

Valine 아미노산 첨가가 닭 정액 동결, 침체 손상도, 수정률 및 부화율에 미치는 영향

이재영¹, 이가영¹, 고응규¹, 조상래¹, 김찬란¹, 진대혁¹,
이세영¹, 김승창¹, 김관우¹, 최봉환¹, 김동교¹, 김성우^{2*}

¹농촌진흥청 국립축산과학원 가축유전자원센터, ²농촌진흥청 국립축산과학원 한우연구소

Effects of Valine Supplementation on Freezing, Acrosome Integrity, Fertility, and Hatchability of Rooster Semen

Jae-Yeong Lee¹, Ga Yeong Lee¹, Yeoung-Gyu Ko¹, Sang-Rae Cho¹, Chan-Lan Kim¹,
Daehyeok Jin¹, Se Young Lee¹, Seungchang Kim¹, Kwan-Woo Kim¹, Bong-Hwan Choi¹,
Dongkyo Kim¹, Sung Woo Kim^{2*}

¹Animal Genetic Resources Research Center, National Institute of Animal Science, RDA

²Hanwoo Research Institute, National Institute of Animal Science, RDA

요약 가금 산업은 매년 악성 전염병으로부터 위협받고 있어 유전자원의 손실이 일어나고 있다. 우리나라 고유 재래종의 유전적 다양성을 보존하기 위하여, 가금 계통의 유전자원을 영구 보존하기 위한 기술을 개발할 필요가 있다. 본 연구에서는 재래종 오계 정액 동결과정에서 필수아미노산인 valine을 첨가할 때, 동결과정에서 나타나는 침체 손상도와 융해한 동결정액으로 인공수정을 실시할 때 후대 수정란의 수정률 및 부화율에 미치는 영향을 조사하였다. 닭 동결정액의 운동성은 CASA (Computer Assisted Sperm Analysis)로 분석하였고, 침체온전성, 수정률 및 부화율에 미치는 영향을 분석하였다. 그 결과, 동결융해 정자의 운동성은 대조구에 비해 valine 10 mM 처리구에서 더 높은 결과를 나타내었고(57.9 ± 1.0 vs. $69.9 \pm 0.8\%$; $p < 0.0001$), 침체 온전성은 대조구에 비해 처리구에서 정상 침체의 비율이 유의적으로 높았다(78.7 ± 4.8 , $92.8 \pm 1.0\%$; $p = 0.0156$). 그러나, 대조구와 valine 10 mM 처리구의 수정률 및 부화율에서는 유의적인 차이가 확인되지 않았다. 종합해보면, 오계 정액 동결 시 valine 10 mM 첨가는 닭 정액의 동결 후 생존성에 유리한 것으로 판단되나, 동결정액이 sperm storage tubules (SSTs)에 안착되어 수정에 활용되는 정자의 비율에는 큰 영향을 미치지 않을 것으로 추정된다.

Abstract Every year, the poultry industry is threatened by infectious diseases, resulting in genetic resource loss. Thus, a technology is required to preserve poultry genetic resources permanently and maintain the genetic diversity of native Korean species. We investigated the effects of adding valine, an essential amino acid, on the acrosome integrity, fertility, and hatchability of frozen-thawed semen. The vitality of freeze-thawed semen from Ogye, a native Korean chicken, was analyzed by Computer-Assisted Sperm Analysis (CASA). Acrosome integrity, fertility, and hatchability were analyzed separately. The motility of freeze-thawed sperm was higher in the 10 mM valine-treated group than in the non-treated control group (57.9 ± 1.0 vs. $69.9 \pm 0.8\%$; $p < 0.0001$), and the sperm percentage that retained intact acrosome was significantly higher in the 10 mM valine group ($92.8 \pm 1.0\%$ vs. 78.7 ± 4.8 ; $p = 0.0156$). Fertility and hatchability were non-significantly different in these two groups. The study shows that supplementation with 10 mM valine in diluent can protect Ogye semen from cryodamage and does not increase the total number of nested spermatozoa in sperm storage tubules (SSTs) for fertilization.

Keywords : Animal Genetics Resources, Chicken, Semen, Motility, Valine

본 논문은 농촌진흥청 국립축산과학원 “닭 동결 유전자원 수집 보존체계 확립(PJ01558301)” 연구과제로 수행되었음.

*Corresponding Author : Sung Woo Kim(Hanwoo Research Institute)

email: sungwoo@korea.kr

Received September 19, 2023

Revised October 25, 2023

Accepted November 3, 2023

Published November 30, 2023

1. 서론

최근 가금 산업에 있어서 매년 동절기 조류 인플루엔자(avian influenza, AI)의 전국적 확산으로 가금류 사육 농가뿐만 아니라 인근 지역 농가를 대상으로 이어지는 살처분은 심각한 경제적 손실을 야기한다. 이에 따라 가금 유전자원은 종축으로서 안전하게 보존되어야 하며, 국가자산의 보호를 위하여 생축뿐만 아니라 동결유전자원으로서도 보존할 필요가 있다. 특히, 동결정액을 영구 보존하여 유사시 복원을 위한 유전자원으로서 활용할 수 있기 때문에 보존·복원 기술의 중요성이 점차 증가되고 있는 실정이다. 이러한 동결보존 기술은 종축의 미래 잠재적 가치를 확보하고 더불어 경제적 효용 가치를 높여 가축의 다양성을 확보하는데 의미가 있으며, 축산업이 지속적으로 발전하기 위해 반드시 필요한 자산으로서 평가되고 있다.

가금 종축산업은 소수의 다국적 기업에 품종이 독점되어 있으며 실용계 생산을 위한 계통별 상업용 종계를 판매하고 있다. 이에 따라 개량품종 또는 합성종 개발 등을 통해 소규모 재래품종의 경쟁력 확보가 필요한 실정이다. 재래종의 경우 소규모 집단으로 계통을 유지할 수 있는 특성을 가지고 있기 때문에, 근친 등의 문제가 발생하여 재래품종의 다양성 감소가 가속화되어지는 상황에 처해있다. 이러한 상황을 고려 할 때 가축의 육종과 능력 개량을 위하여 동결정액의 생산과 이를 위한 가금 유전자원의 보존 기술을 개발할 필요성이 존재한다.

닭 정액의 동결보존을 위해 많은 연구자들이 다양한 동결 프로토콜을 개발하였으나 동결정자를 이용한 후대 생산에 대한 성적은 비교적 낮은 편이다. 동일한 방법을 이용하여도 연구자 마다 연구결과가 달라 효율성이 떨어지는 문제점을 가지고 있다. 이러한 결과는 조류 정자의 특성에서 기인할 수 있다. 다른 종과 비교할 때, 조류 정자는 생리학적으로 세포질의 함량이 매우 낮아 산화 스트레스에 취약하며 평균적으로 긴 편모를 가지고 있어, 동결에 대한 손상도가 높기 때문에 수정능을 극적으로 감소시킨다[1-3]. 또한 동결로 인해 발생하는 문제점 중 하나인 정자 막의 lipid peroxidation은 ROS (reactive oxygen species)에 의해 발생하는 정자 손상의 주요한 기전으로 알려져 있는데, 정자는 다른 세포들과는 달리 lipid peroxidation에 민감하게 반응하는 구조와 기능을 지니고 있기에 동결에 취약한 특성을 가지고 있다[4].

