

317021-

3

수출 전략형 노령 펫용 기능성 맞춤형 사료 제품 개발

최종 보고서

2020

농림식품기술기획평가원

보안 과제(), 일반 과제(✓) / 공개(✓), 비공개()발간등록번호()

수출전략기술개발사업 제3차 연도 최종보고서

발간등록번호

11-1543000-003169-01

수출전략형 노령 펫용 기능성 맞춤형 사료 제품 개발 최종보고서

2020. 2. 14.

주관연구기관 / 제일사료(주)
협동연구기관 / 충북대학교,
(주)리제닉스

농림축산식품부

(전문기관) 농림식품기술기획평가원

<제출문>

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “수출전략형 노령 펫용 기능성 맞춤형 사료 제품 개발”
(개발기간 : 2017. 4. 1. ~ 2019. 12. 31.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2020. 2. 14.

주관연구기관명 :	제일사료(주)	(대표자) 윤 하 운 (인)
협동연구기관명 :	충북대학교	(대표자) 강 지 훈 (인) (개인 사정으로 인한 이직)
	㈜리제닉스	(대표자) 이 정 익 (인) (내부 사정으로 인하여 2020.1.2 일자로 폐업)

주관연구책임자 : 조 우 제
협동연구책임자 : 강 지 훈
참여기관책임자 : 이 정 익

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의
합니다.

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “수출전략형 노령 펫용 기능성 맞춤형 사료 제품 개발”

(개발기간 : 2017. 4. 1. ~ 2019. 12. 31.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2020. 2. 14.

주관연구기관명 : 제일사료(주) (대표자) 윤 하 운 (인)
협동연구기관명 : 충북대학교 (대표자) 강 지 훈 (인)
(개인 사정으로 인한 이직)
(주)리제닉스 (대표자) 이 정 익 (인)
(내부 사정으로 인하여 2020.1.2.일자로 폐업)

주관연구책임자 : 조 우 재

협동연구책임자 : 강 지 훈

참여기관책임자 : 이 정 익

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의
합니다.

보고서 요약서

과제고유번호	317021-3	해 당 단 계 연 구 기 간	2019.1.1.~ 2019.12.31	단 계 구 분	총 단 계
연구사업명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	수출전략기술개발사업			
연구과제명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세부 과제명	수출전략형 노령 펫용 기능성 맞춤형 사료 제품 개발			
연구책임자	조 우 재	해당단계 참여연구원 수	총: 24명 내부: 24명 외부: 명	해당단계 연구개발비	정부:400,000천원 민간:175,000천원 계:545,000천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 26명 내부: 26명 외부: 명	총 연구개발비	정부:1,100,000천 원 민간:480,000천원 계:1,580,000천 원
연구기관명 및 소속부서명	제일사료(주) 수의영양연구소			참여기업명 충북대학교 (주)리제닉스	
국제공동연구	상대국명:			상대국 연구기관명:	
위탁연구	연구기관명:			연구책임자:	

※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

연구개발성과의 보안등급 및 사유	일반 국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 일반과제
-------------------------	----------------------------------

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	연구시설 ·장비	기술요약 정보	소프트 웨어	화합물	생명자원		신품종	
								생명 정보	생물 자원	정보	실물
등록·기탁 번호											

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

구입기관	연구시설· 장비명	규격 (모델명)	수량	구입연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	NTIS 등록번호

요약(연구개발성과를 중심으로 개조식으로 작성하되, 500자 이내로 작성합니다)
 협동연구기관(충북대, 리제닉스)과 in vitro, in vivo 연구를 통하여
 연구2년차에 사업화 완료 및 자체기술이전 실시.
 IT를 이용한 온라인테스트베드(먹고자고app) 개발로 추가 처방식 개발을
 위한 연구기반 플랫폼 완료.
 동물병원 직거래 시스템인 벨릭서물 론칭으로 새로운 사업화 모델 구축.

보고서 면수

101p

<요약문>

연구의 목적 및 내용

국내에 자생하는 원료를 이용한 경쟁력있는 반려동물 처방식을 제품화

- 우슬을 활용한 관절 처방식 in vitro, in vivo
- 노박덩굴(Celastrol)을 활용한 비만 처방식 in vitro, in vivo
- 국산 프로폴리스를 활용한 치아 처방식 in vitro, in vivo
- D-allulose를 활용한 당뇨 처방식 in vitro, in vivo
- 임상효능평가를 진행할 수 있는 온라인테스트베드 개발

정량성과 실적표

사업명	과제명	주관연구기관	연구책임자
수출전략기술개발사업	수출전략형 노령 펫용 기능성 맞춤형 사료 제품 개발	제일사료㈜	조우재

(단위 : 건, %, 점, 백만원)

성과지표	계획(A)	실적(B)	목표달성률	가중치(C)	점수(D)
특허(품종) 출원 * 생명자원(경보) 스프로웨어, 혼합물 등용/기타 실적 포함	4	26	650.0%	0.030	3.00
특허(품종) 등록	4	15	375.0%	0.030	3.00
논문(SCI)	3	5	-	-	-
논문(비SCI)	3	0	-	-	-
학술발표	6	16	266.7%	0.040	4.00
기술실시(이전)	2	1	50.0%	0.050	2.50
기술료	20	19.6	98.0%	0.05	4.90
교육지도	0	28	-	-	-
사업화 제품화	4	17	425.0%	0.300	30.00
사업화 매출액	2000	461.970474	23.1%	0.15	3.46
사업화 수출액	2500	0	0.0%	0.20	0.00
사업화 투자유치	0	0	-	-	-
고용창출	2	4	200.0%	0.050	5.00
기술인증	4	0	0.0%	0.040	0.00
인력양성	0	4	-	-	-
정책활용	0	0	-	-	-
홍보전시	3	70	2333.3%	0.040	4.00
기타	1	3	300.0%	0.020	2.00
계	30	152		1.00	61.86점

협동연구기관(충북대, 리제닉스)과 in vitro, in vivo 연구를 통하여 연구 2년차에 사업화 완료 및 자체기술이전 실시
 IT를 이용한 온라인테스트베드(먹고자고싸고 명명app) 개발로 추가 처방식 개발을 위한 연구기반 플랫폼 완료
 동물병원 직거래 시스템인 벨릭서몰 론칭으로 새로운 사업화 모델 구축

연구개발성과의 활용계획 (기대효과)

처방식의 임상효능평가를 위한 테스트베드를 구축함으로써 반려동물 먹거리 연구의 혁신을 가져왔으며 추후 연구개발에 활용할 수 있다. 특히 셀라스트롤이 함유된 노박덩굴 뿌리 분말이 포함된 처방식 사료의 제품(벨릭서 O/F) 개발을 위해서 마우스와 개의 지방유래세포를 이용하였고, 비만견을 키우고 있는 보호자가 참여하여 수의임상시험까지 완료시킨 과학적인 연구라고 자부할 수 있다. 세계적인 수출 전략형 노령 펫용 기능성 맞춤형 사료의 개발에 성공하였다고 판단된다. 중장기 고수의 창출이 기대된다.

국문핵심어 (5개 이내)	노령견 전용	반려견 비만	관절질환	당뇨질환	처방식
영문핵심어 (5개 이내)	senior dog	pet obesity	joint disease	diabetic	prescription diet

< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요	
2. 연구수행 내용 및 결과	
3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도	
4. 연구결과의 활용 계획 등	
붙임. 참고 문헌	

<별첨> 주관연구기관의 자체평가의견서

1. 연구개발과제의 개요

1-1. 연구개발 목적

코드번호	B-04-03
------	---------

○ 반려동물 사료의 트렌드에 따른 국내시장 점유율 확대 및 경쟁력 강화

1. 노령견 전용 사료개발의 중요성

- 미국과 펫산업 선진국의 노령견의 비율이 50%이상으로 올라가고 있어 노령견 전용사료의 수요가 증가하고 점점 펫을 가족화하는 트렌트에 따라 잠재시장이 커져가고 있음
- 노령견 비중이 증가할수록 노령견 전용사료의 수요가 증가하는 트렌드이며 해외브랜드를 위주로 국내에 노령견의 특성에 맞는 맞춤형 사료가 출시되고 있음
- 처방식의 국내시장 점유율은 국내제조 4%, 해외브랜드 96%으로 해외처방식의 점유율이 비정상적으로 높으므로 신뢰도를 확보한 임상적으로 검증된 국내 처방식 개발이 시급함

2. 국내 브랜드 처방식 개발의 중요성

- 반려견의 동물병원 내원율의 증가와 동물병원에서의 처방식 사용 빈도가 높아지고 있으나 현재 국내 처방식의 점유율은 국내제조가 4%로 미미하며 해외 브랜드의 독점상태가 유지됨(자료6)
- 반려견 처방식의 개발은 전체 브랜드의 경쟁력을 강화할 수 있는 필수요소이고 국내 처방식의 경쟁력을 강화하면 국내 사료제조회사들의 해외 경쟁력을 높을 수 있음

○ 국내의 자체 원료를 바탕으로 한 사료내 기능성 첨가물의 개발 및 사업화

1. 국내 자체 원료를 바탕으로 한 사료첨가제 개발

- 해외 브랜드의 처방식 개발에 사용한 원료들은 대부분의 원료시장에서 상용화 된 것들이 많지만, 국내에서 자생하는 원료의 경우 국제적 사용의 사례가 없어 경쟁력 확보에 도움
- 국내 자체원료의 사료첨가제 개발로 신규 처방식의 생산량이 증가하면 생산하는 1차 농가와 2차 가공 산업의 매출증가로 이루어져 사료제조산업의 외연을 확대할 수 있음(그림16)



<그림 16. 순환 연구 투자 및 사료제조산업의 규모 확장>

2. 천연 기호성 증진제 개발의 중요성

- 반려견의 기호성에서 제일 영향을 주는 것은 후각>미각>씹는 감촉의 순이어서 향미제에 대한 사용이 흔하지만 사람에게 좋지 않은 냄새가 나는 것이 단점임
- 아픈 동물과 노령견일수록 먹는 것의 거부를 현상이 강해 사료의 교체 혹은 반품의 주요원인
- 반려견 사료개발에 있어서 포물라도 중요하지만 잘 먹는지에 대한 여부가 제품화 사업의 필수요건임
- 합성 향미제를 대응할 수 있는 천연 기호성 증진제의 개발은 향후 해외브랜드와의 차별화와 경쟁력에 주요한 역할

3. 합성보존제의 대체제 개발

- Pet Humanization : 펫문화가 발달할수록 사료에 첨가되는 합성보존제에 대한 반발이 크며 이에 대한 대체제의 요구가 많음
- 현재까지 합성보존제의 대체제로 로즈마리추출물 혹은 천연비타민을 사용하지만 보존효과는 미비함
- 대부분의 펫푸드 회사는 개봉 후에 사료의 변패를 막기 위해 30일 이내 소비를 권장하고 있음
- 천연보존제의 개발로 합성보존제의 사용량을 줄이고 기존의 보존제보다 오래 변패를 막는다면 큰 마케팅 효과가 예측됨
- 천연보존제의 역할로 기존 날개포장에 대한 요구로 인한 제품포장 단가에 대한 부담을 덜고 가격경쟁력을 강화할 수 있음

○ 온라인 임상테스트베드

- 객관적 임상효능효과의 차별성 :필드에 있는 가정견을 보호자의 동의하에 블라인드 테스트가 가능함으로서 실질적인 임상효능효과를 확인 가능함
- 기존의 임상테스트를 하기 위해 산학협동 및 임상 কেন널을 구하기 어렵고 비용과 시간이 많이 들어가는 단점을 보완
- 임상테스트의 선진화 : 기존 선진국의 연구결과를 답습하는 것이 아닌 아직 연구되지 않은 분야를 선제적으로 접근할 수 있음
- 반려동물 ICT 융합 : 기존의 কেন널 임상테스트와 다르게 가정견에게 반려동물 iot를 제공(자동급식기, 활동량측정기, 음수량계측기, 자동체중계측기 등)함으로서 기존보다 가치가 큰 정보를 제공받을 수 있고 논문의 질을 높일 수 있음
- 온라인 임상테스트베드가 활성화되기 위해서는 안정성에 대한 공증기관의 신뢰도 및 정부지원이 필수임(보호자들의 동물실험이라는 인식을 줄여주는 노력이 필요함)

○ 기능성 사료첨가제의 임상효능효과 검증의 필요성

1. 노령견 진성 당뇨병과 비만개선을 위한 D-allulose 및 celastrol 효과 검증의 중요성

- 현재 개 진성 당뇨병관리에 있어서 식이관리와 적절한 인슐린 투여가 핵심임
- 적절한 인슐린 종류, 투여용량 및 간격 결정에 선행되어야 하는 부분이 바로 진성 당뇨병에 이환된 반려견의 식이조절이며, 식이는 종류, 양, 간격이 매우 중요하나 현재 시판되고 있는 당뇨처방식의 경우 고섬유질을 공통점으로 하며 이는 장내에서 흡수되는 당의 흡수를 더디게 하여 혈당의 완만한 상승을 그 목적으로 하고 있음
- 그러나 고섬유질 식이의 경우 변의 양의 증가, 변비, 고창, 식이거부 등을 일으킬 수 있음
- 진성 당뇨병에 이환된 반려견의 치료에 있어 비만의 교정은 고혈당 개선에서 가장 선행되어야 할 부분으로, 사람에서는 다양한 연구를 통해 D-allulose의 진성 당뇨병 관리에 있어 인슐린의 투여효과 증대 등에 관하여 그 효과가 입증되고 있으며 celastrol의 경우 체중감소효과가 비만 랫드모델에서 탁월한 효과가 입증되었음
- 국내 반려견의 경우에는 해당 연구가 전무하며, 반려견의 당뇨관리 및 비만개선에 있어 D-allulose와 celastrol을 첨가한 사료의 효능을 입증하는 것은 향유 사료첨가제를 통한 당뇨, 비만 이외의 반려견 질병들의 관리에 있어 해당 물질들의 적용 기술을 선도하기 위해서도 본 과제의 연구개발은 매우 중요함
- 본 연구개발을 통하여 국내 최초로 반려견을 대상으로 사료첨가제를 통한 질병 관리 및 치료 플랫폼 구축, 당뇨와 비만 개선에 대한 총체적인 데이터 확보, 진성 당뇨병과 비만한 반려견의 특성 조사를 포함하여 체내 대사 변화 추적, 해당 질병의 치료 마커 등 다방면 연구 영역에 확대 발전을 이룰 수 있음

2. 사료의 성분에 대한 면역증진 효과 검증의 중요성

- 면역 반응은 외부 감염 물질의 침입으로 유도된 질병 환경을 제거하고 회복하는

중요한 생체적 방어작용 중의 하나임. 이러한 면역 반응은 크게 선천적 면역 반응(innate immunity)과 후천성 면역 반응(adaptive immunity)으로 구분됨. 면역 반응은 골수에서 생성되며 비장 흉선 및 임파절 등에서 성숙되는 면역세포들에 의해 매개되며 선천성 면역반응을 매개하는 대식 세포, 수지상 세포 등과 다양한 면역원에 대한 경험을 통대로 얻어진 획득성 면역을 담당하는 T-세포 등이 대표적 면역 세포임. 특히 대식세포와 NK cell은 바이러스 감염과 암에 대하여 세포용해 활성(cytolytic activities)을 매개하며 선천적 면역 반응의 중요한 구성요소로 알려져 있음

- 노령견의 경우, 면역체계에 큰 변화가 생기는데 thymus와 골수가 노화되면서 면역세포의 수나 기능이 저하되면서 면역체계가 약해짐. 따라서 면역력을 보완하고 증진시킬 수 있는 원료를 함유하여 각종 질병으로 부터 노령개의 몸을 보호할 수 있는 기능성 사료의 개발이 요구됨

- 현재 노령개를 대상으로 한 기능성 사료가 유통되고 있으나 면역 증진 효과에 대한 검증은 현재까지 체계적인 연구가 전혀 이루어지지 않은 상황임. 또한 최근 급격하게 성장하고 있는 국내 반려견 또는 노령개용 특이사료의 개발과 외국산 프리미엄급 사료에 대한 경쟁력을 가지기 위하여 체계적인 면역 증진효과에 대한 검증은 매우 중요함

- 시중에서 판매되는 다양한 건강기능성사료의 경우 식품의약품안전처의 허가를 받아 판매해야 하는 동물용 의약품과 달리 제조업자 또는 수입업자가 시,도지사에게 제조 또는 수입하려는 사료의 종류 및 성분 그리고 성분량과 그밖에 농림축산식품부 장관이 정하는 사항을 등록하여 판매가 가능해 효능에 대한 신뢰성이 낮고 잠재적 위해성을 안고 있는 것이 현실임. 또한 주요 효능을 가지고 있는 성분에 대한 명확한 기준이나 안전성 및 효과 등을 평가하고 검증할 수 있는 규격과 인증 기준이 없는 것도 문제임. 따라서 면역증진 등의 효과 검증법을 확립하여 기능성 사료의 효능에 대한 관리기준을 마련해야 할 필요성도 큼

- 사료첨가물의 관련 연구의 부족 : 반려견을 대상으로 한 사료첨가물의 항당뇨, 항비만 효과 검증은 현재까지 체계적인 연구가 전혀 이루어지지 않은 상황으로, 최근 급격하게 성장하고 있는 국내 반려견 프리미엄급 사료 개발 위해서도, 또 급격히 증가하고 있는 외국산 프리미엄급 사료 수입을 억제하기 위해서 본 연구개발은 매우 중요한 의미가 있음

○ 차별화된 기능성 사료첨가제의 제품화 필요성

1. 셀라스톨(Celastro)의 필요성

- 셀라스톨(Celastrol)은 식욕억제 호르몬인 렙틴(leptin)을 크게 활성화 시키는 역할을 하고, 비만 쥐에 투여시 독성 없이 체중이 45%나 줄었다는 보고가 있음. 이 결과는 celastrol이 항비만 효과를 가지고 있으며 또한, 비만으로 연계되는 암의 발생과 밀접한 관련성이 있음을 나타내었음.

[Greenhill, C. Celastrol identified as a leptin sensitizer and potential novel treatment for obesity. Nature reviews. Endocrinology, 2015 Aug;11(8):444.]

2. 알룰로스(Allulose)의 필요성

- 알룰로스(Allulose)는 무화과나 포도 등에 극소량 존재하는 당의 한 종류로, 사카린이나 아스파탐처럼 설탕을 대신하는 대체감미료의 일종으로, 설탕의 70%에 단맛을 가지고 있으며, 칼로리는 거의 없음. 특히 포도당 이성체인 알룰로스는 소비자가 신뢰할 수 있는 천연물 유래 감미료로 상품성이 매우 높음. 알룰로스는 마우스의 소장세포에서 PPAR α 의 유전자 발현을 감소시켜 그 하위유전자인 CD36(소장 지질 흡수 관련 인자)의 발현 감소를 유도하여 분변을 통한 지질 배설을 증가시켰음. 뿐만 아니라, 알룰로스는 지방조직에서 지방 합성은 감소시키는 반면 지방 산화는 증진시키는 것으로 보였으며, 식이비만 유도마우스의 체중, 체지방량 및 혈장 지질 농도를 완전 정상화 시킨다는 것을 확인하였음

[Han Y., d-Allulose supplementation normalized the body weight and fat-pad mass in diet-induced obese mice via the regulation of lipid metabolism under isocaloric fed condition. Mol Nutr Food Res. 2016 Jul;60(7):1695-706.]

