

발간등록번호

11-1543000-000536-01

바이오센서를 이용한 말의(馬) 현장 진단형 임신진단기
개발 및 산업화

(Development and industrialization of field diagnostic
pregnancy test kit using biosensor in equine)

(주)메디칼써프라이

농 립 축 산 식 품 부

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “기술사업화지원사업에 관한 연구” 과제(세부과제 “바이오센서를 이용한 말의(馬) 현장 진단형 임신진단기 개발 및 산업화에 관한 연구”)의 보고서로 제출합니다.

2014년 07월 17일

주관연구기관명 : (주)메디칼써프라이

주관연구책임자 : 김 태 군

협동연구기관명 : 특허그룹 덕원

협동연구책임자 : 김 건 우

요 약 문

I. 제 목 : 바이오센서를 이용한 말의(馬) 현장 진단형 임신진단기 개발 및 산업화

II. 연구개발의 목적 및 필요성

1. 목적

- 전기식 바이오센서 시스템을 이용한 말의 프로게스테론(P4), PMSG, 에스트로젠(E2) 또는 에스테르원 설페이트(E1S)의 적정농도 진단 기술 개발 및 본 기술을 바탕으로 현장 진단형 기기를 개발하므로 말의 발정기간 중 배란시기 예측, 수정 후 임신진단 및 태아 생존 검사를 농가에서 활용 할 수 있도록 상용화를 목적에 두고 있음.

2. 필요성

- 말 산업은 생산(1차 산업)에서부터 육성·조련(2차 산업), 레저(3차 산업)까지 연계된 친환경적인 복합 산업으로 정부의 농업 6차 산업 개발 및 산업화에 가장 적합한 분야임.
- 현재 국내 축산은 각종 해외악성 전염병(구제역, 조류인플루엔자 등) 발생으로 축산 환경 급변으로 인한 생산 환경 열악 및 소비자의 소비 위축으로 성장에 제한 -> 대체 산업 필요한 실정임.
- 말 산업의 한 축으로 성장해야 할 승용마, 말고기 및 엘리트 선수용 말의 생산·육성·경매의 관한 국내 산업은 전혀 산업화 되지 않고 있음 -> 산업화를 위한 생산체계 또한 전혀 기반이 없는 실정임.
- 말은 생리 및 번식적 특징으로 인하여 다음과 같은 기술개발이 절실함
 - 말의 교배는 발정기간은 길고 배란 시점 확인이 어려움
 - 말의 임신기간은 11-12개월로서 장기간으로서, 초기 임신진단 이외에 단계별 임신진단 필요하지만 수의사의 인력이 부족하며, 원거리에서 진료를 해야 하므로 시공간적 제한이 있음
 - 국내 말 산업의 육성과 저변 확대를 위한 생산성 증대를 위해서는 상기에서 제시한 배란검사, 임신진단 및 태아 생사 확인이 가능한 기기 개발이 반드시 필요한 실정임

III. 연구개발 내용 및 범위

- 말의 발정기 및 임신기간별 호르몬 농도 설정 조사 및 확보
 - 암말의 발정주기 및 발정기 동안 난포 크기 및 호르몬 농도의 관련성 분석 정립기술
 - 암말에서 수정 후 15일 간격 혈액 및 대사물질 샘플 확보 방법
 - P4, PMSG, E1S 농도 분석 및 배란, 임신, 및 태아 생존 기준 정립 방법
 - 바이오센서 시스템 재현성 검증 및 실증 시험 방법

- 바이오센서 기반의 임신진단 키트 개발 및 상용화 기술 조사 및 확보
 - 호르몬에 맞는 바이오센서 전극과 회로 설계 및 제작 기술
 - 호르몬 단독 및 복합 진단 시스템의 설계 기술
 - 발정기 및 임신기간 호르몬 진단 시스템 설계 기술
 - 센서 안정화를 위한 단백질 고정화 및 표면처리 기술
 - 측정 보드, 회로 및 알고리즘 개발 : 시스템 모니터링 SW 개발 기술
 - 사용자 인터페이스 SW 개발 기술
 - 시스템 integration 및 설계 테스트 -> 시제품 제작 및 상용화 기술
 - 임신진단기의 대량 생산 시스템 구축 방법

IV. 연구개발결과

- 말의 발정기 및 임신기간별 호르몬 농도에 대한 사전 기준 기술 조사 및 전문가 확보
 - 암말의 발정 및 임신기간 호르몬 분석을 통한 진단기 분석 기준 확보
 - 암말의 발정주기 및 발정기 동안 난포 크기와 호르몬 농도와 관련성 논문 조사 및 전문가 확보
 - ① 배란 예측기술 : P4, E2
 - ② 암말의 발정유도는 10일간격 PGF2a를 투여 하여 발정을 유도하고 발정 확인은 초음파 기기를 이용 난포의 크기를 조사하고 각 단계별 혈액을 채취하여 시료로 활용하고 본 기술개발의 결과물과 비교하여 민감도를 검증한다.
 - ③ 호르몬 정량 분석(RIA법) I125-P4(Amersham Biosciences, Ontario) RIA-Kit 활용하여 정량분석은 박용수(2000)의 논문에 방법에 준하여 분석
 - 암말 임신기간 중 호르몬 농도 설정법 사전 조사 및 전문가 확보
 - 인공수정 및 자연교배 후 15일 간격으로 분만까지 혈액 채취기술 및 전문가 확보
 - ① 검사항목 : P4, PMSG, E1S
 - > 인공수정 및 자연교배는 박용수 등(2008) 및 의 논문의 재료 및 방법에 준함
 - ② 호르몬 정량 분석 기법 확보
 - > P4 : RIA법을 이용 I125-P4(Amersham Biosciences, Ontario) RIA-Kit 활용하여 정량분석은 박용수(2000)의 논문에 방법에 준하여 분석
 - >PMSG : 말의 혈청에서 임신 45-100일경까지 분비되는 complex glycoprotein으로 농도분석은 Menzer와 Schams(1979)의 방법을 이용
 - E1S : antiserum을 이용 RIA법으로 분석

- 전기식 기반의 현장용 임신진단 키트 및 리더기 시스템 개발 방법 조사 및 전문가 확보
 - 호르몬에 맞는 바이오센서 전극과 회로 설계 및 제작방법 조사 및 전문가 확보
 - 호르몬 검사를 위한 다중 진단용 전극 설계
 - 유리 기판위에 골드 전극 패턴 공정을 이용하여 다량의 샘플 제작
 - 비교적 간단한 공정으로 다량의 전극을 회수하며 이후 표면 처리를 위해 스프인 코팅 방식으로 생산 위주의 샘플 제작기술
 - Sputter를 이용하여 Cr/Au(300/3000A) 증착 기술
 - Sheet resistance 측정: 150 Ohm 기술
 - 웨이퍼당 550 개 전극 제작을 위한 최적 설계기술 확보
 - 다중 진단용 전극 제작 및 전극용 PCB 키트 제작기술 확보
 - 전기화학 면역 센서의 경우 잘 알려진 3전극 기반의 플랫폼을 사용하며 이는 작업 전극과 카운터에 전압을 sweep 하고 작업 전극과 기준 전극사이의 전류를 측정하여 농도에 따른 전류변화량으로 정량화 하는 방법을 취함
 - 전류량은 detection Ab와 결합되는 ALP conjugated secondary Ab 의 양에 의해 결정되며 검출하고자 하는 호르몬이 가교 역할을 하여 궁극적으로는 호르몬의 양에 비례하여 증감함
 - 측정을 위한 alkaline phosphatase 는 기질과의 반응으로 부산물인 과산화수소를 발생시키며 최종적으로 전하의 증가를 가져옴

V. 연구성과 및 성과활용 계획

○ 연구성과

- 현실적 연구개발이 가능한 바이오센서를 이용한 말의(馬) 현장 진단형 임신진단기 개발 및 산업화 사업계획서 작성
- 본 기술개발을 위한 선행기술 확보 및 참여 컨소시엄 구성이 필요함.
 - 컨소시엄
 - ① 암말의 발생학적 전문가 : 한국농수산대학교 말 산업학과
 - ② 전기식 바이오센서 전문가 : 한국전자부품연구원 메디컬IT 연구센터

○ 성과활용 계획

- 기획지원 보고서를 통해 기술사업화 지원사업 수행에 있어 사업화가 가능함.
- 조사된 혈액 및 대사산물의 호르몬농도는 각종 연구의 기초자료로 활용도가 높고
- 개발 예정된 키트는 국내외 활용이 가능
 - 경주마 번식 2,000두/년 및 향후 승용마 생산 확대 시 활용도가 높을 것으로 판단되며, 말 생산이 많은 미국 호주 및 유럽으로 수출 가능할 것으로 여겨짐
- 현재 상용화 되지 못하고 있는 기타 가축의 임신진단기 개발에 기준 제시 가능

developing diagnostic technique of tilers in Progesterone(P4), PMSG, Estrogen or Ester surfate(E1S) by using electronic biosensor system. And we are plan to develop our own device for field diagnosis based on the technique to predict ovulation during estrus, diagnose pregnancy after fertilization and test fetal survival with the purpose of commercializing so that stock farmers use our device

CONTENTS (영 문 목 차)

The first(1st)chapter

The outline of research and development task

The second(2nd)chapter

The present condition of technical development at domestic and foreign

The third(3rd)chapter

The contents of performances and results in development research

The fourth(4th)chapter

The achievement and contribution on related field

The fifth(5th)chapter

The fruit of research and development and plan for its practical use

The sixth(6th)chapter

The international scientific and technical information obtained in process of research and development.