이러한 어려움을 극복하고자 국내외에서 연구가 진행

되어 오고 있다. 수정률을 높이기 위한 연구로 N-Methylacetamide를 동결보호제를 활용하여 수정률을 66%로 증진시킬 수 있음이 보고되었으며[5], 정자의 활력 향상에 관한 연구로 BSA 첨가 시 닭 정자의 생존을 향상된다는 연구결과가 보고되었다[6]. 닭 동결정액 용해 방법에 대한 연구 결과 닭 정자 운동성과 생존성에 미치는 영향이 높은 것으로 알려져 기본적인 용해 프로토콜이 확립되었다[7].

국외에서는 다양한 첨가물질을 활용하여 정자의 활력, 수정률 및 부화율을 향상시키는 연구가 진행되고 있다. Glutamine 또는 glycine과 같은 아미노산 첨가가 정자의 운동성을 향상시켜준다는 연구결과가 밝혀졌으며[8,9], 닭 정액희석제에 L-carnitine을 1-2 mM 농도로 첨가 할 때, 정자의 운동성 등 활력이 증가된다는 것이 보고되었다[10]. 또한, 닭 정액 희석제에 hyaluronic acid 1-2 mM 첨가 시 수정율과 부화율이 증가하는 것을 밝혔다[11]. 닭 희석제에 serine 및 sucrose 첨가 시 수정 능력이 향상된다고 보고되었고 amino acid와 glutathione과 같은 항산화제는 다양한 포유류 정자를 손상으로부터 보호하는 것이 밝혀졌다[12-14]. 특히 필수 아미노산인 valine은 단백질 합성, 에너지 생산, 지방 분해, 미토콘드리아 대사/산화, 포도당 수송, 배아 발달 등과 같은 다양한 생물학적 과정에 관여한다고 알려져 있다[15,16]. 닭의 정액에서 생존성 및 DNA integrity와 관련이 있는 아미노산은 valine, leucine, isoleucine으로 보고되었으며[17], 그 중 valine은 닭의 일부 계통에서 특이적으로 DNA fragmentation을 감소시키고 수정률을 증가시킨다는 것이 보고되었다[14].

현재 국내에서 재래종 닭의 생식세포 동결에 관한 연구는 거의 이루어지지 않고 있다. 그 이유는 소와 돼지 같은 포유류에 비해 활용도가 현저하게 떨어지며, 동결정액의 성적이 균일하지 않아 경제성이 낮기 때문이다. 하지만, 매년 전 세계적으로 발생하고 있는 고병원성인플루엔자와 같은 질병으로부터 가금 산업을 보호할 필요가 있다. 우리나라 고유의 재래종을 질병으로부터 보호하고, 우수 종계의 복원에 필요한 기술을 개발하여 재래종 닭의 유전적 다양성을 보존할 필요가 있다. 그러므로 본 연구에서는 우리나라에서 유지되고 있는 재래종 닭의 다양한 계통 중 오계에 특이적으로 적용될 수 있는지 조사하고자 오계 정액 동결 시 valine 첨가가 동결정액 용해 후 정자의 성장과 체계의 손상도에 미치는 영향을 조사하고, 이를 이용하여 인공수정을 실시할 때, 수정률 및 부화율에 어떠한 영향을 미치는지 조사하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 공시동물 및 시료채취

정액 채취를 위한 공시동물은 가축유전자원센터에서 사육하고 있는 21개월령 오계 수컷 40수를 이용하였다. 신선정액은 1주일에 1번씩 황취법으로 채취하여 실험에 공시하였으며, 계사의 평균 온도는 약 22°C를 유지하였다. 신선정액은 약 40배로 희석하고 현미경으로 관찰하였을 때, 90% 이상의 운동성을 보이는 시료를 실험에 사용하였다. 인공수정을 위한 공시동물은 가축유전자원센터에서 사육하고 있는 백색레그혼 암컷 20수를 이용하였다.

2.2 시약 및 희석액의 조성

모든 시약은 Sigma-Aldrich Chemical Co. (USA)를 통하여 구입하였다. 정액희석제는 Lake-Ravie medium (Lake and Ravie, 1984)을 사용하였고, 그 구성성분은 다음과 같다. L-glutamic acid monosodium salt monohydrate (1.92 g), glucose (0.8 g), Magnesium acetate tetrahydrate (0.08 g), potassium acetate (0.5 g), polyvinylpyrrolidone (Mr 40,000; 0.075 g)을 최종 부피가 100 ml이 되도록 세포배양용 초순수를 이용하여 제조하였다[14]. 희석제는 pH 7.08, 최종 삼투압은 343 mOsm/kg을 유지하였다. 정액희석제에 valine의 최종농도가 0, 5, 10, 15 mM이 되도록 실험군과 대조군을 준비하였다.

인공수정 시 사용한 BPSE-I (Beltsville poultry semen extender-I) 희석제는 potassium phosphate dibasic trihydrate 1.27 g, sodium L glutamate 0.867 g, D-fructose (anhydrous) 0.5 g, sodium acetate trihydrate 0.43 g, TES 0.195 g, potassium citrate 0.064 g, potassium phosphate monobasic 0.065 g 및 magnesium chloride anhydrous 0.034 g을 최종 부피가 100 ml가 되도록 세포 배양용 초순수를 용해하여 제조하였다[18].

2.3 동결 과정

실험내용이 표기된 0.25 ml 스트로를 준비한 후 스트로를 E.O (ethylene oxide) gas를 이용하여 멸균하였다. 실험 진행 1시간 전 저온장치(FHK, Japan) 온도를 5°C로 유지하며 스트로 주입기와 밀봉기를 넣어놓고, 간이동결박스(27.5 × 42 × 17.5 cm)에 액체질소를 담아 동결박스 내부를 미리 냉각하였다.

닭 정액은 15 ml 코니컬튜브에 채취하여 얼음이 담긴 보온통에 담아 15분 내로 실험실로 이송하였다. 5°C 저온장치로 샘플을 옮긴 후 원정액 일부 정자를 분석하고 나머지 원정액은 15 ml 코니컬 튜브 4개에 동량으로 분주하여, Lake-Ravie medium 희석제를 각각 원정액과 1 : 1로 천천히 1차 희석을 해주었다. 10분간 안정화 후 최종량과 동량으로 2차 희석을 진행하였다. 동결보호제인 glycerol은 최종 농도가 8% (v/v)가 되도록 희석하였으며[14], valine 처리는 최종 농도가 0, 5, 10, 15 mM이 되도록 준비하였다. 희석된 정액을 스트로에 주입 후 밀봉하여 20분간 안정화를 유도하고 간이동결박스에 채워진 액체질소를 채운 후 액체질소로부터 4 cm 위에 스트로를 유지하여 기화되는 액체질소에 노출하였다. 뚜껑을 덮고 30분간 예비동결을 진행한 후, -196°C 액체질소에 침지하여 동결 보존하였다[19].

2.4 정자 성상 분석

동결 전 정자 분석을 위해 신선정액 채취 후 CASA (Computer Assisted Sperm Analysis) 프로그램을 통해 기본적인 정자 성상 분석을 진행하였다. 원정액을 정액희석제 40배로 희석한 후 피펫을 이용하여 3 µl을 채취한 후 37°C로 미리 가온한 Leja slide chamber (IMV technologies)에 놓고 정자를 분석하였다. 동결용해 후 정자분석을 위해 동결정액이 담겨있는 스트로를 액체질소에서 꺼내 5°C 항온수조에 2분간 용해하였다[7]. 용해한 정액을 1.5 ml 튜브에 옮긴 후 15배 희석하였다. 피펫을 이용하여 희석한 정액에서 3 µl를 37°C로 미리 가온한 Leja slide chamber에 놓고 정자를 분석하였다.