3. 프로폴리스 필요성

- 프로폴리스의 주요 활성성분은 2개의 phenyl기와 pyran환을 기본으로 하는 식물색소인flavonoids이며, 그 외에 유기산류, 페놀산류, 방향족 알콜·알데히드류, 쿠마린류, 비타민류, 미네랄류등과 같은 160여 가지 이상의 다양한 성분들로 구성되어 있고, 지금까지 알려진 프로폴리스의 주요 생물활성작용으로는 항균작용, 항바이러스작용, 혈관계 조절작용, 강간작용, 항염증 및 항알러지작용, 항암작용, 항산화작용 등이 밝혀졌으며, 그 작용기전에 관한 연구가 활발히 진행되고 있음(자료16)

병원균	최소 증식 방지 농도 ($\mu\text{g/ml}$)			
	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Tricophyton mentagrophytes</i>
	고초균	황색포도상구균	아구창칸디다	모낭백선균
프로폴리스 (단일성분)	375	1,500	3,000	188
가란긴	150	300	300	75
피노센브린	75	300	150	38
피노반쿠신	300	300	300	75
3-아세틸 피노반쿠신	300	300	300	75
계피산	400	800	300	-
p-쿠마르산 벤질에스텔	150	300	300	38
카페인산	600	600	1,200	-
카페인산 에스테르 혼합물 (대조항생물질)	150	300	300	19
스트렙토마이신	10	30	-	-
옥시테트라사이클린	1	30	-	-
클로람페니콜	1	100	-	-
셀과메톡신	300	1,000	-	-
그리세오향민	-	-	-	1,000

<자료 16. 프로폴리스 주요성분 및 대조 항생물질의 항균 활성 비교>

- 프로폴리스의 플라보노이드(Flavonoid)류에 속하는 25가지 성분 중 고초균 (*Bacillus subtilis*), 황색포도상구균 (*Staphylococcus aureus*), 아구창칸디다 (*Candidaalbicans*), 모낭백선균(*Tricophyton mentagrophytes*)에 대한 항균작용은

가란긴, 피노센브린, 피보반쿠신, 3-아세틸피노반쿠신, 계피산, p-크말산벤질에스텔, 카페산, 카페인산에스텔 혼합물 등이 작용하는 것으로 나타나고 있음. 이 성분들과 5 가지 향생물질을 교검토한 결과인 <자료16>를 보면 향생제보다 강하지는 않지만 모든 균에 대하여 광범위하게 작용을 하며 모낭백선균에 대해서는 효력이 없는 향생물질보다 더 강한 효과를 나타냄

Scientific name	Korea name	English name	Total Flavonoid content(mg/g)
<i>Propolis</i>	프로폴리스	Propolis	52.1
<i>Artemisia japonica</i>	인진쑥	Wormwood	42.7
<i>Scutellaria babicalensis</i>	황금	Skullcap plant	42.0
<i>Glycyrrhiza glabra L. Var</i>	감초	Licorice root	28.7
<i>Polygala tenuifolia</i>	원지	Polygalac Frucus	24.7
<i>Rubus coreanus</i>	복분자	Rubi Frucus	17.6
<i>Chrysanthemum morifolium</i>	국화	Chrysanthemum	16.8
<i>Diospyros mongolicum</i>	감잎	Persimmon leaf	15.9
	율피	Chestnut peel	12.1
<i>Crataegus pinnatifida</i>	토산사	Crataegii Fructus	10.5
<i>Houttuynia cordata</i>	삼백초		9.51

<자료 17. 천연향생물질과 프로폴리스의 비교>

- 천연향생물질들의 향생효능은 대부분 플라보노이드화합물에서 기인하는데 천연향생물질로 알려진 인진쑥, 황금 등 10여종과 프로폴리스의 플라보노이드화합물 함량을 비교한 결과 자료17과 같음. 프로폴리스는 인진쑥, 황금에 비해 플라보노이드화합물 함량이 각각 22%, 24% 높다. 따라서 향생물질로서 그 효능이 우수하다고 할 수 있으며 천연 향생물질로서 활용이 가능하다고 할 수 있음

4. 우슬(Achyranthes Radix)의 필요성

- 우슬은 oleanolic계(系) saponin, steroid계(系) inokosterone 등의 성분을 주축으로 여러 기능성 화합물을 함유하고 있으며, 관절염 월경불순, 산후복통, 근육통, 신경통에 사용됨

- 경제 산업적 측면에서 세계무역기구(WTO) 쌀 협상 타결, 자유무역협정(FTA) 체결 확대, 농촌 인구 고령화 등 농촌의 여건이 빠르게 악화 되면서 현시대에 부응하는 농촌의 경쟁력이 있는 경제작물의 개발·공급이 필요함.

- "한방의료보험제도"의 실시에 따라 한약재의 소비는 급증하고 있으나 국내 농촌의 한약재 생산은 경작규모가 영세하며 또한 인건비의 상승 그리고, 생산기반 구축이 어려운 산간·구릉지에서 재배되고 기계화를 통한 생산비 절감이 어렵기 때문에 경작 비용이 저렴하면서 척박한 토양에서도 잘 자랄 수 있는 다년생 초본인 우슬과 같은 우수 생약 작물을 재배할수 있는 환경을 만든다면 농촌의 한약재 생산의 경쟁력 증대에 긍정적 영향을 줄 것임

- 우슬의 기능성 활용을 위한 산업은 현재 농가 차원에서도 다양한 재배방법이 실용화되어 우슬의 생산기술이 개발되어가고 있기 때문에 신 기능성 자원으로서의 활용방안이 제시된다면 농가소득증대 및 식·약품 산업으로서 혈액 순환제, 관절염

치료제, 기능성 음료 등으로 개발되어 농가 소득증대의 일익을 담당할 수 있음

- 관절염의 대표적인 치료로는 외과적 치료와 약물 치료가 있는데, 약물치료로는 지금까지 통증이 있는 근골격계 질환에 대표되는 치료제인 항염증제(NSAID 등)의 약물을 사용하나 NSAID를 복용한 많은 사람들이 일련의 위장장애 등의 부작용이 심각하기 때문에 생약 추출물을 활용하여 치료제 연고를 만든다면 특히 기존의 화학약물(NSAIDs)들이 가지고 있는 위장장애 등과 같은 부작용이 거의 없다는 측면과 국민들의 일반적인 화학약품에 의한 부작용과 주사제에 대한 거부감을 줄일 수 있고, 사용하기가 용이함

- 우슬(牛膝)은 혈액이 잘 돌게 하고 어혈을 없애는 성질이 있어 관절염, 신경통, 월경불순, 난산, 산후복통, 산후자궁무력증, 타박상 등에 쓰이고 있으며, 이뇨작용, 자궁수축작용, 식균작용, 항알레르기 작용 등이 있는 것으로 알려져 있음

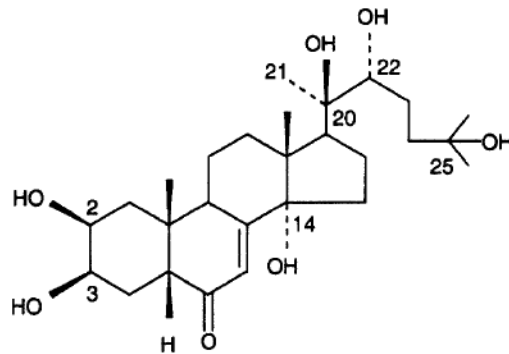


그림 17. Chemical structure of 20-hydroxyecdysone

- 20-hydroxyecdysone는 우슬의 생합성으로 만들어 지는 주요성분으로서 세포막 내에서 염증을 일으키는 cathepsin B의 과다 분비를 막아주는 작용을 하는 것으로 알려짐

1-2. 연구개발의 필요성

코드번호	B-04-01
------	---------

○ 수출전략형 노령견 기능성 사료 연구개발 필요성

1. 반려동물 시장의 급성장 및 확대

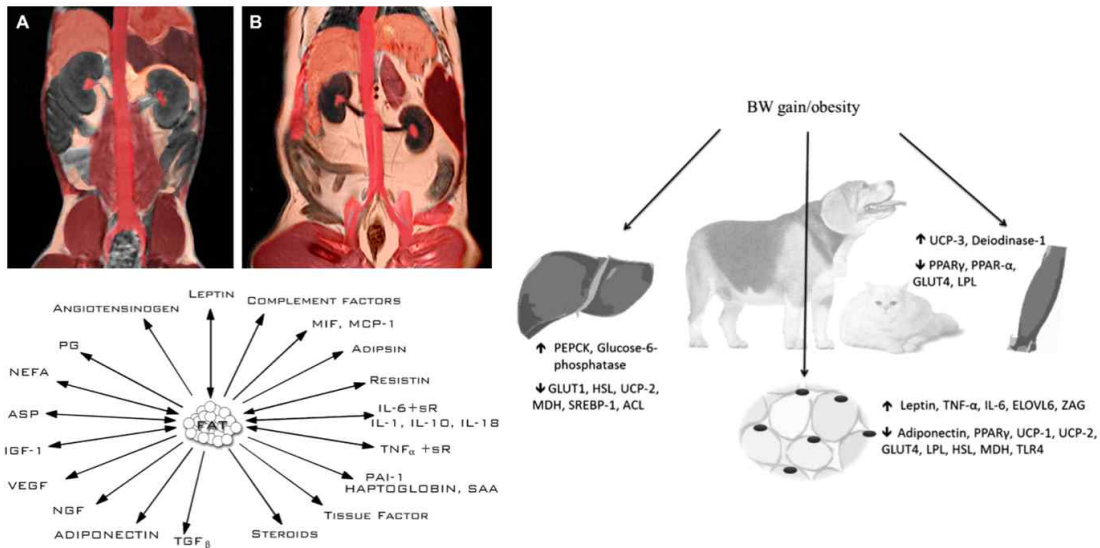
- 최근 5년간 반려동물 산업은 고령화, 독신가구, 여가확대 등으로 지속적으로 성장해 2012년 9,000억 원에서 2016년 2조 3,000억 원으로 5년 만에 2.5배 수준의 성장을 기록함
- 2020년 반려동물 산업의 시장 규모는 5조 8천억으로 급성장할 것으로 예측됨(그림 1)



<그림 1. 국내 반려동물 산업 시장규모>

2. 반려동물의 비만화 및 대사성 질환의 발생 증가

- 최근 반려동물의 고령화와 함께 비만화되는 개체 수가 증가함에 따라 노령성 질병에 대한 진단율이 증가하고 있으며, 이에 대해 반려동물을 기르는 보호자들의 요구 또한 증가하고 있음
- 비만화는 일반적으로 복부 지방의 증가를 의미하며, 증가한 복부 지방으로부터 분비되는 물질들이 결과적으로 체내 전반의 대사를 변화시킬 수 있음이 알려져 있음(그림 2)



<그림 2. 비만에 의한 대사체계의 변화>

- 개의 진성 당뇨병은 평생 완치되지 않으며, 보호자는 진단시점부터 최소 1일 1회 인슐린을 투여해야하는데다 자주 동물병원에 내원해 혈당곡선을 측정해야하므로 보호자와 개의 삶의 질 저하와 스트레스가 심한 질환임(그림 3)

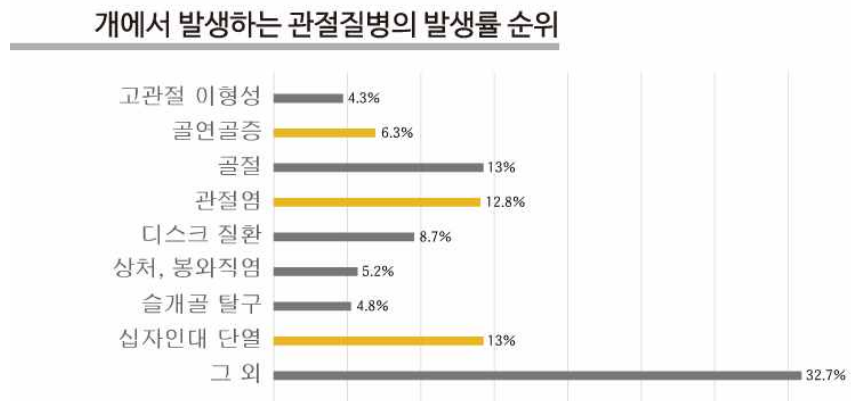


<그림 3. 진성 당뇨병에 이환된 비만한 개와 진성 당뇨병의 합병증으로 나타난 백내장>

- 지난 2011년과 2015년 반려동물의 진성 당뇨병 진단 비율을 조사한 결과, 2011년부터 5년간 개의 진성 당뇨병 진단이 750% 급증함
- 개의 진성 당뇨병은 주로 인슐린의존성(Type 1 진성 당뇨병)으로 고단백 저지방 저탄수화물 위주의 식이의 투여가 혈당조절에 아주 중요함이 잘 알려져 있음
 - > 따라서, 개에서 비만 예방뿐만 아니라 진성 당뇨병에 이환된 개에서 적절한 식이의 급여는 아주 중요함
- 기존에 개발된 진성 당뇨병 처방사료 및 체중 조절용 사료의 경우 탄수화물의 비율을 낮추고 섬유질과 지방 소모를 위한 카르니틴 함유량을 높인 방식이 대표적임

3. 반려동물의 비만화에 따른 관절질환의 증가

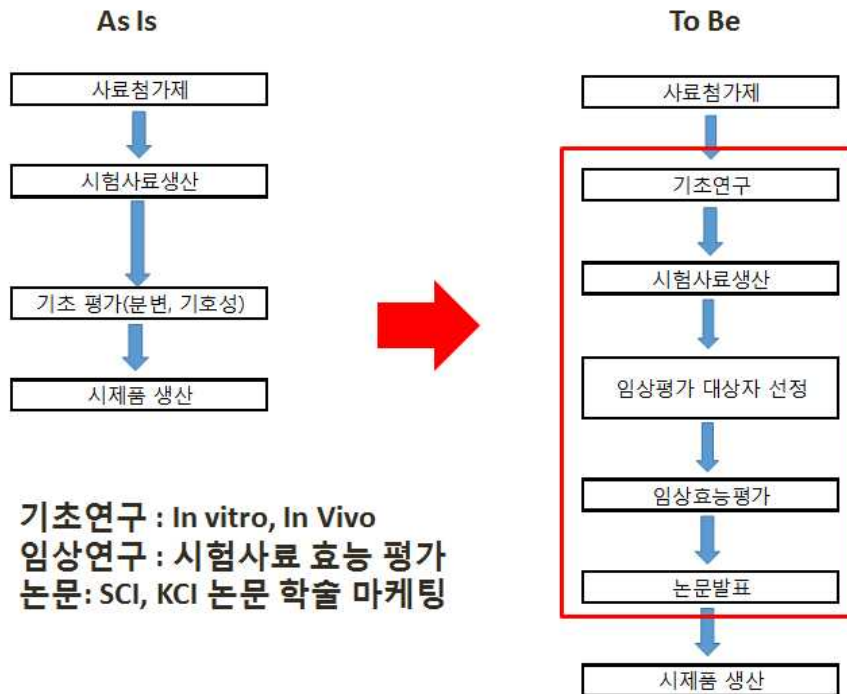
- 1980년대 반려견 평균수명이 3.7세인 반면 2015년 평균수명이 14.2세로 34년동안 수명이 4배가량 증가. 위생상태가 좋아지고 생활환경이 개선되면서 반려동물이 오래 살 수 있게 됨
- 반려동물의 고령화로 치과, 정형외과, 안과 등 노령화로 인한 질병의 케이스 증가 추세
- 전십자인대 부분 단열, 관절 연골 손상, 관절염 등을 포함하는 관절 질환은 전체 근골격계 질환의 절반에 가까운 발생률을 보이지만 이런 높은 발생률에 비해 내과적 치료나 수술적 치료의 효과가 미비하며 이를 대체할 수 있는 치료법의 개발이 부족한 실정(그림4)



<그림 4. 개에서 발생하는 관절질환>

○ 임상 효능 효과 검증을 통한 반려동물 기능성 사료의 연구 필요성

1. 기능성 제품 개발 흐름도



<그림 5. 국내 반려동물 기능성 사료의 제품 개발 흐름도와 개선방향>

- 기존의 국내사료 제조회사의 반려동물 기능성 제품개발에는 기초연구 및 임상효능평가 부분을 생략하고 시제품이 출시되는 경향으로 해외브랜드에 비해 경쟁력이 떨어짐(그림5)
- > 따라서 기초연구결과를 바탕으로 임상적 효능이 검증된 기능성사료의 개발이 시급함

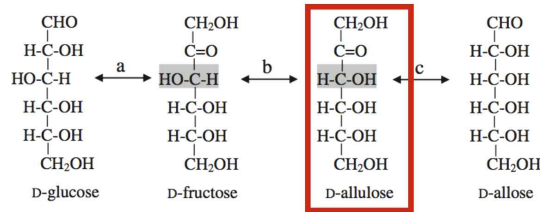
○ 경쟁력 있는 기능성 사료의 개발을 위한 특정 사료 첨가제에 대한 연구 필요성

- 해외 브랜드 기능성 사료들에 대해 경쟁력을 갖추려면 기초 연구 및 임상시험 결과도 중요하지만, 효과가 검증된 기능성물질들을 사료에 첨가하여 차별화시키는 것이 중요할 것임
- 이에 본 연구진들은 국내에 자생하는 한약재 및 특수원료에서 추출한 대표 기능성 물질들을 선별하여 이를 사료에 첨가하여 기능성사료를 개발하고 사업화할 계획임

Celastrol
Allulose
프로폴리스
우슬
발효한약재

1. D-allulose

- D-allulose는 자연계에서 드물게 발견되는 단당류의 한 종류로 포도당과 같은 화학식을 가지고 있으나 칼로리가 0에 가깝고 당도는 설탕의 70% 정도임(그림 6)



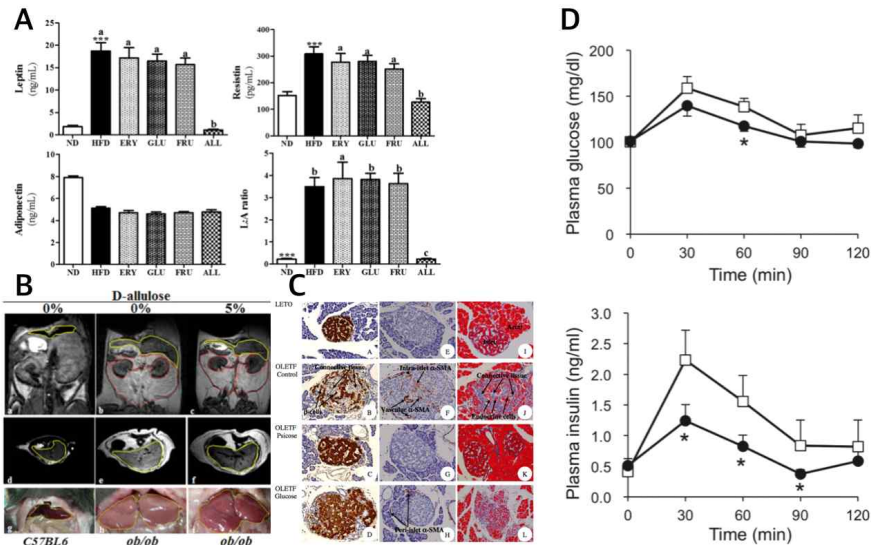
<그림 6. D-allulose의 구조>

- D-allulose가 체지방의 축적과 체지방량(특히 복강지방), 혈중지방농도, 혈당 및 혈중 인슐린 농도, 지방 유래되는 leptin 농도를 감소시킨다는 연구결과들(그림 7)이 다수 발표되었으며 사람에서는 설탕을 대체할 수 있는 식품 첨가물로 FDA의 승인을 받아 이미 이용되고 있음

- D-allulose는 포도당의 장내 흡수를 저하시킴과 동시에 간세포 내 대사효소(glukokinase) translocation을 통해 포도당 대사율을 높임

- D-allulose는 체지방 축적을 억제하면서 지방에서 분비되는 leptin 등 지방조직 유래 호르몬의 농도를 낮춤

- D-allulose는 인슐린을 분비하는 췌장섬의 beta cell을 보호하며 beta cell의 기능을 개선시킴

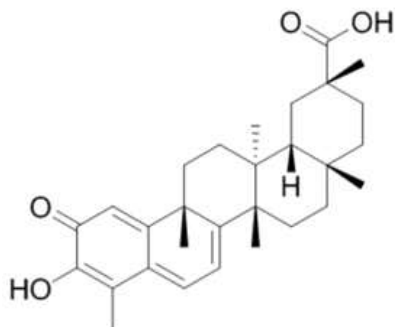


<그림 7. 개에서 D-allulose의 지방유래 호르몬 감소효과(A), 복강지방량 감소효과(B), 췌장 beta cell 보호효과(C), 혈당 및 혈중 인슐린 농도 감소효과(D)>

- 혈당강하효과 및 체지방을 감소시키는 효과를 이용해 반려동물의 비만 예방 및 비만 해소, 진성 당뇨병 처방식에 아주 적합한 물질이지만 국내 및 해외에서 D-allulose 이용한 처방사료 및 일반사료, 캔사료 등은 전무함
- 개에서의 D-allulose 대사적 효과를 연구하는 국내 연구기관 및 국내 및 국외 연구결과들 역시 전무함

2. Celastrol

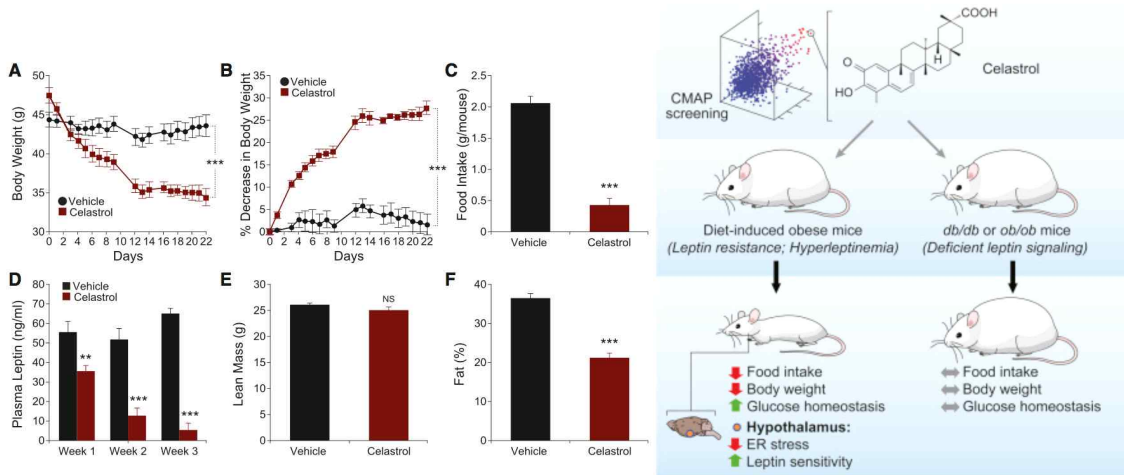
- Celastrol은 뇌공등 식물유래 물질(그림 8)로, 실험동물에서 항비만, 항염증, 항지질과산화 효과가 증명됨
- 항염 및 항암효과는 celastrol이 NF-kB pathway를 modulation시킴으로써 나타나며 이는 leptin resistance 및 insulin resistance와도 관련이 있음



<그림 8. Celastrol의 화학구조와 함유식물>

- Celastrol은 체내 지방조직에서 분비되는 leptin의 sensitivity를 증가시킴으로써 leptin resistance 감소 효과를 나타냄(그림 9)