The seventh(7th)chapter

The research facility and present condition of equipment

The eight(8th)chapter

The references

목 차

- 제 1 장 연구개발과제의 개요
- 제 2 장 국내외 기술개발 현황
- 제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과
- 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도
- 제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획
- 제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보
- 제 7 장 연구시설·장비 현황
- 제 8 장 참고문헌

제 1 장 연구개발과제의 개요

1. 연구개발의 목적

- 바이오센서 시스템을 이용한 말의 프로제스테론(P4), PMSG, 에스트로젠(E2) 또는 에스테르 원 설페이트(E1S)의 적정농도 진단 기술 개발 및 본 기술을 바탕으로 현장 진단형 기기를 개발하므로 말의 발정기간 중 배란시기 예측, 수정 후 임신진단 및 태아 생존 검사를 농가에서 활용 할 수 있도록 상용화 함 -> 향후 기타 가축(소, 돼지, 개)에 맞는 진단시스템 개발 및 상용화 초석 마련

1. 사업화의 필요성

□ 농촌 신규 산업으로 6차산업의 개발 필요

- 말 산업은 생산(1차 산업)에서부터 육성·조련(2차 산업), 레저(3차 산업)까지 연계된 친환경적인 복합 산업으로 정부의 농업 6차 산업 개발 및 산업화에 가장 적합한 분야
- 현재 국내 축산은 각종 해외악성 전염병(구제역, 조류인플루엔자 등) 발생으로 축산 환경 급변으로 인한 생산 환경 열악 및 소비자의 소비 위축으로 성장에 제한 -> 대체 산업 필요
- 말산업의 한 축으로 성장해야 할 승용마, 말고기 및 엘리트 선수용 말의 생산·육성·경매 등에 관한 국내 산업은 전혀 산업화 되지 않고 있음 -> 산업화를 위한 생산체계 또한 전혀 기반이 없음
 - > 생산 시 경제적 효과가 매우 높은 분야(10억원/두 가치 보유)
- 말은 생리 및 번식적 특징으로 인하여 다음과 같은 기술개발이 절실함
 1. 말의 교배는 발정기간은 길고 배란 시점 확인이 어려움
 2. 임신기간은 11-12개월로서 장기간이므로 초기 임신진단 이외에 단계별 임신진단 필요 하지만 수의사의 인력이 부족하고, 원거리에서 진료를 해야 하므로 시공간적 제한이 있음
 - > 국내 말 산업의 육성과 저변 확대를 위한 생산성 증대를 위해서는 상기에서 제시한 배란검사, 임신진단 및 태아 생사 확인이 가능한 기기 개발이 반드시 필요한 실정임
- 임신진단을 위한 연구에서 소 및 돼지에서 P4 및 E1S의 검출로 임신 및 비 임신 진단키트에 관한 연구가 있었으나, 가격 및 정확성 등의 문제로 상업화 되지 못함

□ 기술적 중요성

- 기존의 임신진단 키트는
 - 기존 기술은 대부분 스트립 (lateral flow assay) 방식의 면역 분석으로 저 농도에서 정확도, 신뢰도가 낮고 고농도에서 역시 한계치 이상 진단이 되지 않는 장점이 있으므로 측정 영역의 확대를 위하여 주로 ELISA 방식을 주로 사용함

- ELISA 방식은 항체 고정화, 검사 항체 효소 고정화, 세척 및 흡광도 측정 등 다수의 노동력과 장비가 필요하며 전문가에 의한 검진만이 가능함으로 높은 정확도에 비해 현장 검사에 어려움이 존재함
- 형광 방식의 assay 역시 샘플 전처리의 어려움과 고가의 광학 측정 장비가 필요한 단점
- 본 기술의 특징은 시료가 전개되면서 전기적, 자동적으로 면역반응이 일어나도록 고안하므로 전문가의 도움 없이 현장에서 결과를 도출할 수 있는 이동 가능한 진단 플랫폼의 형태로 개발될 것이며, 향후 타가측의 임신진단 기기 개발에 기본 바탕으로 활용 가능할 것으로 예상됨.
- 말은 임신기간 중 임신을 확인 할 수 있는 호르몬 변화가 심함
 - 말의 발정주기는 21일이지만 발정기는 4-7일로서 길고 배란시점을 확인하기 어려움
 - 임신 기간이 330-360일로 장기간이며, 임신기간 중 유산은 장기 공태마 발생(1년 이상) 막대한 경제적 손실 초래
 - 일반적으로 임신 확인에 이용되는 호르몬인 P4 단독으로 말의 임신확인은 어려움, 즉 임신 초기(14-45일)는 황체에서 분비되는 프로제스테론, 임신 초기(45-100일)은 자궁 내에서 생산되는 PMSG, 임신 중기-말기(90일 - 분만)는 태아에서 분비되는 EIS가 임신 유지 때문
 - 따라서 단계별로 각 호르몬을 진단할 수 있어야 하지만, 기존 키트로는 임신 전 과정의 진단이 어려움 또한 초음파 검사는 임신 50일 이후에는 태아 전체를 확인 할 수 없음 (생존 확인 오류 발생 가능)
 - 바이오센서를 바탕으로 한 본 기기는 3종류 호르몬을 1종 단독 또는 각 단계별로 복합적으로 진단 할 수 있음

□ 기술의 핵심내용 및 혁신성

- 질병이나 질환검사를 위한 바이오센서는 검사대상인 혈액이나 타액 등의 체액을 분석하여 질병의 원인이 되는 대상 물질의 존재 여부나 양에 대한 정량적 혹은 정성적 정보를 제공하는 역할을 수행함. 그러나 검사용액에는 질병 원인자와 관련된 부산물(유전자, 항원, 항체, 바이러스 등)뿐만 아니라 다양한 생체분자가 혼합되어 있어서 바이오센서가 직접 미지의 질병원인자의 정보를 판별하는 것은 쉽지 않음
- 현장 진단형 바이오센서 시스템은 휴대하기가 적합하도록 크기가 작고 사용이 간단하며, 사용자가 조작하기 편리하도록 사용자 환경을 제공하고 있음. 검사 시료의 전처리 과정이 모두 간단한 조작으로 이루어지고 센서에서 정확하게 분석할 수 있도록 구성됨
- 현재 기술 수준은 전통적으로 잘 정립된 원리(형광기술, 면역반응, NC멤브레인 시험지)를 이용하고 있으며 특히 시험지를 사용하여 시료가 시험지에서 전개되면서 자동적으로 필요한 면역반응이 일어나도록 하고 반응 결과를 센서가 분석하여 사용자가 알 수 있도록 결과를 보여주는 형태로 시스템이 구성됨

- 현장 진단 기기의 시장 규모의 급격한 성장세 예상과 함께 home diagnostic과 environmental 시장의 확대 예상되고 2016년 까지 home diagnostic 시장은 연평균 10.7% 예상으로 바이오센서 비중 중 20% 돌파가 예상됨
- 환경 분야 바이오센서 분야는 연평균 12% 성장세로 시장 규모 20억 달러 돌파가 예상됨
- 현장 진단기기가 시장으로 접근을 위하여 수요자의 요구가 있어야 하며 이를 위하여 다음과 같은 생물학적, 경제학적, 기술적 요구조건을 만족시켜야 함
 - > 요구 샘플 양, 민감도, 분석 시간, 생물학적 프로토콜, 제조 단가 및 타겟 마켓 가격 등의 조건 만족

□ 산업적 중요성

- 말의 조기 임신/비 임신 진단의 중요성
 - 교배 또는 인공수정 후 임신진단을 빨리 진단하면 할수록 생산성 향상으로 소득과 직결됨
 - 기존에는 초음파 검사를 하고 있으나 초음파 장비의 가격이 비싸고, 전문교육을 받은 전문가들이 활용 가능하므로, 농가에서 임신 여부를 판단하기는 어려움
 - 말 번식 전문 수의사의 부족에 따른 관리 부재로 생산효율이 낮아 질 수 있음
 - > 말 산업 기반 확충에 어려움이 있음
- 임신을 비롯한 진단기기 분야에서는 세계적으로 다른 분야에 비하여 바이오센서를 바탕으로 한 분야의 체외진단 규모가 2009년에 비하여 2014년 14%로 다른 분야(면역진단, 혈액진단) 보다 성장률이 높을 것으로 예측 되고 있어(Kalorama information, 2010), 이 분야에 대한 연구와 산업적 적용이 필요함
- 말 산업은 생산(1차 산업)에서부터 육성·조련(2차 산업), 레저(3차 산업)까지 연계된 친환경적인 복합 산업으로 정부의 농업 6차 산업 개발 및 산업화에 가장 적합한 분야
- 현재 국내 축산은 각종 해외악성 전염병(구제역, 조류인플루엔자 등) 발생으로 축산 환경 급변으로 인한 생산 환경 열악 및 소비자의 소비 위축으로 성장에 제한 -> 대체 산업 필요
- 말산업의 한 축으로 성장해야 할 승용마, 말고기 및 엘리트 선수용 말의 생산·육성·경매 등의 국내 산업은 전혀 산업화 되지 않고 있음 -> 산업화를 위한 생산체계 또한 전혀 기반이 없음 -> 생산 시 경제적 효과가 매우 높은 분야(10억원/두 가치 보유)
- 말은 생리 및 번식적 특징으로 인하여 다음과 같은 기술개발이 절실함
 - > 말의 교배는 발정기간은 길고 배란 시점 확인이 어려움
 - > 임신기간은 11-12개월로서 장기간이므로 초기 임신진단 이외에 단계별 임신진단 필요 하지만 수의사 수가 적고 원거리에서 진료를 해야 하므로 시공간적 제한이 있음
 - > 국내 말 산업의 육성과 저변 확대를 위한 생산성 증대를 위해서는 상기에서 제시한 배란검사, 임신진단 및 태아 생사 확인이 가능한 기기 개발이 반드시 필요한 실정임
- 임신진단을 위한 연구에서 소 및 돼지에서 P4 및 E1S의 검출로 임신 및 비 임신 진단키