2.5 침체 온전성 조사

동결정액이 담겨있는 스트로를 액체질소에서 꺼내 5°C 항온수조에 2분간 용해하였다. 1.5 ml 튜브에 옮긴 후 BPSE-I 정액희석제 80 µl를 희석하여 슬라이드 글라스에 10 µl를 떨어뜨려 도말 표본(smear)을 만들었다. 건조 후 3.7% paraformaldehyde에 슬라이드를 1분간 담근 후 물기를 제거하고 Diff Quick stain kit 내에 있는 eosin 염색 시약 용액에 수직으로 2~3초간 담근 후 물기를 닦아냈다. 0.08% Coomassie Brilliant Blue R-250 (CBB) 용액에서 수직으로 5~6초 담갔다 물기를 닦아내어 건조시켰다. 과도한 염색을 방지하기 위해 증류수에 1~2초간 침지한 후 건조하였다. 슬라이드는 OLYMPUS IX71 현미경을 사용하여 Brightfield에서

오일렌즈를 활용하여 1000배로 관찰하였다. 침체의 온전성은 정상, 비정상으로 판단하였다[18,20].

2.6 동결정액의 수정률 및 부화율 조사

산란계인 레그혼의 산란기록과 생식기의 외부 형태가 정상인 암컷 20수를 선정하여 대조구 10수, 처리구 10수를 배치하였다. 계사의 내부 온도는 20~23℃를 유지하였다. 인공수정은 오후 2시에 일주일에 두 번씩 3주간 인공수정을 진행하였으며, 첫째 주에는 일주일에 세 번 인공수정을 진행하였다.

20% ethanol이 함유된 증류수 보온통에 넣어 5℃로 준비하고, 액체질소에서 동결정액 스트로를 꺼내 5℃에서 약 2분간 용해하였다[7]. BPSE-I 희석제를 정액이 담긴 15 ml 튜브에 1 : 1 희석하였다. 원심분리기를 이용하여 550 g 조건에서 9분간 처리하여 상층액을 제거하였다. 정자만 남은 15 ml 튜브에 BPSE-I 희석제를 1 : 1로 희석하여 정자를 풀어주었다. 희석한 최종량을 1/20로 나누어 개체당 70 μ l씩 2번 질 3~4 cm 깊이에 100~200 sperm/ml 농도로 주입하였다.

첫 인공수정 후 2일째부터 산란하는 알을 집란하여 13℃, 70%를 유지하여 보관하고, 일주일 단위로 부화기에 입란하였다. 부화기(SS-060, 새실산업)의 온습도는 37.8℃, 60~70%를 유지하며, 2시간마다 전란하였다. 입란 7일 차에 암실에서 검란을 진행하고, 검란 결과 유정란과 무정란을 선별하여 수정률을 조사하였으며, 무정란은 폐기하였다. 입란 18일차에 전란을 정지시킨 부화기로 옮겨주었으며, 온습도는 37.8℃, 60~70%를 유지하였다. 입란 21일 차에 부화율을 조사하였으며, 부화하지 않은 유정란은 발생증지로 간주하였다[5,21].

2.7 통계 분석

본 연구에서 분석한 결과 중 정자 성상 결과는 Prism software (GraphPad, La Jolla, CA, USA)를 이용하여 일원배치분산분석(One-way ANOVA) test를 실시하여 Tukey's HSD (honestly significant difference) test로 유의성($p < 0.05$)을 검증하였으며, 그 외 모든 데이터는 Prism software (GraphPad, La Jolla, CA, USA)를 이용하여 Student's t-test로 검증하였다. 모든 데이터는 mean \pm S.E.로 표현하였다.

3. 결과

3.1 valine 첨가가 동결융해 후 정자 활력에 미치는 영향

동결정액 용해 후 정자 운동 특성을 CASA program을 통해 평가하였다(Fig. 1). 전체적인 지표에서 valine 첨가 농도가 증가할수록 정자 활력이 증가되다가 10 mM 이상의 농도에서 감소되는 것을 확인할 수 있었다. 운동성(motility) 지표에서 대조구에 비해 valine 10 mM 첨가 시 운동성이 높게 나타났다($p < 0.0001$, Fig. 1a). 직진 운동(mobile progressive)을 하는 정자는 대조구에 비해 valine 10 mM 처리구에서 유의적으로 높은 비율로 존재하였다($p < 0.0001$, Fig. 1b). 빠른 직진 운동(rapid progressive)을 하는 정자의 비율은 대조구에 비해 valine 10 mM 처리구에서 높은 비율로 확인되었다($p = 0.0002$, Fig. 1c). 그 외 VCL ($p = 0.0826$), VSL ($p = 0.0540$), VAP ($p = 0.0933$), LIN ($p = 0.1331$), STR ($p = 0.0894$), BCF ($p = 0.4138$), WOB ($p = 0.3431$), ALH ($p = 0.7639$) 지표에서 유의적인 차이는 없었으나 대조구에 비해 valine 10 mM 처리구에서 수치적으로 높은 값을 나타냈다.

3.2 정액희석제 valine 첨가가 동결융해 후 정자의 침체에 미치는 영향

오계 정자의 침체 온전성을 정상과 비정상(짧음, 절단)으로 구분하여 정자수의 비율을 조사하였다(Fig. 2). Valine 0, 10 mM 처리구에서 정상 침체의 비율은 각각 78.7 \pm 4.8, 92.8 \pm 1.0%로 나타났다($p = 0.0156$, Fig. 3).

3.3 동결정액 활용 인공수정 시 수정률 및 부화율에 미치는 영향

대조구는 137개를 입란하여 71개가 수정되어 수정률 51.9 \pm 3.9%를 나타내었고, 처리구는 151개를 입란하여 58개가 수정되어 수정률 38.4 \pm 2.2%를 나타내었으며 두 그룹간 유의성을 발견하지 못했다. 입란 21일째에 부화율을 조사했으며, 대조구는 수정된 유정란 71개 중에서 61개 부화하여 수정률 대비 부화율은 85.6 \pm 1.8%, 산란 대비 부화율은 44.5%로 나타났다(Table 1). 처리구는 수정된 유정란 151개 중에 53개 부화하여 수정률 대비 부화율은 90.8 \pm 3.9%, 산란 대비 부화율은 35.1%로 나타났다. 발생증지란의 비율은 대조구에서 14.1%, 처리구에서 8.6%로 조사되었으며, 유의적인 차이는 없었다.

