



등록특허 10-2093146



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2020년05월04일

(11) 등록번호 10-2093146

(24) 등록일자 2020년03월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C12M 1/42 (2017.01)

(52) CPC특허분류

C12M 35/02 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2019-0045820

(22) 출원일자 2019년04월19일

심사청구일자 2019년04월19일

(56) 선행기술조사문헌

국내 등록특허공보 제10-0416388호(2004.01.31.)
1부.*

제품설명서, Electroporation & Electrofusion
Products, BTX Harvard Apparatus (2010/11) 1
부.*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

주식회사 엠케이바이오텍

대전광역시 유성구 대학로 99, 207호(궁동, 충남
대학교 농업생명공학과)

충남대학교 산학협력단

대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)

(72) 발명자

김민규

대전광역시 유성구 죽동로 321, 금성백조 예미지
102동 2401호

지국빈

인천광역시 연수구 한진로 68-1 중앙골든빌라 5동
101호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

길준연

전체 청구항 수 : 총 1 항

심사관 : 최수형

(54) 발명의 명칭 백금선을 이용한 체세포 핵이식란 생산용 전기 융합 바늘

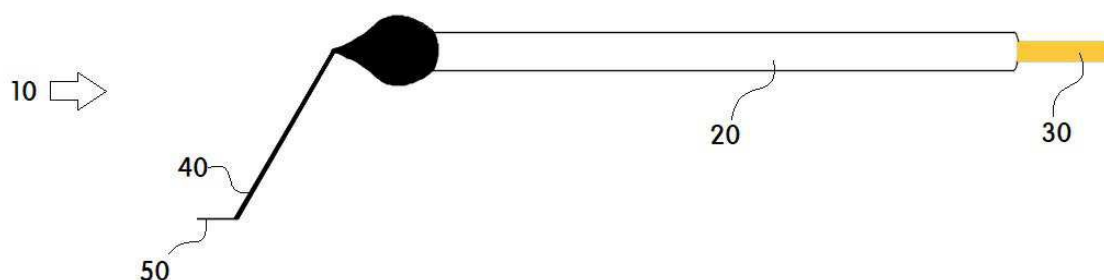
(57) 요약

본 발명은 전기 융합 바늘에 관한 것이다. 더욱 상세하게는 전기융합과정을 통해 체세포 핵이식 과정에서 난자내 세포지료가 복제할 체세포를 융합시키기 위한 전기 융합 바늘에 관한 것이다.

본 발명은 원통형 또는 다각형 등의 모양으로 제작가능한 전기융합바늘 지지대부(20);

(뒷면에 계속)

대표도 - 도1



상기 전기융합바늘 지지대부(20)의 측면에 구비된 전극연결부(30);

상기 전기융합바늘 지지대부(20)의 타측면에 구비된 막대부(40);

상기 막대부(50)의 타측 끝단에 구비된 접촉부(50);

상기 접촉부(50)을 탈부착 가능하게 구비된 납땀부(60);로 구성되는 것을 특징으로 하는 체세포 핵이식란 생산용 전기 융합 바늘(10)을 제공한다.

또한 본 발명은 상기 접촉부(50)는 백금선으로 된 것을 특징으로 하는 체세포 핵이식란 생산용 전기 융합 바늘(10)을 제공한다.

또한 본 발명은 상기 접촉부(50)는 상기 납땀부(60)을 통해 교체성이 있는 것을 특징으로 하는 체세포 핵이식란 생산용 전기 융합 바늘(10)을 제공한다.

본 발명은 체세포를 융합시킬 수 있는 전기융합바늘(10)에 있어서, 상기 전기융합바늘(10)은 원통형 또는 다각형 등의 모양으로 제작가능한 전기융합바늘 지지대부(20)를 구비하고 있으며 손으로 잡을 수 있는 특징이 있다.

상기 전기융합바늘 지지대부(20)의 측면에 구비된 전극연결부(30)는 상기 전기융합바늘(10)에 전원으로부터 전기를 공급받는 부분이다.

상기 전기융합바늘 지지대부(20)의 타측면에 구비된 막대부(50)는 타측 끝단에 구비된 접촉부(50)를 보호할 수 있다.

상기 접촉부(50)을 탈부착 가능하게 구비된 납땀부(60)는 납땀을 통해 접촉부(50)을 고정할 수 있으며 수명이 끝난 접촉부(50)을 제거할 수 있는 백금선을 이용한 체세포 핵이식란 생산용 전기 융합 바늘(10)을 제공하고자 한다.