트에 관한 연구가 있었으나 가격, 정확성 등의 문제로 상업화 되지 못함

□ 기존 기술과의 차별성 및 중요성

- 기존의 임신진단 키트는
 - 기존 기술은 대부분 스트립 (lateral flow assay) 방식의 면역 분석으로 저 농도에서 정확도, 신뢰도가 낮고 고농도에서 역시 한계치 이상 진단이 되지 않는 장점이 있으므로 측정 영역의 확대를 위하여 주로 ELISA 방식을 주로 사용함
 - ELISA 방식은 항체 고정화, 검사 항체 효소 고정화, 세척 및 흡광도 측정 등 다수의 노동력과 장비가 필요하며 전문가에 의한 검진만이 가능함으로 높은 정확도에 비해 현장 검사에 어려움이 존재함
 - 형광 방식의 assay 역시 샘플 전처리의 어려움과 고가의 광학 측정 장비가 필요한 단점
 - 본 기술의 특징은 시료가 전개되면서 전기적, 자동적으로 면역반응이 일어나도록 고안하므로 전문가의 도움 없이 현장에서 결과를 도출할 수 있는 이동 가능한 진단 플랫폼의 형태로 개발될 것이며, 향후 타가축의 임신진단 기기 개발에 기본 바탕으로 활용 가능
- 말은 임신기간 중 임신을 확인 할 수 있는 호르몬 변화가 심함
 - 말의 발정주기는 21일이지만 발정기는 4-7일로서 길고 배란시점을 확인하기 어려움
 - 임신 기간이 330-360일로 장기간이므로, 임신기간 중 유산은 장기 공태마 발생(1년 이상)은 막대한 경제적 손실 초래
 - 일반적으로 임신 확인에 이용되는 호르몬인 P4 단독으로 말의 임신확인 어렵음, 즉 임신 초기(14-45일)는 황체에서 분비되는 프로제스테론, 임신 초기(45-100일)은 자궁에서 생산되는 PMSG, 임신 중기-말기(90일 - 분만)는 태아에서 분비되는 EIS가 임신 유지 때문
 - 따라서 단계별로 각 호르몬을 진단할 수 있어야 하지만 기존 키트로는 임신 전 과정의 진단이 어려움. 또한 초음파 검사는 임신 50일 이후에는 태아 전체를 확인 할 수 없음 (생존 확인 오류 발생 가능)
 - 바이오센서를 바탕으로 한 본 기기는 3종류 호르몬을 1종 단독 또는 각 단계별로 복합적으로 진단 할 수 있음

□ 기술의 차별성

- 기존 기술이 대부분 스트립 (lateral flow assay) 방식의 면역 분석으로 저 농도에서 정확도, 신뢰도가 낮고 고농도에서 역시 한계치 이상 진단이 되지 않는 장점이 있으므로 측정 영역의 확대를 위하여 주로 ELISA 방식을 주로 사용함
- ELISA 방식은 하지만 항체 고정화, 검사 항체 효소 고정화, 세척 및 흡광도 측정 등 다수의 노동력과 장비가 필요하며 전문가에 의한 검진만이 가능함으로 높은 정확도에 비해 현장 검사에 어려움이 존재함
- 또한 형광 방식의 assay 역시 샘플 전처리의 어려움과 고가의 광학 측정 장비가 필요한

단점이 존재함.

- 본 제안 기술의 핵심은 전문가의 도움 없이 현장에서 결과를 도출할 수 있는 이동 가능한 진단 플랫폼의 개발이며, 아울러 기존에 임신 초기/중기/장기 테스트를 각각 수행하던 것을 동시에 하나의 플랫폼에 구현한다는 장점이 있음
- 수명 주기 (Life Cycle Time) 상 신청 기술 또는 제품의 예상되는 위치 (A ~ E 중 선택) 및 그 근거
- 현장진단기술은 도입기로서 면역분석법 등에 비하여 성장률이 높고 향후 질병 및 진단 분야의 주요 자리 잡을 것으로 판단
- 현장 진단 기술은 다양한 질병 진단 분야에서 시도되고 있으며 현재 전 세계적으로 도입기에서 성장기로 진출하고 있음
- 현장 진단 기술로 시장에 상용화된 제품으로 당 센서 나 스트립 센서 등이 있음
- 또한, 이 기술의 적용범위는 소 및 돼지, 곰 등에게도 이용 될 수 있는데 이는 큰 가축 역시 난소의 황체에서 분비하는 황체호르몬(임신히르몬)을 이용하여 임신히르몬만 특이하게 결합하는 단일항체와 반응시켜서 임신히르몬 농도에 따라 현장에서 즉시 진단이 가능하며 반응결과에 따라 발정 확인 후 수정을 함으로써 공태기간(비 임신을 확인하지 못한 기간)을 크게 줄일 수 있을 것으로 판단됨.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

1. 국외 기술 개발 동향

- 경주마 생산과 마찬가지로 우수한 승용마를 생산하기 위해 씨암말 및 씨수말의 생식기 질환과 정액을 이용한 인공수정 및 수정란 이식 등 번식효율 향상을 위한 끊임없이 연구가 지속되고 있다.
- 말의 번식 및 생산 연구 분야
 - 말의 정액 동결 프로그램, 인공수정, 수정란이식의 활용에 대한 연구가 진행
 - 2004년 미국에서는 번식기 암말 440,000두 중에서 88%인 387,000두가 인공수정을 이용하여 번식(Loomis와 Graham, 2008)
 - 특히 말은 계절번식동물이라는 점으로 생리적인 비발정기에는 자연적으로 발정유도가 쉽지 않다. 그래서 다른 산업동물에서와 같이 호르몬제를 이용한 발정동기화 및 말 인공수정 시 정액 내 호르몬제를 첨가함으로써 말의 번식 효율 향상을 위한 연구를 시도하고 있다.
 - 말의 배란시기 예측을 위한 각종 초음파 기기의 개발이 완료 사용중에 있음
 - 말의 임신진단은 초기는 초음파 기기를 이용하여 쌍태 및 성별을 감별 하지만 중기 이후에는 뇨 또는 분의 특정 호르몬을 검출하는 방법이 개발되어 활용 중
 - 분석 전문 회사에서 혈액 분석을 통한 임신진단 서비스(Vetstream사), 임신말의 PMSG 검출을 통한 자가 임신진단 키트(PregnaMare®), 임신 110일 이후 태아 생존여부 검사 키트(Wee foal checker) 등이 국외에서 판매되고 있으나, 국내에서 활용은 없다.
 - 암말의 PMSG는 임신 50일 이후로 진단시기가 늦어서 활용도가 낮은 실정이다.
 - 기타 가축에서는 폐지의 경우 EIS를 측정함으로써 조기에 임신을 진단할 수 있다는 근거가 제시되었고(Stefanakis등, 2000), 국내에서도 이 연구를 하였으나 제품화 되지는 못하였음.
 - 소에서는 혈액을 이용한 비 임신진단 키트 연구되어 특허, 출원되었으나 시판되지 않고 있음
 - 가축에서 임신진단키트의 활용도 저하는 혈액, 뇨등 대사산물을 획득하기가 어렵고, 임신진단이 직장검사, 초음파 검사로 손쉽게 가능하기 때문에 활용도가 낮다.
 - 하지만 말은 번식전문 수의사의 수가 적고, 직장의 탄력이 높아 비숙련자의 직장검사는 직장 파열의 위험성이 존재, 생산 망아지의 가격이 높게 형성되므로 각종 키트를 이용한 임신진단의 효용성이 높고 경제성이 있을 것으로 판단됨

가. 국외 기술개발 동향

- 본 기술이 제안하는 현장검사용 플랫폼 및 디바이스를 축산에 응용하는 예는 거의 없으며 의료용 바이오센서 플랫폼 개발 동향 중심으로 기술함

Company	기술명	응용분야	민감도/정확도
Abaxis	Piccolo xpress	다 분야 혈액 검사	테스트별, 평균 5U/L
Abbott POC	I-STAT	전해질, 혈액가스	95% 이내
Accumetrics	VerifyNow system	약물복용, 심혈계통	광학식 방식
Axis shield POC	Afinion	감염, 당뇨 (HbA1C)	total imprecision <3%
Biosite	Triage	심혈관, 약물남용	민감도 33 ~ 100%
Ocusense	TearLab	삼투압 분석	민감도 90%, 특이도95%
Texas Instrument	Spreeta	약물, POC, 환경	< 10nM

- 반도체 제조회사들 중심으로 현장진단용 플랫폼 개발을 시도하고 있고 진단마켓 접근을 위하여 진단 회사들과의 협업 또는 M&A 중심으로 진단기기 개발 중에 있음



<바이오센서 플랫폼 개발을 위한 반도체 제조업체들 현황>

Company	Picture	Products	Technology	Material	Area	volume	Sensitivity/accuracy	Analysis time	Price/test
Abaxis		Piccolo xpress	Absorption	Polymer disc	Blood analysis	100 uL	avg 5U/L	12 min	platform: \$24,000 \$13-14/test
Abbott		I-STAT	One time cartridge	Polymer+ Film elec.	Blood analysis	Blood 2 droplets	95%	2 ~ 10min	\$ 4 ~ 20/cartridge
Accumetrics		Verify NOW system	Light Transmittance	Polymer	Cardiac	2ml whole blood		~ 5min	<\$20
Axis Shield POC		Afinion	Light Transmittance	Polymer	Inflammation, diabetes	1.5 ul ~ 5 uL whole blood, plasma	inaccuracy < 3% CV	3 ~ 5 min	platform: \$3451 \$7/test
Bio RAD		Analyseur in2it	Chromatography	Polymer	diabetes (HbA1C)	10 uL		10 min	platform: \$2750 \$7.5/test
Biosite		Triage	Flourescence	Polymer	Cardiac disease	500 uL	33 ~ 100%	15min	\$16 ~ 70/test
OcuSense		TearLab	Impedance spectroscopy	Polymer	Blood analysis	50 nL Tear	Sens. 90%, Spec. 95%	30sec	platform: \$5000, cartridge \$15 ~ 20
TI		Spreeta	SPR	Polymer	Drug test		<10 nm	<5min	platform: \$300, cartridge \$30

<상용화된 현장 진단 면역센서의 예>

나. 국외 기술개발 동향

- 삼성에서는 혈액 검사를 위한 디스크 타입의 blood analyzer를 개발함
- 타겟으로 CRP, cTnl, proBNP 등 심혈관 마커와 간염, HBsAg 등 검출 가능



- 인포피아에서 개발된 이지아이원씨 제품 개발
- 혈액 속의 HbA1c를 측정함으로써 2 - 3개월간의 혈당 평균치 산출
- 측정법은 분광법/전류법을 이용하며 측정 범위는 4 ~ 14%/10 ~ 600mg/dL
- 간질환 측정기인 파이오니어 제품 개발
- 10 uL 의 혈액으로 AST, ALT 40 ~ 400 U/L 범위내 측정 가능
- 심장, 암질환 등 9가지 마커를 각각의 스트립으로 측정할 수 있는 셀렉스 온 디바이스 플랫폼

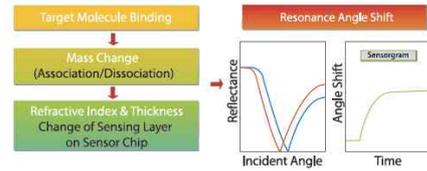
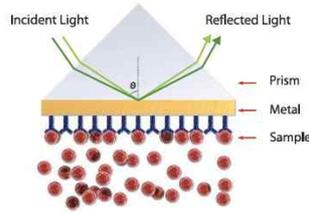


<이지아이원씨 (좌) 와 파이오니어 제품 (중), 면역진단기 (우)>

- LG 생명과학에서는 형광을 이용한 알러젠 진단기를 개발 상용화 시킴
 - > 어드밴슈어 알로스캔, 150분으로 60가지 알레르기 진단
 - > 0.1mL 혈액으로 분석 가능



- 케이맥에서는 SPR을 이용하여 면역 진단이 가능한 진단기 개발



lateral flow assay



- 면역 분석으로 저 농도에서 정확도, 신뢰도가 낮고 고농도에서 역시 한계치 이상 진단이 되지 않는 단점

ELISA kit

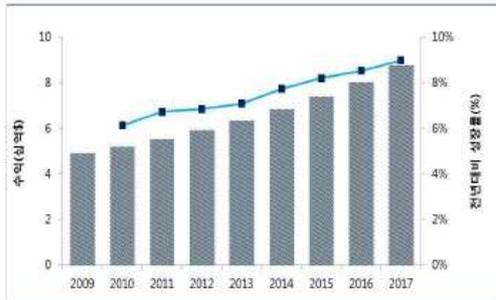


- 가격대가 비싸고 현장진단이 불가능하며 일반인이 사용하기에 적합하지 않음.