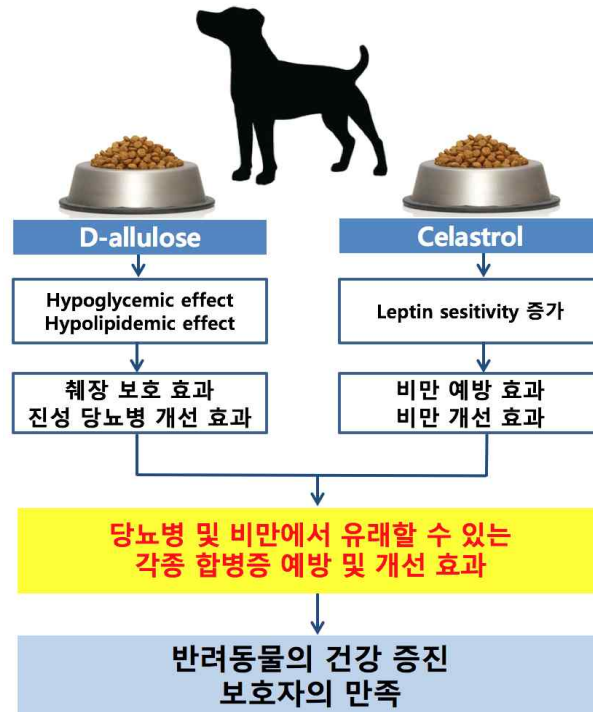
- 식욕을 억제하는 leptin의 sensitivity 증가 효과를 통해 비만을 예방할 수 있는 혹은 비만을 해소하는데 도움을 줄 수 있는 사료로써의 활용 가치가 매우 높음



<그림 9. 실험동물에서 밝혀진 celastrol의 체중, 체지방 및 leptin 농도 감소 효과>

- 하지만 Celastrol의 대사적 효과를 개에게 적용한 치료제 혹은 사료, 처방식 등은 아직 연구과 개발이 전무함

- 따라서 D-allulose와 celastrol의 항당뇨병, 항비만 효과를 개에 적용한 연구가 필요하며 이를 활용한 비만과 진성 당뇨병 처방식 개발로 반려동물 건강 및 보호자의 삶의 질을 높일 수 있음(그림10)



<그림 10. 사료첨가제의 연구 및 반려견 처방식 활용>

3. 프로폴리스(propolis)

- 프로폴리스(propolis)는 꿀벌이 나무의 싹이나 수액과 같은 식물로부터 수집하는 수지질(樹脂質)의 혼합물이며 꿀벌들은 이 프로폴리스를 벌집의 작은 틈을 메우는데 사용하며, 이렇게 하여 유해한 미생물로부터 자신들을 보호함
- 꿀벌로부터 채취할 수 있는 다른 물질인 벌꿀이나 로열 젤리와는 달리 채취할 수 있는 양이 매우 적고, 인위적으로는 증량 또는 합성할 수 없는 귀중품으로, 예부터 민간 약품이나 강장제로서 잘 알려져 있으며 국내에서는 특히 구미의 프로폴리스가 살균성, 항산화성, 항염 작용, 항종양 작용으로 유명함
- 프로폴리스는 BC 350년 전부터 약용으로 사용되어 왔음. 고대 그리스인들은 종양을 위해, 아시리아인은 상처와 종양을 치료를 위해, 이집트인은 미이라를 보존하기 위해 프로폴리스를 사용하여 왔음
- 오늘날에도 많은 의약품에서 사용되고 있는 천연항생물질임
- 또한, 우리나라에서는 1995년도에 ‘건강보조식품’으로 인정되기 시작하여 현재는 건강기능식품의 고시형 품목으로 지정되어있으며 기능성은 ‘구강 내에서의 항균작용’과 ‘항산화작용’으로 인정되며 식약처에 의해 기준과 규격이 관리되고 있음
- 2010년 12월 31일 농림수산부장관은 안전한 먹거리 확보와 품질 좋은 축산물 생산을 위해 2011년 7월 1일부터 동물용 항생제 사료 내에 혼합을 금지(농림수산식품부고시 2010-142호, ‘유해사료의 범위와 기준’ 2010.12.31.)하는 고시를 발표
- 배합사료에 질병억제를 위하여 투입하던 항생제를 더 이상 사용하지 못하게 되면서 잔류성과 내성이 없으면서 안전하게 사용 할 수 있는 천연항생제 개발이 화두가 되어 항생제 및 구강항생제 대체 물질후보군으로 프로폴리스가 가능하며 노령견의 치아와 관련된 기능성사료 첨가제로 개발이 가능함



<그림 11. 프로폴리스>

4. 우슬(Achyranthes Radix)

- 우슬(牛膝)은 비름과(Amaranthaceae)의 쇠무릎(Achyranthes japonica)의 뿌리를 기원으로 하여 한국과 일본, 중국에 분포하며 자라지만, 효능면에서는 우리나라 것이 월등히 우수한 것으로 알려져 있으며 다년생 초본식물로 약리 및 생리활성에 관한 연구가 많았던 작물(그림12)



<그림 12. 우슬 줄기 및 뿌리>

- 유효성분으로는 사포닌과 다량의 칼슘을 함유하고 있으며, 동물실험에서는 진통작용을 나타냄. 또한 자궁의 수축을 증강시키며 약한 이뇨작용이 있고, 혈관을 확장시켜 일시적인 혈압강하작용을 나타내기도 하며, 약성은 평범하고 시고 쓴맛을 나타냄
- 효능은 부인의 생리를 정상으로 유도하고 이뇨와 배변을 용이하며, 형태가 소의 무릎을 닮은 것과 같이 무릎의 질환(관절염·류머티스성관절염·타박으로 인한 염증)을 치료하는데 현저한 효과가 인정되고 있어 사람뿐만 아니라 반려견의 관절질환에서의 효과가 입증된다면 우리나라에서 자생하는 원료를 이용한 경쟁력있는 관절질환 처방식 개발이 가능함

1-3. 연구개발 범위

- 주관기관(제일사료(주))

		코드번호	C-04
연구 범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용	
온라인테스트베드 어플리케이션 개발	어플리케이션 제작업체 기획미팅 (안드로이드 기반 개체 프로파일을 저장하는 어플리케이션과 데이터를 필터링할 수 있는 관리자 모드 개발로 온라인상으로 실제 개를 이용한 실험을 할 수 있는 체계군 확보)	개를 이용한 임상연구가 시간과 비용 때문에 어려운 현실을 극복하고자 온라인상으로 실제 생활하는 반려견의 데이터를 모아 연구에 활용하는 방식의 아이디어. 어플리케이션으로 반려견 정보를 입력하고 반려견 보호자는 어플리케이션을 이용하여 여러 가지 정보와 테스트를 재미있게 진행	
온라인테스트베드 관리자 웹 개발	외부 어플리케이션 제작업체와의 기획미팅	동시에 여러 개의 펫푸드 테스트를 진행, 진행결과를 한눈에 알 수 있는 관리자 웹페이지로 가입된 반려견들의 정보를 이용하여 여러 가지 임상실험모델을 만들 수 있는 웹 서비스.	
시험사료 생산 (관절질환용 처방식)	국내에 자생하는 우슬을 이용한 관절질환용 처방식 개발 (우슬의 항염증 작용 및 사람에서 관절기능 개선에 대한 데이터 확보)	2004년 발표된 국내 KJOM 논문 상 취에 적용한 용량(출처 Park et al., 2004. The anti-nociceptive and anti-inflammatory effect of Achyranthes japonica. Korean Journal of Oriental Medicine, 25 (2004), pp. 8-14)의 두 배	

인 5%를 실제 시험사료에 적용하여 생산. 블라인드테스트를 위해 은색의 블라인드 포장지와 실험군 대조군 활용.

용.)

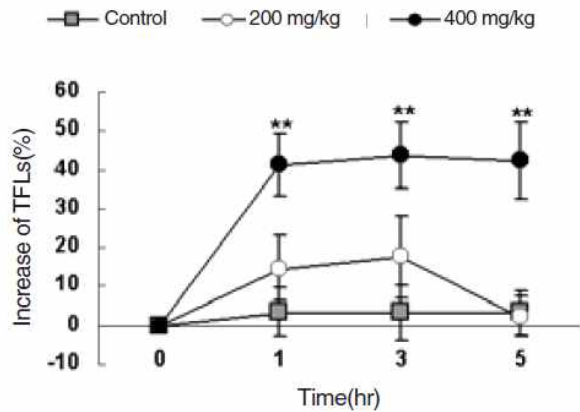


Fig. 3 The anti-inflammatory effect of the root of *Achyranthes japonica* Nakai on carrageenan-induced edema. The extract (400 mg/kg, p.o.) demonstrated a significant anti-inflammatory effect against carrageenan-induced inflammatory activity, especially at 1 hr after injection. Each represents the mean SEM. *, $p < 0.05$ and **, $p < 0.01$ compared with control group.

시험사료 생산 (치아질환용)

국내 프로폴리스를 특수한 S자 형태의 알갱이에 코팅한 시험사료

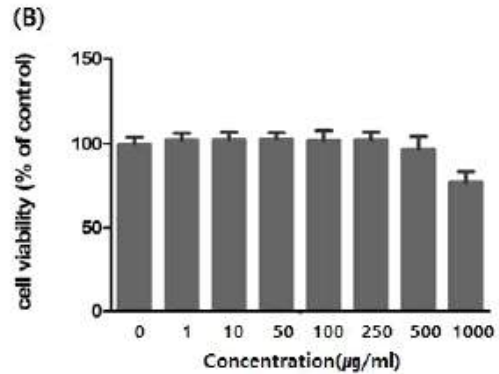


그림4. 우슬 추출물(A)과 프로폴리스 추출물(B)의 농도별 세포독성 프로폴리스 추출물의 세포 독성 실험 결과 농도별로 세포에 독성을 나타내지 않은 것을 확인하였고, 원료의 경제성과 완제품의 기호성을 고려하여 배합비에 프로폴리스 추출물을 2% 적용. 배합비에 프로폴리스를 2% 적용한 사료와 대조군(독일산)을 12마리의 비글견에 나눠 급여 후 16주간 치태형성의 결과 확인(효능효과입증 및 국제실험동물학회 발표)

시험사료 생산 (비만치료용)

노박덩굴뿌리(2%)를 함유한 고단백/저지방의 비만치료용 시험사료 A, B(노박덩굴미첨가) 사료 제작

1. 결과

시료명	분석항목	단위	결과
노박덩굴 뿌리 추출물 (분말)	Celastrol	mg/100 g	743

2015년도 Cell지에서 발표된 celastrol의 in

		vivo 용량(출처 Liu J, Lee J, Hernandez MAS, et al. Treatment of obesity with Celastrol. Cell. 2015;161:999-1011.)과 원료의 경제성을 고려하여 배합비에 노박덩굴 뿌리 2%를 적용. 비만 개체를 보호자 세미나를 통해 동의를 얻고 비만 시험사료 A, B를 급여 후 체중, Leptin농도, 활동량을 6개월간 측정
기능성 원료	치아위생을 위한 부작용이 없는 항염증기능의 원료 선택 - 프로폴리스 (사람에서 구강위생을 위해 사용하나 소동물 수의학에서는 아직 적용사례가 미미함)	프로폴리스원료수집 (중국산, 프로폴리스액상A, 프로폴리스액상B, 프로폴리스액상3) 데이터 비교 및 기호성에 대한 평가 실행. n=3의 기호성 평가에서 중국산은 기호성을 떨어뜨림. 사료제조를 위해 기호성에 영향을 덜 주는 친지성인 액상A를 선택하고 배합비에 적용
국내 자생하는 원료를 이용한 기능성 사료 생산 기획	특수원료 구매처 확보 및 분석완료	우슬(산호한방), 액상 프로폴리스(서울프로폴리스), 강황(에코센스), 바이오프로탐(대상), D-allulose(제일제당), 차전자피(에코센스), 영경귀(임실생약) 등에 대한 구매처 확보 및 분석(첨부6. 특수원료 분석 결과)

- 협동연구기관1(충북대학교)

		코드번호	C-04
연구범위	연구수행방법 (이론적, 실험적 접근방법)	구체적인 내용	
D-allulose의 hypoalycemic 효과 및 Celastrol의 항비만, 항 leptin 효과 검증 (강지훈 교수 팀)	D-allulose 투여 당뇨견 (10마리)에서의 혈액 채취 및 시료분석	당뇨병 진단 후 관리중인 당뇨병 이환견 10마리를 대상으로 총 8주간 임상실험 중 급여 전, 중, 후인 0, 4, 8주에 혈당, fructosamine, 혈중 인슐린 농도 변화 분석, 임상증상의 변화 분석, 혈액학적 검사, 혈청 화학 분석한다.	
	Celastrol 투여 비만견 (10마리)에서의 혈액 채취 및 시료분석	BCS 8/9 이상의 비만견 10마리를 대상으로 총 8주간 임상실험 중 급여 전, 중, 후인 0, 4, 8주에 혈당, fructosamine, 혈중 인슐린 농도 변화 분석, 임상증상의 변화 분석, 혈액학적 검사, 혈청 화학 분석한다.	
우슬 및 프로폴리스의 면역세포증식 효과 검증 (최경철 교수 팀)	세포 증식 1: Water Soluble Tetrazolium assay (EZ-cytox)	Water soluble tetrazolium (WST)은 살아있는 세포의 미토콘드리아 호흡사슬에 존재하여 살아있는 세포에서만 활성이 있는 탈수소효소 (dehydrogenase) 인 succinate - tetrazolium reductase에 의해 환원되어 formazan이라는 발색물질을 생성한다. 따라	

		서 생존세포수가 증가하면 mitochondria의 탈수소효소의 활성화도 증가하며 formazan의 생성이 증가하여 흡광도가 증가하여 450 nm에서 발색정도를 비교하여 각 추출물의 처리가 세포에 미치는 영향을 측정할 수 있다.
	세포 증식 2: Bromodeoxyuridine (BrdU) assay	증식중인 면역 세포 안에 새롭게 합성된 DNA를 BrdU 항체로 검출하는 원리를 이용한다. anti-BrdU 항체를 이용하여 세포가 증식하는 동안 합성된 DNA에 결합하게 한 후, 370 nm에서 발색 정도를 비교하여 각 추출물의 처리가 세포에 미치는 영향을 측정할 수 있다.
	개 면역세포 분리: Cell sorter	개의 T세포를 분리하기 위해서 Peripheral blood mononuclear cell (PBMC)에 anticanine CD3FITC를 처리하고 FACS로 FITC형광을 분석하여 FITC형광을 띄는 세포만 분리한다. B세포를 분리 할 때도 T세포와 똑같이 CD marker를 이용하는데 PBMC에 anticanine CD21RPE를 처리하고 FACS로 RPE형광을 분석하여 RPE형광을 띄는 세포만 분리한다.

- 협동연구기관2(㈜리제닉스)

		코드번호	C-04
연구 범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용	
세포에서 우슬과 프로폴리스의 안정성 및 효과 검증	- 세포독성: Cell Viability assay (CCK kit)	살아있는 세포의 미토콘드리아 전자전달계에 존재하는 효소 dehydrogenase와 반응하면 오렌지색의 formazan을 생성하며 450nm 파장에서 흡광도를 측정함으로써 알 수 있다. 각 추출물의 처리가 세포에 미치는 영향을 측정한다.	
	-항염활성: LPS로 유도된 RAW264.7세포에 대한 항염활성	박테리아의 하나인 LPS(lipopolysaccharide)는 대식세포(macrophage)를 자극하여 nitrite(NO)와 같은 전 염증성 매개물질을 분비시키며 550nm파장에서 흡광도를 측정함으로써 알 수 있다. LPS자극에 의해 RAW264.7세포에서 유도된 염증반응에 대한 각 추출물의 항염증 효과를 측정한다.	
	[추가 실험 1]	①추출물을 바닐린-황산 용액으로 발색시킨	

	<p>합량측정: ①사포닌 합량 ②폴리페놀 합량</p>	<p>후 545nm에서 흡광도를 측정하여 사포닌합량을 정량한다. ②Folin-Ciocalteu reagent가 추출물의 페놀성 화합물에 의해 환원되면 몰리브덴이 청생으로 발색하는 원리로 760nm파장에서 흡광도를 측정하여 페놀합량을 정량한다.</p>
	<p>[추가 실험 2] 개 대식세포주 대상 ROS 측정</p>	<p>추출물이 개 대식세포주 (DH82) 대상 LPS 및 Hydrogen peroxide 에 의해 생성되는 ROS 지표에 영향을 줄 수 있는지 확인한다.</p>
	<p>[추가 실험 3] 개 대식세포주 대상 cytokine 측정</p>	<p>추출물이 개 대식세포주 (DH82) 대상 LPS 에 의해 증감되는 Cytokine 에 영향을 줄 수 있는지 확인한다.</p>

2. 연구수행 내용 및 결과

○ 연구개발성과

- 논문게재 성과 : SCI 5편

논문명	저자명	학술지명	Vol(No)	국내외	SCI	ISSN	연도
Toll like receptors: A pathway alluding to cancer control	최경철(교신)	Journal of cellular physiology	234(12)	국외	SCI	0021-9541	2019
Roles of Mesenchymal Stem Cells in Tissue Regeneration and Immunomodulation	강지훈(공저자), 최경철(교신)	Biomolecules & therapeutics	27(1)	국내	SCI	1976-9148	2019
Effects of Fludioxonil on the Cell Growth and Apoptosis in T and B Lymphocytes	이건휘(주저자) 황경아(공저자), 최경철(교신)	Biomolecules	9(9)	국외	SCI	2218-273X	2019
Characterization of canine adipose tissue derived mesenchymal stem cells immortalized by SV40 T retrovirus for therapeutic use	김초원, 황경아, 강지훈(공저자), 최경철(교신)	Journal of cellular physiology	234(9)	국외	SCI	0021-9541	2019

<p>Potential roles of reactive oxygen species derived from chemical substances involved in cancer development in the female reproductive system</p>	<p>환경아(공저자), 최경철(교신)</p> <p>BMB reports</p>	<p>51(11)</p>	<p>국내</p> <p>SCI</p> <p>1976-6696</p>	<p>2018</p>
---	---	---------------	---------------------------------------	-------------

Received 22 October 2018 | Accepted 16 November 2018

REVIEW ARTICLE

Toll-like receptors: A pathway alluding to cancer control

Ana Patricia Ayala-Cuellar¹ | Jaemin Cho¹ | Kyung-Chul Choi^{1,2*}

Abstract
Toll-like receptors (TLRs) are usually expressed on immune cells, such as macrophages, dendritic cells, mast cells, as well as on nonmyeloid and nonhematopoietic cells. They play a central role in the recognition of microbial molecules that trigger an innate immune response and/or subsequent adaptive immune responses. The activation of TLRs leads to the production of signaling molecules and/or cytokines, which lead to inflammation. Among the hallmarks of cancer, there is immune evasion and immunosuppression. Building on this, we discuss the possibility that a majority of cancer cells possess TLRs, and researchers realize their receptors might also be linked with cancer progression. This review will cover some of the effects of TLR engagement in cancer cells that might induce the prevention or inhibition of cancer cells' mechanisms involved. The differences of TLR expression in cancer progression and its possible relation with patient prognosis, TLR genetic alterations, tumor-intrinsic TLRs, and new strategies to target therapy will be discussed by ligand-TLRs in cancer cells.

Keywords
cancer immunology; cancer progression; cancer immunity; Toll-like receptors

1 | INTRODUCTION
The immune system is the first line of defense against pathogens. It is composed of the innate immune system, which can be activated by the presence of the pathogen, and the adaptive immune system, which can be activated by the presence of an antigen. The innate immune system is the first line of defense against pathogens, and it is composed of various cells, including macrophages, dendritic cells, mast cells, and natural killer cells. These cells recognize and respond to pathogens through various receptors, including Toll-like receptors (TLRs). TLRs are a family of proteins that can recognize various microbial molecules, including lipopolysaccharide (LPS), lipoteichoic acid (LTA), and flagellin. The activation of TLRs leads to the production of signaling molecules and/or cytokines, which lead to inflammation and the activation of the adaptive immune system. In this review, we will discuss the role of TLRs in cancer progression and the possibility of targeting TLRs as a therapeutic strategy.

Roles of Mesenchymal Stem Cells in Tissue Regeneration and Immunomodulation

Ana Patricia Ayala-Cuellar¹, Jaemin Cho¹, Eun-Hye Chung¹, and Kyung-Chul Choi^{1,2*}

Abstract
Mesenchymal stem cells (MSCs) are defined as multipotent stem cells, due to their capacity to transdifferentiate into various tissues that replace their progenitors. Their plasticity allows an enhanced plasticity, which is mainly based on the size of their ability to receive cues from their environment. This review discusses the role of MSCs in tissue regeneration and immunomodulation. MSCs are found in various tissues, including bone marrow, adipose tissue, and umbilical cord. They have the ability to self-renew and differentiate into various cell types, including osteoblasts, adipocytes, and chondrocytes. MSCs also have immunomodulatory properties, which allow them to interact with various immune cells, including T cells, B cells, and natural killer cells. This review will discuss the role of MSCs in tissue regeneration and immunomodulation, and the possibility of targeting MSCs as a therapeutic strategy.