(72) 발명자

박강선

세종특별자치시 보듬2로 43 도렘마을 15단지 1505동 902호

이지혜

대전광역시 유성구 지족로 240, 해랑숲마을 504동 703호

김근중

대전광역시 유성구 지족로 240 노은해랑숲마을5단지아파트 504동 703호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 816007-3

부처명 농림식품기술기획평가원

연구관리전문기관 충남대학교 산학협력단

연구사업명 기술사업화지원사업

연구과제명 사람의 난치성 질환모델 복제 개 주문생산 사업화

기 여 율 1/2

주관기관 충남대학교

연구기간 2016.08.25 ~ 2019.08.24

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 HI18C0660

부처명 한국보건산업진흥원

연구관리전문기관 충남대학교 산학협력단

연구사업명 국가치매극복기술개발사업

연구과제명 치매 대동물 질환 모델 개발

기 여 율 1/2

주관기관 충남대학교

연구기간 2018.04.30 ~ 2020.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

원통형 또는 다각형의 모양으로 제작 가능한 전기융합바늘 지지대부(20);

상기 전기융합바늘 지지대부(20)의 측면에 구비된 전극연결부(30);

상기 전기융합바늘 지지대부(20)의 타측면에 구비된 막대부(40);

상기 막대부(40)의 타측 끝단에 구비된 접촉부(50);

상기 접촉부(50)는 탈부착이 가능하게 구비된 납땀부(60)로 구성되어 접촉부(50)의 교체성의 기능이 있고,

상기 접촉부(50)는 백금선으로 되고,

상기한 지지대부(20)는 내부에 전선이 삽입되어 있고 전선은 전극연결부(30)에 연결되어 있어 전극연결부로부터 전원을 인가받게 되되,

상기한 지지대부의 재질은 폴리스티렌(polystyrene), 폴리프로필렌(polypropylene), 폴리에틸렌(polyethylene) 또는 폴리아미드(polyamide) 계열의 고분자 물질 100중량부에 기능성 첨가물 0.5~2 중량부 혼합하여 구성되되,

상기한 기능성 첨가물은 디에틸렌 글리콜 100중량부에 말레익언하이드라이드 5~10중량부, 부틸아크릴모노머 1~5 중량부, 수산화알루미늄 2~5중량부, 흑연 2~5중량부, 나트륨디옥틸설포석시네이트 1~5중량부, 셀룰로브 아세테이트 0.1~1.5 중량부를 혼합하여 조성하여 전선에 작용하는 전기적인 영향을 최소화시키는 기능을 수행하고,

상기 접촉부(50)의 내경은 40 ~ 250 마이크로미터가 되는 것을 특징으로 하는 체세포 핵이식란 생산용 전기 융합 바늘(10).

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 전기 융합 바늘에 관한 것이다. 더욱 상세하게는 전기융합과정을 통해 체세포 핵이식 과정에서 난자 내 세포지료가 복제할 체세포를 융합시키기 위한 전기 융합 바늘에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 일반적으로 체세포 복제 기술은 우수형질 개체 확보, 고부가가치 생체반응기 동물의 생산, 질환 모델 동물의 생산, 멸종 위기 동물의 보존 등 그 응용 분야의 범위가 매우 넓다.

[0004] 또한, 체세포 복제 기술을 적용하면 환자 체세포 유래 배반포에서 배아 줄기 세포주를 수립할 수 있으며, 이렇게 수립된 배아 줄기 세포로부터 치료에 필수적인 세포를 분화시킬 경우, 환자의 면역 거부 반응을 피할 수 있다는 장점이 있기 때문에 임상적 이용성이 높다(Trounson A, Reprod Fertil Dev 10:121-125(1998)).

[0005] 이러한 체세포 복제 기술의 근간은 이가 염색체를 가진 공여핵 체세포와, 유전 물질을 가진 핵이 제거된 수핵난자의 융합이다. 공여핵이 이식될 수핵난자는 체세포와 융합된 후 발생할 수 있는 능력을 보유하여야 하는데, 이러한 발생능을 가지기 위해서는 제2차 감수분열 중기(난자가 체내에서 자연적으로 배란되는 시기)까지 난자의

발육이 진행된 수핵난자를 사용해야 한다. 이를 위하여 체외에서 인위적으로 난자를 배양하거나, 호르몬 처치를 통하여 체내에서 난자를 발육시켜 사용한다.

