of The Korean Society of Grassland and Forage Science*, Vol. 38, No. 2., pp. 120-125, Jun. 2018.
DOI: <https://doi.org/10.5333/KGFS.2018.38.2.120>

[5] K. W. Kim, E. D. Lee, J. Lee, D. K. Kim, S. S. Lee, S. H. Lee, "Artificial insemination and delivery rate of crossbred goat using frozen-thawed semen", *Journal of Korea Academia-Industrial cooperation Society*, Vol. 21, No. 10, pp. 181-186, Oct. 2020.
DOI: <https://doi.org/10.5762/KAIS.2020.21.10.181>

[6] S. H. Lee, J. Lee, E. D. Lee, S. Kim, S. S. Lee, K. W. Kim, "SNP-based genetic diversity and relationships analysis of the korean native black goat and crossbred goat", *Journal of Korea Academia-Industrial cooperation Society*, Vol. 21, No. 11, pp. 102-108, Nov. 2020.
DOI: <https://doi.org/10.5762/KAIS.2020.21.11.102>

[7] K. W. Kim, H. J. Kim, J. Lee, E. D. Lee, D. K. Kim, S. S. Lee, A. jang, S. H. Lee, "Effects of raising periods on physicochemical meat properties of korean native black goat", *Journal of Korea Academia-Industrial cooperation Society*, Vol. 21, No. 11, pp. 435-442, Nov. 2020.
DOI: <https://doi.org/10.5762/KAIS.2020.21.11.435>

[8] K. R. Bondioli, R. W. Wright, Jr, "Supervoulation of goats with FSH or FSH + LH following synchronization of estrus", *Theriogenology*, Vol. 15, No. 1, pp. 118, Jan. 1981.
DOI: [https://doi.org/10.1016/s0093-691x\(81\)80035-0](https://doi.org/10.1016/s0093-691x(81)80035-0)

[9] M. S. Chauhan, S. Anand, "In vitro maturation and fertilization of goat oocytes", *Indian Journal of Experimental Biology*, Vol. 29, No. 2, pp. 105-110, Feb. 1991.

[10] De Smedt, V., N. Crozet, M. Ahmed-Ali, A. Martino, Y. Cognie, "In vitro maturation and fertilization of goat oocytes", *Theriogenology*. Vol. 37, No.5, pp. 1049-1060, May. 1992.
DOI: [https://doi.org/10.1016/0093-691x\(92\)90103-x](https://doi.org/10.1016/0093-691x(92)90103-x)

[11] C. S. Lee, N. Z. Fang, D. B. Koo, Y. S. Lee, G. D. Zheng, K. B. Oh, W. S. Youn, Y. M. Han, S. J. Kim, J. H. Lim, S. T. Shin, S. W. Jin, K. S. Lee, J. H. Ko, J. S. Koo, C. S. Park, K. S. Lee, O. J. Yoo, K. K. Lee,