Effects of Fluidoxonil on the Cell Growth and Apoptosis in T and B Lymphocytes

Cook-Min Lee, Kyung-A Hwang, and Kyung-Chul Choi^{1,2*}

Abstract
Fluidoxonil is a fungicide used in agriculture, which is present in fruits and vegetables. In this study, the effects of fluidoxonil on human lymphocyte cell viability, apoptosis, cell cycle, and cell cycle distribution were investigated in human T and B lymphocytes. Fluidoxonil treatment led to a dose-dependent decrease in cell viability and an increase in apoptosis in both T and B lymphocytes. Fluidoxonil also led to a dose-dependent increase in the number of cells in the G2/M phase of the cell cycle. These results suggest that fluidoxonil may have cytotoxic effects on human lymphocytes. Further studies are needed to clarify the mechanism of fluidoxonil-induced cytotoxicity and its potential as an anticancer agent.

Characterization of canine adipose tissue-derived mesenchymal stem cells immortalized by SV40-T retrovirus for therapeutic use

Ana Patricia Ayala-Cuellar¹ | Cho-Won Kim¹ | Kyung-A Hwang¹ | Ji-Hoon Kang¹ | Gwang Lee¹ | Jaemin Cho¹ | Kyung-Chul Choi^{1,2*}

Abstract
Canine mesenchymal stem cells (MSCs) are being produced in the laboratory for a regenerative therapy. But, their limited culture lifespan makes it a challenge for practical application. In this study, primary canine adipose tissue-derived MSCs (AD-MSCs) were isolated from adipose tissue, and were immortalized with the SV40-T retrovirus resulting in a SV40-T immortalized canine adipose tissue-derived MSCs (AD-MSCs). It is compared with adult through the characteristics of both AD-MSCs and AD-MSCs. Both showed a fibroblastic morphology. AD-MSCs showed a higher potential of colony formation compared with AD-MSCs and a reduced proliferative doubling time. AD-MSCs showed a higher potential of colony formation compared with AD-MSCs and a reduced proliferative doubling time. AD-MSCs showed a higher potential of colony formation compared with AD-MSCs and a reduced proliferative doubling time. AD-MSCs showed a higher potential of colony formation compared with AD-MSCs and a reduced proliferative doubling time.

Potential roles of reactive oxygen species derived from chemical substances involved in cancer development in the female reproductive system

Ana Patricia Ayala-Cuellar¹, Jaemin Cho¹, Eun-Hye Chung¹, and Kyung-Chul Choi^{1,2*}

Abstract
Reactive oxygen species (ROS) are by-products of cellular metabolism. They play a central role in various cellular processes, including cell signaling, cell growth, and cell death. ROS can also be produced by various chemical substances, including pesticides, herbicides, and fungicides. These substances can lead to the production of ROS, which can cause oxidative stress and damage to DNA, proteins, and lipids. This damage can lead to the development of cancer. In this review, we will discuss the potential roles of ROS in cancer development and the possibility of targeting ROS as a therapeutic strategy.

Characterization of canine adipose tissue-derived mesenchymal stem cells immortalized by SV40-T retrovirus for therapeutic use

Ana Patricia Ayala-Cuellar¹, Cho-Won Kim¹, Kyung-A Hwang¹, Ji-Hoon Kang¹, Gwang Lee¹, Jaemin Cho¹, and Kyung-Chul Choi^{1,2*}

Abstract
Canine mesenchymal stem cells (MSCs) are being produced in the laboratory for a regenerative therapy. But, their limited culture lifespan makes it a challenge for practical application. In this study, primary canine adipose tissue-derived MSCs (AD-MSCs) were isolated from adipose tissue, and were immortalized with the SV40-T retrovirus resulting in a SV40-T immortalized canine adipose tissue-derived MSCs (AD-MSCs). It is compared with adult through the characteristics of both AD-MSCs and AD-MSCs. Both showed a fibroblastic morphology. AD-MSCs showed a higher potential of colony formation compared with AD-MSCs and a reduced proliferative doubling time. AD-MSCs showed a higher potential of colony formation compared with AD-MSCs and a reduced proliferative doubling time.

- 특허성과(출원된 특허 및 등록된 특허를 모두 기재)
* 출원: 출원연도, 특허명, 출원인, 출원국, 등록·기탁번호 / 등록: 등록연도, 특허명, 등

번호	출원등록명	출원등록번호	산업재산권 종류	출원인	출원등록일
1	벨리서 디자인등록출원	3020180061667	디자인	제일사료	2018-12-26

2	애완동물관리방법 및 애완동물 관리기	1020170163698	특허출원	제일사료	2017-11-30
3	애완동물에 대한 테스트를 실행하는 방법	1020170163699	특허출원	제일사료	2017-11-30
4	제 [05]류 벨릭서	40-2018-0062985	상표출원	제일사료	2018-5-10
5	제 [31]류 벨릭서	40-2018-0062989	상표출원	제일사료	2018-5-10
6	제 [05]류 벨릭서	40-1461587	상표등록	제일사료	2019-03-25
7	제 [31]류 벨릭서	40-1461592	상표등록	제일사료	2019-03-25
8	제 [05]류 Velixer	40-2018-0062988	상표출원	제일사료	2018-5-10
9	제 [31]류 Velixer	40-2018-0062992	상표출원	제일사료	2018-5-10
10	제 [05]류 Velixer	40-1404137	상표등록	제일사료	2018-10-08
11	제 [31]류 Velixer	40-1421972	상표등록	제일사료	2018-11-30
12	제 [05]류 브이엘릭서	40-2018-0062986	상표출원	제일사료	2018-5-10
13	제 [31]류 브이엘릭서	40-2018-0062990	상표출원	제일사료	2018-5-10
14	제 [05]류 브이엘릭서	40-1461591	상표등록	제일사료	2019-03-25
15	제 [31]류 브이엘릭서	40-1461593	상표등록	제일사료	2019-03-25
16	제 [05]류 Vetelixer	40-2018-0062991	상표출원	제일사료	2018-5-10
17	제 [31]류 Vetelixer	40-2018-0062987	상표출원	제일사료	2018-5-10
18	제 [05] 류 Vetelixer	40-1421971	상표등록	제일사료	2018-11-30
19	제 [31] 류 Vetelixer	40-1421970	상표등록	제일사료	2018-11-30
20	Velixer 해외 상표 등록 특허 출원(마드리드 협약국가-일본/중국/싱가포르/베트남/필리핀/인도네시아/인도)	4014041370000	상표출원	제일사료	2018-10-22
21	벨릭서 디자인등록출원서	3020180061661	디자인	제일사료	2018-12-26
22	벨릭서 디자인등록출원서	3020180061662	디자인	제일사료	2018-12-26
23	벨릭서 디자인등록출원서	3020180061663	디자인	제일사료	2018-12-26
24	벨릭서 디자인등록출원서	3020180061664	디자인	제일사료	2018-12-26
25	벨릭서 디자인등록출원서	3020180061665	디자인	제일사료	2018-12-26
26	벨릭서 디자인등록출원서	3020180061666	디자인	제일사료	2018-12-26
27	벨릭서 디자인등록출원서	3020180061667	디자인	제일사료	2018-12-26
28	벨릭서 디자인등록출원서	3020180061668	디자인	제일사료	2018-12-26
29	벨릭서 디자인등록출원서	3020180061669	디자인	제일사료	2018-12-26
30	애완 동물에 대한 테스트를 실행하는 방법 ...	1019363160000	특허등록	제일사료	2019-01-02
31	제 [05] 류 벨릭서 (해외상표 등록 중국)	4014041370000	상표등록	제일사료	2019-01-03
32	제 [05] 류 벨릭서 (해외상표 등록 필리핀)	4014041370000	상표등록	제일사료	2019-03-10
33	애완 동물 관리 방법 및 애완동물 관리 기...	1019779650000	특허등록	제일사료	2019-05-07
34	제 [05] 류 벨릭서 (해외상표 등록 싱가포르)	4014041370000	상표등록	제일사료	2019-09-05
35	제 [05] 류 벨릭서 (해외상표등록 인도)	4014041370000	상표등록	제일사료	2019-09-11

36	제 [05] 류 벨릭서 (해외상표 등록 인도네시...	4014041370000	상표등록	제일사료	2019-10-14
----	----------------------------------	---------------	------	------	------------

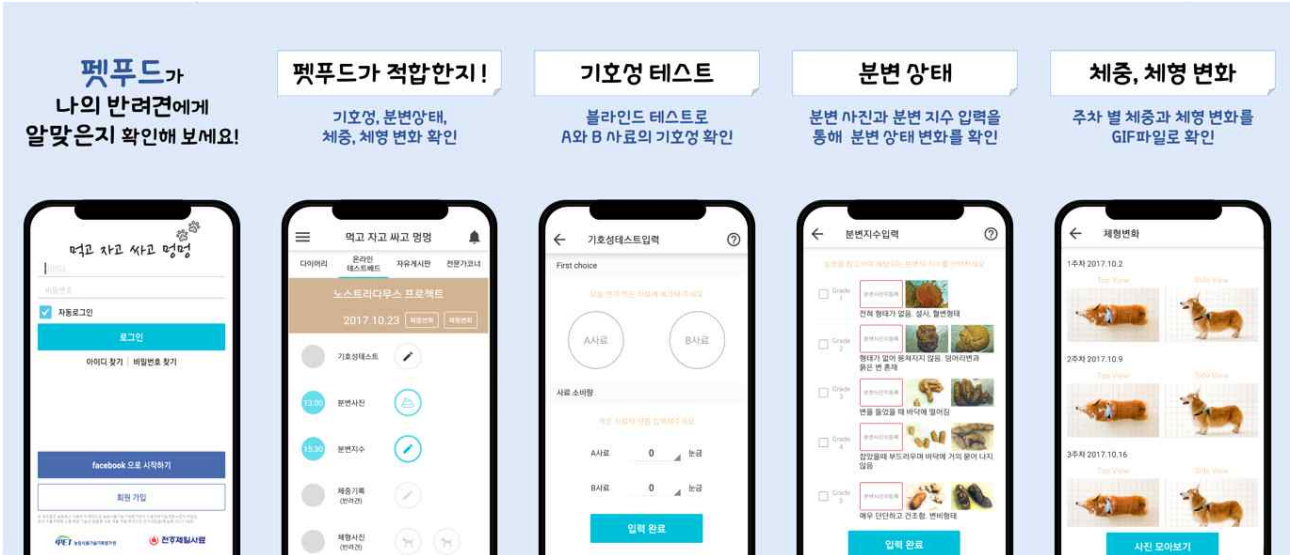
벨릭서, Vetelixer, Velixer 상표등록은 해외수출을 위해 마드리드 협약국가와 비협약국가로 나누어 해당국가 상표출원 완료함.



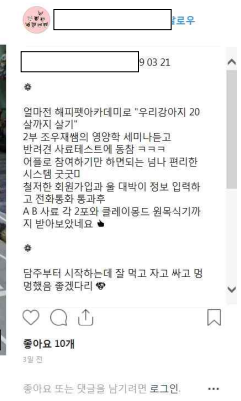
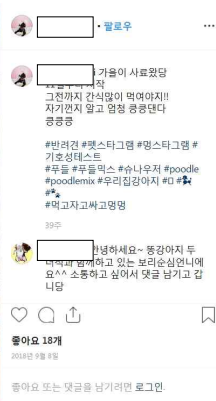
상표 출원 및 특허 등록 일부 첨부

○ 연구결과

- 기술적 성과 : 기술수준 및 기술개발성과, 연구실적물 등을 구체적으로 기술
 - 기술적인 측면에서 반려동물 분야에 해외사료에 비해 in vivo 실험결과를 바탕으로 한 제품이 전무하였으나 IT를 이용한 온라인테스트베드(먹고자고싸고App)개발을 통해 실제 가정에 있는 반려견의 데이터를 기반으로 제품을 개발함.



- 선진국의 경우 위탁연구에 많은 비용이 들어가는 Waltham reseach center, SPF에서 진행되는 기호성, 분변지수 평가를 국내에서 자체적으로 진행하는 것에 의의가 있음.



NO. **02 Adult**

- ✓ 소형견 성견
- ✓ 중상화 후 과체중 예방
- ✓ 노령견의 염증 질환
- ✓ 관절 질환 예방식



THE IDEAL DIET FOR **스티커 메모**

Velixer ADULT

12개월 이상의 소형견 성견

Velixer's speciality

- REAL BLIND TEST**
이온영양시험에서 검증된 기호성과 인정된 분변자수는 입맛이 저하되거나 소화기가 약한 개에게도 편양이 가능합니다.
- ORIENTAL HERBAL COMPLEX**
국내 자생의 한방 원료인 우슬은 관절질환을 예방하고 염염반응을 줄여주는 데 도움을 줍니다.
- CURCUMIN & ACHYRANTHES COMPLEX**
강황과 우슬 복합체는 면역 기능을 강화하고 피부 질환을 예방하는데 도움을 줍니다.
- BY THE VET**
영양학 수의사에 의한 동물리론 적인 정밀한 성분과 단백질 함량은 소형견의 이상적인 체형을 유지하는데 도움이 됩니다.

평균 영양소 함량

단백질	23.00 %	나트륨	0.69 %
지방	14.00 %	대사 에너지	3,290.00 kcal/kg
탄수화물	37.00 %	비타민 A	25,000.00 IU
포화유	4.00 %	비타민 C	200.00 ppm
EPA+DHA	0.76 %	비타민 D	1,890.00 IU
칼슘	0.80 %	비타민 E	230.00 ppm
인	0.50 %	비타민 B12	186.64 ppb

사용 원료

곡물(현미, 계곡분, 유도단백질(가수분해연어), 곡물(옥수수), 동물성충합유지 사료첨가제(비타민, 계곡분, 대두유, 유도단백질(소고기(가정제), 제2인산칼슘, 아미노산, 칼슘, 우슬, 고구마, 불활성효모(락토바실러스), 자전지, 분말유지첨가제, 인산칼슘, 프락토올리고당, L-카르니틴, 상온산소(비료), 만능올리고당, 비프(가정제), 미량영양첨가제, 염화칼슘, 과산화과제(수출물(안전항산화제), 유기수출물, 자용첨가제 수출물

• 유산(가정제) 100%

• 유 산물: 유산(가정제) 100% 배합(가정제) 100%



급여 지침

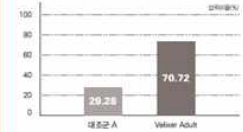
- 일일 권장 급여량을 1~2회 나누어 급여할 것을 권장합니다.
- 품종에 따라 급여량의 차이가 있을 수 있습니다.

일일 권장 급여 체중 | g/day * AAFCO 2018 기준 적용

체중 (kg)	1kg	2kg	3kg	4kg	5kg	6kg	7kg	8kg	9kg	10kg	13kg	15kg
운동 시간 1시간 이내	25	40	55	70	80	95	105	115	125	135	165	185
1~2시간	30	50	65	80	95	110	125	135	150	160	200	220
2시간 이상	35	55	75	95	110	130	145	160	175	190	230	255

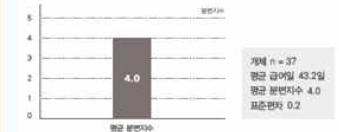
특이 받은 온라인 테스트베드를 통해 참여한 폐넙들의 기호성 테스트 결과 (이중맹검시험)

- 테스트 기간 : 2018년 5월 ~ 2018년 9월
- 폐넙 n = 24 (소형견용 성견)



특이 받은 온라인 테스트베드를 통해 참여한 폐넙들의 분변지수 테스트 결과

- 테스트 기간 : 2018년 5월 ~ 2018년 9월
- 폐넙 n = 37 (소형견용 성견)
- 분변지수 0:는 변비, 4:는 정상, 3:은 연변, 2:는 심한 연변, 1:은 설사로 정의함



- 경제적성과 : 수입산의 비율이 높은 반려동물 처방식 시장에서 경쟁력을 갖춘 국내 처방식의 출시로 전체 400억(도매가)의 매출시장에서 수입의 비율을 낮추고 해외 수출을 통해 반려동물 사료의 무역불균형을 해소할 수 있을 것으로 예상

○ 사업화성과 및 매출실적

- 사업화 성과

정량성과 실적표

사업명	과제명	주관연구기관	연구책임자
수출전략기술개발사업	수출전략형 노령 뱃통 기능성 맞춤형 사르 제품 개발	제일사료㈜	조우재

(단위 : 건, %, 점, 백만원)

성과지표	계획(A)	실적(B)	목표달성률	가중치(C)	점수(D)
특허(품종) 출원 * 생명자원(경보) 소프트웨어, 혼합물 등록/기탁 실적 포함	4	26	650.0%	0.030	3.00
특허(품종) 등록	4	15	375.0%	0.030	3.00
논문(SCI)	3	5	-		-
논문(비SCI)	3	0	-		-
학술발표	6	16	266.7%	0.040	4.00
기술실시(이전)	2	1	50.0%	0.050	2.50
기술료	20	19.6	98.0%	0.05	4.90
교육지도	0	28	-		-
사업화 제품화	4	17	425.0%	0.300	30.00
사업화 매출액	2000	461.970474	23.1%	0.15	3.46
사업화 수출액	2500	0	0.0%	0.20	0.00
사업화 투자유치	0	0	-		-
고용창출	2	4	200.0%	0.050	5.00
기술인증	4	0	0.0%	0.040	0.00
인력양성	0	4	-		-
정책활용	0	0	-		-
홍보전시	3	70	2333.3%	0.040	4.00
기타	1	3	300.0%	0.020	2.00
계	30	152		1.00	61.86점

- 사업화 계획 및 매출 실적

항 목	세부 항목		성 과		
사업화 계획	사업화 소요기간(년)		2년 1개월		
	소요예산(백만원)		1,100		
	예상 매출규모 (억원)		현재까지	3년후	5년후
			1.9	40	120
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년후	5년후
		국내	0.5%	10%	25%
국외		0.01%	0.2%	0.45%	
향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획		처방식 포물라를 응용한 처방간식(습식, 건식) 제조에 사용할 예정			
무역 수지 개선 효과	(단위: 억원)	현재	3년후	5년후	
	수입대체(내수)	1.9	40	120	
	수 출	0	10	30	

항목	세부항목			성 과	
사업화 성과	매출액	개발제품	개발후 현재까지	1.9 억원	
			향후 3년간 매출	억원	
		관련제품	개발후 현재까지	1.9 억원	
			향후 3년간 매출	억원	
	시장 점유율	개발제품	개발후 현재까지	국내 : 0.5 % 국외 : %	
			향후 3년간 매출	국내 : % 국외 : %	
		관련제품	개발후 현재까지	국내 : 0.5 % 국외 : 0%	
			향후 3년간 매출	국내 : 10% 국외 : 0.2%	
	세계시장 경쟁력 순위	현재 제품 세계시장 경쟁력 순위			6위
		3년 후 제품 세계 시장경쟁력 순위			5위

1. Celastrol의 항비만 효과 평가(In Vitro)

- 협동연구기관 (충북대학교 최경철 교수팀)

가. 이론적, 실험적 접근방법

(1) 노박덩굴 추출물 준비

- 멸균한 막자사발에 건조된 노박덩굴 뿌리를 넣고 곱게 그라인딩 함
- DMSO 1 ml에 노박덩굴 추출물 100 mg을 넣고 4°C에서 24시간 추출 후 0.2 µm syringe filtration 함
- 추출된 노박덩굴 추출물은 25°C 이하의 상온에서 보관하여 실험에 사용함

(2) 개 일차 지방세포의 분리

- 충북대학교 수의학과 강병택 교수 연구실의 도움을 받아 실험용 비글견(암컷, 3세, 9 kg bw)의 엉덩이 피하 조직으로부터 약 50 g의 지방조직을 공여 받음
- 채취한 지방조직을 Petridish에 올려놓고 DBPS를 소량 클린벤치 내에서 수술용 가위로 잘게 다짐
- 잘게 자른 조직을 실리콘 코팅된 50 mL tube에 넣고, 0.2% Collagenase type 1을 조직 1 g당 1.5 mL를 첨가하고, 37°C로 예열된 shaking incubator에서 100 rpm에서 15-30분간 반응시킴
- 효소 반응을 중지시키기 위해 10% FBS가 포함된 DMEM 배지를 동량 첨가함
- 지방세포 용액을 200 rpm에서 5초간 원심분리하고, 상층에 부유하는 지방세포를 75T flask에 옮김
- 0.1% gelatin-coated plate에 6×10^4 cells/cm²의 세포 농도로 배양함