- [0006] 회수된 난자는 체세포와 융합시키기 전 탈핵 과정을 거치게 되는데 주로 물리적인 방법을 이용하여 난자의 핵(제2차 감수분열 중기관이 존재하는 부분의 세포질)을 제거한다.
- [0007] 상기 핵이식과 탈핵시 탈핵율은 체세포 복제 기술에 있어서 중요한 변수이며, 특히 그 개체수가 매우 한정된 동물의 경우 또는 난자를 얻기가 어려운 동물일 경우, 난자의 효과적 이용은 개체생산과 직결되는 요소이기 때문에 효과적인 탈핵은 매우 중요하다.
- [0008] 지금까지 알려진 수핵난자의 탈핵 방법은 사이토칼라신 등의 약물로 난자를 처리하여 세포 내에 존재하는 세포골격 손상을 최대한 방지한 상태에서 미세조작기를 이용한 스퀴징(squeezing), 흡입법(aspiration) 등 특수 조작에 의하여 이루어진다.
- [0009] 그럼에도 불구하고, 상기 탈핵 과정에서는 기계적 조작에 의한 세포질 충격 및 일부 세포소기관 손실, 핵 유전물질 제거 시 수반되는 세포질 소실, 그리고 투명대, 세포막 및 난자 전체에 분포하는 세포골격 구조에 손상이 가해질 수 있다. 또한 기능적 측면으로는 갑작스러운 핵 제거에 의한 핵-세포질의 신호 전달 체계의 파괴 등을 유발하여 이후 배발달에 치명적인 손상이 가해질 수 있다.
- [0010] 한 보고에 의하면 20시간 동안 체외 성숙시킨 소 난자의 염색체-방추사 복합체는 제1극체와 가까이 있지 않은 경우가 많아 흡입법으로 탈핵하였을 경우 효율이 59% 밖에 되지 않은 것으로 나타났다(Bordignon V, Smith LC, Mol Reprod Dev 49:29-36(1998); Mohamed Nour MS, Takahashi Y, Theriogenology 51:661-666(1999)).
- [0011] 이와 같은 문제점을 해결하기 위하여 다음과 같은 탈핵 방법이 개발되어 사용되고 있다.
- [0012] 첫째로, 활성화를 통한 탈핵 효율의 증가이다. 제1차 감수분열 중기 성숙 난자의 활성화 전후의 탈핵율을 비교한 결과, 활성화 처리를 한 난자의 탈핵율이 유의적으로 높았다(915% vs 599%; Mohamed Nour MS, Takahashi Y, Theriogenology 51: 661-666(1999)).
- [0013] 둘째로, 원심분리를 통한 난자 소기관의 중층화를 유도한 다음, 퍼콜 밀도 그래디언트(percoll density gradient)를 처리하여 원심분리를 한 다음 난자의 염색체-방추사 복합체를 난자 세포질과 분리하는 것이다(Tatham BG, Dowsing AT, Trounson AO, Biol Reprod 51:661-66(1995)).
- [0014] 셋째로, 탈핵 이전에 데미콜킨(demicolcine)을 처리하여 유전 물질을 난자 표면으로 유도시킨 뒤 흡입법으로 탈핵하는 것이다(Baguisi A, Biol Reprod 67:442-446(2002)).
- [0015] 넷째로, 고정용 피펫 및 절개 피펫을 이용하여 성숙난자의 고정 및 절개 각도 등을 효율적으로 구성하여 난자에 조그만 구멍을 낸 뒤 핵을 짜내는 스퀴징(squeezing) 방법(참조: 선행기술, 대한민국 등록특허 제 342437호) 및 다섯째로, 난자의 염색체-방추사 복합체에 정밀하게 조준된 레이저를 순간 조사하여 제1극체와 함께 소멸시키는 방법이 있다.
- [0017] 그러나, 상기의 방법을 이용하여 기계적 탈핵 기술의 효율성을 증진한 경우에도 다음과 같은 문제점이 발생하며 이러한 문제들에 의하여 근본적인 효율의 향상은 한계에 직면하여 있다.
- [0019] 먼저, 활성화 방법은 수핵난자와 공여핵 세포 간의 세포주기 불일치를 일으켜 융합 후 첫 DNA 복제 후 유사분열 과정에서 염색체 배수 이상을 일으킬 수 있으며, 흡입에 의한 방법은 투명대 절개와 세포질 소실에 기인한 물리적 및 기능적 손상을 피할 수 없다.
- [0020] 염색체-방추사 복합체가 제1극체에 멀리 떨어진 상태에서 흡입법의 경우 절개창을 만들기 위해 또는 핵을 흡입시 수핵난자의 물리적 형태에 많은 영향을 주며 스퀴징 방식에 경우는 외부로 유출되어지는 세포질의 양을 늘려서 염색체-방추사 복합체를 탈핵해야 하는 문제점이 있다.
- [0022] 이러한 일련의 기술적 진보에도 불구하고, 아직까지 난자의 탈핵 기술의 근본적인 발전은 이루어지지 않고 있으며, 상술한 문제점들을 최소화할 수 있는 탈핵 방법의 개발이 요구되고 있다.
- [0024] 상기과 같이 물리적 또는 화학적인 경우에도 탈핵 후에는 절개창을 통해 핵이식을 하는 것은 동일한 과정이므로, 본 발명은 핵이식에 사용되는 절개용, 핵이식용 피펫을 동시에 이용하여 효과적으로 물리적인 탈핵을 할 수 있는 새로운 응용 탈핵 방법을 제시하고자 한다.
- [0026] 본 발명자들은 체세포 복제수정란(100)의 제조시 상기 문제점들을 극복한 새로운 탈핵 방법을 개발하기 위하여

노력한 결과, 절개용 피펫 및 핵이식용 피펫으로 이루어진 이중 피펫을 개발하였고, 절개용 피펫으로 수핵난자에 절개창을 만들고 이 절개창을 통해 핵이식용 피펫으로 수핵난자의 탈핵과 핵이식을 동시에 하여 탈핵율을 높임으로써 체세포 복제수정란(100)의 제작 효율이 증가함을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

[0028] 특히 체세포 복제기술에서 전기융합과정은 체세포 핵이식 과정에서 난자내 세포질과 복제할 체세포를 융합시키는데 필수적인 과정이다. 그러나 고가의 수입산 장비를 이용하여 전기융합과정을 진행해야 하는바 이러한 이유로 복제동물 생산비용 현저히 증가시키는 문제점을 유발하고 있다.