- "Embryo recovery and transfer for the production of transgenic goats from Korean native strain, *Capra hircus aegagrus*", *Small Ruminant Research*, Vol. 37, No. 1-2, pp. 57-63, Jul. 2000.
DOI: [https://doi.org/10.1016/s0921-4488\(99\)00139-x](https://doi.org/10.1016/s0921-4488(99)00139-x)
- [12] D. S. Lee, D. W. Kim, S. T. Shin, "Transcervical Embryo Recovery in Korean Black Goats: A Preliminary Experiment", *Journal of Animal Reproduction and Biotechnology*, Vol. 30, No. 3, pp. 171-174, Sep. 2015.
DOI: <https://doi.org/10.12750/JET.2015.30.3.171>
- [13] K. W. Kim, D. Jeon, J. Lee, S. S. Lee, S. Kim, C. L. Kim, S. H. Lee, "Influence of various serum supplement on in vitro culture for goat embryos", *Journal of Korea Academia-Industrial cooperation Society*, Vol. 20, No. 9 pp. 510-516, Sep. 2019.
DOI: <https://doi.org/10.5762/KAIS.2019.20.9.510>
- [14] N. Crozet, M. Ahmed-Ali, M.P.Dubos, "Developmental competence of goat oocytes from follicles of difference size categories following maturation, fertilization and culture *in vitro*", *Journal of reproduction and fertility*, Vol.103, No. 2, pp. 293-298, Mar. 1995.
DOI: <https://doi.org/10.1530/irf.0.1030293>
- [15] L. Katska-Ksiazkiewicz, J. Opiela, B. Rynska, "Effects of oocyte quality, semen donor and embryo co-culture system on the efficiency of blastocyst production in goats", *Theriogenology*, Vol. 68, No. 5, pp. 736-744, Sep. 2007.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.06.016>
- [16] Y. He, Y. Wang, H. Zhang, Y. Zhang, F. Quan, "Alpha-lipoic acid improves the maturation and the developmental potential of goat oocytes in vitro", *Reproduction in Domestic Animal*, Vol. 56, No. 4, pp. 545-554, Jan. 2021.
DOI: <https://doi.org/10.1111/rda.13892>
- [17] A. Veshkini, A. A. Khadem, A. Mohammadi-sangcheshm, A. A. Alamouti, M. Soleimani, E. L. Gastal, "Linolenic acid improves oocyte developmental competence and decreases apoptosis of in vitro-produced blastocysts in goat". *Zygote*, Vol. 24, No. 4, pp. 537-548, Aug. 2016.
DOI: <https://doi.org/10.1017/S0967199415000507>
- [18] S. Saeedabadi, A. H. Abazari-kia, H. rajabi, K. Parivar, M. Salehi, "Melatonin Improves The Developmental Competence of Goat Oocytes", *International Journal of Fertility and Sterility*, Vol. 12, No. 2, pp. 157-163, Jul. 2018.
DOI: <https://doi.org/10.22074/ijfs.2018.5204>
- [19] R. Juodžentytė, V. Žilaitis, G. I Palubinskas, "Determination of optimal follicular size for obtaining the most quality oocytes for in vitro fertilization", *Veterinaski Arhiv*, Vol. 89, No. 3, pp. 309-315, Apr. 2019.
DOI: <https://doi.org/10.24099/vet.arhiv.0231>
- [20] D. Rizos, F. Ward., P. Duffy, M. P. Boland, P. Lonergan, "Consequences of bovine oocyte maturation, fertilization or early embryo development in vitro versus in vivo: implications for blastocyst yield and blastocyst quality", *Molecular Reproduction Development*, Vol. 61, pp. 234-248, Jan. 2002.
DOI: <https://doi.org/10.1002/mrd.1153>
- [21] K. Koyama, S. S. Kang, W. Huang, Y. Yanagawa, Y. Takahashi, M. Nagano, "Estimation of the optimal timing of fertilization for embryo development of in vitro-matured bovine oocytes based on the times of nuclear maturation and sperm penetration", *Journal of Veterinary Medical Science*, Vol. 76, No. 5, pp. 653-659, Dec. 2014.
DOI: <https://doi.org/10.1292/jvms.13-0607>
- [22] L. Gianaroli, M. Cristina Magli, A. P. Ferraretti, A. Fiorentino, E. Tosti, S. Panzella, B. Dale, "Reducing the time of sperm-oocyte interaction in human in-vitro fertilization improves the implantation rate", *Human reproduction*, Vol. 11, No. 1, pp. 166-171, Jan. 1996.
DOI: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.humrep.a019011>
- [23] I. M. Saadeldin, B. Kim, B. Lee, G. Jang, "Effect of different culture media on the temporal gene expression in the bovine developing embryos", *Theriogenology*, Vol. 75, No. 6, pp. 995-1004, Apr. 2011.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.11.006>
- [24] Ali A. Fouladi-Nashta, Carlos G. Gutierrez, Jin G. Gong, Philip C. Garnsworthy, Robert Webb, "Impact of Dietary Fatty Acids on Oocyte Quality and Development in Lactating Dairy Cows", *Biology of Reproduction*, Vol. 77, No. 1, pp. 9-17, Jul. 2007
DOI: <https://doi.org/10.1095/biolreprod.106.058578>
- [25] S. H. Lee, D. J. J. Lee, S. S. Lee, S. Kim, C. L. Kim, K. W. Kim, "Influence of blood serum, follicular fluid and gonadotropin on in vitro maturation for goat oocytes", *Journal of Korea Academia-Industrial cooperation Society*, Vol. 20, No. 9, pp. 333-340, Sep. 2019.
DOI: <https://doi.org/10.5762/KAIS.2019.20.9.333>
- [26] A. Martino, T. Mogas, M. J. Palomo, M. T. Paramio, "Meiotic competence of prepubertal goat oocytes", *Theriogenology*, Vol. 41, No. 4, pp. 969-980, Nov. 1994.
DOI: [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(94\)90512-H](https://doi.org/10.1016/0093-691X(94)90512-H)
- [27] L. Gall, N. Chene, M. È. Dahirel, S. Ruffini, C. Boulesteix, "Expression of epidermal growth factor receptor in the goat cumulus-oocyte complex", *Molecular Reproduction Development*, Vol. 67, No. 4, pp. 439-445, Feb. 2004.
DOI: <https://doi.org/10.1002/mrd.20040>
- [28] D. Keefe, M. Kumar, K. Kalmbach, "Oocyte competency is the key to embryo potential", *Fertility and Sterility*, Vol. 103, No. 2, 317-322, Feb. 2015.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2014.12.115>
- [29] M. J. Palomo, T. Mogas, D Izquierdo, M.T. Paramio, "The influence of sperm concentration, length of the gamete co-culture and the evolution of different sperm parameters on the in vitro fertilization of prepubertal goat oocytes", *Zygote*, Vol.18, No.4, pp.345-355, Mar. 2010.
DOI: <https://doi.org/10.1017/S0967199410000055>
- [30] F. Ward, B. Enright, D. Rizos, M. Boland, P. Lonergan,