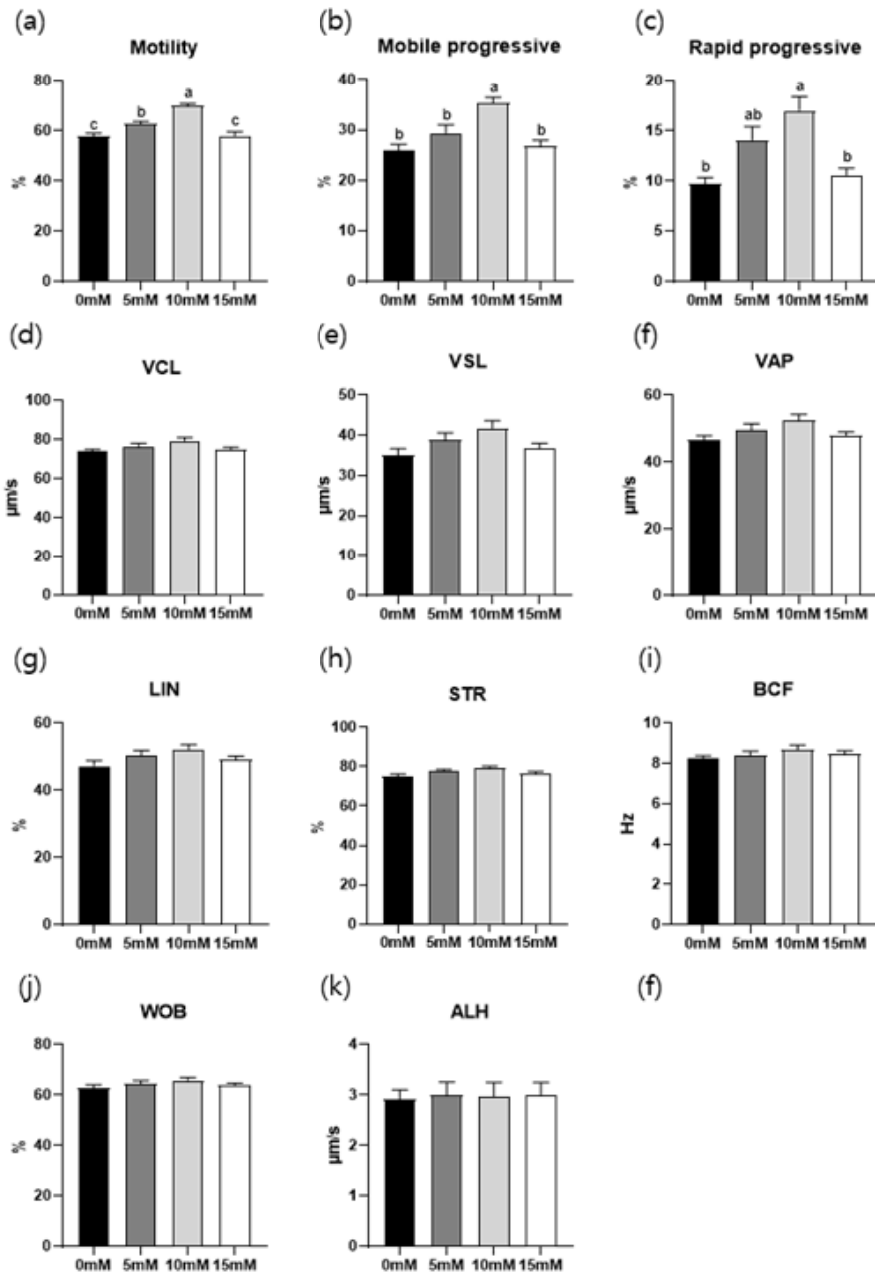


Fig. 1. Sperm characteristics according to the concentration of valine added in frozen semen. (a) Motility; motile sperm, (b) Mobile progressive; mobile progressive sperm, (c) Rapid progressive; rapid progressive sperm, (d) VCL; curvilinear velocity, (e) VSL; straight line velocity, (f) VAP; average path velocity, (g) LIN; linearity (VSL/VCL), (h) STR; straightness (VSL/VAP), (i) BCF; flagellar beat cross frequency, (j) WOB; wobble and (k) ALH; amplitude of lateral head. Comparisons were performed using a one-way ANOVA statistical analysis followed by a Tukey's HSD test. Different letters mean significant differences at $p < 0.05$. Error bars denote standard error of the mean (SEM).

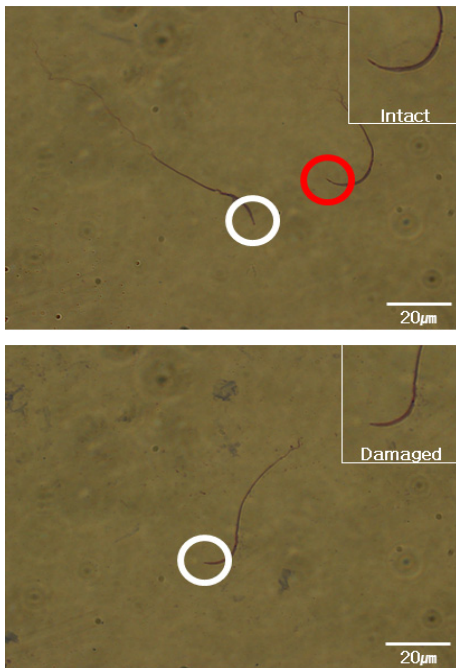


Fig. 2. The circles indicate the type of acrosome. White and red represent damaged and intact acrosome, respectively.

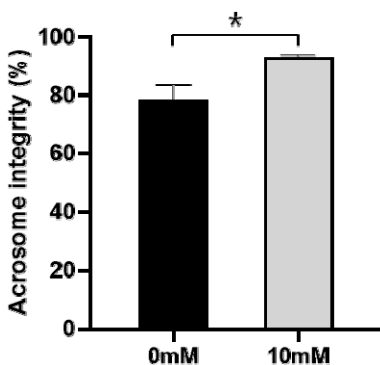


Fig. 3. Acrosome integrity of sperm according to the concentration of valine added in frozen semen. Comparisons were performed using a Student's t-test. Significant differences are denoted by an asterisk (*). * = $p < 0.05$. Error bars denote standard error of the mean (SEM).

4. 고찰

닭 정액 동결은 포유류에 비해 산업적 활용성이 낮으며, 가금의 특성상 소수의 종계만으로 집단의 특성을 유지할 수 있기 때문에 국내 가금 산업에서는 동결정액의 필요성 및 활용성이 저조할 실정이다. 하지만, 매년 지속적으로 발생하는 고병원성인플루엔자 같은 악성질병으로부터 우리나라 고유의 품종을 지켜내기 위해서는 동결유전자원의 효율을 높이는 연구가 반드시 필요하다. 조류 정액에 관한 많은 연구가 이루어졌음에도 불구하고 현재까지 동결 보존과 관련된 생물학적 기반에 대한 지식이 확립되지 않은 상태이다. 그 이유는 신선한 정액을 사용하여 수정하는 것이 동결정액에 비해 효과가 뛰어나 동결에 관한 기술 개발 연구가 제한적이기 때문이다[22]. 이를 위해 재래종 오계의 생식세포인 정자를 동결유전자원으로서 가치를 높이기 위해 valine 첨가에 따른 동결정액 용해 후 정자 성장, 첨체 온전성(acrosome integrity), 수정률 및 부화율에 미치는 영향을 조사하였다.