[0030] 즉, 종래의 체세포 핵이식란 생산용 전기 융합 바늘은 티타늄이 코팅된 전기융합바늘은 수입에 의존하고 있으며, 이와 같이 티타늄이 코팅된 높은 가격대(1set 가격 150~200만원선)의 수입산 장비를 이용하여 전기융합과정을 진행해야 하는바 실험장비 구성에 금전적 부담을 유발하게 되고 이러한 이유로 복제동물 생산비용 현저히 증가시키는 문제점을 유발하고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0032] 상기한 바와 같이 종래기술 및 선행기술의 경우 복제동물 생산에는 공여난자의 준비와 복제할 개체의 체세포의 안정적인 준비뿐만 아니라, 전문적인 기술인력과 고가의 실험장비를 요구하게 된다.

[0033] 그리고 체세포 핵이식 과정 중에 모든 과정이 중요하지만, 실질적으로 공여난자의 세포질과 복제할 체세포의 융합은 실험의 성공여부를 판가름하는 중요한 과정이다.

[0034] 체세포 복제기술에서 전기융합과정은 체세포 핵이식 과정에서 난자내 세포질과 복제할 체세포를 융합시키는데 필수적인 과정이다.

[0035] 따라서 전기융합과정에서 난자에 직접 닿는 바늘 형 전극의 물질이 전기적 흐름이 우수하며, 해로운 영향 미치지 않도록 다양한 코팅재료를 이용한다.

[0037] 특히 종래의 체세포 핵이식란 생산용 전기 융합 바늘은 티타늄이 코팅된 전기융합바늘로서 주로 수입에 의존하고 있으며, 전기융합바늘을 제조하는 전극 제조업체는 일본 업체가 주를 이루고 있어서 이러한 티타늄으로 코팅된 전기 융합 바늘은 높은 가격대(1set 가격 150~200만원선)로 형성되어 있는바, 개 복제 생산 및 연구를 하는 한국의 대학 및 출연연, 기업체는 이와 같은 고가의 수입산 장비를 이용하여 전기융합과정을 진행해야 하는 이유로 실험장비 구성에 매우 큰 금전적 부담을 유발하게 되고 이러한 이유로 복제동물 생산비용 현저히 증가시키는 문제점을 유발하고 있다.

[0039] 따라서 본 발명은 티타늄으로 코팅된 기존의 전기 융합 바늘제품을 대체할 수 있는 효율이 도출되는 단가가 저렴한 재질로 이루어진 체세포 핵이식란 생산용 전기 융합 바늘을 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

[0041] 본 발명은 상기한 문제점 및 요구를 해결하기 위해

[0042] 원통형 또는 사각형 등의 모양으로 제작가능한 전기융합바늘 지지대부(20);

[0043] 상기 전기융합바늘 지지대부(20)의 측면에 구비된 전극연결부(30);

[0044] 상기 전기융합바늘 지지대부(20)의 타측면에 구비된 막대부(40);

[0045] 상기 막대부(50)의 타측 끝단에 구비된 접촉부(50);

[0046] 상기 접촉부(50)를 탈부착 가능하게 구비된 납땜부(60);로 구성되는 것을 특징으로 하는 체세포 핵이식란 생산용 전기 융합 바늘(10)을 제공한다.

[0048] 또한 본 발명은 상기 접촉부(50)는 백금선으로 된 것을 특징으로 하는 체세포 핵이식란 생산용 전기 융합 바늘(10)을 제공한다.

[0050] 또한 본 발명은 상기 접촉부(50)는 상기 납땜부(60)을 통해 교체성이 있는 것을 특징으로 하는 체세포 핵이식란 생산용 전기 융합 바늘(10)을 제공한다.

[0052] 본 발명은 체세포를 융합시킬 수 있는 전기융합바늘(10)에 있어서, 상기 전기융합바늘(10)은 원통형 또는 사각

형 등의 모양으로 제작가능한 전기융합바늘 지지대부(20)를 구비하고 있으며 손으로 잡을 수 있는 특징이 있다.

- [0053] 상기 전기융합바늘 지지대부(20)의 측면에 구비된 전극연결부(30)는 상기 전기융합바늘(10)에 전원으로부터 전기를 공급받는 부분이다.
- [0054] 상기 전기융합바늘 지지대부(20)의 타측면에 구비된 막대부(50)는 타측 끝단에 구비된 접촉부(50)를 보호할 수 있다.
- [0055] 상기 접촉부(50)를 탈부착 가능하게 구비된 납땜부(60)는 납땜을 통해 접촉부(50)를 고정할 수 있으며 수명이 끝난 접촉부(50)를 제거할 수 있는 백금선을 이용한 체세포 핵이식 란 생산용 전기 융합 바늘(10)을 제공하고자 한다.

발명의 효과

- [0057] 본 발명에 따른 백금선을 이용한 체세포 핵이식란 생산용 전기 융합 바늘은 기존의 티타늄 전기 융합 바늘을 이용한 전기 융합 바늘보다 개 복제수정란의 배발달율이 현저히 높은 효과가 나타난다.
- [0059] 또한 본 발명에 따른 백금선을 이용한 체세포 핵이식란 생산용 전기 융합 바늘은 종래의 티타늄 전기 융합 바늘을 이용한 전기 융합 바늘의 생산비용보다 60~80배 정도로 현저히 줄어드는 장점이 있다.
- [0061] 또한 본 발명에 따른 백금선을 이용한 접촉부는 종래의 티타늄 코팅으로 이루어진 접촉부를 교체할 수 있는 기능과 작용이 나타나게 된다.
- [0063] 또한 본 발명에 따른 백금선을 이용한 접촉부는 납땜부로 인하여 용이하게 교체 사용이 가능하여 비용절감의 효과가 현저히 나타나게 된다.