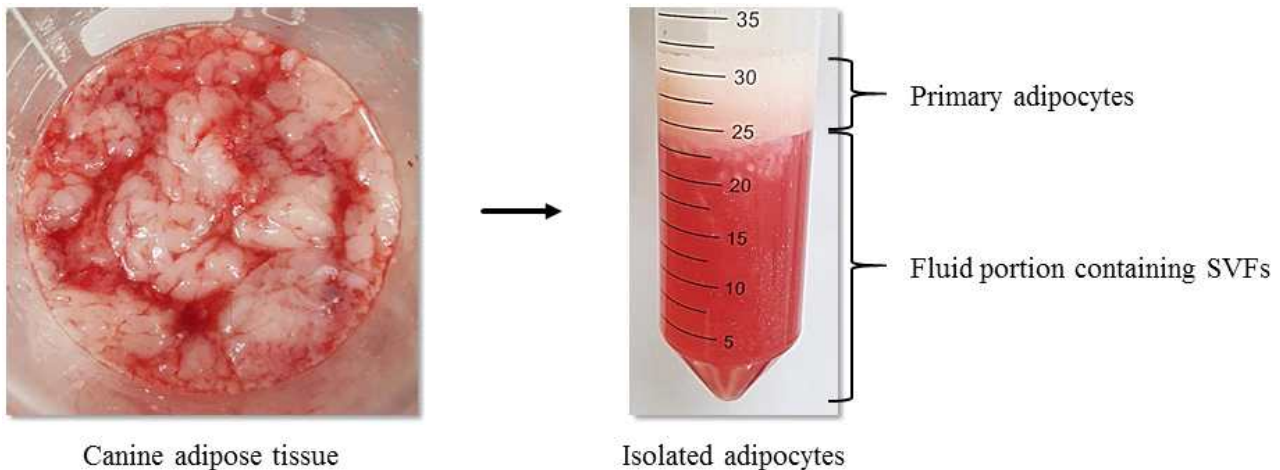


그림. 개 피하지방으로부터 일차 지방세포의 분리

(3) 개 일차 지방세포의 분화 및 배양

- Lipid droplet을 형성하는 지방세포로 분화시키기 위해 다음의 MDI 배지와 Insulin 배지를 제조함
- MDI 배지: DMEM 배지에 500 µM IBMX, 1 µg/mL Insulin, 1 µM dexamethasone, 10% FBS를 첨가하여 제조
- Insulin 배지: DMEM 배지에 1 µg/mL Insulin, 10% FBS를 첨가하여 제조

- 개 일차 지방세포를 MDI 배지에서 2일간 배양 후, Insulin 배지에서 2일간 배양하여 Lipid droplet을 형성하는 지방세포로 분화시킴
- 분화된 개 지방세포는 10% FBS가 포함된 DMEM 배지에서 배양함

(4) Oil Red O 염색

- 지질 염색을 위해 아래의 시약들을 제조함
- 0.5% Oil Red O (ORO) stock: Oil Red O 5 g을 100 ml의 Isopropanol에 녹인 후 0.2 μ m syringe filtration 함
- ORO working solution: 0.5% ORO stock을 3차 증류수와 6:4 비율로 혼합하여 상온에서 20분간 방치 후 0.2 μ m syringe filtration 함
- 60% Isopropanol: 100% Isopropanol을 3차 증류수에 60% 농도로 희석함
- Lipid droplet을 형성하는 성숙 지방세포로 분화시킨 후 노박당글 추출물을 농도별로 처리함
- 배지를 모두 제거하고 3% Formaldehyde solution을 넣은 후 상온에서 5분간 반응
- Formaldehyde 모두 제거하고 같은 양의 새 3% Formaldehyde solution을 첨가 후 1시간 배양함
- Formaldehyde 모두 제거하고 60% Isopropanol로 세척함
- 세포에 ORO working solution을 넣고 15분간 배양함
- ORO를 모두 제거한 후, 증류수로 4회 세척함
- Lipid droplet가 ORO에 의해 붉게 염색되었는지 확인하고 현미경으로 촬영함
- Lipid droplet의 정량분석을 위해, 100% isopropanol을 첨가하여 Lipid droplet를 염색한 ORO를 상온에서 plate shaker를 이용하여 20~30분간 추출함
- 마이크로 파이펫으로 추출 용액을 여러 번 pipetting하여 확실히 추출함
- Isopropanol에 추출된 ORO를 새 plate로 옮긴 후, microreader를 이용하여 515 nm에서 흡광도 측정함 (blank로 100% isopropanol을 사용)
- 흡광도를 각 처리구의 세포생존율로 나누어 표준화함

(5) 중성지방 (triglyceride) 함량 측정

- 지방세포 내 중성지방 함량은 Cayman #10010303 제품을 사용하여 분석함
- 지방세포를 스크래퍼로 긁어모아 1.5 ml tube에 넣음
- 1 ml의 차가운 standard diluent로 resuspension
- Cell suspension을 약 1초간 sonication
- 10,000 g, 4 $^{\circ}$ C, 10분간 원심 분리
- 상층액을 제거하고 standard diluent로 1:2 희석함
- 제품에서 제공하는 triglyceride standard를 준비함
- 96 well plate에 각 농도별 TG standard를 10 μ L씩 로딩하고 (2반복), Cell lysate sample을 10 μ L씩 로딩함 (2-3반복)
- 각 well에 TG enzyme mixture 150 μ L씩 로딩함
- 96well plate cover 닫고 툭툭 쳐서 잘 혼합 후 15분간 상온 반응시킴
- Microreader를 이용하여 540 nm에서 흡광도 측정

(6) 지질분해능 측정

- 지방세포의 지질분해능은 BioVision #K581-5 제품을 사용하여 분석함
- 1.5 mL Tube에 100 mM Glycerol Standard 10 μ L와 Adipocyte Lipolysis Buffer 990 μ L를 첨가 & 혼합하여 1 mM Glycerol Standard 제조함
- 1 mM Glycerol Standard를 각 농도별 STD 제조하기 위해, 각 STD well에 0, 2, 4, 6, 8, 10 μ L 첨가하고 Adipocyte Lipolysis Buffer로 최종 볼륨 50 μ L로 조정함
- 96 well plate에서 배양한 지방세포를 Adipocyte Wash Buffer 100 μ L/well로 2회 세척함
- 500 g에서 10분간 원심 분리하여 wash buffer를 제거함
- Adipocyte Lipolysis Buffer를 150 μ L/well의 양으로 첨가함
- 10 μ M Isoproterenol을 1.5 μ L/well의 양으로 첨가함 (100배 희석, 최종 농도 100 nM)
- 37°C incubator에 넣고, 3시간 동안 lipolysis 활성화
- 새 96-well plate의 각 sample well에 위 반응 용액 50 μ L 첨가함
- Reaction Mix를 각 well당 50 μ L 첨가하고 Plate를 호일로 감싸서 상온에서 30분간 반응시킴
- Microreader를 이용하여 570 nm에서 흡광도 측정함

(7) Free glycerol 분석

- 지방세포의 Free glycerol를 분석하기 위해 BioVision #K630-100 제품을 사용하여 분석함
- 1.5 mL Tube에 100 mM Glycerol Standard 10 μ L와 Glycerol Assay Buffer 990 μ L를 첨가 & 혼합하여 1 mM Glycerol Standard 제조함
- 1 mM Glycerol Standard를 각 농도별 STD 제조하기 위해, 각 STD well에 0, 2, 4, 6, 8, 10 μ L 첨가하고 Glycerol Assay Buffer로 최종 볼륨 50 μ L로 조정함
- 96 well plate에서 배양한 지방세포에 Glycerol Assay Buffer 100 μ L를 가하여 homogenize 함
- 3,000 g에서 10분간 plate 원심 분리
- 샘플 상층액 50 μ L를 새 96-well plate에 첨가함
- Reaction Mix를 각 well당 50 μ L 첨가하고 Plate를 호일로 감싸서 상온에서 30분간 반응시킴
- Microreader를 이용하여 570 nm에서 흡광도 측정함

나. 연구결과

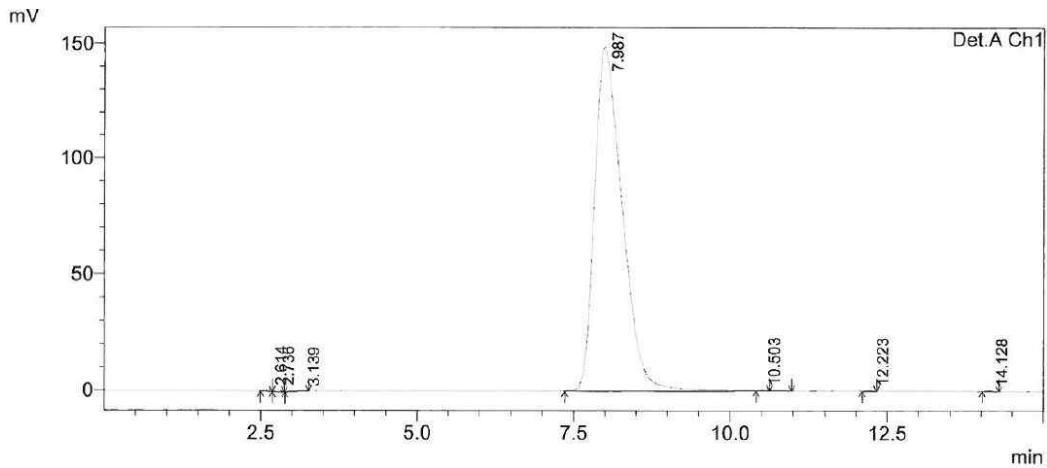


그림. HPLC를 이용한 노박덩굴(*Celastrus orbiculatus*) 추출물 내 celastrol 함량 분석

표. 세포배양 배지 내 celastrol 함량

<i>Celastrus orbiculatus</i> concentration in medium (%)	Celastrol concentration in medium (nM)
0.0010	0.93
0.0025	2.32
0.0050	4.64

- (주)제일사료에서 한국품질시험원에 노박덩굴 추출 내 celastrol 함량 분석을 의뢰함
- HPLC를 통해 노박덩굴 추출물 내 celastrol 함량을 분석한 결과 4.18 mg celastrol/100 g *Celastrus orbiculatus* 이었음

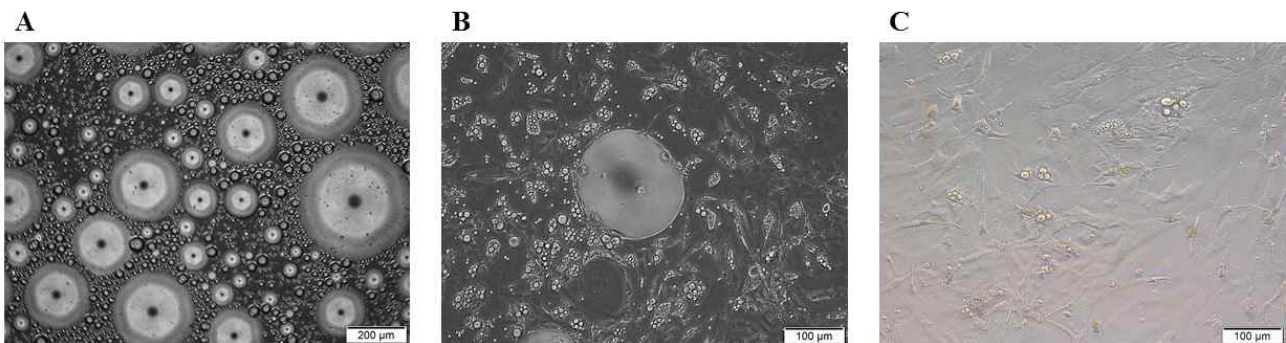


그림. 개 일차 지방세포의 분화와 지질 형성능 확인. (A) 일차 성숙 지방세포와 지질, (B) 분화된 지방세포에서 형성된 lipid droplet, (C) 96 well plate에 부착된 개 일차 지방세포.

- 개 피하지방에서 분리된 일차 지방세포들은 기본적으로 지질을 형성할 수 있는 능력을 가지고 있음 (그림 A)
- 지방세포 분화 유도 배지에서 더욱 성숙된 지방세포로 유도하여 lipid droplet이 잘 형성됨을 확인함 (그림 B)
- 노박덩굴 추출물이 지방형성에 미치는 영향을 확인하기 위해 일차 지방세포를 96 well

plate에 부착시켰고, 96 well plate에서도 lipid droplet이 잘 형성됨을 확인함

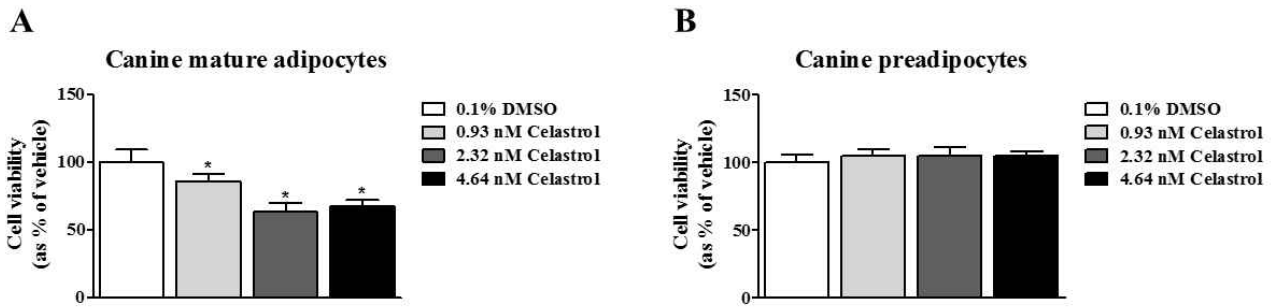
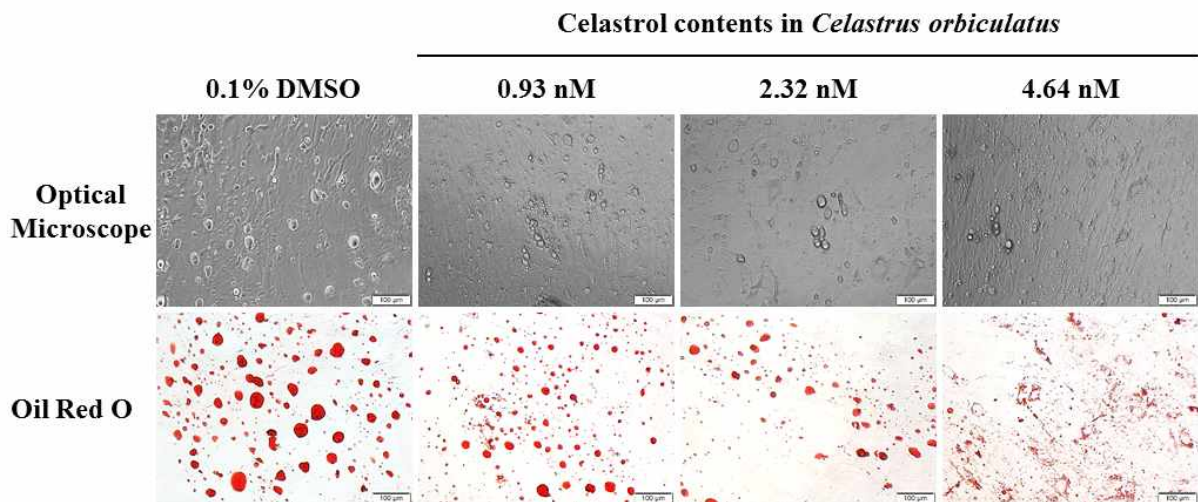


그림. 노박덩굴 추출물 처리에 따른 일차 성숙 지방세포 (canine mature adipocytes)와 미성숙 지방세포 (canine preadipocytes)의 세포생존율 비교. (A) 일차 개 성숙 지방세포의 세포생존율, (B) 일차 개 미성숙 지방세포의 세포생존율.

- 노박덩굴 추출물이 지방세포의 세포 생존율에 미치는 영향을 확인하기 위해, 성숙 지방세포와 미성숙 지방세포에 각각 노박덩굴 추출물을 6일간 처리하여 WST assay를 통해 세포 생존율의 변화를 비교함
- 완전 분화되어 성숙된 지방세포의 경우 노박덩굴 추출물의 농도가 증가함에 따라 세포생존율이 감소했던 반면, 미성숙 지방세포의 경우 세포생존율이 거의 영향을 받지 않음
- 따라서 노박덩굴 추출물은 지질을 생성하는 성숙지방세포에 더욱 특이적으로 세포의 성장을 억제할 수 있을 것으로 사료됨

A



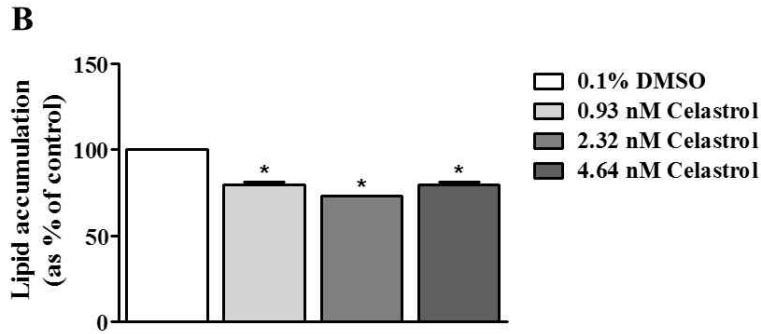


그림. 개 지방세포에서 노박덩굴 추출물 처리에 따른 adipogenesis 및 지질 형성 억제 효과. (A) Oil Red O 염색에 의한 지방세포 내 지질 형성 변화, (B) 지방세포 내 지질 양 정량.

- 노박덩굴 추출물이 adipogenesis와 지질 생성에 미치는 영향을 확인하기 위해, 미성숙 개 지방세포에 노박덩굴 추출물을 지속적으로 노출시키면서 6일간 지방분화 유도함
- 실험에 사용된 가장 낮은 농도인 0.93 nM의 celastrol이 함유된 노박덩굴 추출물은 개 지방세포의 adipogenesis를 억제하였으며, 이러한 경향은 농도 의존적으로 나타남
- Oil Red O staining을 통해 지방세포에서 생성된 지질을 염색하여 확인한 결과, 노박덩굴 추출물은 개 지방세포의 지질 형성을 현저히 억제하는 것으로 나타났고, 이를 정량하였을 때 통계적의 유의성이 입증됨

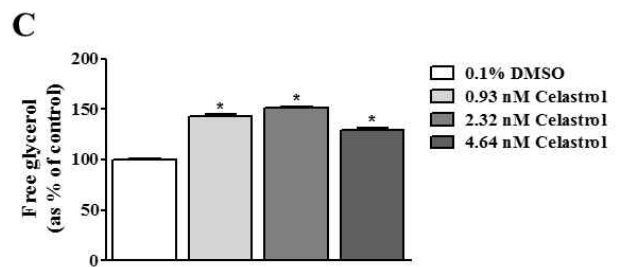
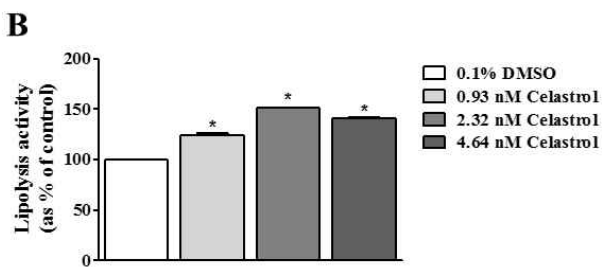
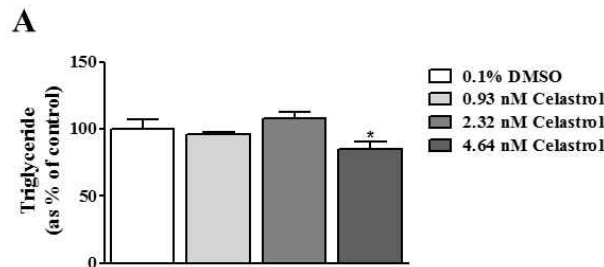


그림. 개 지방세포에서 노박덩굴 추출물 처리에 따른 중성지방 (triglyceride) 형성 억제 및 지질 분해능 (lipolysis) 향상 효과. (A) 중성지방 함량 측정, (B-C) 지질 분해능 측정.

- 미성숙 개 지방세포에 노박덩굴 추출물을 6일간 지속적으로 노출시키면서 지방분화를 유도하였고, 중성지방 함량과 지질 분해능을 분석함
- 4.64 nM의 celastrol이 함유된 노박덩굴 추출물은 개 지방세포의 중성지방 생성을 억제하는 것으로 나타남
- 지질이 분해되면 지방산과 글리세롤로 분해되는데, 지질분해능은 유리된 글리세롤의 함량을

측정함으로써 정량이 가능함

- 지질분해능을 정량할 수 있는 두 가지 제품을 사용하여 노박당굴 추출물 처리에 따른 지질 분해능을 분석한 결과, 시험된 모든 농도에서 지질분해능이 증가한 것을 확인함
- 따라서 노박당굴 추출물은 개 지방세포의 지질형성을 억제하고 지질분해를 촉진시킴으로써 항비만 효과를 나타내는 것으로 나타남

2. Celastrol의 항비만 효과 평가(In Vivo)

- 협동연구기관 (리제닉스)

가. 셀라스트롤의 안전성 독성 평가

- 실험동물에 셀라스트롤이 다량 포함된 노박당굴의 뿌리 분말이 함유된 사료 급여

실험군	평가항목	평가지기
① 고지방 식이(지방60%) 급여 실험군 - C57BL/6J 12마리 ② 노박당굴 뿌리 분말 1% 함유된 고지방 사료 급여 실험군 - C57BL/6J 12마리	임상증상 관찰	총 8주간 실험 중 매주 평가
	기호도 평가	
③ 노박당굴 뿌리 분말 5% 함유된 고지방 사료 급여 실험군 - C57BL/6J 12마리 ④ 노박당굴 뿌리 분말 10% 함유된 고지방 사료 급여 실험군 - C57BL/6J 12마리 ⑤ 일반사료 급여 정상대조군 - C57BL/6J 9마리	장기의 육안적 변화	실험 종료 후 부검 시 평가

입상 증상	①	설사나 변비 증상이 보이지 않았고, 육안적인 이상이 보이지 않았다. 탈모 증상이 보이지 않았고, 사료 섭취량과 음수량은 일반 mouse의 섭취량과 비슷한 양으로 측정되었다. 중등도의 기름진 모질을 보였다.
	②	설사나 변비 증상이 보이지 않았고, 육안적인 이상이 보이지 않았다. 탈모 증상이 보이지 않았고, 처음 1%군에 배치되었을 때 사료 적응기간 동안 사료 섭취량과 체중이 줄어들었으나, 점점 적응을 하는 모습을 보였다. 중등도의 기름진 모질을 보였다.
	③	음수량은 다른 군과 비슷한 수준으로 기록되었다. 부분적으로 탈모 증상이 나타났고, 사료 섭취량이 상당량 감소하였다. 사료 섭취량보다, mouse가 이로 잡아 바닥에 떨어지는 사료 가루의 양이 더 많았다. 모질의 상태가 정상군에 비해 건강하지 못하다고 판단된다.
	④	음수량이 다른 군에 비해 증가하였고, 건조한 변이 관찰되었다. 또한 개체의 대부분에서 부분적인 탈모 증상이 나타났고, 사료 섭취량이 급격히 감소되었다. 섭취량보다, mouse가 이로 잡아 바닥에 떨어지는 사료 가루의 양이 더 많았다. 모질의 상태가 정상군에 비해 건강하지 못하다고 판단된다.
	⑤	일반적인 mouse의 사료 섭취량과 음수량 data와 비슷한 수준으로 관찰되었다. 모질이 건강하고 적당한 윤기가 있다. 일반적인 마른 변을 보였고, 이상증세가 없다.
사료 기호도	①	정상식이군과 비슷한 수준으로 잘 먹는 모습을 보여 기호도가 높은 편으로 판단된다.
	②	사료 적응기간(1-2주)이 지나니, 고지방식이군과 비슷한 수준을 보여 기호도가 높은 편으로 판단된다.
	③	사료 섭취량보다 바닥에 떨어뜨리는 양이 많았고, 체중이 급격히 저하되는 모습을 보여서 노박당굴 뿌리 분말 5% 함유된 고지방 사료에 대한 기호성이 매우 낮은 것으로 판단된다.
	④	사료 섭취량보다 바닥에 떨어뜨리는 양이 많았고, 체중이 급격히 저하되는 모습을 보여서 노박당굴 뿌리 분말 10% 함유된 고지방 사료에 대한 기호성이 매우 낮은 것으로 판단된다.
	⑤	일반적인 mouse의 사료 섭취량과 비슷하여 기호도가 높은 편으로 판단된다.