2. 가축의 임신진단 분야

- 젖소의 임신진단을 위한 키트가 (주) 녹십자에서 개발된 “제네디아 프로테스트”가 판매되었으나 중단됨
 - > 가격 및 혈액을 이용하므로 채혈 문제, 전문수의사 및 수정사가 근거리에서 있어 가격대비 효용성이 낮음
- 돼지 임신진단 : 김종배 교수(한동대학교) 등이 2006-2008년까지 뇨에서 EIS 검출을 통한 임신진단 및 키트를 개발하였으나, 돼지 뇨 샘플 채취의 어려움과 농장에서 사용상 문제 및 키트의 골드 코팅에 따른 가격문제로 중단됨
- 면역분석법(immunoassay) 분야 역분석법을 전문적으로 연구하는 곳은 거의 전무하다. 사람의 임신진단 및 암 또는 감염진단 키트를 개발하는 일부 제약회사가 있지만 대부분 ELISA법을 적용하고 있으나, 동물에서는 연구용 외에는 적용되지 않고 있음. 소의 경우 독일 등에서는 ELISA원리에 입각한 키트를 사용하고 있다.
- Steroids 호르몬에 관한 연구 발전 및 임신관련 스테로이드 호르몬에 관한 연구는 거의 없음

● POCT 진단 시장규모



※ 출처 : Frost & Sullivan, Analysis of the Global In Vitro Diagnostics Market(2013)

- 현장형시진단(POCT) 전체 IVD 시장의 13%를 차지하며 59.2억 달러 규모를 형성하고 있음. (680,800,000)천원
- 2017년까지 87.4억 달러 8.1%의 성장률을 보일 것으로 전망됨
- 한국 POCT 진단 시장규모는 전세계의 2%를 차지하고 있으며 (국내 시장규모 약 2400억@2013년도)
- 2017년도 예상 성장률 (약 2,700억원)
- 2017년도 예상 성장률 10%점유를 목표로 연구개발 투자 및 사업확대를 계획하고 있음. (POCT 진단 분야)
- Top 3 업체 Alere,Roche,Siemens 비해 작은 시장 규모로 시장매력도가 낮은 상황으로 기술선점을 통한 시장진출이 가능함

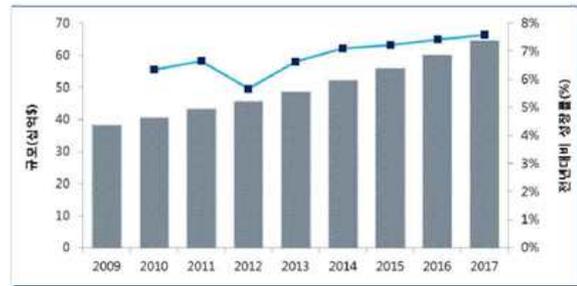
3. 국내 정책적 변화

- 말 산업법(2011년) 제정 및 말 산업육성 5개년 계획이 수립 시행
- 인공수정 시범사업 (2개소, 2013년), 승용마 생산농장 육성 (100호, 2016년)를 추진 중

4. 국내의 시장 동향

- 미국의 번식기 암말 440천두 중 387천두(88%) 인공수정 기술(Loomis와 Graham, 2008)
- 국외 유전자 회사 중심으로 말 정액 판매(SBS사 등; 300천원 - 20,000천원으로 다양)
- 국내에서 마사회 및 일부 지자체를 중심으로 승용마 생산을 시도하고 있음
-> 말 번식 및 생산을 지원 할 수 있는 관련 기술 개발이 필요함

● 세계 체외진단(IVD)시장 규모



※ 출처 : Frost & Sullivan, Analysis of the Global In Vitro Diagnostics Market(2013)

- 세계 체외진단 시장은 2012년 456.8억달러 규모에서 2017년 646.5억달러 규모로 성장할 전망 (CAGR : 7.2%)
- 면역화학적진단(Immunochemistry) 시장이 전체 IVD 시장의 41.1%, 187.6억 달러 규모로 형성하고 있으며 2017년도에는 264.7억 달러 규모로 성장할 것으로 예상됨.
- 이에 당사는 본 기술개발을 통해 POCT 진단뿐만 아니라 면역화학적진단분야로 진출을 확대해 시장확대 및 매출증대를 이룰 수 있을 것으로 예상됨. (만성 질환 환자를 대상으로 자가진단 기기 개발)

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

1. 기술개발 업무분장

□ (주)메디칼써프라이

- 사용자 인터페이스 SW 개발 기술 확보
- 시스템 integration 및 설계 테스트 -> 시제품 제작 및 상용화 기술 확보
- 임신진단기의 대량 생산 시스템 구축 기술 확보

□ 전자부품연구원 메디컬 IT 연구센터

- 호르몬에 맞는 바이오센서 전극과 회로 설계 및 제작 기술 확보
- 호르몬 단독 및 복합 진단 시스템의 설계 기술 확보
- 발정기 및 임신기간 호르몬 진단 시스템 설계 기술 확보
- 센서 안정화를 위한 단백질 고정화 및 표면처리 기술 확보
- 측정 보드, 회로 및 알고리즘 개발 : 시스템 모니터링 SW 개발 기술 확보

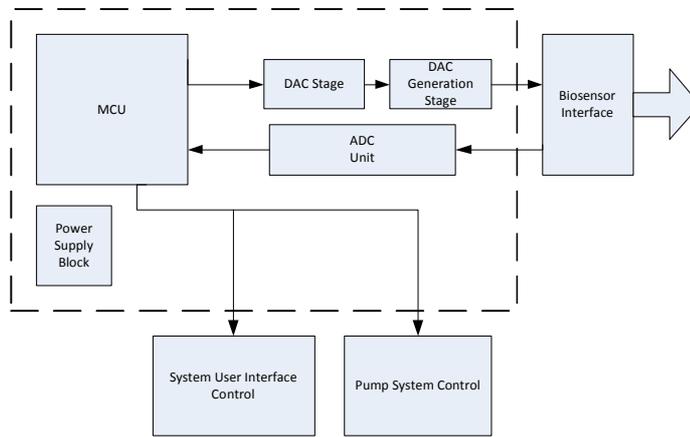
□ 한국농수산대학교 말 산업학과

- 암말의 발정주기 및 발정기 동안 난포 크기와 호르몬 농도와 관련성 분석 기술 확보
- 암말에서 수정 후 15일 간격 혈액 및 대사물질 샘플 확보 후 호르몬 정량 분석 기술 확보
- P4, PMSG, E2 및 E1S의 배란, 임신, 및 태아 생존 기준 정립 기술 확보
- 바이오센서 시스템에 단계별 호르몬 기준 제시 기술 확보
- 현장 진단형 바이오 시스템의 재현성 검증 및 실증 시험 기술 확보

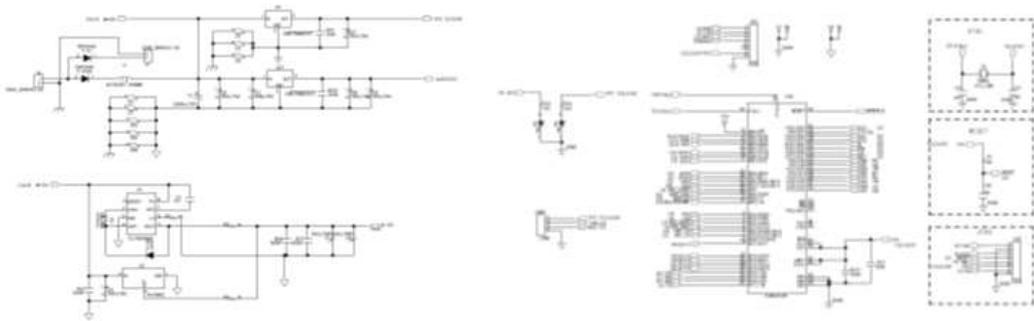
2. 기술개발 접근방법

가. 주관사업자 (메디칼써프라이)

- 측정 보드, 회로 및 알고리즘 개발 : 시스템 모니터링 SW 개발 기술 확보
 - 다중 호르몬 정량 분석용 리더기 최적 설계, 측정 구성 모듈, 레이아웃 설계 및 구성
 - 메인 시스템 구성
 - .. 메인 보드는 그림에서 보이는 것과 같이 시스템 동작을 제어하는 MCU/CPU 모듈, 시스템 동작을 위한 전원부, 3전극 바이오센서 인터페이스에 전원을 공급하고 측정된 신호를 입력받는 DAC 및 ADC Block, 유저인터페이스 제어부로 구성됨. 또한 유체동작을 제어하는 펌프 제어 시스템에 연결되어 측정 프로토콜에 맞게 기구 동작이 이루어지도록 제어함



<메인시스템 구성도>



<전원부 및 MCU/CPU Block 회로도 구성 예시>

- 측정 알고리즘 및 기기 구동/제어 소프트웨어 설계 기술 확보
- .. Cycle 에 따른 전류 측정 알고리즘 설계
- .. 유저 인터페이스 설계 및 구성
- .. 측정 보드 레이아웃 회로 설계, 구현 및 작성
- .. 전기식 모듈 구성: main processor board & multiplex board
- ... 메인 보드는 microprocessor, signal generator, signal acquisition 으로 구성
- .. 시스템 integration 및 조립설계·수정 및 테스트