도면의 간단한 설명

- [0065] 도 1은 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 전기 융합 바늘의 측면도 이다.
- 도 2는 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 전기 융합 바늘의 막대부 확대도 이다.
- 도 3은 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 전기 융합 바늘의 막대부의 납땜부를 도시화한 도면이다.
- 도 4는 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 백금을 이용한 전기 융합 바늘의 현미경 확대도 이다.
- 도 4a는 티타늄을 이용한 전기 융합 바늘의 현미경 확대도 이다.
- 도 5는 본 발명에 따른 백금을 이용한 전기 융합 바늘을 이용한 복제란 이식 25일째 대리모 복부 초음파 사진.
- 도 6은 본 발명에 따른 백금을 이용한 전기 융합 바늘을 이용하여 생산한 복제견 3두.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0066] 이하 첨부된 도면을 통해 상세하게 설명하고자 한다.
- [0068] 도 1은 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 전기 융합 바늘의 측면도 이다. 도 2는 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 전기 융합 바늘의 막대부 확대도 이다. 도 3은 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 전기 융합 바늘의 막대부의 납땜부를 도시화한 도면이다. 도 4는 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 백금선을 이용한 전기 융합 바늘의 현미경 확대도 이다. 도 4a는 본 발명의 티타늄을 이용한 전기 융합 바늘의 현미경 확대도 이다.
- [0070] 본 발명은 원통형 또는 다각형 등의 모양으로 제작 가능한 전기융합바늘 지지대부(20);
- [0071] 상기 전기융합바늘 지지대부(20)의 측면에 구비된 전극연결부(30);
- [0072] 상기 전기융합바늘 지지대부(20)의 타측면에 구비된 막대부(40);
- [0073] 상기 막대부(40)의 타측 끝단에 구비된 접촉부(50);
- [0074] 상기 접촉부(50)를 탈부착 가능하게 구비된 납땜부(60);로 구성되는 것을 특징으로 하는 체세포 핵이식란 생산용 전기 융합 바늘(10)을 제공한다.
- [0076] 본 발명은 체세포를 융합시킬 수 있는 전기융합바늘(10)에 있어서, 상기 전기융합바늘(10)은 원통형 또는 다각형 등의 모양으로 제작 가능한 전기융합바늘 지지대부(20)를 구비하고 있으며 손으로 잡을 수 있는 특징이

있다.