그림 48. C57BL/6J에서 노박당굴 뿌리 분말의 항비만 효과 연구 종료 및 안락사 후 장기의 변화 육안적 관찰

- 정상식이군의 장기상태에서는 별다른 이상을 찾지 못하였다.
- 고지방식이군은 대부분의 개체에서 지방간을 확인할 수 있었다.
- 노박당굴 뿌리분말 5% 함유 고지방 사료 식이군에서는 지방에 변성이 일어나거나 신장 이상 또는 수신증을 나타낸 개체들이 소수로 확인되었다.
- 노박당굴 뿌리분말 10%함유 고지방 사료 식이군에서는 신장 조직의 육안적 이상을 보이는 소수의 개체가 확인되었고, 이상 조직이 생성된 개체도 확인되었다.

나. 세포에서 셀라스트롤의 항비만 효과 검증을 위한 독성 평가

실험군	평가항목	평가지기
Mouse, Canine stem cell	cell viability	24시간 이후

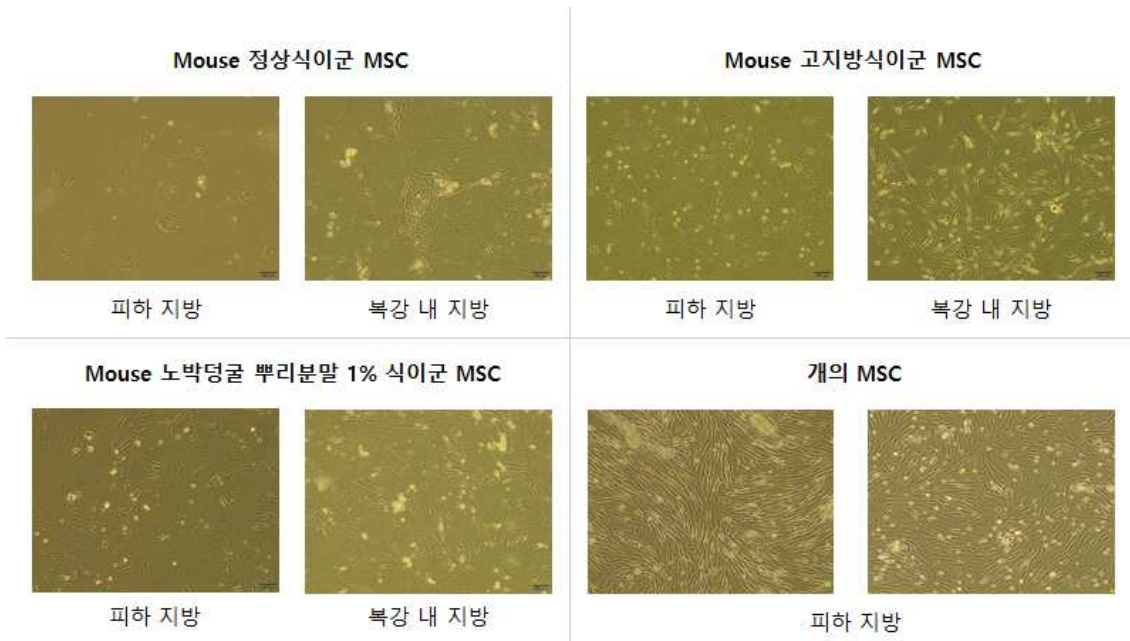


그림 49. Celastrol 독성평가를 위한 Mouse와 개의 MSC 초대배양 결과

세포에서 셀라스트롤의 독성평가를 위한 MTT시험에 쓸 cell을 배양하기 위해서, mouse와 canine의 피하지방 또는 복강 내 지방을 적출하여 초대배양을 진행하였다. canine stem cell은 배양 과정이 어렵지 않았지만, mouse stem cell은 배양 과정이 매우 까다로운 편이었다.

- mouse stem cell은 canine stem cell에 비해 성장이 더딘 편이며, cell 모양이 일정하지 않고 hetero한 다양한 형태를 보였다.
- 또한 지방이 적은 mouse 정상 개체에 비하여 고지방식으로 인한 비만 개체의 지방을 이용한 초대배양 과정이 빠른 성장을 보였고 비교적 깨끗한 배양과정이 관찰되었다.
- 체중이 급격히 저하되어 도태된 5%와 10%군을 제외하고, 다른 군에 비하여 지방의 양이 비교적 많은 고지방식이군과 노박당굴 뿌리분말 1%군, 대조군인 정상식이군의 지방을 적출하여 초대배양을 진행하였다.

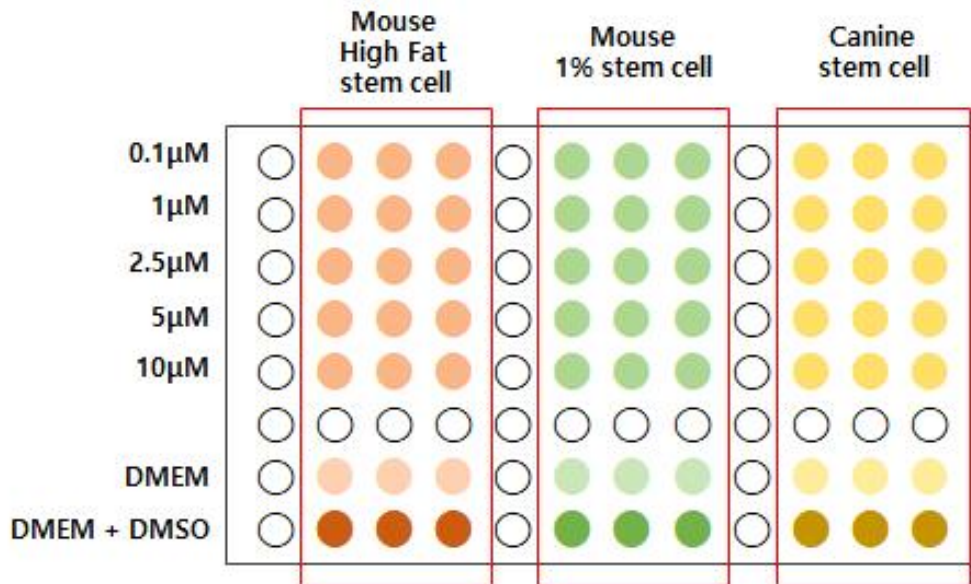


그림 50. Mouse와 Canine의 stem cell을 이용한 celastrol MTT assay design

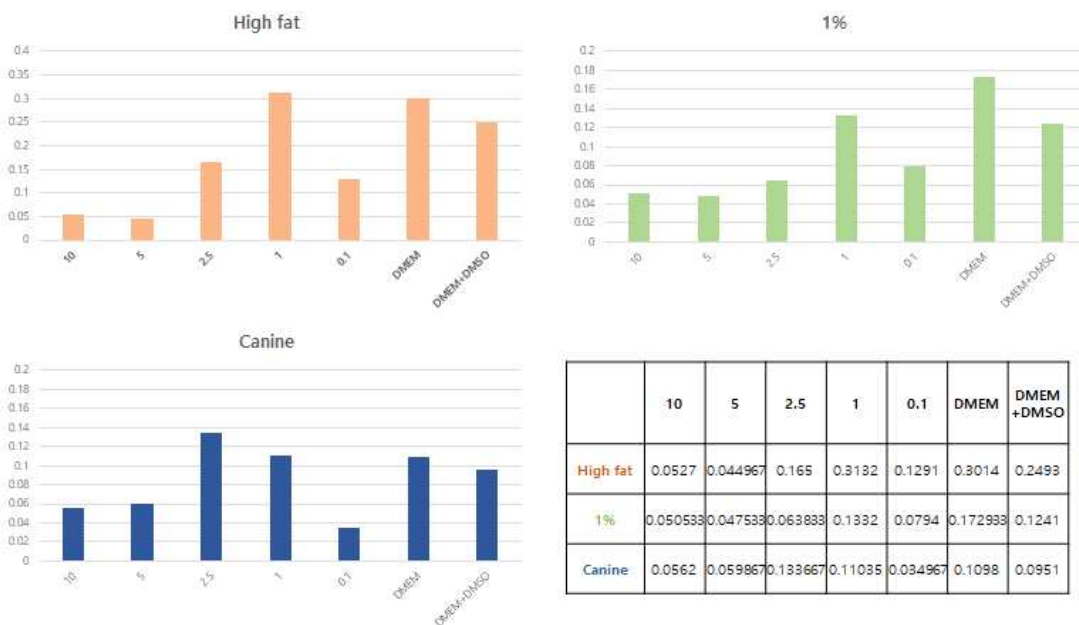
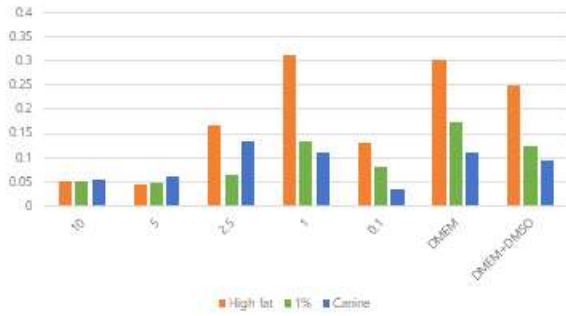


그림 51. High fat(고지방식이군), 1%(노박당굴 뿌리분말 1% 함유 고지방 식이군), Canine의 stem cell 각각의 MTT 시험(celastrol) 결과 그래프



	10	5	2.5	1	0.1	DMEM	DMEM+DMSO
High fat	0.0527	0.044967	0.165	0.3132	0.1291	0.3014	0.2493
1%	0.050533	0.047533	0.063833	0.1332	0.0794	0.172933	0.1241
Canine	0.0562	0.059867	0.133667	0.11035	0.034967	0.1098	0.0951

그림 52. 그림 4 data의 종합 비교 분석한 그래프

- 동물실험의 high fat(고지방식이)군과 1%(노박당굴 뿌리분말 1% 함유 고지방 사료식이)군의 피하지방유래 stem cell, canine의 피하지방유래 stem cell 각각의 MTT 시험 data를 비교하고 분석한 결과, mouse stem cell(high fat군, 1%군)에서는 celastrol을 1uM 처리한 well의 cell viability가 가장 높게 나왔다.
- canine stem cell에서는 celastrol 2.5uM와 1uM을 처리한 well의 cell viability가 높다는 결과를 볼 수 있었다.
- negative well인 DMEM 처리군과 DMEM+DMSO 처리군을 비교했을 때, 모든 cell에서 DMEM군의 cell viability가 높게 나온 것을 볼 수 있었다.

다. 실험동물에서 celastrol의 항비만, leptin 효과 검증

실험군	평가항목	평가지기
① 고지방 식이(지방60%) 급여 실험군 - C57BL/6J 12마리 ② 노박당굴 뿌리 분말 1% 함유된 고지방 사료 급여 실험군 - C57BL/6J 12마리 ③ 노박당굴 뿌리 분말 5% 함유된 고지방 사료 급여 실험군 - C57BL/6J 12마리 ④ 노박당굴 뿌리 분말 10% 함유된 고지방 사료 급여 실험군 - C57BL/6J 12마리 ⑤ 일반사료 급여 정상대조군 - C57BL/6J 9마리	체중 측정	순화과정 후 (동물 입고하고 1주 후)
		비만유도 후 (순화 끝나고 8주 후)
		본실험 시작~종료 기간 중 2주 간격
	지방 축적 확인	안락사 직후
	개체별 Leptin 수치	본실험 시작~종료 기간 중 2주 간격으로 채혈 실시한 sample 사용

(1) 평가대상

- 고지방식이군(지방60%) : 비만인 실험동물 12마리에게 8주간 고지방 사료 급여
- 실험군 : 비만인 실험동물 12마리에게 8주간 celastrol이 다량 함유된 노박덩굴 뿌리 분말 각 1%, 5%, 10%가 함유된 고지방 사료 급여
- 대조군 : 건강한 실험동물 9마리에 8주간 일반 사료 급여

(2) 평가항목

- 매주 체중 측정 및 변화 비교 분석
- 안락사 후에 지방 축적 확인
- 개체별 Leptin 수치를 ELISA로 측정 및 분석



그림 53. 4주령 C57BL/6J에서 노박덩굴 뿌리 분말의 항비만 효과 연구 design

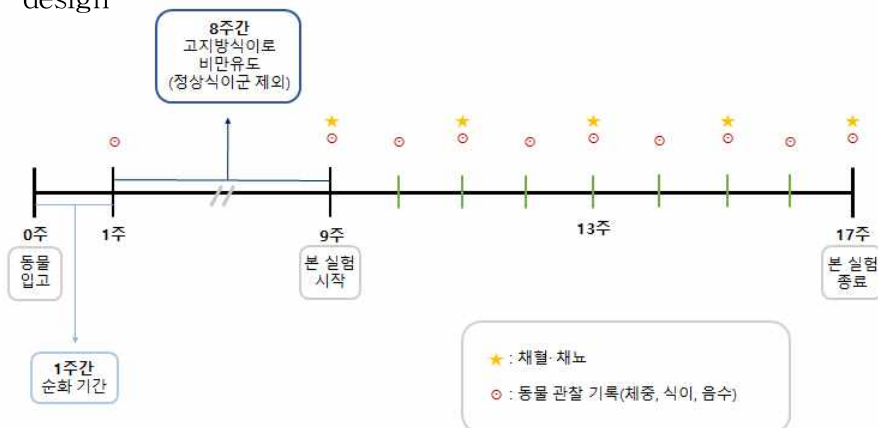


그림 54. 4주령 C57BL/6J에서 노박덩굴 뿌리 분말의 효과 연구 Time schedule

라. 동물병원 내원 환축을 대상으로 한 celastrol의 항비만, leptin 효과 검증

노박당굴 사료 섭취 Leptin 수치	0주차 (1차 측정)	4주차 (2차 측정)	8주차 (3차 측정)	12주차 (4차 측정)	16주차 (5차 측정)	20주차 (6차 측정)	24주차 (7차 측정)	28주차 (8차 측정)
대황	24.0836735	24.7142900	13.8551000	20.2289420	17.6101510	19.002008		13.26405622
덩이	11.9448980	9.0693880	8.0561220	4.9557235		9.2831325	6.0562249	5.810240964
후추	23.4510204	28.5612200	25.5255100	17.7386610	21.6166310			13.08433735
로이	41.6193878	41.0714300	43.4081600		25.7688980		18.76506024	28.12349398
사랑이	31.5734694	28.9612200	35.9949000		25.9125270		15.6626506	21.43072289
세론	7.2397959	8.9724490	6.8857140	8.1306695	7.2159827		6.948795181	4.573293173
구름	14.7816327	12.4081600	7.3122450	9.2937365	6.4395248			7.06626506

노박당굴 사료 섭취 개 체중	최초	2차	3차	4차	5차	6차	7차	8차
대황	15.25kg	14.8kg	14.56kg	14.7kg	14.2kg	14.5kg		14.64kg
덩이	5.38kg	5.2kg	5.2kg		5.25kg			4.9kg
후추		4.25kg	4.09kg	4.27kg	4.16kg	4.19kg	4.18kg	4.23kg
로이	4.25kg	4.33kg	4.28kg	4.32kg	4.3kg	4.3kg	4.26kg	4.4kg
사랑이	11.7kg	12kg	12kg	12kg	11.5kg	11.6kg		
세론	12.25kg	12.5kg	12.1kg	12kg	11.85kg	11.6kg	11.73kg	11.58kg
구름	9.6kg	9.58kg	9.5kg	9.4kg	9.35kg	9.2kg	9.06kg	8.86kg

그림 55. 노박당굴 뿌리 분말이 함유된 비만 처방식 사료를 섭취한 실험대상견들의 차수별 Leptin 수치, 체중 변화 정리표

비만처방식 사료 섭취 Leptin 수치	0주차 (1차 측정)	4주차 (2차 측정)	8주차 (3차 측정)	12주차 (4차 측정)	16주차 (5차 측정)	20주차 (6차 측정)	24주차 (7차 측정)	28주차 (8차 측정)
아프	16.6255102	17.6500000	12.1612200	7.9935205	15.8304540		11.75803213	16.9126506
배추	0.8275510	1.4153060	0.1010200	0.3434125	1.4503240		0.644578313	0.087349398
베니	7.2275510	3.9326530	3.1928570	5.3072959	3.6987041		10.71787149	
퓨리	11.8459184	7.2785710	18.5193900	15.9308860	10.9125270		9.104417671	18.79116466
초코	15.5357143	20.3806100	13.6234700	19.9956800		11.8985944	9.798192771	12.26004016
장군이	10.1020408	5.6275510	9.0244900	13.8930890	4.2559395		4.430722892	16.22590361
등이	13.5540816	14.5408200	10.6163300	10.0572350	9.0043197		9.399598394	9.77811245
수지				9.0939525	10.6144710	21.6666667	13.06526104	19.00200803
두부				3.4233261	5.4730022	3.073052209	1.413654618	

비만처방식 사료 섭취 개 체중	최초	2차	3차	4차	5차	6차	7차	8차
아프	3.92kg	4.0kg	3.83kg		3.8kg		3.68kg	3.7kg
배추	5.9kg	5.9kg	6.09kg	5.9kg	5.9kg	5.86kg	6.09kg	
베니	2.6kg	2.6kg	2.46kg	2.4kg	2.4kg	2.47kg	2.43kg	
퓨리	3.2kg	3.2kg	3.26kg	3.2kg	3.2kg	3.17kg	3.18kg	3.2kg
초코	7.88kg		8.06kg	7.9kg	7.65kg	7.6kg	7.3kg	7.46kg
장군이	6.7kg	6.8kg	6.86kg	6.85kg	6.75kg	6.6kg	6.55kg	6.5kg
등이	9.6kg	9.6kg	9.5kg	9.6kg	9.3kg	9.2kg	9.2kg	8.93kg
수지	5.7kg	5.5kg	5.52kg	5.5kg		5.65kg	5.29kg	5.4kg
두부						4.7kg	4.69kg	4.69kg

그림 56. 비만 처방식 사료를 섭취한 실험대상견들의 차수별 Leptin 수치, 체중 변화 정리표

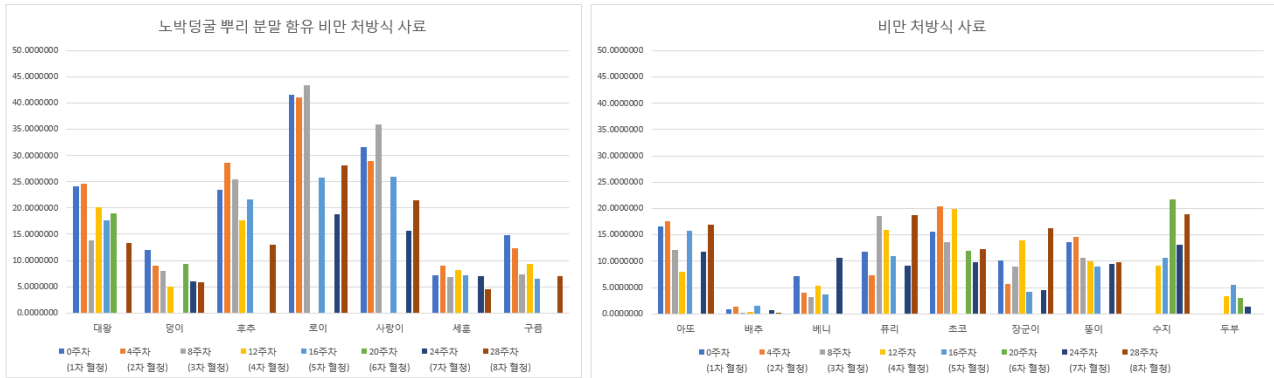


그림 57. 노박당굴 뿌리 분말이 함유된 비만 처방식 사료를 섭취한 실험대상견들과 일반 비만 처방식 사료를 섭취한 실험대상견들의 차수별 Leptin 수치 변화 비교 그래프

- 노박당굴 뿌리 추출물이 함유된 처방식 사료 식이군은 처음과 비교하였을 때의 체중과 leptin 수치가 감소하였음을 확인할 수 있었다.
- 일반 다이어트 사료 식이군은 몸무게 증가 및 감소한 경우가 모두 나타났고, leptin 수치의 변화에 일정한 경향을 보이지 않았다.