오계 정액의 동결정액을 생산하기 위해 Lake-Ravie medium 정액희석제에 아미노산인 valine을 0, 5, 10, 15 mM 농도로 각각 첨가하여 그 효과를 평가하였다. 실험 결과 용해 후 valine 5, 10, 15 mM 처리구가 대조구에 비해 정자의 운동성이 높게 나타났다. 이는 Spanish 계통의 Red Villafranquina 품종에서 정액 희석제에 valine을 첨가하여 동결·용해하였을 때 정자 활력에서는 유의적인 차이를 보이지 않는다는 연구 결과와 상이한 결과라고 판단된다[14]. 또한, 본 연구 결과를 토대로 재래종 오계의 정액에 valine 15 mM을 첨가하였을 때 정자의 활력이 낮아지는 경향을 확인하였으며, 이는 valine 10 mM을 초과하는 농도에서는 정자 세포에 손상을 일으킬 가능성이 있는 것으로 사료된다.

정자의 전체적인 운동성뿐만 아니라 정자의 직진 운동, 직진 속도(VSL), 선형성(LIN) 등 정자의 활력은 수정률과 밀접한 관련이 있다[23-26]. 본 실험 결과, 정자 성장에 관련해서 앞서 언급한 모든 해당 지표에서 대조구에 비해 10 mM 처리구에서 수치적으로 높은 결과를 나

Table 1. Fertility and hatchability of artificial insemination using thawed semen of Ogye

Group	No. of Used Eggs (laid for 21 days)	No. of Fertilized eggs (Mean±S.E. %)	No. of Hatched eggs (Mean±S.E. %)
Control	137	71 (51.9 ± 3.9)	61 (85.6 ± 1.8)
Treatment	151	58 (38.4 ± 2.2)	53 (90.8 ± 3.9)

Comparisons were performed using a Student's t-test. There was no significant difference between groups.

타냈지만 일부는 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 직진 운동을 하는 정자의 비율 증가가 전체적인 운동성을 높이는 결과에 기여한 것으로 생각되지만, 각 처리구 내에서 편차로 인해 그룹간 정자의 활력을 판단하는 여러 지표에서 유의성을 갖지 못하였다. 이와 유사하게, 동결 보호제로서 amide 계열을 활용하여 오계 정자를 동결-용해 한 결과, 정자의 생존율이 $36.56 \pm 4.66\%$ 에서 $52.1 \pm 5.52\%$ 로 다양하게 나타나고 이는 정자 운동성에 영향을 미치는 것으로 보고하였다[19].

다양한 운동성을 가지는 정자의 특징으로 인해 그룹 내에서도 편차가 크게 나타나는 것으로 사료되며, 이는 정자의 구조에서 원인을 찾아볼 수 있다. 포유류의 정자와 달리 조류의 정자는 두부가 얇고 긴 형태의 창형 구조를 띠고 있으며, 중편부와 미부의 구별이 명확하지 않은 특징을 가지고 있다[6,27]. 연구에 따르면 폴란드 Black-and-White breed의 소와 Polish Landrace breed의 돼지 정자의 평균 총 길이가 각각 70.21, 53.28 μm 라고 보고하였고, Surai 와 Wishart[28] 연구에 따르면 닭에서 백색레그혼(White Leghorn), 로드아일랜드레드종(Rhode Island red) 정자의 평균 총 길이는 각각 80.1 μm , 82.07 μm 이며, 칠면조의 경우 80.69 μm 라고 보고하였다. 이와 같이 닭은 포유류에 비해 정자의 길이가 긴 특성을 가지고 뱀이 이동하는 형태(snake like movement)로 움직이기 때문에 정자의 움직임을 정확하게 판단하는 것이 어려우며[27], 정자의 길이가 긴 특징으로 인해 다른 축종에 비해 동결에 더 취약한 특성을 가지고 있다[29].

정자의 수정능력은 농도, 형태, 운동성 같은 핵심 지표에 의해 결정된다. 이러한 지표들에서 정자의 운동성과 형태는 수정과 가장 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있다[30]. 닭의 경우, 침체와 두부가 구별되어 있고 세포소기관에 대한 염색도가 비슷하여 구별하기 힘든 특징이 존재하며, 침체의 크기가 매우 작아 100배 이상의 오일렌즈로 관찰하여야 손상도를 확인할 수 있다[18].

침체반응은 정자가 난자에 침투하여 수정을 시작하기 위해 겪어야만 하는 과정으로, 세포막 운동으로 세포 내 물질을 세포 밖으로 방출하는 현상인 엑소시토시스(exocytosis)의 한 과정이다[31]. Acrosome cap reaction이 일어난 정자는 IPVL (inner perivitelline layer)을 침투하여 다정자(polyspermy)가 암컷의 전핵(pronucleus)으로 접근할 수 있게 한다[31,32]. 가금의 정자에서 침체는 정자의 수정 능력을 추정하는 방법으로 간주되고 있다. 그러나 닭 인공수정에 활용된 정액에서

정자의 활력이 비교적 낮더라도, 수정란을 생산할 수 있음이 보고되었으므로 활력도 자체가 수정능력을 결정하는 것은 아닌 것으로 판단된다[33,34]. 닭에서 침체가 일부 짧아진 형태의 손실이 생체 내에서 수정능력을 가질 수 있는지 현재까지 과학적으로 밝혀진 것이 없지만 본 실험에서 동결정액 용해 후 15분 내로 원심분리하여 생체 내 주입할 경우 일부 회복할 수 있는 능력을 가질 수도 있거나 침체의 온전한 비율이 일정 수준 이상에서는 인공수정에 문제가 없을 수 있다고 판단된다. 이는 침체 온전성이 처리구에서 $92.8 \pm 1.0\%$, 대조구에서 $78.7 \pm 4.8\%$ 로 나타난 결과가 뒷받침해줄 수 있다고 판단된다. 이러한 결과는 손상된 침체는 단순한 수정능력 결정을 판단하는 지표가 아닐 수 있으며, 선행연구를 뒷받침한다고 판단된다.

조류의 암탉은 정자를 저장하는 구조인 SSTs (sperm storage tubules)를 가지고 있으며, 이 외에도 박쥐, 뱀 등이 있다[35]. 조류는 두꺼운 난관 벽을 가지고 있어 난관에서 정자의 움직임을 관찰하는 것은 불가능하다. 자연교배 및 인공수정을 통해 주입된 정자는 질에 저장되지만 80% 이상이 질 밖으로 배출되는 경우도 보고되고 있다[36]. 또한 1~7% 정자만이 SSTs에 들어가며 SSTs에 상주하는 정자는 수정과정에 참여할 것으로 보고되고 있지만, SSTs에서 정자가 유지되는 메커니즘은 아직 밝혀지지 않았다. SSTs에 저장된 정자는 일반적으로 움직이지 않아서 ATP 소비가 감소하여 대사 활동이 정지된 것으로 보고되고 있으며, 이는 정자 호흡으로 인해 발생하는 활성산소종의 생산이 감소되어 SSTs에 상주하는 정자에 대한 손상을 줄일 수 있다[37]. 성공적인 수정률 및 부화율을 얻기 위해서는 인공수정을 통해 SSTs에 동결용해된 정자가 장기간 보존될 수 있는 효율이 높아야 한다[18,38]. 닭은 매일 배란하는 시점에 SSTs에 저장된 정자가 다시 운동성과 수정능력을 회복하여야 배란된 알을 수정시킬 수 있기에 닭 정자에서는 장수성이 중요하다[18].