- [0078] 본 발명의 상기한 지지대부(20)는 내부에 전선이 삽입되어 있고, 전선은 상기한 전극연결부(30)에 연결되어 있어 전극연결부로부터 전원을 인가받게 된다.
- [0080] 또한 상기한 지지대부는 재질이 플라스틱인 고분자 물질로 되어 있는 것이 절연성 있고 가볍으며 사용자가 용이하게 잡고 사용할 수 있게 하는 효과가 있다.
- [0082] 상기한 지지대부의 고분자 물질로는 폴리스티렌(polystyrene), 폴리프로필렌(polypropylene), 폴리에틸렌(polyethylene) 또는 폴리아미드(polyamide) 계열로 하는 것이 좋다.
- [0084] 본 발명의 고분자 물질에는 기능성 첨가물이 포함되어 있어 지지대 내부의 전선에 작용하는 전기적인 영향을 최소화시키는 작용을 하여 체세포 핵이식시에 작용하는 전류와 전압의 균일화를 피하여 체세포 핵이식에 효과적이다.
- [0086] 상기한 기능성 첨가물은 폴리스티렌(polystyrene), 폴리프로필렌(polypropylene), 폴리에틸렌(polyethylene) 또는 폴리아미드(polyamide) 100중량부를 기준으로 0.5~2 중량부 혼합하는 것이 좋다.
- [0088] 상기한 기능성 첨가물은 디에틸렌 글리콜 100중량부에 말레익안하이드라이드 5~10중량부, 부틸아크릴모노머 1~5중량부, 수산화알루미늄 2~5중량부, 흑연 2~5중량부, 나트륨디옥틸설포석시네이트 1~5중량부, 셀룰로브 아세테이트 0.1~1.5 중량부를 혼합하여 조성한 것을 의미한다.
- [0090] 본 발명의 전극연결부(30)는 상기 전기융합바늘 지지대부(20)의 측면에 구비되어 있으며 전원으로부터 전기를 공급받는 기능을 수행하는 부분이다.
- [0092] 본 발명의 막대부(40)는 상기 전기융합바늘 지지대부(20)의 타측면에 구비되어 있으며 끝단에 접촉부(50)의 일단이 삽입되어 연결하는 기능을 수행하게 된다.
- [0093] 상기한 막대부의 내부에도 전선이 삽입되어 있어 상기한 지지대부의 전선과 연결되어 전원을 인가 받게 된다.
- [0095] 본 발명의 상기한 접촉부(50)는 막대부(40) 내부의 전선과 납땜을 통하여 연결되어 있으며 이러한 접촉부와 막대부의 연결부위를 납땜부(60)라고 한다.
- [0097] 본 발명의 상기한 납땜부(60)는 접촉부(50)가 막대부(40)에 고정되게 하는 기능을 수행하고 특히 수명이 끝난 접촉부(50)를 제거하고 새로운 접촉부를 통하여 교환이 되게 하는 기능을 수행하게 된다.
- [0099] 본 발명의 상기한 접촉부(50)는 전기융합과정에서 난자에 직접 닿는 바늘 형태의 도구 또는 장치를 의미한다.
- [0101] 본 발명의 기술적 특징은 상기한 접촉부(50)가 백금선으로 이루어진 것을 특징으로 한다.
- [0103] 종래 기술의 경우 상기한 접촉부(50)가 티타늄으로 코팅된 형태로 되어 있어서 이와 같은 티타늄으로 코팅으로 매우 높은 가격대가 형성된다.
- [0105] 상기한 티타늄 도금으로 된 접촉부로 된 전기 융합 바늘은 주로 수입에 의존하고 있으며 이와 같은 일본의 전극제조업체는 전기 융합 바늘을 1set(전기 융합 바늘 1set는 전기 융합 바늘 +극용, -극용 2개로 이루어져 있음)당 통상 150~200만원선에 유통되고 있다.
- [0107] 또한 상기한 전기 융합 바늘 1set는 40~50회 정도 전기융합실험을 하는 경우 수명이 다하여 접촉부를 교체해야 하는바 비용적으로 큰 문제점이 발생하게 된다.
- [0109] 따라서 본 발명은 상기한 문제점을 해결하기 위하여 도출한 것으로, 상기한 접촉부(50)가 백금선으로 이루어져 있음에도 불구하고 티타늄 코팅으로 이루어진 접촉부와 마찬가지로 복제수정란의 전기융합과정에서도 배발달율의 높은 효율이 나타나고 그에 따라 복제수정란 생산 및 이식에 전혀 문제가 발생하지 않아 결과적으로 복제견 생산에서 티타늄으로 이루어진 전기 융합 바늘과 동일한 복제 효율이 나타나게 되는 특징이 있다.
- [0111] 특히, 본 발명에 따른 백금선으로 이루어진 접촉부는 가격이 매우 저렴하여(1m, 25만원선) 1set당 제조비용이 25,000원(백금선 3cm 2개 사용, 총6cm) 정도로 매우 저렴하게 형성되게 되어 전기 융합 바늘의 생산비용이 60~80배 정도로 현저히 줄어드는 특징이 있고, 더불어 종래의 티타늄 코팅으로 이루어진 접촉부를 교체할 수 있는 기능과 작용이 나타나게 된다.
- [0113] 도 1에 도시된 바와 같이 본 발명은 체세포 복제 수정란 제조시 사용가능한 전기융합바늘(10)은 상기 접촉부(50)의 끝단에 내경이 일정하고 외부와 개방된 형태로 상기 막대부(40)의 끝단에 구비된 납땜부(60)로 가까워

질수록 접촉부(50)의 형태는 넓어지며 일정하게 공간을 유지할 수 있으며 납땜부(60)의 내부에 삽입된 접촉부(50)는 5 ~ 20mm의 길이만큼 삽입되며 끝은 폐쇄되어 있는 형태를 이루고 있다.

[0115] 도 2 내지 도 3에 도시된 바와 같이 상기 접촉부(50)의 내경은 약 40 ~ 250 마이크로미터가 되며 40 ~ 250 마이크로미터로 제작하는 것이 바람직하다.

[0117] 접촉부(50)의 내경이 40 마이크로미터 미만인 경우 핵이 피켓 내에서 움직일 때 피켓 내벽에 의해 손상을 받을 수 있어 최종단계의 체세포복제수정란(100)의 배반포로의 발달률을 낮추므로 바람직하지 않다.

[0119] 또한, 본 발명은 체세포 복제 수정란 제조시 백금선으로 이루어진 접촉부를 가진 전기융합바늘(10)을 이용하여 복제수정란을 융합하고 이식하여 개의 복제를 수행하게 된다.

[0121] 본 발명은 아래와 같이 본 발명에 따른 백금선으로 이루어진 접촉부를 가진 전기융합바늘(10)과 종래의 티타늄으로 코팅된 접촉부를 가진 전기융합바늘을 이용하여 복제수정란 생산 실험을 실시하였다.

[0123] 도 4 내지 도 4a에 도시된 바와 같이 본 발명에 따른 백금선으로 이루어진 전기 융합 바늘(10)과 종래의 티타늄으로 이루어진 전기 융합 바늘을 제작하여 현미경으로 50 ~ 150배율로 확인하였을 때 바늘의 굵기는 백금선으로 제작한 것이 티타늄으로 제작한 것보다 크게 형성되었다.

[0125] 아래의 [표 1]은 백금선 전기 융합 바늘(10)과 종래의 티타늄 전기 융합 바늘을 사용하여 체세포 핵이식 복제란의 배발달율을 비교한 것을 보여준다.