- 위탁연구: 건국대학교 동물병원 내원 환축을 대상으로 실시한 수의임상연구

12. 대말



그림 58. 건국대학교 수의외과학 연구실의 위탁연구인 수의임상연구 보고서의 예시 사진

3. Celastrol을 이용한 Velixer 처방식의 제품화

벨릭서 O/F(Obesity Disease Food)
 국내 자생하는 노박덩굴뿌리(Celastrol)을 이용
 체중 감량을 위한 동물 병원 처방식
 고단백, 저지방 포물라



06 O/F OBESITY DISEASE FOOD
 체중 감량에 도움이 되는 처방식

Velixer's speciality

- FAT 저지방: 한국 자생하는 노박덩굴뿌리(Celastrol)를 함유하여 체중 감량에 도움이 되는 처방식
- 지방산 조성의 최적화: 동물에게 적합한 지방산 조성(노박덩굴뿌리 Celastrol)을 함유하여 체중 감량에 도움이 되는 처방식
- 에너지저장 저해제 함유: 체중 감량에 도움이 되는 처방식
- 단백질 함량: 동물에게 적합한 단백질 함량을 함유하여 체중 감량에 도움이 되는 처방식

영양 성분표

성분	단위	06 O/F	비교
에너지	kJ/100g	2,210.00	2,210.00
단백질	g/100g	33.50	30.00
지방	g/100g	7.00	10.00
섬유질	g/100g	1.00	1.00
ash	g/100g	5.00	5.00
수분	g/100g	52.50	52.50

시험 방법

체중, 지방산 조성, 에너지저장 저해제, 단백질 함량, 동물에게 적합한 지방산 조성, 노박덩굴뿌리(Celastrol)를 함유하여 체중 감량에 도움이 되는 처방식

효과 지표

- 체중 감량: 체중 감량에 도움이 되는 처방식
- 지방산 조성: 지방산 조성에 도움이 되는 처방식
- 에너지저장 저해제: 에너지저장 저해제에 도움이 되는 처방식
- 단백질 함량: 단백질 함량에 도움이 되는 처방식

Figure 1: Effect of Celastrol on lipid accumulation in liver tissue

Group	Oil Red O Staining	Oil Red O Absorbance
Control	High	High
Celastrol 100 mg/kg	Low	Low
Celastrol 200 mg/kg	Low	Low
Celastrol 400 mg/kg	Low	Low

Figure 2: Effect of Celastrol on triglyceride levels in liver tissue

Group	Triglyceride Level
Control	High
Celastrol 100 mg/kg	Low
Celastrol 200 mg/kg	Low
Celastrol 400 mg/kg	Low

1. 우슬 및 propolis의 면역세포 증식효과 및 항염증 효과 평가(In Vitro)

가. 이론적, 실험적 접근방법

(1) 우슬

- 리제닉스에서 우슬(*Achyranthes japonica* Nakai)의 잎과 뿌리를 에탄올로 2일간 추출한 후 동결 건조하여 분말로 제조한 것을 받아 실험에 사용하기 전까지 -20°C에 보관함
- 우슬 분말 100 mg을 세포배양 배지 1 ml에 녹여서 stock solution 제조하였고, 이를 10 mg/ml, 5 mg/ml, 2.5 mg/ml, 1 mg/ml, 0.5 mg/ml, 0.25 mg/ml으로 working solution을 만들어 사용함

(2) Propolis

- 대전시 유성구 (주) 서울프로폴리스 에서 액상상태의 수용성 propolis를 구입
- Propolis 100 µl를 배지 10 ml에 녹여 stock solution (1% v/v)을 제조하였고, 이를 단계희석법으로 10⁻³ (1×10⁻² µl/ml), 10⁻⁴ (1×10⁻³ µl/ml), 10⁻⁵ (1×10⁻⁴ µl/ml), 10⁻⁶ (1×10⁻⁵ µl/ml), 10⁻⁷ (1×10⁻⁶ µl/ml), 10⁻⁸ (1×10⁻⁷ µl/ml)로 working solution을 만들어 사용함

(3) 면역세포 배양

- 면역세포로 인간 T세포 Jurkat와 인간 B세포 Ramos를 선정
- RPMI 1640배지에 10% FBS, 1% HEPES, 1% penicillin/streptomycin을 첨가하여 배지를 제조하였으며 두 면역세포는 37°C 5% CO₂ incubator에서 배양함
- 2~3일 주기로 T세포와 B세포를 계대 배양함

(4) WST assay

- Ramos B 세포를 96 well plate에 5×10^3 cells/well로 seeding
- 우슬 또는 프로폴리스 추출물 처리 후 세포 인큐베이터에서 24시간 배양
- EZ-cytox를 세포가 분주된 well에 넣어주고 1시간 동안 incubator에서 반응
- 흡광도 측정하기 전 1분 동안 shaking
- Microplate reader (Epoch)를 이용하여 450 nm에서 흡광도 측정
- Microreader를 이용하여 450 nm에서 흡광도 측정

(5) BrdU assay

- Jurkat T 세포 또는 Ramos B 세포를 96 well plate에 10^4 cells/well로 seeding
- 각 well에 우슬 또는 프로폴리스 추출물을 처리 후 48시간 또는 72시간 동안 배양
- BrdU labelling solution을 처리 후 2시간 동안 배양
- Fixdenat solution 처리 후 30분간 배양
- Anti-BrdU-POD working solution 처리 후 90분간 배양
- Substrate solution 처리 후 발색 유도
- Microreader를 이용하여 370 nm에서 흡광도 측정

(6) NO assay

- Jurkat T 세포 또는 Ramos B 세포를 96 well plate에 5×10^5 cells/well로 seeding
- 1 µg/ml LPS로 24시간 동안 세포를 자극시킴
- 24시간 후 상층액 50 µl를 새로운 96 well plate에 첨가
- 100 µl의 Griess 용액 첨가
- Microreader를 이용하여 520 nm에서 흡광도 측정
- 흡광도를 각 처리구의 세포생존율로 나누어 표준화

나. 연구결과

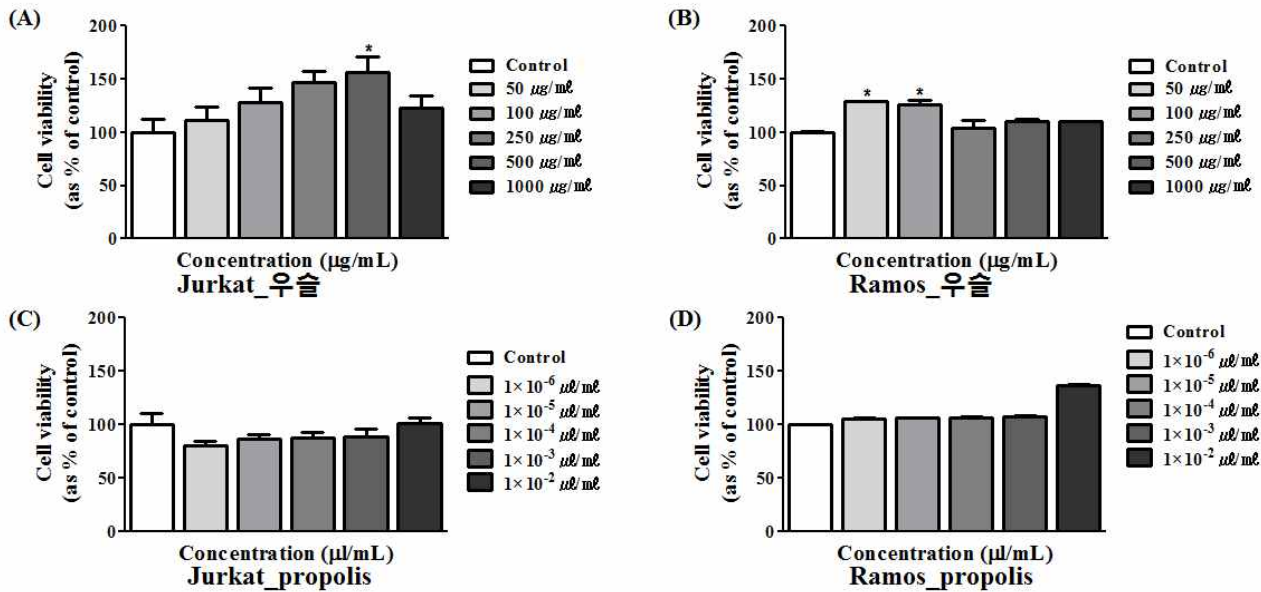


그림. 우슬 추출물과 propolis에 따른 세포 증식 변화(WST assay). (A) Jurkat T 세포에서 우슬이 미치는 영향, (B) Ramos B 세포에서 우슬이 미치는 영향, (C) Jurkat T 세포에서 propolis가 미치는 영향, (D) Ramos B 세포에서 propolis가 미치는 영향.

- 우슬이 면역세포 증식에 효과가 있는지 WST assay를 통해 확인한 결과, Jurkat T 세포에서 우슬의 농도가 높아질수록 세포증식이 증가하는 경향을 확인함
- Ramos B 세포의 경우 우슬 처리 시 대조구보다 증가했지만 농도 의존적인 경향을 나타내지 않음
- Propolis가 면역세포 증식에 효과가 있는지 확인한 결과, Jurkat T 세포는 모든 처리구들이 대조구와 통계적인 차이가 없었고, Ramos B세포는 최고 농도 ($1 \times 10^{-2} \mu\text{l/ml}$)에서 증식효과를 보임
- 즉, 우슬과 propolis는 면역세포의 증식을 유도할 수 있음을 확인함

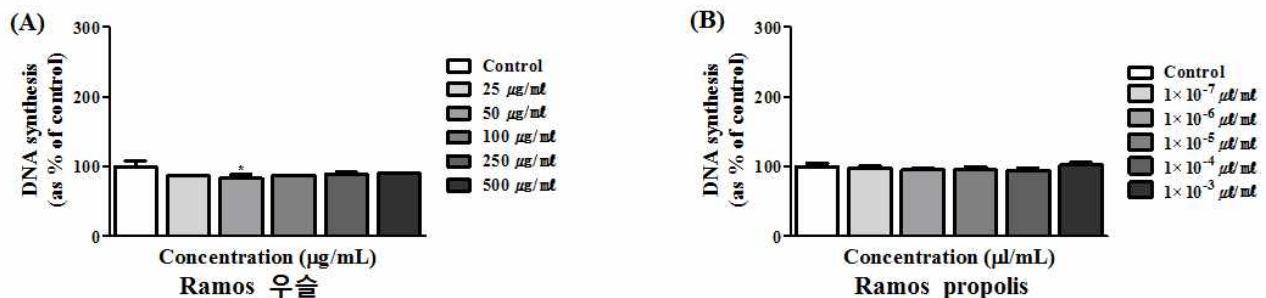


그림. 우슬 추출물과 propolis의 농도에 따른 DNA 합성 활성 변화(BrdU assay). (A) Ramos B 세포에서 우슬이 미치는 영향, (B) Ramos B 세포에서 propolis가 미치는 영향 (72시간 처리).

- 우슬 추출물과 propolis가 B 세포의 DNA 합성 활성에 미치는 영향을 BrdU assay를 통해 확인한 결과, 추출물의 농도의 상관없이 B세포의 DNA 합성 활성에 통계적으로 유의미한

영향을 미치지 않았음

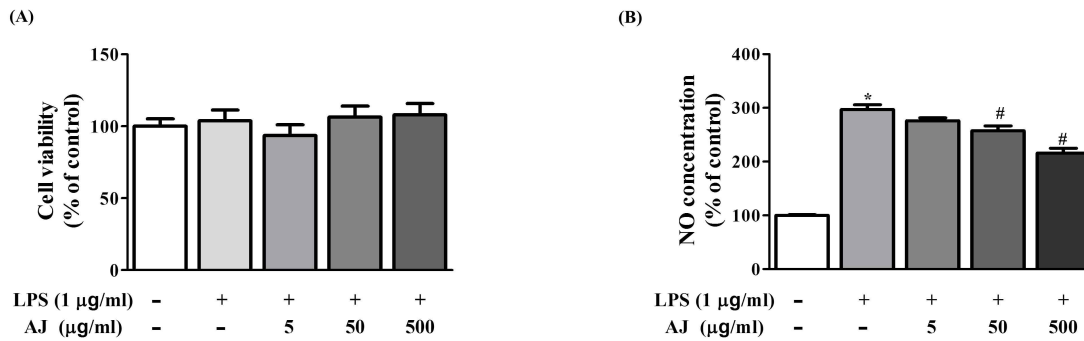


그림. Raw 264.7 세포에서 우슬의 항염증 효과 확인. (A) 세포 생존율 분석(WST assay), (B) NO assay.

- 우슬 추출물이 면역세포의 염증 반응에 미치는 영향을 확인하기 위해 Raw 264.7 마우스 대식세포주에서 NO assay를 시행함
- LPS와 우슬은 Raw 264.7 세포의 세포 생존율에는 유의미한 영향을 미치지 않았지만, LPS에 유도된 NO 생성량은 우슬 추출물에 의해 농도 의존적으로 감소함
- 따라서 우슬은 면역에 관여하는 T 세포와 B 세포의 세포생존율을 증가시켰을 뿐만 아니라 항염증 효능을 나타냈음을 확인함

2. 반려견에서 우슬첨가 사료 급여에 따른 면역증진 효과 평가(In Vivo)

가. 이론적, 실험적 접근방법

(1) 반려견 확보 실험 방법

- 주관연구기관에서 대전 유성생명과학고등학교 재학생을 대상으로 10마리의 반려견 (1-8세)에 대해 우슬첨가 사료 급여 실험에 대한 동의를 받음
- 총 10마리의 반려견 중 2마리는 보호자의 개인 사정으로 인해 도중하차하였고, 최종적으로 8마리에 대한 혈액 샘플과 기초 임상 데이터(성별, 나이, 체중 등)를 확보
- 각 반려견들에게 9주간 5% 우슬이 포함된 사료 90-100 g를 급여하였고, 아래 그림에 요약된 채혈 스케줄에 따라 총 5회 채혈 함

Dog breeds	Gender	Age	Fecal index average	Weight (kg)		Remark
				Before	After	
Pomeranian	Male	5	4~5	2.7	2.7	
Pomeranian	Male	7	4	2.4	2.5	
Pomeranian + Spitz	Female	-	4	5.9	5.4	-0.5kg
Pomeranian	Male	7	4	3.5	3.5	
Mixed-breed dog	Female	1	4	2.9	3.4	+0.5kg
Poodle	Male	4	4	3.4	3.7	+0.5kg
Shih tzu	Female	8	4	3.8	4.4	+0.5kg
Poodle	Female	4	4	2.8	3	

그림. 반려견들의 실험 전 후 기초 임상 데이터.

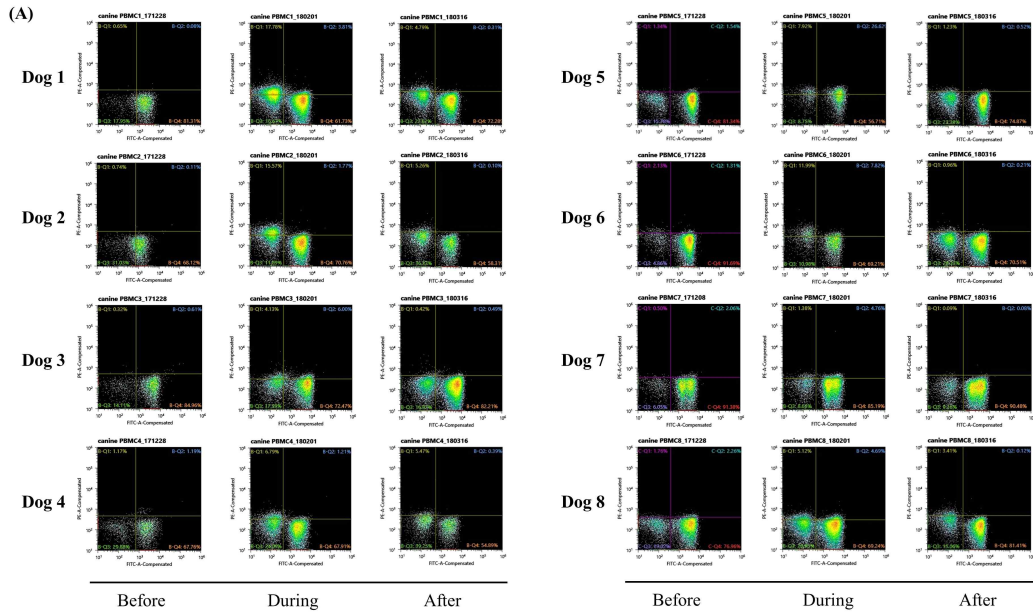


그림. 우슬 첨가물 사료를 급여한 반려견들의 채혈 스케줄.

(2) 개 면역세포 분리

- 반려견의 정맥혈을 수집한 후, 혈액 시료를 Ficoll-Hypaque (GE healthcare, USA)를 이용하여 400 x g에서 30분간 원심 분리하여 분획함
- 4개의 층으로 분획된 층 중 2번째 층에서 peripheral blood mononuclear cell (PBMC)를 분리하였고, PBS로 3회 세척함
- 이후, 10% FBS가 포함된 RPMI 1640 세포 배양 배지에 현탁함
- 모든 채혈 스케줄이 종료될 때까지 액체질소에 동결 보존함
- 동결 보존되어 왔던 모든 PBMC 샘플들을 동시에 해동하였고, T세포 분리를 위해 PBMC에 anti-canine CD3-FITC를 표지하였으며, B세포 분리를 위해 anti-canine CD21-RPE를 표지함
- FACS를 이용하여 T 세포 및 B 세포를 분리하고 균집 분석함

나. 연구결과



(B)

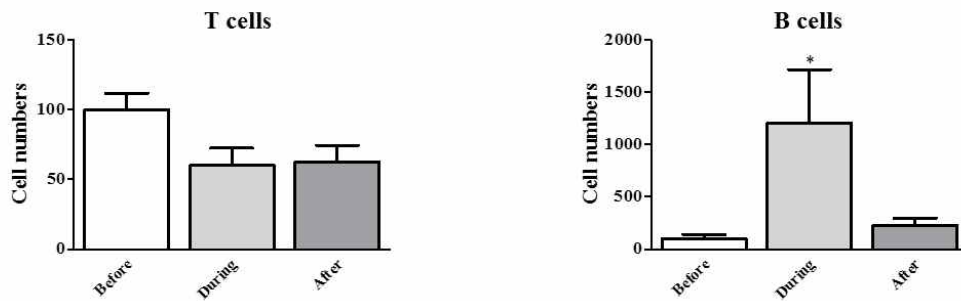
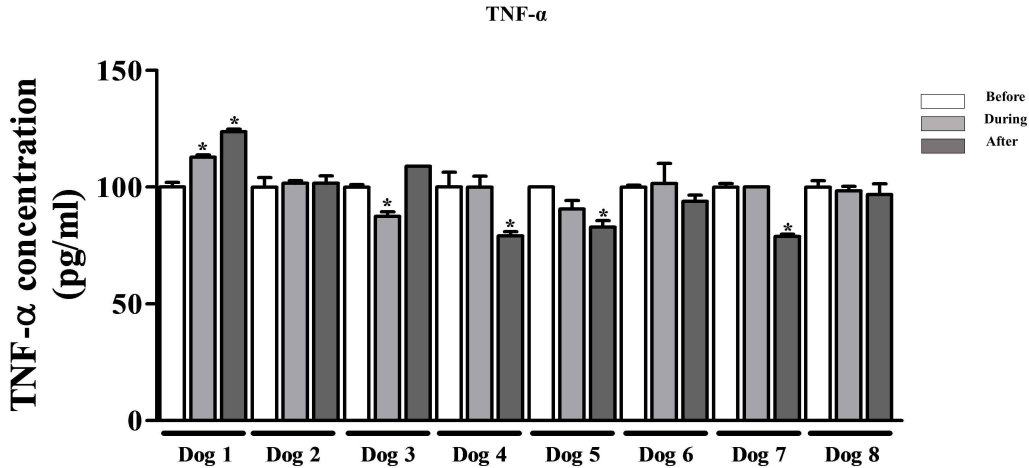


그림. FACS를 이용한 반려견 PBMC에서 T세포 및 B세포 비율 분석.