동결보호제(cryoprotectant)는 세포의 동결과정에서 세포 내부 미세소관의 손상을 막기 위해서 첨가하는 물질로 크게 침투성과 비침투성 보호제로 나누어진다. 본 실험에서 사용한 glycerol은 침투성 동결보호제로서 세포 내 ice crystal 형성을 방지하기 위해 세포 내 수분을 탈수하도록 하며, 세포질 내로 침투하여 수분 대신 세포를 보호함으로써 손상을 방지한다[39]. 하지만, glycerol은 동결보존으로 사용 가능한 일정 농도에서 암컷의 불임을 일으켜 피임 효과를 가지는 것으로 밝혀졌으며[40], 닭 정액에 2% 이상의 glycerol을 첨가하여 동결 시 정자

의 수정능력이 저하된다고 보고되었다[5,41-43]. 이에 따라, 인공수정 시 glycerol을 제거해 주어야 한다고 보고하였다[5,41]. Glycerol 독성 문제에 관한 많은 연구 결과가 제시되어 있지만, 본 실험에서 도출된 수정률 결과에서는 원심분리를 통한 glycerol 제거 후 정액 사용 시 3주간의 인공수정에서 수정란이 생산되는 것을 확인하였다.

본 연구 결과를 종합해보면, 오계 정액 동결 시 정액 희석체에 valine 10 mM을 첨가하였을 때 *in vitro* 상에서 정자의 활력과 첨체의 온전성에서 대조구에 비해 긍정적인 결과를 나타냈다. 하지만, 닭 인공수정 진행 결과, *in vitro*와 다르게 두 그룹 간 수정률 및 부화율에 차이가 없었다. 따라서, valine 10 mM 첨가가 닭 정액의 동결보존에 효과가 있으나, SSTs에 도달하여 수정에 활용되는 전체 정자수에는 큰 영향을 미치지 않는다고 판단된다.

5. 결론

본 연구는 재래닭 오계 동결정액의 용해 후 정자 복원율을 향상시키기 위해 정액 희석체에 valine을 첨가하였을 때 동결·용해 후 정자 성상, 첨체, 수정률 및 부화율에 미치는 영향을 조사하고자 하였다. 동결·용해 후 정자 성상을 평가하기 위해 정자의 운동성, 직진 속도, 직진 운동 등을 포함한 다양한 지표에 대한 정자 분석을 실시하였고, 세부적 평가를 위하여 첨체의 온전성(acrosome integrity) 정도를 평가하였다. 실험 결과, 정자의 운동성(motility)은 대조구에 비해 valine 10 mM 처리구에서 더 높은 결과를 나타내었고(57.9 ± 1.0 vs. 69.9 ± 0.8 , $p < 0.0001$), 직진 운동성(mobile progressive)은 대조구에 비해 10 mM 처리구에서 더 높은 결과가 나타났다(25.8 ± 1.2 vs. $35.3 \pm 1.1\%$, $p < 0.0001$). 빠른 직진 운동성(rapid progressive)은 valine 10 mM 처리구에서 유의적으로 높은 수치를 나타냈다($p = 0.0002$). 또한, 첨체의 온전성 조사 결과 valine 10 mM 처리구에서 정상 첨체의 비율이 유의적으로 높았다($p < 0.05$). 그러므로, 오계 정액 동결 시 valine 10 mM 첨가가 *in vitro* 상에서 용해 후 정자 성상에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 파악되었다. 동결정액을 활용한 인공수정을 수행하였을 때, 대조구, 처리구에서 수정률이 각각 51.9 ± 3.9 , $38.4 \pm 2.2\%$ 로 나타났으며 유의적인 차이는 확인되지 않았다. 따라서, valine 10 mM 첨가는 세포의 동결저항성에 긍정적인 효과를 보였으나 sperm storage

tubules (SSTs)에 도달하여 수정에 활용되는 정자 수에는 큰 영향을 미치지 않을 수 있다고 판단된다.

References

- [1] J. A. Long, "Avian semen cryopreservation: what are the biological challenges?", *Poultry Science*, Vol.85, pp.232-236, 2006.
DOI: <https://doi.org/10.1093/ps/85.2.232>
- [2] E. Blesbois, "Biological features of the avian male gamete and their application to biotechnology of conservation", *The Journal of Poultry Science*, Vol.49, No.3, pp.141-149, 2012.
DOI: <https://doi.org/10.2141/ipsa.011120>
- [3] P. Thananurak, N. Chuaychu-Noo, A. Thélie, Y. Phasuk, T. Vongpralub, & E. Blesbois, "Sucrose increases the quality and fertilizing ability of cryopreserved chicken sperms in contrast to raffinose", *Poultry Science*, Vol.98, No.9, pp.4161-4171, 2019.
DOI: <https://doi.org/10.3382/ps/pez196>
- [4] S. Dutta, P. Sengupta, S. Das, P. Slama, & S. Roychoudhury, "Reactive Nitrogen Species and Male Reproduction: Physiological and Pathological Aspects", *International Journal of Molecular Sciences*, Vol.23, No.18, pp.10574, 2022.
DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms231810574>
- [5] J. S. Choi, S. W. Kim, D.-B. Shin, Y.-G. Ko, Y.-J. Do, D.-H. Kim, ... S.-B. Park, "Effects of N-Methylacetamide on the Viability, Fertility and Hatchability of Cryopreserved Ogye (Korean Native Black Fowl) Semen", *Korean Journal of Poultry Science*, Vol.39, No.4, pp.291-295, 2012.
DOI: <https://doi.org/10.5536/kips.2012.39.4.295>
- [6] S. W. Kim, M. S. Kim, Y. Yu, C.-L. Kim, I. S. Jeon, & C. Kim, "The Effects of Supplementation of BSA or Fatty Acid Free BAS on the Motility of Fresh or Cryopreserved Rooster Spermatozoa", *Korean Journal of Poultry Science*, Vol.44, No.1, pp.59-65, 2017.
DOI: <https://doi.org/10.5536/kips.2017.44.1.59>
- [7] S. W. Kim, Choe, S. R., Y.-G. Ko, & I. S. Jeon, "Motility of Rooster Spermatozoa under Different Thawing Conditions", *The Korean Society of Poultry Science*, Vol.45, No.4, pp.237-244, 2018.
DOI: <https://doi.org/10.5536/kips.2018.45.4.237>
- [8] A. B. Khiabani, G. Moghaddam, & H. D. Kia, "Effects of adding different levels of Glutamine to modified Beltsville extender on the survival of frozen rooster semen", *Animal Reproduction Science*, Vol.184, pp.172-177, 2017.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2017.07.013>
- [9] F. W. Lorenz, & A. Tyler, "Extension of Motile Life Span of Spermatozoa of the Domestic Fowl by Amino Acids and Proteins", *Experimental Biology and Medicine*, Vol.78, No.1, pp.57-62, 1951.