표 1

바늘종류	No. of oocyte	No. of fused oocyte (%)	2cell (%)	4cell (%)	8cell (%)	10cell (%)
티타늄	61	41 (64.1)	26 (41.5)	19 (29.5)	9 (14.8)	2 (3.1)
백금선	50	35 (70)	31 (62)	24 (48)	12 (24)	8 (16)

[0128] [체세포 핵이식 복제란의 배발달율 비교]

[0130] 상기한 [표 1]에서 보는 바와 같이, 기존의 티타늄 전기 융합 바늘을 이용했을 때의 융합율이 64.1%인데 비하여 백금선을 이용한 전기 융합 바늘을 사용하였을 때의 융합율이 70%로 높게 나타났으며, 결과적으로 가장 중요한 개 복제수정란의 배발달율에서 기존의 티타늄 전기 융합 바늘을 이용했을 때는 3.1%인데 비하여 백금선을 이용한 전기 융합 바늘을 사용하였을 때가 16%로서 5배가 높은 정도의 현저히 높은 수치를 보여준다.

[0132] 또한 아래의 [표 2]는 상기한 백금선 전기 융합 바늘(10)을 이용하여 제조한 복제수정란을 이식한 것의 임신효율을 보여주는 자료이다.

표 2

No. of NT oocytes	No. of Fused oocytes (%)	No. of transferred embryos	No. of recipients	Day-30 Pregnancy	No. of cloned dogs
84	34 (40.5%)	34	4	2 (50%)	3

[0135] [백금 전기 융합 바늘을 이용한 임신효율]

[0137] 상기 [표 2]에 도시된 바와 같이 앞선 [표 1]에 도시된 결과를 토대로 백금선을 이용한 체세포 핵이식란 생산용 전기 융합 바늘(10)을 사용하여 복제수정란(100)의 생산 및 이식에 문제가 없을 것으로 판단되어, 전기 융합 과정에 상기 백금선을 이용한 체세포 핵이식 란 생산용 전기 융합 바늘(10)을 적용해 복제수정란(100)을 이식하고 임신상태를 확인했다.

[0139] 상기 [표 2]에서 보는 것처럼 84개의 난모세포에 체세포를 전기 융합한 경우 40.5%의 높은 융합율을 보였으며

총 4마리의 개에 복제수정란을 이식한 경우 2마리가 임신하여 50%의 높은 임신율을 보였는바 이는 기존의 티타늄 전기 융합 바늘을 이용했을 때가 20~30%의 임신율이 있는 것에 비하여 현저히 높은 임신율을 보였고 최종적으로 2마리의 임신한 개에서 3마리의 복제견이 생산된 것은 매우 높은 복제견 생산효율을 보여주게 된다.

[0141] 상기 [표 1] 내지 [표 2], [도 5] 내지 [도 6]을 통해 백금선을 이용한 체세포 핵이식 란 생산용 전기 융합 바늘(10)을 사용하였을 때의 개 복제수정란의 배발달율이 현저히 높은 특징이 있고 그에 따라 복제수정란(100)의 생산 효율이 더 높은 특징이 있는 것이 확인되었는바, 본 발명은 기존 제품인 티타늄을 사용한 바늘에 비해 저렴한 비용으로 체세포 핵이식란을 제공할 수 있어 현저한 비용절감효과가 나타나게 됨을 알 수가 있다.

[0143] 이와 같이 본 발명은 상기한 구성과 기능으로 이루어진 백금선을 이용한 체세포 핵이식란 생산용 전기 융합 바늘(10)을 제공한다.

산업상 이용가능성

[0145] 본 발명은 체세포 핵이식란 생산을 위한 도구 또는 장치를 생산, 제조, 판매, 유통, 연구하는 산업에 매우 유용하다.

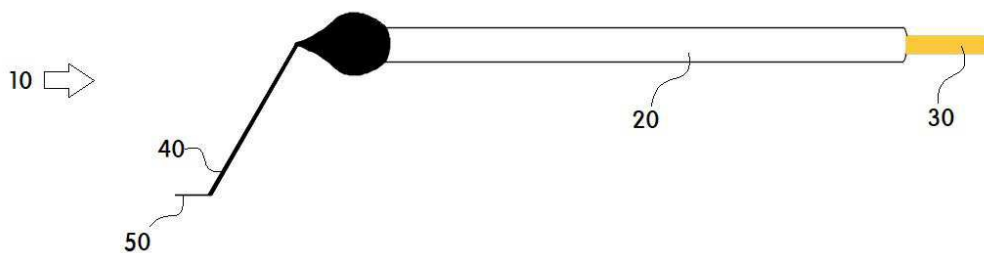
[0147] 특히 본 발명은 체세포 핵이식란 생산을 위한 전기 융합 바늘을 생산, 제조, 판매, 유통, 연구하는 산업에 매우 유용하다.