디자인 형상



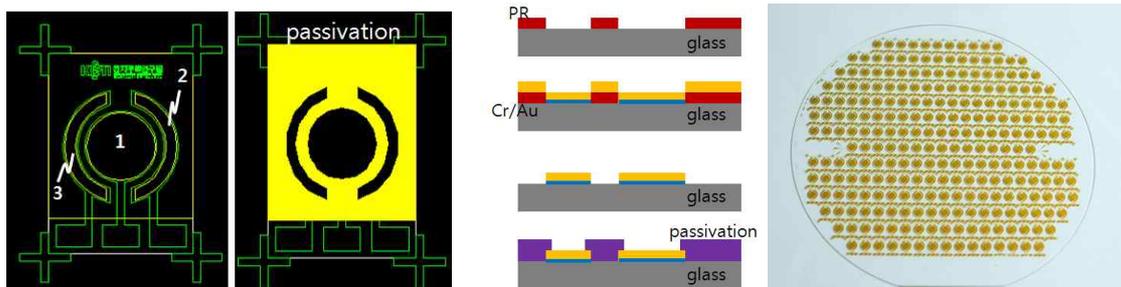
정면
<디자인 예시>



측면

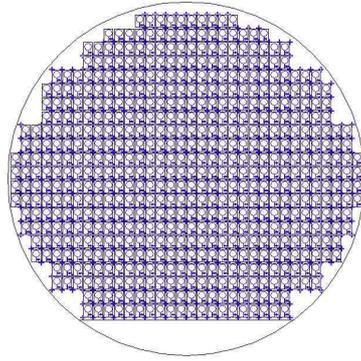
나. 제1협동연구기관 (전자부품연구원 메디컬IT 연구센터)

- 호르몬에 맞는 바이오센서 전극과 회로 설계 및 제작 기술 확보
- 호르몬 검사를 위한 다중 진단용 전극 설계 기술 확보
- .. 유리 기판위에 골드 전극 패턴 공정을 이용하여 다량의 샘플 제작 기술 확보
- ..

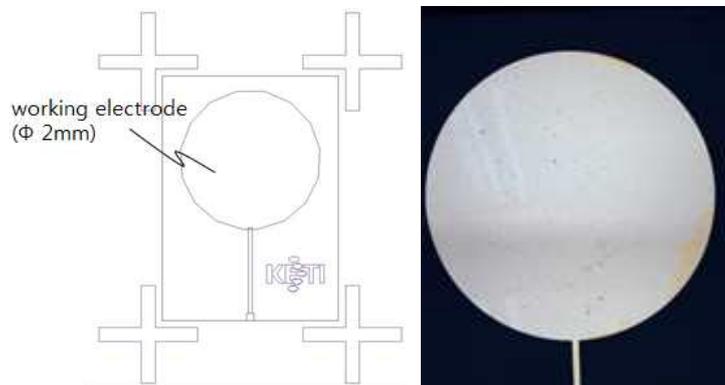


<전극 제조 공정과 제작된 1차 전극>

- .. 비교적 간단한 공정으로 다량의 전극을 회수하며 이후 표면 처리를 위해 스핀 코팅 방식으로 생산 위주의 샘플 제작 기술 확보
- ... Sputter를 이용하여 Cr/Au(300/3000A) 증착 기술 확보
- ... Sheet resistance 측정: 150 Ohm 기술 확보
- ... 웨이퍼당 550 개 전극 제작을 위한 최적 설계 기술 확보

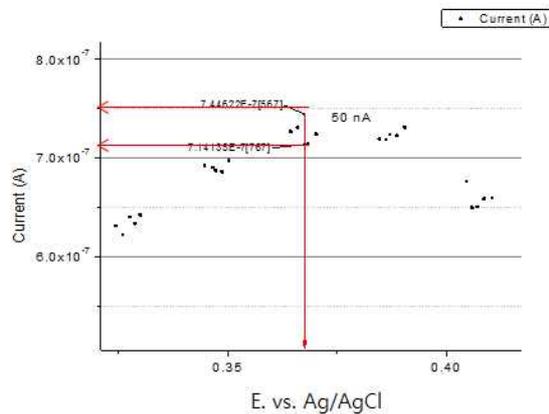


<4 인치 웨이퍼 레이아웃>



<제작된 칩 마스크 및 전극>

- 칩 간의 전기 측정 편차의 최소화 기술 확보
- .. 일정한 공정으로 제작과정의 편차를 최소화하며, 전극 구조를 최대한 단순화 시켜서 칩 간 측정 편차 역시 최소화 할 수 있는 기술 확보
- ... 칩 간 측정된 전류값에 대한 측정 편차를 보면 30 nA 수준으로 항원/항체 반응에서 측정되는 6 uA 이상 전류값에 비해 약 0.5% 편차 수준으로 산술 계산됨 기술 확보

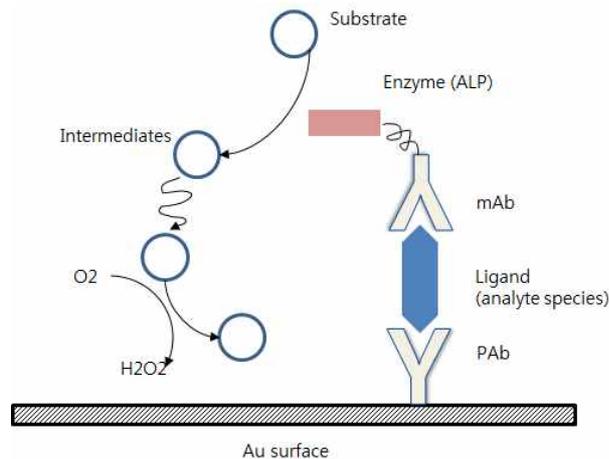


<고정 전압하에서의 전류 변화량 편차 측정, 사이클 당 30 nA 수준>

표1. Bare chip 상에서의 싸이클 당 전류 변화량 측정

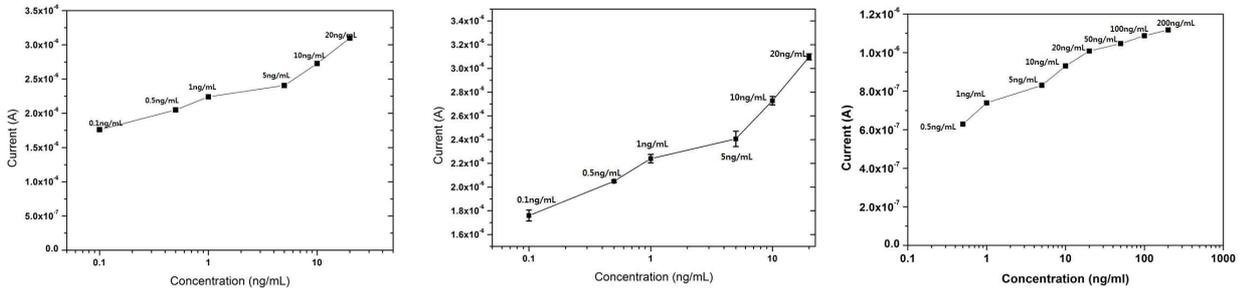
Chip no.	싸이클 당 전류 변화량 (5번)		편차 (%)
1	714 ~ 744 nA	30nA	0.50
2	710 ~ 736 nA	36nA	0.60
3	706 ~ 727 nA	21nA	0.35
4	721 ~ 764 nA	43nA	0.72
5	700 ~ 734 nA	31nA	0.52
6	671 ~ 709 nA	28nA	0.47
평균	31.5 nA		0.53

- 다중 진단용 전극 제작 및 전극용 PCB 키트 제작 기술 확보
- .. 전기화학 면역센서의 경우 잘 알려진 3전극 기반의 플랫폼을 사용하며 이는 작업 전극과 카운터에 전압을 sweep 하고 작업 전극과 기준 전극사이의 전류를 측정하여 농도에 따른 전류변화량으로 정량화 하는 방법을 취함
- .. 전류량은 detection Ab와 결합되는 ALP conjugated secondary Ab의 양에 의해 결정되며 검출하고자 하는 호르몬이 가교 역할을 하여 궁극적으로는 호르몬의 양에 비례하여 증감함
- .. 측정을 위한 alkaline phosphatase 는 기질과의 반응으로 부산물인 과산화수소를 발생시키며 최종적으로 전하의 증가를 가져옴



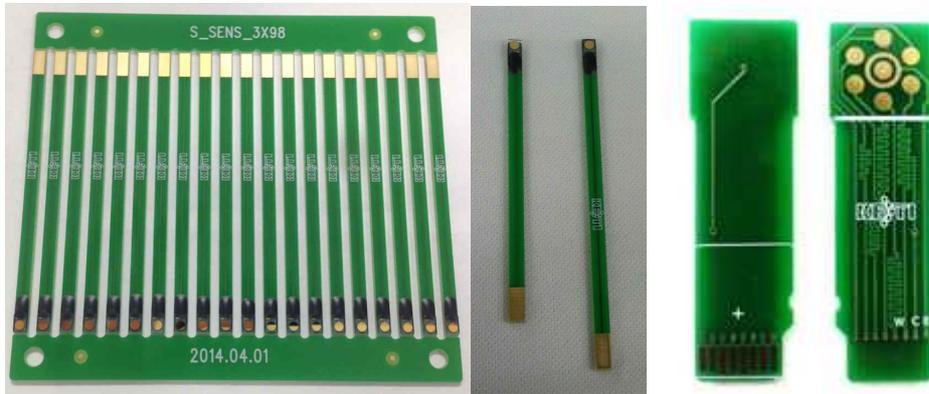
<호르몬-리셉터 결합 반응 개요>

- 호르몬 단독 및 복합 진단 시스템의 설계 기술 확보
 - 각 호르몬에 대한 spike 테스트 및 calibration curve 작성
 - .. spike 한 샘플로 일정 전압 하에서 전류값 모니터링 수행