- DOI: <https://doi.org/10.3181/00379727-78-18973>
- [10] A. Fattah, M. Sharafi, R. Masoudi, A. Shahverdi, V. Esmaeili, & A. Najafi, "L-Carnitine in rooster semen cryopreservation: Flow cytometric, biochemical and motion findings for frozen-thawed sperm", *Cryobiology*, Vol.74, pp.148-153, 2017.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2016.10.009>
- [11] S. Lotfi, M. Mehri, M. Sharafi, & R. Masoudi, "Hyaluronic acid improves frozen-thawed sperm quality and fertility potential in rooster", *Animal Reproduction Science*, Vol.184, pp.204-210, 2017.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2017.07.018>
- [12] P. Thananurak, N. Chuaychu-Noo, A. Thélie, Y. Phasuk, T. Vongpralub, & E. Blesbois, "Sucrose increases the quality and fertilizing ability of cryopreserved chicken sperms in contrast to raffinose", *Poultry Science*, Vol.98, No.9, pp.4161-4171, 2019.
DOI: <https://doi.org/10.3382/ps/pez196>
- [13] P. Thananurak, N. Chuaychu-Noo, A. Thélie, Y. Phasuk, T. Vongpralub, & E. Blesbois, "Different concentrations of cysteamine, ergothioneine, and serine modulate quality and fertilizing ability of cryopreserved chicken sperm", *Poultry Science*, Vol.99, pp.1185-119, 2019.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.10.040>
- [14] B. Bernal, N. Iglesias-Cabeza, U. Sánchez-Rivera, A. Toledano-Díaz, C. Castaño, S. Pérez-Cerezales, A. Gutiérrez-Adán, A. López-Sebastián, P. García-Casado, M. G. Gil, H. Woelders, E. Blesbois, & J. Santiago-Moreno, "Effect of supplementation of valine to chicken extender on sperm cryoresistance and post-thaw fertilization capacity", *Poultry Science*, Vol.99, No.12, pp.7133-7141, 2020.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.09.060>
- [15] S. Zhang, X. Zeng, M. Ren, X. Mao, & S. Qiao, "Novel metabolic and physiological functions of branched chain amino acids: a review", *Journal of Animal Science and Biotechnology*, Vol.8, No.1, pp.1-12, 2017.
DOI: <https://doi.org/10.1186/s40104-016-0139-z>
- [16] S. M. Hutson, & T. R. Hall, "Identification of the mitochondrial branched chain aminotransferase as a branched chain alpha-keto acid transport protein", *Journal of Biological Chemistry*, Vol.268, No.5, pp.3084-3091, 1993.
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)53662-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)53662-0)
- [17] J. Santiago-Moreno, & E. Blesbois, "Functional Aspects of Seminal Plasma in Bird Reproduction", *International Journal of Molecular Sciences*, Vol.21, No.16, pp.5664, 2020.
DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21165664>
- [18] S. W. Kim, J.-Y. Lee, C.-L. Kim, Y.-G. Ko, & S. S. Lee, "Effects of Temperature, Diluents, and Plastic Tubes on the Motility and Acrosome Intactness of Fresh Rooster Semen", *The Korean Society of Poultry Science*, Vol.48, No.4, pp.185-191, 2021.
DOI: <https://doi.org/10.5536/kips.2021.48.4.185>
- [19] J. S. Choi, D.-B. Shin, Y.-G. Ko, Y.-J. Do, M. Byun, S.-B. Park, ... S. W. Kim, "Effects of Kinds of Cryoprotectants on the Characteristics of Frozen Fowl Semen", *The Korean Society of Poultry Science*, Vol.40, No.3, 171~178, 2013.
DOI: <https://doi.org/10.5536/kips.2013.40.3.171>
- [20] S. W. Kim, S. M. Shin, Y. h. Yu, J.-Y. Lee, C.-L. Kim, Y.-G. Ko, "Acrosome staining with Coomassie brilliant blue G or R on the horse spermatozoa", *Journal of the Korea Academia-Industrial cooperation Society*, Vol.21, No.9, pp.57-63, 2020.
DOI: <https://doi.org/10.5762/KAIS.2020.21.9.57>
- [21] H. K. Kim, J. C. Na, C. H. Choi, B. G. Jang, B. D. Sang, S. J. Leel, M. H. Han, C. S. Park, K.s. Lee, "Effects of Liquid Rooster Sperm on Reproductive Ability in Chicken", *Korean Journal of Poultry Science*, Vol.30, No.2, pp.129-134, 2003.
- [22] G. Paventi, M. Di Iorio, G. Rusco, A. P. Sobolev, S. Cerolini, E. Antenucci, M. Spano, L. Mannina, & N. Iaffaldano, "The Effect of Semen Cryopreservation Process on Metabolomic Profiles of Turkey Sperm as Assessed by NMR Analysis", *Biology*, Vol.11, No.5, pp.642, 2022.
DOI: <https://doi.org/10.3390/biology11050642>
- [23] T. Suzuki, H. Shibahara, H. Tsunoda, Y. Hirano, A. Taneichi, H. Obara, S. Takamizawa, & I. Sato, "Comparison of the Sperm Quality Analyzer IIC variables with the computer-aided sperm analysis estimates", *International Journal of Andrology*, Vol.25, No.1, pp.49-54, 2002.
DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2605.2002.00324.x>
- [24] C. L. Barratt, M. J. Tomlinson, & I. D. Cooke, "Prognostic significance of computerized motility analysis for in vivo fertility", *Fertility and Sterility*, Vol.60, No.3, pp.520-525, 1993.
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(16\)56171-8](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(16)56171-8)
- [25] R. J. Aitken, "Sperm function tests and fertility", *International Journal of Andrology*, Vol.29, No.1, 69-108, 2006.
DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.2005.00630.x>
- [26] M. J. Paston, S. Sarkar, R. P. Oates, & S. Z. Badawy, "Computer-aided semen analysis variables as predictors of male fertility potential", *Archives of Andrology*, Vol.33, No.2, pp.93-99, 1994.
DOI: <https://doi.org/10.3109/01485019408987809>
- [27] D. R. Holsberger, A. M. Donoghue, D. P. Froman, & M. A. Ottinger, "Assessment of ejaculate quality and sperm characteristics in turkeys: sperm mobility phenotype is independent of time", *Poultry Science*, Vol.77, No.11, pp.1711-1717, 1998.
DOI: <https://doi.org/https://doi.org/10.1093/ps/77.11.1711>
- [28] P. F. Surai, & G. J. Wishart, "Poultry artificial insemination technology in the countries of the former USSR", *World's Poultry Science Journal*, Vol.52, No.1, pp.27-43, 1996.
DOI: <https://doi.org/10.1079/WPS19960003>