부호의 설명

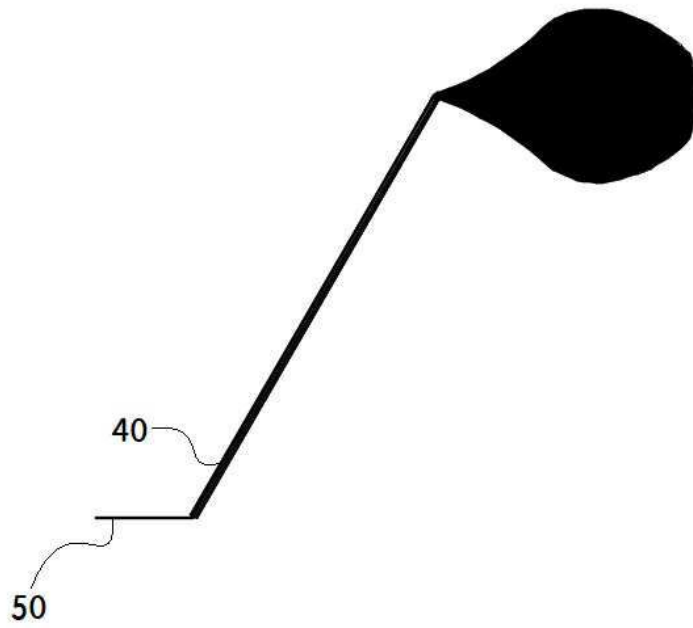
- [0149] 10: 전기융합바늘
20: 전기융합바늘 지지대부
30: 전극연결부
40: 막대부
50: 집촉부
60: 납땜부
100: 복제수정란
200: 복제견

도면

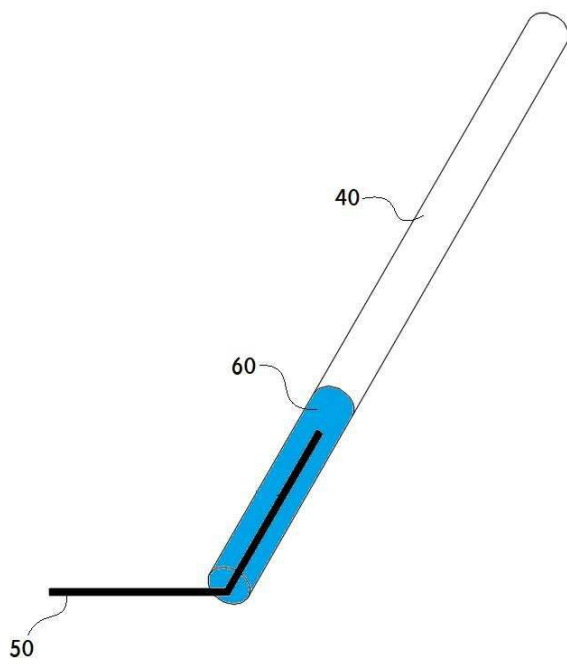
도면1



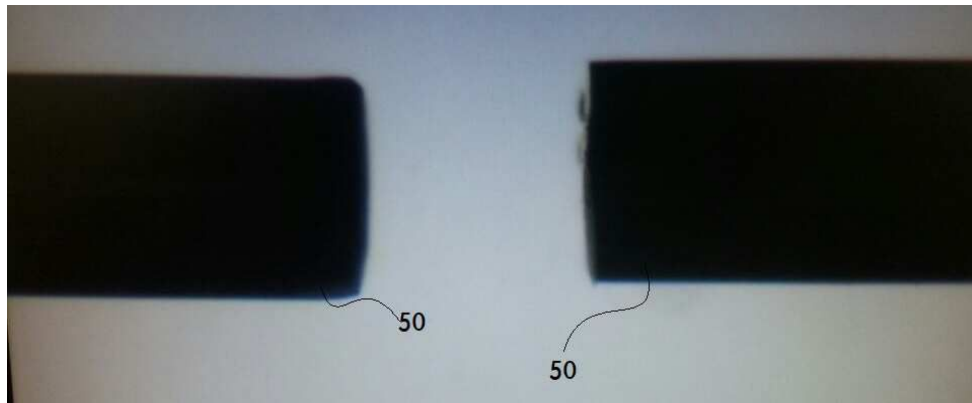
도면2



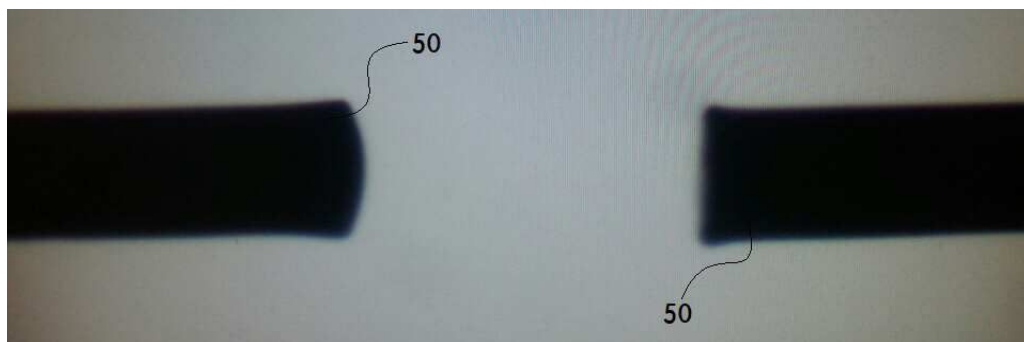
도면3



도면4



도면4a



도면5



도면6



【심사관 직권보정사항】

【직권보정 1】

【보정항목】 청구범위

【보정세부항목】 제1항

【변경전】

상기 막대부(50)

【변경후】

상기 막대부(40)