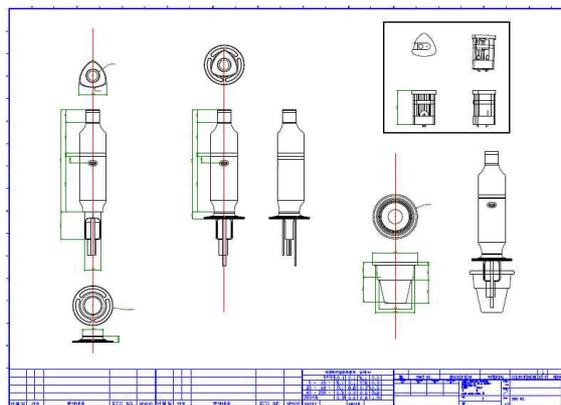


<서로 다른 3종에 대한 항원 캘리브레이션 예시>

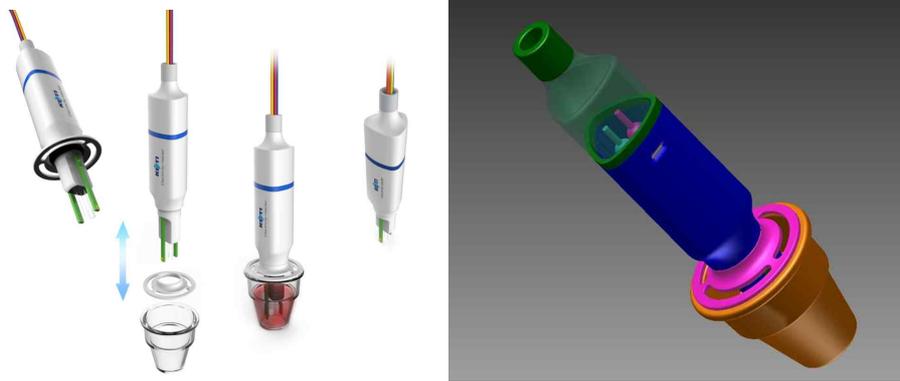
- 단일 혹은 멀티 호르몬 측정을 위한 진단 키트의 설계 및 제작 기술 확보
- .. 작업 전극 슬롯의 개수에 따라 다중 측정이 가능하도록 설계
- .. 일회용으로 단가의 저렴화 추진하고 기준 및 카운터는 반영구적으로 사용



<일회용 전극 및 멀티플 전극 PCB 제작 예시>



<측정 프로브의 2차원 설계도면 예시>



<측정 프로브 3차원 도면 디자인 선정 및 내부 설계 예시>

- 말의 호르몬 측정을 위한 임상 샘플 수령 및 실험 진행
- .. 과제 시작과 함께 임신 주기 말의 샘플 채집 및 수령과 실험 진행
- .. 호르몬 주기에 따른 변화량 관찰과 캘리브레이션 그래프 확보

- 발정기 및 임신기간 호르몬 진단 시스템 설계 기술 확보
 - 과제 수행 기간 중 다양한 case study 및 변수를 고려한 설계 및 제작
 - 최종 시제품 제작 및 시스템 integration 을 위한 모듈 구성
 - 테스트 수행 및 권장 필요사항 확보

- 센서 안정화를 위한 단백질 고정화 및 표면처리 기술 확보
 - 호르몬 및 항체 고정화 프로토콜 확보
 - .. 호르몬의 안정적 고정화를 위하여 흡착 보다 coupling 결합에 의한 고정화 방법을 채택
 - .. 일정한 Washing step 을 도입하여 고정화에 의한 칩 간 편차 최소화 추진
 - .. 최종 시제품 형태로 도입될 경우 호르몬 고정화 상태 및 추가 용액 도입으로 안정적 검출 신호 확보를 위한 사전 준비 진행

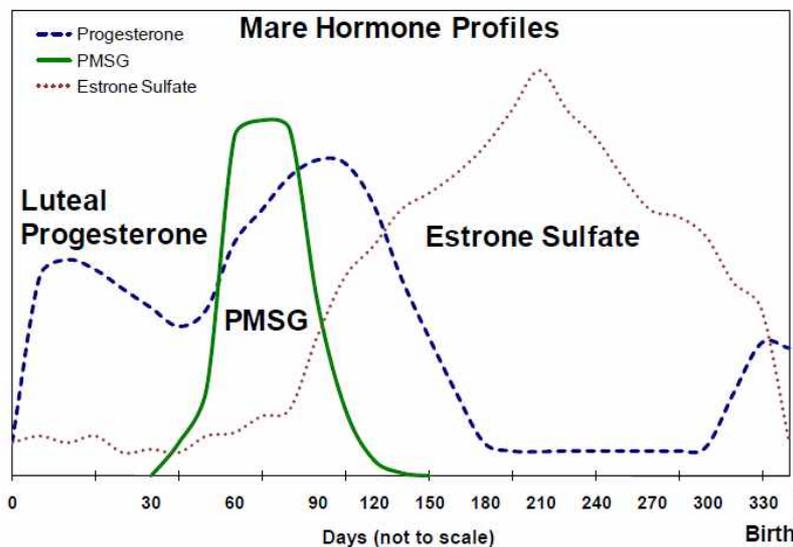
나. 제2협동연구기관 (한국농수산대학 말 산업학과)

□ 말의 발정기 및 임신기간별 호르몬 농도 설정 기술 확보

- 암말의 발정 및 임신기간 호르몬 분석을 통한 진단기 분석 기준 설정
 - 암말의 발정주기 및 발정기 동안 난포 크기와 호르몬 농도와 관련성 분석 기술 확보
 - > 배란 예측 기술
 - 검사 항목 : P4, E2
 - 시료 : 난포크기 3cm -> 5cm 까지 0.4-0.5mm 간격으로 혈액 채취
 - 공시축 : 한국농수산대학 및 한국마사회 장수목장 암말(총 30두)
 - > 암말의 발정유도는 10일간격 PGF2a를 투여 하여 발정을 유도한다. 발정 확인

은 초음파 기기를 이용 난포의 크기를 조사하고, 각 단계별 혈액을 채취하여 시료로 활용한다.

- 호르몬 정량 분석(RIA법)
 - > I125-P4(Amersham Biosciences, Ontario) RIA-Kit 활용하여 정량분석은 박용수(2000)의 논문에 방법에 준하여 분석
- 암말 임신기간 중 호르몬 농도 설정 (P4, PMSG, E1S) 기술 확보
 - 인공수정 및 자연교배 후 15일 간격으로 분만까지 혈액 채취
 - 공시축 : 한국농수산대학 및 한국마사회 장수목장 암말 중 임신 우 20두
 - > 인공수정 및 자연교배는 논문의 재료 및 방법에 준함
 - 호르몬 정량 분석
 - > P4 : RIA법을 이용 I125-P4(Amersham Biosciences, Ontario) RIA-Kit 활용하여 정량분석은 박용수(2000)의 논문에 방법에 준하여 분석
 - > PMSG : 말의 혈청에서 임신 45-100일경까지 분비되는 complex glycoprotein으로 농도분석은 Menzer와 Schams(1979)의 방법을 이용
 - E1S : antiserum을 이용 RIA법으로 분석
- 호르몬 분석을 통한 배란 및 임신 기준 설정 기술 확보
 - 상기 분석 결과를 바탕으로 국내산 암말의 배란시기 예측 및 임신 진단 기준을 설정
 - 비교 분석
 - 시험축사 : 한국농수산대학교 및 마사회 장수목장 임신 마(30두) 활용
 - 진단기와 호르몬 농도 및 초음파 검사와 비교 test
- 바이오센서 시스템 재현성 검증 및 실증 시험 기술 확보
 - 본 기술개발 결과물 재현성을 검증
 - 농장 현장에서 실증시험(초음파 검사와 비교)



<임신 중인 암말의 주기에 따른 호르몬 변화>

- 정량 progestagen 분석: 18 - 25일 이내 조기 임신 가능성 테스트(> 13.0 nmol/L)
- 정량 PMSG 분석: 40 - 120 일 이내 임신 가능성 테스트
- 정량 total estrogen 분석: > 100일 이상 임신 가능성 테스트

표2. 임신 주기별 TEST 방법

임신주기	테스트 항목	용도
18 ~ 25	정량 progesterone	조기 진단
40 ~ 120	정량 PMSG	중기 진단
100일 이후	정량 total estrogen	장기 정밀 진단

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

1. 목표달성

사업화 목표	주요내용	달성도
<p>□ 바이오센서 기반의 현장 진단형기기 개발 및 상업화 기획</p> <ul style="list-style-type: none"> • 말의 발정 및 임신 단계별 호르몬 기준 설정 조사 • 바이오센서 기반의 진단기기 개발 및 상업화 기획 	<p>□ 말의 발정 및 임신 단계별 호르몬 기준 설정 조사</p> <ul style="list-style-type: none"> • 발정기 및 임신기간의 호르몬 수준 조사 <ul style="list-style-type: none"> - 암말의 발정주기 및 발정기 동안 난포 크기와 호르몬 농도 분석 - 임신 15일 간격 호르몬 분석 - P4, PMSG, E2 및 E1S 농도 분석 - RIA 및 ELISA를 이용한 정확도 분석 • 배란 예측을 위한 호르몬 모델 개발 • 임신 진단센서 및 리더기를 위한 호르몬 수준 정립(임신 15일 - 100일) • 태아 생존 확인 진단을 위한 호르몬 수준 정립 (임신 100일 - 분만) • 진단기 임상적용 시험 및 정확도 진단 <p>□ 바이오센서 기반의 진단기기 개발 및 상업화 기술 조사</p> <ul style="list-style-type: none"> • 바이오센서 전극과 회로 설계 및 제작 • 센서 안정화를 위한 단백질 고정화 및 표면 처리 기술 개발 • 측정 보드, 회로 및 알고리즘 개발 : 시스템 모니터링 SW 개발 • 사용자 인터페이스 SW 개발 • Test validation을 통한 재현성 검증 • 시스템 integration 및 설계 테스트 <ul style="list-style-type: none"> - 각 모듈별 최적화 제어기, 구동 SW, 신호 검출/출력 제작 등의 기술 체계화 	<p>100%</p>