- [29] H. Izanloo, A. Soleimanzadeh, M. N. Bucak, M. Imani, & M. Zhandi, "The effects of varying concentrations of glutathione and trehalose in improving microscopic and oxidative stress parameters in Turkey semen during liquid storage at 5 °C", *Cryobiology*, Vol.101, pp.12-19, 2021.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2021.07.002>
- [30] A. Kowalczyk, E. Gałęska, A. Szul, K. Łącka, A. Bubel, J. P. Araujo, R. Ullah, & M. Wrzecińska, "Fertility Rate and Assessment of the Cytoprotective Capacity of Various Types of Holothuroidea Extracts on Spermatozoa", *Veterinary Sciences*, Vol.9, No.4, pp.189, 2022.
DOI: <https://doi.org/10.3390/vetsci9040189>
- [31] E. Mocé, I. Grasseau, & E. Blesbois, "Cryoprotectant and freezing-process alter the ability of chicken sperm to acrosome react", *Animal Reproduction Science*, Vol.122, No.3-4, pp.359-366, 2010.
DOI: <https://doi.org/10.1016/i.anireprosci.2010.10.010>
- [32] R. K. Bramwell, H. L. Marks, & B. Howarth, "Quantitative determination of spermatozoa penetration of the perivitelline layer of the hen's ovum as assessed on oviposited eggs", *Poultry Science*, Vol.74, No.11, pp.1875-1883, 1995.
DOI: <https://doi.org/10.3382/ps.0741875>
- [33] Jr. Howarth B, "Fertilizing ability of cock spermatozoa from the testis epididymis and vas deferens following intramaginal insemination", *Biology of Reproduction*, Vol.28, No.3, pp.586-590, 1983.
DOI: <https://doi.org/10.1095/biolreprod28.3.586>
- [34] S. W. Kim, A. R. Choi, C. Y. Choe, D. K. Kim, H.-H. Seong, J.-H. Kim, & C. D. Kim, "The Study of Estimation of Chromatin Abnormality of Ogye Rooster Sperm and Activity by Diff-Quik Staining Method", *Korean Journal of Poultry Science*, Vol.42, No.2, pp.109-116, 2015.
DOI: <https://doi.org/10.5536/kips.2015.42.2.109>
- [35] J. D. Ryoo, D. S. Kwak, "Sperm storage of the utero-vaginal glands in domestic hens", *Korean Journal of Veterinary Research*, Vol.30, No.4, pp.361-371, 1990.
- [36] M. R. Bakst. "Physiology and endocrinology symposium: role of the oviduct in maintaining sustained fertility in hens", *Journal of Animal Science*, Vol.89, No.5, pp.1323-1329, 2011.
DOI: <https://doi.org/10.2527/jas.2010-3663>
- [37] T. Sasanami, M. Matsuzaki, S. Mizushima, & G. Hiyama, "Sperm storage in the female reproductive tract in birds", *The Journal of Reproduction and Development*, Vol.59, No.4, pp.334-338, 2013.
DOI: <https://doi.org/10.1262/jrd.2013-038>
- [38] E. Blesbois, & J. P. Brillard, "Specific features of in vivo and in vitro sperm storage in birds", *Animal*, Vol.1, No.10, pp.1472-1481, 2007.
DOI: <https://doi.org/10.1017/S175173110700081X>
- [39] S.-H. Choi, M.-H. Ko, T.-Y. Kang, S.-R. Cho, Y.-S. Park, S.-A. Oh, "Change of Sperm Viability and Acrosome Integrity of Post-thawed Korean Jeju Black Bull Spermatozoa according to Glycerol Concentration", *Journal of Animal Reproduction and Biotechnology*, Vol.26, No.3, pp.187-193, 2011.
- [40] R. H. Hammerstedt, & J. K. Graham, "Cryopreservation of poultry sperm: the enigma of glycerol", *Cryobiology*, Vol.29, No.1, pp.26-38, 1992.
DOI: [https://doi.org/10.1016/0011-2240\(92\)90004-1](https://doi.org/10.1016/0011-2240(92)90004-1)
- [41] T. E. Allen, L. W. Bobr, "The fertility of fowl spermatozoa in glycerol diluents after intra-uterine insemination", *Poultry Science*, Vol.34, pp.1167-1169, 1955.
DOI: <https://doi.org/10.3382/ps.0341167>
- [42] W. J. Neville, J. W. Macpherson, & B. Reinhart, "The contraceptive action of glycerol in chickens", *Poultry Science*, Vol.50, No.5, pp.1411-1415, 1971.
DOI: <https://doi.org/10.3382/ps.0501411>
- [43] T. J. Sexton, "Effect of various cryoprotective agents on the viability and reproductive efficiency of chicken spermatozoa", *Poultry Science*, Vol.52, No.4, pp.1353-1357, 1973.
DOI: <https://doi.org/10.3382/ps.0521353>

이재영(Jae-Yeong Lee)

[정회원]



- 2017년 2월 : 건국대학교 동물자원과학과 (농학사)
- 2023년 2월 : 부산대학교 동물생명자원과학과 (이학석사)
- 2019년 9월 ~ 현재 : 농촌진흥청 국립축산과학원 농업연구사

<관심분야>

동물번식학, 생명공학

이가영(Ga Yeong Lee)

[정회원]



- 2022년 2월 : 공주대학교 동물자원학과 (농학사)
- 2022년 3월 ~ 현재 : 국립축산과학원 가축유전자원센터 산학연구원

<관심분야>

동물번식학, 생명공학

고 응 규(Yeoung-Gyu Ko)

[정회원]



- 1997년 8월 : 전북대학교 축산학과 (농학석사)
- 2004년 3월 : 동경대학교 수의학과 (수의학박사)
- 1994년 7월 ~ 현재 : 농촌진흥청 국립축산과학원 농업연구관

<관심분야>

가축번식학, 세포생화학, 생명공학

진 대 혁(Daehyeok Jin)

[정회원]



- 2018년 2월 : 전북대학교 동물자원과학과 (농학사)
- 2020년 9월 ~ 현재 : 농촌진흥청 국립축산과학원 농업연구사

<관심분야>

유전육종, 유전자원관리

조 상 래(Sang-Rae Cho)

[정회원]



- 2000년 2월 : 경상국립대학교 농업생명과학대학 축산학과 (농학석사)
- 2003년 8월 : 경상국립대학교 응용생명과학부 (이학박사)
- 2008년 1월 ~ 현재 : 농촌진흥청 국립축산과학원 연구관

<관심분야>

생명과학, 유전공학

이 세 영(Se Young Lee)

[정회원]



- 2018년 9월 ~ 현재 : 농촌진흥청 국립축산과학원 농업연구사
- 2021년 8월 : 경상국립대학교 응용생명과학부 (농학석사)

<관심분야>

번식생리학, 수정란이식

김 찬 란(Chan-Lan Kim)

[정회원]



- 1999년 2월 : 서울대학교 수의학과 (수의학 학사)
- 2005년 3월 : 일본 기후연합대학원 오비히로대학 수의공중보건학과 (응용수의학 박사)
- 2006년 7월 ~ 2014년 9월 : 농림축산검역본부 수의연구사
- 2014년 10월 ~ 현재 : 국립축산과학원 수의연구사

<관심분야>

예방수의학, 중소동물 임상, 수의공중보건학

김 승 창(Seungchang Kim)

[정회원]



- 1999년 2월 : 전남대학교 대학원 생물학과 (이학석사)
- 2009년 2월 : 전남대학교 대학원 생물학과 (이학박사)
- 2018년 2월 ~ 현재 : 농촌진흥청 국립축산과학원 농업연구사

<관심분야>

유전육종, 유전자원 관리

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

김 성 우(Sung Woo Kim)

[정회원]



- 1997년 8월 : 서울대학교 동물자원학과 (농학석사)
- 2002년 2월 : 서울대학교 동물자원학과 (농학박사)
- 1998년 1월 ~ 2002년 6월 : 한국 기초과학연구소 연구원
- 2022년 11월 ~ 현재 : 농촌진흥청 국립축산과학원 농업연구관

<관심분야>

가축번식학, 생명공학, 동결학

최 봉 환(Bong-Hwan Choi)

[정회원]



- 2000년 8월 : 전남대학교 낙농학과 (농학박사)
- 2002년 6월 ~ 2021년 2월 : 농촌진흥청 국립축산과학원 농업연구사
- 2021년 3월 ~ 현재 : 농촌진흥청 국립축산과학원 농업연구관

<관심분야>

동물유전체, 동물분자생리학

김 동 교(Dongkyo Kim)

[정회원]



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

<관심분야>

가축사양, 생명자원