"Optimization of in vitro bovine embryo production: effect of duration of maturation, length of gamete co-incubation, sperm concentration and sire. *Theriogenology*, Vol. 57, No. 8, pp. 2105-2117, May. 2002. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0093-691x\(02\)00696-9](https://doi.org/10.1016/s0093-691x(02)00696-9)

- [31] M. Berland, M. Frei, O. Peralta, M. Ratto, "Time Exposure Period of Bovine Oocytes to Sperm in Relation to Embryo Development Rate and Quality", *ISRN Veterinary Science Notices.*, Vol. 2011, Article ID 257627, pp. 4, Feb. 2011. DOI: <https://doi.org/10.5402/2011/257627>
- [32] I. López-Pelayo, J. M. Gutiérrez-Romero, A. I. M. Armada, M. M. Calero-Ruiz, P. J. M. Acevedo-Yagüe, "Comparison of two commercial embryo culture media(SAGE-1 step single medium vs. G1-PLUSTM/G2-PLUSTM sequential media): Influence on in vitro fertilization outcomes and human embryo quality", *JBRA Assisted Reproduction*, Vol. 22, No. 2, pp. 128-133, Feb. 2018. DOI: <https://doi.org/10.5935/1518-0557.20180024>

이 은 도(Eun-Do Lee)

[정회원]



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

<관심분야>

가축번식, 가축육종

김 동 교(Dong-kyo Kim)

[정회원]



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

<관심분야>

가축사양, 생명자원

김 가 은(Ga-Eun Kim)

[정회원]



- 2022년 2월 : 전남대학교 대학원 동물공학과 (농학석사)
- 2022년 4월 ~ 현재 : 농촌진흥청 국립축산과학원 전문연구원

<관심분야>

동물유전체, 통계육종학

정 상 욱(Sang Uk Chung)

[정회원]



- 2021년 2월 : 건국대학교 대학원 동물산업과학전공 (농학석사)
- 2023년 3월 ~ 현재 : 농촌진흥청 국립축산과학원 전문연구원

<관심분야>

가축사양, 가축번식

최 봉 환(Bong-Hwan Choi)

[정회원]



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

<관심분야>

동물유전체, 동물분자생리학

김 관 우(Kwan-Woo Kim)

[정회원]



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

〈관심분야〉

가축번식, 가축육종