1. 예상기여도

가. 말의 번식 및 생산 분야

- 현재 국내 말 번식 기술수준은 선진국대비 중하 수준으로 앞으로 개선의 여지가 많음
- 경주마 위주의 자연교배를 주로 하고 있어 기타 생명공학 연구 방법에 대한 연구과 기술 개발이 필요
- 선진국에서는 말의 불임치료를 위한 난자 직접이식, 체외배양 등도 개발완료 되어 상용화 함
- 하지만 배란시기 예측과 임신진단은 기존 초음파를 이용한 기술에 의존하고 있어 본 기술이 개발된다면 선진국보다 비교우위를 점할 수 있을 것으로 판단되며 파급효과가 아주 클 것으로 예상됨
- 기타 가축은 현장 진단형 기기의 개발과 상용화 된 예 가 없어 본 기술 기반으로 한 해외질병, 육류검사 등에 적용 가능한 진단시스템 개발이 가능함

나. 바이오센서형 임신진단기 분야

- 전극 구조에 대한 모방은 가능하지만, 전극위에 코팅되고 고정된 물질에 대한 분석은 상당히 난이도가 있으며 특히 분석 메커니즘은 전극위의 고정 물질로만 이루어지는 것이 아니고 항원과 2ndary Ab 의 반응과 전극위 리셉터와의 상호작용이 있으므로 메커니즘 파악은 상당히 난이도가 있음
- 시스템 구성과 모듈 구성은 역공학으로 모방 제작이 가능하지만, 임베디드 SW 에 대한 부분은 탑재된 프로그램을 분석하지 않는 한 알고리즘과 전기화학 분석 결과 등은 모방이 불가능함
- IP 확보 부분은 전극 구조 및 디자인 부분, 반응 메커니즘, 시스템 구성, 반응 정량 결과 부분이 될 것으로 예상되며 추후 전극 위 물질 조성 또한 비공개 IP 확보 가능
- 현장 진단을 위한 채널 구조 역시 IP 화 할 가능 할 것으로 여겨짐
 - 현장 진단 응용 분야
 - > 응급용, 전염병 검출, 1차병원용 스크리닝, 혈액가스, 중앙 랩 이전 단계에서 긴급한 검출, 제 3세계, 전쟁지구 응급 검출용으로 활용가능
 - 자가 진단
 - > 자가 모니터링 및 약물 효과 모니터링
 - > 대상: 혈당, 혈액 응고, 감기, 약물 복용 후 반응성 테스트
 - > 측정이 간단하며 전문가의 역할이 필요 없음
 - > WHO에 의하면 당뇨의 경우 전 세계적으로 매년 130 billion test 진행 중이며 시장 규모는 45억 불에 이룸

다. 현장에서의 응용 분야

- 응급 상황에서 시행되는 테스트
- 심혈관 테스트, 전염성 역병, 감기 및 바이러스 테스트
- 전 세계적인 시장의 규모는 2009년 33.8 million \$에서 2015년 240.5 million \$ 로 성장할 것으로 예상됨
- 메디컬 분야에서의 현장검진
 - > 중앙랩 진단과는 별개로 진행될 수 있는 조기 검진 및 환자 모니터링
 - > 진단 장소: 환자병상, 의사 검진실, 암 검진, 패혈증 및 심혈관 진단
- 수술실에서의 현장 검사
 - > 수술 중 수술 시간 단축과 중앙랩 비의존성 테스트 현장에서 바로 수행
 - > 응용 장소: 환자 침상, 수술실, 투석실, 환경테스트, 군대용 현장 테스트
 - > 검출 대상: 호르몬 테스트, 크레아티닌, 레지오넬라 병 등

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

□ 말 배란 및 임신진단 활용(국내)

- 연간 경제적 이익 및 매출액 340억 이상 가능 (기술개발 3년 후)

- 말배란 및 임신 검사
-> 10,000두 × 50천원 × 2회 × 년 = 10억원
- 임신진단 및 태아 생존 검사
-> 10,000두 × 100천원(3회) × 년 = 30억원

□ 경제적 기대효과(제품판매) : 165억의 매출 기대

- 생산성 향상 키트 개발을 위한 (수출 및 국내 판매)
-> 바이오센서 기기 판매 : 1,000천원 × 1천대 = 10억
-> 검사 키트 판매 : 5천원 × 10천세트 = 5억
- 유럽 및 미국 등 수출 : 2,000천원 × 5천대 = 100억
- 기타 가축의 현장 진단형 임신기 개발 및 판매 : 50억/년
- 본 기술개발은 말의 임신여부 및 주수를 확인할 수 있는 현장 적용형 바이오센서 및 이를 관독할 수 있는 분석기기로서 임신여부 및 주수를 확인할 수 있는 바이오센서와 이를 관독할 수 있는 분석기기로 나뉘어져 있음.
- 말의 조기 임신/비 임신 진단의 중요성
 - 교배 또는 인공수정 후 임신진단을 빨리 진단하면 할수록 생산성 향상으로 소득과 직결
 - 기존에는 초음파 검사를 하고 있으나 초음파 장비의 가격이 비싸고, 전문교육을 받은 전문가들이 활용 가능하므로, 농가에서 임신 여부를 판단하기는 어려움
 - 말 번식 전문 수의사의 부족에 따른 관리 부재로 생산효율이 낮아 질 수 있음
- > 말 산업 기반 확충에 어려움이 있음
- 임신을 비롯한 진단기기 분야에서는 세계적으로 다른 분야에 비하여 바이오센서를 바탕으로 한 분야의 체외진단 규모가 2009년에 비하여 2014년 14%로 다른 분야(면역진단, 혈액진단) 보다 성장률이 높을 것으로 예측 되고 있어(Kalorama information, 2010), 이 분야에 대한 연구와 산업적 적용이 필요함
- 조사된 혈액 및 대사산물의 호르몬농도는 각종 연구의 기초자료로 활용도가 높고
- 개발된 키트는 국내 활용
 - 경주마 번식 2,000두/년 및 향후 승용마 생산 확대시 활용도가 높을 것으로 판단되며
 - 국외 말 생산 국가로의 수출도 가능 할 것이다.

□ 사업화 추진계획

- 말의 호르몬 기준 정립 및 이를 바탕으로 한 진단기기 개발
- 말(馬) 분야의 바이오센서 이용 현장진단기기 개발 및 산업화
- 현재 상용화 되지 못하고 있는 가축(소, 돼지, 개) 등에도 적용 가능한 시스템 개발 및 산업화
- 가축(소, 돼지, 개)로의 기술 확대를 통한 경쟁사 기술 우위성 확보 및 시장 확대를 통한 매출증대

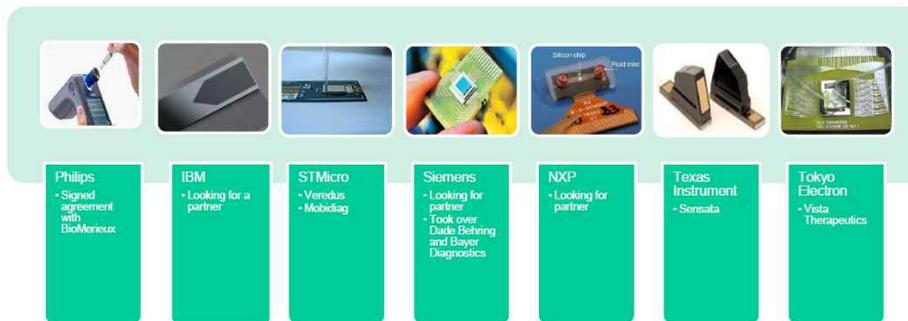
제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

□ 국외 기술 개발 동향

- 본 기술이 제안하는 현장검사용 플랫폼 및 디바이스를 축산에 응용하는 예는 거의 없으며 의료용 바이오센서 플랫폼 개발 동향 중심으로 기술함

Company	기술명	응용분야	민감도/정확도
Abaxis	Piccolo xpress	다 분야 혈액 검사	테스트별, 평균 5U/L
Abbott POC	I-STAT	전해질, 혈액가스	95% 이내
Accumetrics	VerifyNow system	약물복용, 심혈계통	광학식 방식
Axis shield POC	Afinion	감염, 당뇨 (HbA1C)	total imprecision <3%
Biosite	Triage	심혈관, 약물남용	민감도 33 ~ 100%
Ocusense	TearLab	삼투압 분석	민감도 90%, 특이도95%
Texas Instrument	Spreeta	약물, POC, 환경	< 10nM

- 반도체 제조회사들 중심으로 현장진단용 플랫폼 개발을 시도하고 있고 진단마켓 접근을 위하여 진단 회사들과의 협업 또는 M&A 중심으로 진단기기 개발 중에 있음



<바이오센서 플랫폼 개발을 위한 반도체 제조업체들 현황>

Company	Picture	Products	Technology	Material	Area	volume	Sensitivity./accuracy	Analysis time	Price/test
Abaxis		Piccolo xpress	Absorption	Polymer disc	Blood analysis	100 uL	avg 5U/L	12 min	platform: \$24,000 \$13-14/test
Abbott		I-STAT	One time cartridge	Polymer+ Film elec.	Blood analysis	Blood 2 droplets	95%	2 ~ 10min	\$ 4 ~ 20/cartridge
Accumetrics		Verify NOW system	Light Transmittance	Polymer	Cardiac	2ml whole blood		~ 5min	<\$20
Axis Shield POC		Afinion	Light Transmittance	Polymer	Inflammation, diabetes	1.5 ul ~ 5 uL whole blood, plasma	inaccuracy< 3% CV	3 ~ 5 min	platform: \$3451 \$7/test
Bio RAD		Analyseur in2it	Chromatography	Polymer	diabetes (HbA1C)	10 uL		10 min	platform: \$2750 \$7.5/test
Biosite		Triage	Flourescence	Polymer	Cardiac disease	500 uL	33 ~ 100%	15min	\$16 ~ 70/test
OcuSense		TearLab	Impedance spectroscopy	Polymer	Blood analysis	50 nL Tear	Sens. 90%, Spec. 95%	30sec	platform: \$5000, cartridge \$15 ~ 20
TI		Spreeta	SPR	Polymer	Drug test		<10 nm	<5min	platform: \$300 cartridge \$30

<상용화된 현장 진단 면역센서의 예>

제 7 장 연구시설·장비 현황

□ 주관사업자 기자재 보유현황

시설(기자재) 명	규격	수량	용도
열전식온도계	300℃	1	정밀 온도 측정
절연저항계	600V	1	절연저항 측정
멀티테스타기	AC, DC 1KV	1	전압, 전류, 저항 측정
AC전류계	25A	1	교류 전류 측정
AC전력계	120W	1	교류 전력 측정
AC전압계	300V	1	교류 전압 측정
내전압시험기	5KV	1	내전압 측정
슬라이더스	240V	1	전압 조절
버니어캘리퍼스	150mm	1	길이 측정
마이크로메타	25mm	1	길이 측정
핸드드릴	1200rpm	1	기구 가공
DC Power Supply	0~30VC, 0~3A	1	직류 전원 공급
Function Generator	0.004~4	1	임의 파형 발생
오실로스코프	100MHz	1	파형분석
보호접지저항계	6V, 30A	1	접지저항 측정
누설전류치구		1	누설전류 측정

제 8 장 참고문헌

□ 국내문헌

1. 측정분석 장비·장치 분야 기술동향보고서, 2011-17, KEITI
2. 2011 중소기업 통합기술로드맵3 (전략분야 현황분석), 2011, 중소기업청
3. 질환의 진단을 위한 바이오 칩 관련 기술, 기술 및 시장동향보고서, 한국기술은행
4. 바이오 센서 글로벌 시장 동향분석, 2011, 한국기계연구원
5. 유비쿼터스 건강관리를 위한 바이오센서 기술동향, 2009, 한국전자통신연구원
6. 나노바이오센서 연구동향, 전북대학교 BIN융합공학과, 제14권 제4호, 2011
7. 바이오센서 산업동향, 한국전자산업진흥회, 2007
8. 전기적 검출을 이용한 탄소나노튜브 기반 바이오센서 기술, 성균관대학교 화학공학과, 2011

□ 국외문헌

1. Surgace Plasmon Resonance Sensors : Review,"Sensors and Actuators B, Vol 54, pp3~15, 1999
2. "Biosensors in medical diagnostics-A global strategic business report", 2008
4. Kalorama Information, Medical and Biological Sensors and Sensors Application, 2006

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 기술사업화 R&D 기획지원사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 기술사업화 R&D 기획지원사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.

연구개발보고서 초록

과 제 명	(국문) 바이오센서를 이용한 말의(馬) 현장 진단형 임신진단기 개발 및 산업화				
	(영문)Development and industrialization of field diagnostic pregnancy test kit using biosensor in equine				
주 관 연구 기관	(주)메디칼씨프라이	주 관 연 구	기술사업본부		
참 여 기 업	특허그룹 덕원	책 임 자	김 태 군		
총 연구개발비 (30,000천원)	계	30,000(천원)	총 연구 기간	2013.12.20.~2014.6.19.(6개월)	
	정부출연 연구개발비	30,000(천원)	총 참 연 구 원 수	총 인 원	7
	기업부담금			내부인원	5
	연구기관부담금			외부인원	2

○ 연구개발 목표 및 내용

- 바이오센서 시스템을 이용한 말의 프로게스테론(P4), PMSG, 에스트로젠(E2) 또는 에스테르원 설페이트(E1S)의 적정농도 진단 기술 개발 및 본 기술을 바탕으로 현장 진단형 기기를 개발하므로 말의 발정기간 중 배란시기 예측, 수정 후 임신진단 및 태아 생존 검사를 농가에서 활용 할 수 있도록 상용화 함

○ 연구결과

- 말의 발정기 및 임신기간별 호르몬 농도 설정 기술 조사
 - 암말의 발정주기 및 발정기 동안 난포 크기와 호르몬 농도와 관련성 분석 기술 조사
 - 암말에서 수정 후 15일 간격 혈액 및 대사물질 샘플 확보 기술 조사
 - P4, PMSG, E1S 농도 분석 및 배란, 임신, 및 태아 생존 기준 정립 기술 조사
 - 바이오센서 시스템 재현성 검증 및 실증 시험 기술 조사

바이오센서 기반의 임신진단 키트 개발 및 상용화 기술 조사

- 호르몬에 맞는 바이오센서 전극과 회로 설계 및 제작 기술 조사
- 호르몬 단독 및 복합 진단 시스템의 설계 기술 조사
- 발정기 및 임신기간 호르몬 진단 시스템 설계 기술 조사
- 센서 안정화를 위한 단백질 고정화 및 표면처리 기술 조사
- 측정 보드, 회로 및 알고리즘 개발 : 시스템 모니터링 SW 개발 기술 조사
- 사용자 인터페이스 SW 개발 기술 조사
- 시스템 integration 및 설계 테스트 -> 시제품 제작 및 상용화 기술 조사
- 임신진단기의 대량 생산 시스템 구축 기술 조사

○ 연구성과 활용실적 및 계획

- 현실적 연구개발이 가능한 바이오센서를 이용한 말의(馬) 현장 진단형 임신진단기 개발 및 산업화 관련 기술 조사 및 사업계획서 작성
- 기획지원 보고서를 통해 기술사업화 지원사업 수행에 있어 사업화가 가능함.
- 조사된 혈액 및 대사산물의 호르몬농도는 각종 연구의 기초자료로 활용도가 높고
- 개발 예정된 키트는 국내외 활용이 가능
 - 경주마 번식 2,000두/년 및 향후 승용마 생산 확대시 활용도가 높을 것으로 판단되며 말 생산이 많은 미국 호주 및 유럽으로 수출 가능할 것으로 여겨짐
- 현재 상용화 되지 못하고 있는 기타 가축의 임신진단기 개발에 기준 제시 가능

[별첨 2]

자체평가 의견서

연구개발분야	첨단생산	과제구분	<input type="checkbox"/> 지정공모과제 <input checked="" type="checkbox"/> 자유응모과제	관리번호	11307-1
연구과제명	바이오센서를 이용한 말의(馬) 현장 진단형 임신진단기 개발 및 산업화				
주관연구기관	(주)메디칼써프라이				
연구담당자	주관연구책임자	김 태 군			
	협동/위탁/세부 연구책임자	기관(부서)	특허그룹 덕원	성명	김 건 우
		기관(부서)		성명	
		기관(부서)		성명	
		기관(부서)		성명	
연구기간	총 기간	2013.12.20.~2014.6.19.	당해년도기간		
연구비(천원)	총 규모	30,000(천원)	당해년도규모	30,000만원	

1. 연구는 당초계획대로 진행되었는가?

당초계획 이상으로 진행
 계획대로 진행
 계획대로 진행되지 못함

○ 계획대로 수행되지 않은 원인은?

2. 당초 예상했던 성과는 얻었는가?

예상외 성과 얻음
 어느 정도 얻음
 얻지 못함

3. 연구과정 및 성과가 농림어업기술의 발전·진보에 공헌했다고 보는가?

공헌했음
 현재로서 불투명함
 그렇지 않음

6. 연구개발착수 이후 국내 다른 기관에서 유사한 기술이 개발되거나 또는 기술 도입함으로 연구의 필요성을 감소시킨 경우가 있습니까?

- 없다 약간 감소되었다 크게 감소되었다

○ 감소되었을 경우 구체적인 원인을 기술하여 주십시오?

7. 관련된 기술의 발전속도나 추세를 감안할 때 연구계획을 조정할 필요가 있다고 생각하십니까?

- 없다 약간 조정필요 전반적인 조정필요

8. 연구과정에서의 애로 및 건의사항은?

(※ 아래사항은 기업참여시 기업대표가 기록하십시오)

1. 연구개발 목표의 달성도는?

- 만족 보통 미흡

(근거 : 중소기업 및 영세기업의 선행기술조사 및 국내외 동향 세부기술개발내용 확보 차원에서 금번 R&D 기획지원 과제와 같은 제도가 활성화되어 자본기업들과의 경쟁속에 최소한 대등하게 평가받을 수 있는 환경이 조성되었으면 하는 바램입니다.)

2. 참여기업 입장에서 본 본과제의 기술성, 시장성, 경제성에 대한 의견

가. 연구성고가 참여기업의 기술력 향상에 도움이 되었는가?

- 충분 보통 불충분

나. 연구성고가 기업의 시장성 및 경제성에 도움이 되었는가?

- 충분 보통 불충분

3. 연구개발 계속참여여부 및 향후 추진계획은?

가. 연구수행과정은 기업의 요청을 충분히 반영하였는가?

충분 보통 불충분

나. 향후 계속 참여 의사는?

충분 고려 중 중단

다. 계속 참여 혹은 고려중인 경우 연구개발비의 투자규모(전년도 대비)는?

확대 동일 축소

4. 연구개발결과의 상품화(기업화) 여부는?

즉시 기업화 가능 수년 내 기업화 가능 기업화 불가능

5. 기업화가 불가능한 경우 그 이유는?

구 분	소 속 기 관	직 위	성 명
주관연구책임자	(주)메디칼써프라이	부사장	김태균 (인)
참여기업대표	(주)메디칼써프라이	대표이사	김광민 (인)

[별첨 3]

연구결과 활용계획서

1. 연구과제 개요

사업추진형태	<input type="checkbox"/> 자유응모과제 <input type="checkbox"/> 지정공모과제	분 야		
연구과제명	바이오센서를 이용한 말의(馬) 현장 진단형 임신진단기 개발 및 산업화			
주관연구기관	(주)메디칼써프라이	주관연구책임자	김태군	
연구개발비	정부출연 연구개발비	기업부담금	연구기관부담금	총연구개발비
	30,000천원	-	-	-
연구개발기간	2013.12.20. ~ 2014.6.19. (6개월)			
주요활용유형	<input type="checkbox"/> 산업체이전 <input type="checkbox"/> 교육 및 지도 <input checked="" type="checkbox"/> 정책자료 <input type="checkbox"/> 기타() <input type="checkbox"/> 미활용 (사유:)			

2. 연구목표 대비 결과

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
① 바이오센서를 이용한 말의(馬) 현장 진단형 임신진단기 개발 및 산업화 선행기술 조사 및 전문가 확보	① 바이오센서를 이용한 말의(馬) 현장 진단형 임신진단기 개발 및 산업화 선행기술 조사 및 전문가 확보를 하였음

3. 핵심기술

구분	핵심기술명
①	전기식 바이오센서를 이용한 성호르몬 측정 기술

4. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)				
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복제	외국기술 소화·흡수	외국기술 개선·개량	특허 출원	산업체이전 (상품화)	현장에로 해결	정책 자료	기타
①의 기술	√	√		√	√					

5. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
①의 기술	기술사업화 지원사업 정책 자료에 활용

주 의

- 1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 기술사업화 R&D 기획지원사업의 연구보고서입니다.**
- 2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 기술사업화 R&D 기획지원사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.**
- 3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.**