- 우슬 첨가 사료가 반려견 혈액 내 면역세포 군집 비율에 미치는 영향을 확인하기 위해, FACS를 통해 우슬 첨가 사료를 먹이기 전, 중, 후의 혈액 내 T세포 및 B세포의 비율을 분석함
- T세포의 경우 우슬 첨가 사료를 급여하기 전보다 평균 세포 수가 감소하였으나 통계적인 유의성은 없었음
- B세포는 우슬 첨가 사료를 반려견에게 급여하는 동안 10배 이상 세포 수가 증가하였으며, 급여가 종료된 후에도 대조군보다 높은 수준을 유지함
- 즉, 우슬 첨가 사료는 혈액 내 면역세포 중 T세포 보다는 B세포의 군집 비율을 증가시키는 데 효능이 있음

(A)



(B)

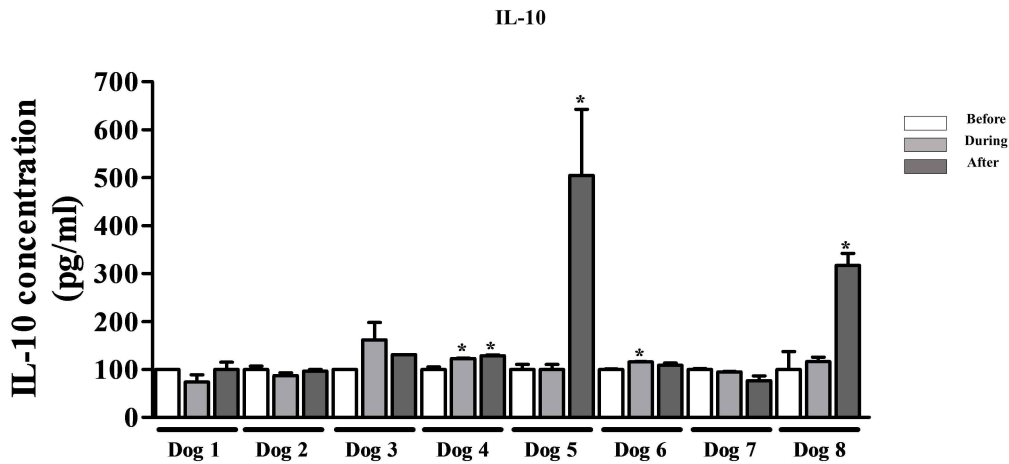


그림. 반려견 PBMC 내 사이토카인 발현 분석 (ELISA).

- 우슬 첨가 사료가 반려견 혈액 내 염증 관련 사이토카인 분비량에 미치는 영향을 확인하기 위해, ELISA 기법을 통해 우슬 첨가 사료를 먹이기 전, 중, 후의 혈액 내 염증 관련 사이토카인 농도를 분석함
- TNF- α 는 염증 유도 사이토카인으로, 우슬 첨가 사료를 급여한 반려견의 혈액 내 TNF- α 농도가 전반적으로 감소한 것을 확인함 (Dog 1 제외)
- IL-10은 항염증 사이토카인으로, 우슬 첨가 사료를 급여한 반려견의 혈액 내 IL-10 농도가 대체로 증가한 것을 확인함. 특히 5번 반려견 내 IL-10은 우슬 첨가 사료에 의해 약 5 배 증가하여 상당한 효과를 보였음
- 즉, 우슬 첨가 사료는 반려견의 혈액 내에서 염증 유도 사이토카인의 분비를 감소시키고 항염증 사이토카인의 분비는 증가시켜, 결과적으로 항염증 효능을 나타낼 수 있음을 확인함

2. 반려견에서 Propolis 첨가 사료 급여에 따른 치태 형성 억제 효과 평가(In Vivo)

가. 시험재료 및 방법

(1) 대상
비침습적인 실험을 위한 26~29개월령의 12마리의 수컷 비글견
7일 간의 사료 적응 기간을 가진 후, 동일하게 스케일링이 진행

(2) 환경
사육 환경 : 항온·항습 시스템 (23 " } 3"□, 50 " } 20%(RH), 12-hour light/dark cycle)으로 유지

(3) 동물실험윤리위원회
시험계획서, 시험계획서의 수정 및 시험계획서에서 기술된 시험 과정은 시험을 수행하기 전 오리엔트바이오 동물실험윤리위원회 (IACUC)의 심의 및 승인.
(동물실험 승인번호: ORIENT-IACUC-180XX)

Table 1. 실험계.

시험군			투여용량 (g/day/animal)	동물 수(개체번호) 수컷
G1	대조물질	일반 사료	250	6(1M01~1M06)
G2	시험물질	처방식 사료	250	6(2M01~2M06)



Figure 1. 일반 사료(좌)와 처방식 사료(우)의 외형.



Figure 2. 스케일링 시술.



Figure 3. Qscan Plus(LED 조명으로 치태를 붉게 표현).



Figure 4. 스케일링 전의 무작위 2수를 선정하여 전과 직후를 사진 촬영.
 (A) 스케일링 전의 1M04의 우측, 정면, 좌측. (B) 스케일링 직후의 우측, 정면, 좌측.
 (C) 스케일링 전의 2M06의 우측, 정면, 좌측. (D) 스케일링 직후의 우측, 정면, 좌측.



Figure 5. 치태 촬영(1주차).

Table 2. 관찰 항목 및 방법.

관찰 항목 및 방법	
1	사망 유무 확인 모든 동물에 대하여 1일 1회(오전 또는 오후) 빈사 및 사망 동물의 유무를 확인.
2	임상 증상 관찰 모든 동물에 대하여 구토여부, 배설물 상태, 운동성변화 등을 관찰. 1일 2회 임상증상을 관찰하고 이상이 있을 경우, 임상증상관찰기록지에 이상증상, 정도 및 관찰시간 등을 기록.
3	체중 측정 모든 동물에 대하여 체중은 균 분리시와 투여개시일, 28day, 56day에 체중을 측정.
4	혈액 검사 모든 동물에 대하여 혈액검사를 실시하며 투여개시일, 28day, 56day에 채혈하여 측정. 검사 항목은 다음과 같음 - ALT, AST, ALP, BUN, CREA
5	치태 확인 모든 동물에 대하여 스케일링 전, 스케일링 직후와 스케일링 후, 1회/1주에 Q스캔 기기를 이용하여 치태 관찰 및 사진 촬영을 통해 지수 평가를 실시.

Table 3. 시험 일정 모식도.

Day	- 7	0	7	14	21	28	35	42	49	56
스케일링 실시										
시험 사료 급여	적용 기간									
임상 증상 관찰										
체중측정										
혈액검사										
치태확인										

본 시험은 다음의 자료를 참고하여 의뢰자와 협의한 후 시험을 실시한다.

실험동물 채혈량에 대한 가이드라인(ORIENT-IACUC-GUIDELINE-001).
(주) 제니아의 표준작업지침(SOP).

나. 연구 결과

(1) Mortality Rate

실험 기간 동안 사망 동물은 관찰되지 않았다.

(2) Clinical Manifestation

Table 4. 임상 증상

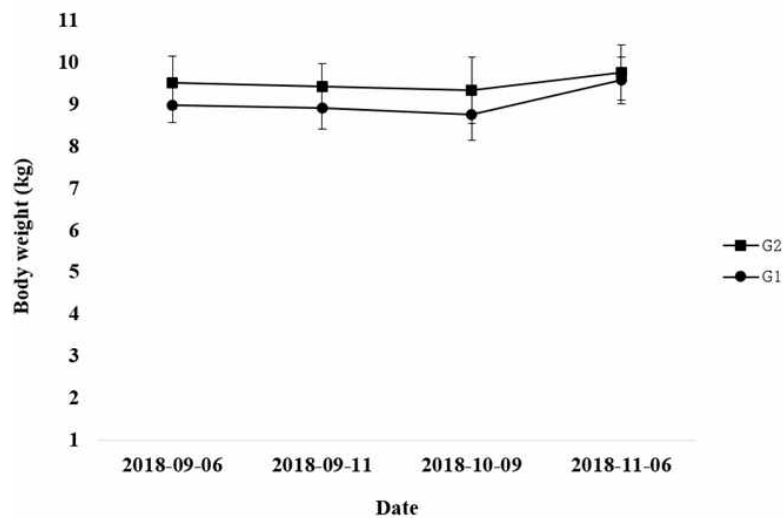
Group	Animal ID	Day of experiment													
		50		51		52		53		54		55		56	
		오전	오후	오전	오후	오전	오후	오전	오후	오전	오후	오전	오후	오전	오후
G1	1M01	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	1M02	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	1M03	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	1M04	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	1M05	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	1M06	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
G2	2M01	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	2M02	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	2M03	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	2M04	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	2M05	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	2M06	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N

N : Normal(정상)

(3) Weight Change

Table 5. 체중 변화

Group	Animal ID	Tattoo No.	Body weight (kg)			
			2018-09-06 (근본리시)	2018-09-11 (투여일)	2018-10-09 (28Day)	2018-11-06 (56Day)
G1	1M01	KFEADJ	8.7	8.6	8	9.2
	1M02	KFGATI	9.4	9.5	9.6	10.5
	1M03	KFGANW	9.6	9.5	8.8	9.2
	1M04	KFFAAK	8.8	9	9.3	10
	1M05	KFFADF	8.8	8.5	8.7	9.5
	1M06	KFGALL	8.6	8.4	8.2	9.1
	Mean.		8.98	8.92	8.77	9.58
S.D.		±0.41	±0.50	±0.62	±0.56	
G2	2M01	KFGARK	9.7	9.5	9.7	10
	2M02	KFGAKN	9.5	9.6	9.5	9.9
	2M03	KFGASL	8.7	8.8	8.3	9.1
	2M04	KFGALP	10.6	10.4	10.5	10.8
	2M05	KFGAAD	9.4	9.3	9.5	9.8
	2M06	KFFAGV	9.2	9	8.6	9
	Mean.		9.52	9.43	9.35	9.77
S.D.		±0.63	±0.56	±0.79	±0.66	
Total	Mean.	9.25	9.18	9.06	9.68	
	S.D.	±0.58	±0.57	±0.74	±0.59	



(라) Blood Test

Table 7. 혈액 검사

(A) 전 개체 0주 차 혈액 검사 결과

Abbreviation	Units	Reference Range 1*	1M01	1M02	1M03	1M04	1M05	1M06	2M01	2M02	2M03	2M04	2M05	2M06	
1	AST	IU/L	15-66	31	42	29	40	31	33	46	33	35	37	30	28
2	ALT	IU/L	12-118	64	119	33	69	66	57	45	40	51	278	42	40
3	BUN	mg/dl	6-31	21.7	11.5	17.5	16.4	13.9	17.8	19.9	28.1	16	13.6	28.5	22.4
4	ALP	IU/L	5-131	27	17	18	66	20	22	24	29	20	32	23	37
5	CREA	mg/dl	0.5-1.6	0.92	0.92	0.85	0.93	1.07	0.91	1.02	1.04	0.77	0.89	0.91	1.13

*. Covance Reference Range

(B) 전 개체 4주 차 혈액 검사 결과

Abbreviation	Units	Reference Range 1*	1M01	1M02	1M03	1M04	1M05	1M06	2M01	2M02	2M03	2M04	2M05	2M06	
1	AST	IU/L	15-66	16	19	15	28	18	13	15	15	13	11	11	9
2	ALT	IU/L	12-118	46	56	19	168	112	68	20	19	38	17	14	19
3	BUN	mg/dl	6-31	15.9	12.1	10.8	13.2	13.1	9.3	10.9	11.4	8.7	8.6	6.9	4.6
4	ALP	IU/L	5-131	11	10	8	30	12	14	13	22	11	9	7	19
5	CREA	mg/dl	0.5-1.6	0.34	0.61	0.48	0.89	0.7	0.42	0.72	0.72	0.38	0.47	0.39	0.37

*. Covance Reference Range

(C) 전 개체 8주 차 혈액 검사 결과

Abbreviation	Units	Reference Range 1*	1M01	1M02	1M03	1M04	1M05	1M06	2M01	2M02	2M03	2M04	2M05	2M06	
1	AST	IU/L	15-66	22	27	33	38	29	33	25	29	28	23	24	24
2	ALT	IU/L	12-118	38	43	93	53	150	141	88	33	68	37	58	39
3	BUN	mg/dl	6-31	13.9	14.9	21.3	18.7	18.3	15.1	18.1	20.1	22.5	13.7	19.4	20.8
4	ALP	IU/L	5-131	23	20	33	20	27	31	26	26	24	22	19	47
5	CREA	mg/dl	0.5-1.6	0.46	0.78	0.71	0.81	0.7	0.7	0.98	1.05	0.88	1	0.94	1.12

*. Covance Reference Range

(마) Plaque Photographing

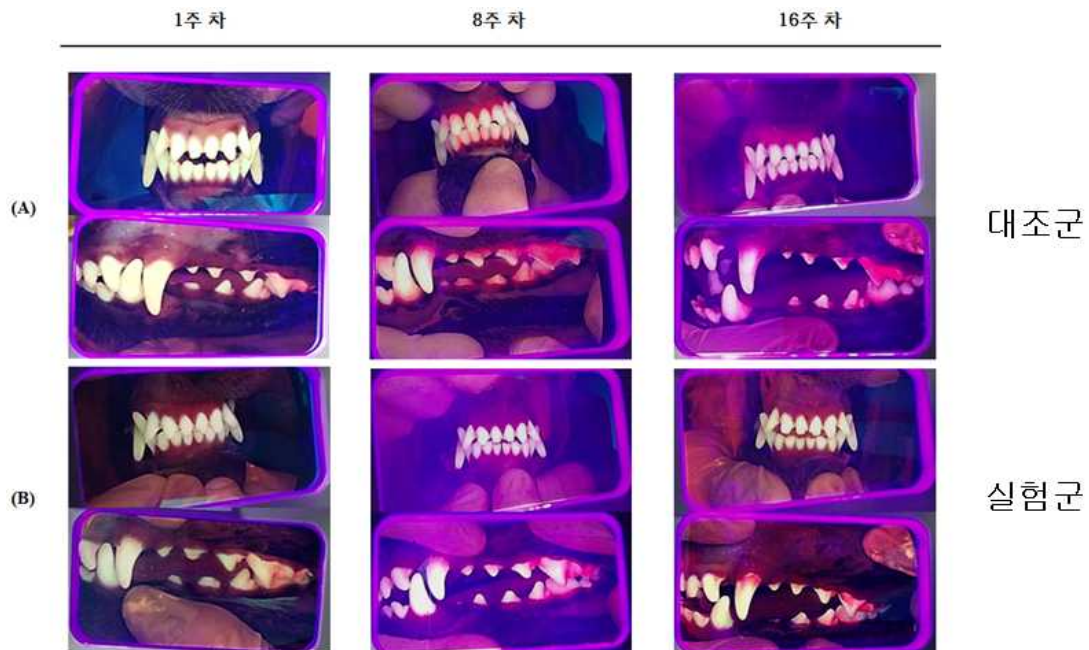


Figure 9. 실험 기간 동안의 치태 변화.
 (A) 일반 사료 식이의 1M03의 정면,좌측. (B) 처방식 사료 식이의 2M06의 정면,좌측.

다. 결론

본 시험은 안락사 되지 않는 수컷 비글견에 치아 처방식을 급여 한 후 사료의 효능 평가를 목적으로 진행되었다.

군 구성은 시험군과 대조군 2군으로 진행하였으며 각 군 당 6수씩 총 12수의 비글견을 사용하였다.

시험기간 동안 사망 동물은 관찰되지 않았으며 구토, 설사 등의 특이적인 임상증상을 보였던 개체 또한 관찰되지 않았다.

시험기간 동안 모든 동물에 대해 체중을 측정된 결과, 28일째 측정 시 일부 개체에서 체중의 감소가 확인되었다. 모든 동물에 정량의 사료를 급여하였기 때문에 각 개체 별 대사량, 흡수율 등이 영향을 미쳤을 것으로 생각된다. 이후 모든 개체에서 사료 급여량을 증량했고 58일째 측정 시에는 증가된 체중을 확인할 수 있었다.

시험기간 동안 모든 동물에 대해 혈액검사를 실시한 결과 ALT의 경도 상승이 확인되는 개체들이 있었으나 계속된 검사에서 높게 측정되는 개체는 없었으며, 점차 높아지는 양상을 보이지도 않아 일시적인 상승으로 생각된다. 28일 검사 시 과반수의 개체에서 정상 범위 이하의 CREA 수치가 확인되었으나 56일 검사에서는 정상으로 측정되었으므로 사료의 영향은 아닌 것으로 보인다.

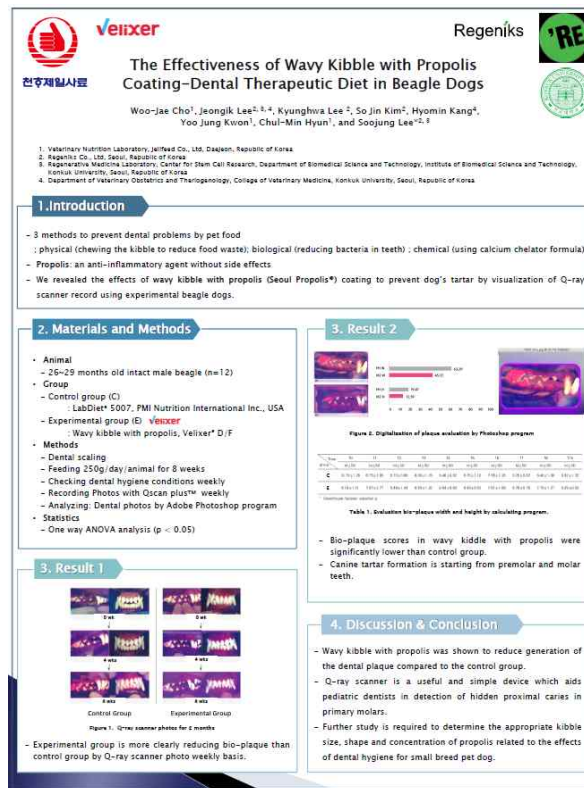


Figure 10. 학술 발표 포스터

3. Propolis를 이용한 Velixer 처방식의 제품화

벨릭서 D/F(Dental Disease Food)

프로폴리스를 코팅하여 압 안의 세균 억제에 도움

독특한 물결 모양 알갱이로 삼키는 것을 방지

소듐폴리포스페이트를 통해 침 속의 칼슘 흡착



NO. 03 D/F

DENTAL DISEASE FOOD
기타 질병에 도움이 되는 사료

Vetizer's speciality

- ORAL PROTECTANT**
잇몸염증(잇몸염)을 예방하고 치주염을 치료하는 데 도움을 줍니다.
- ORAL QUALITY PROTECTANT**
잇몸염증(잇몸염)을 예방하고 치주염을 치료하는 데 도움을 줍니다.
- ORAL PROTECTANT**
잇몸염증(잇몸염)을 예방하고 치주염을 치료하는 데 도움을 줍니다.
- ORAL PROTECTANT**
잇몸염증(잇몸염)을 예방하고 치주염을 치료하는 데 도움을 줍니다.

원료 명칭소 함량

성분명	200g 당	단위	비율
사료	200g	g	100%
수분	10.0	%	5.0%
단백질	15.0	%	7.5%
지방	5.0	%	2.5%
섬유소	1.0	%	0.5%
칼슘	0.1	%	0.05%
인	0.1	%	0.05%

사용 방법

1. 사료에 10%의 D/F를 첨가하여 급여한다. (예: 100g 사료에 10g D/F를 첨가한다.)

2. 사료에 20%의 D/F를 첨가하여 급여한다. (예: 100g 사료에 20g D/F를 첨가한다.)

3. 사료에 30%의 D/F를 첨가하여 급여한다. (예: 100g 사료에 30g D/F를 첨가한다.)

연구 방법

1. 실험 동물을 1-2-1로 나누어 실험을 진행한다.
실험에 사용된 동물의 수가 100마리이다.

실험 동물의 수	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
1-1-1	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
1-2-1	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
1-3-1	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
1-4-1	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20

연구 사용

1. 사료 첨가 및 실험 동물의 사육

2. 실험 동물의 사육

3. 실험 동물의 사육

4. 실험 동물의 사육

5. 실험 동물의 사육

6. 실험 동물의 사육

7. 실험 동물의 사육

8. 실험 동물의 사육

9. 실험 동물의 사육

10. 실험 동물의 사육

11. 실험 동물의 사육

12. 실험 동물의 사육

13. 실험 동물의 사육

14. 실험 동물의 사육

15. 실험 동물의 사육

16. 실험 동물의 사육

17. 실험 동물의 사육

18. 실험 동물의 사육

19. 실험 동물의 사육

20. 실험 동물의 사육

1. D-allulose의 항당뇨 효과 평가(In Vitro)

가. 이론적, 실험적 접근방법

(1) Glucose uptake assay

- 지방세포의 지질분해능은 Promega J1341 제품을 사용하여 분석함
- 96 well plate에 MDCK (canine kidney cell) 또는 개 일차 지방세포를 부착시킴
- D-allulose와 glucose를 혼용 처리하고 24시간 배양함
- 배지를 제거하고 PBS로 세척함
- 2DG를 넣고 10분간 배양
- Stop Buffer를 넣어 반응을 중지시킴
- Neutralization Buffer와 2DG6P Detection Reagent를 넣고 5시간 반응시킴
- Multi-reader를 이용하여 발광 수준을 정량함

(2) Amylase 활성 측정

- 1.5 ml tube에 starch solution (1.0% soluble starch solution) 100 μl씩 첨가
- α-Amylase를 50 μl씩 첨가 후 20°C에서 3분간 반응시킴 (음성 대조군으로 amylase inhibitor인 acarbose를 사용)
- Color Reagent (70°C 증류수 + 따뜻한 5.3 M potassium sodium tartrate, tetrahydrate + 따뜻한 96 mM 3,5-dinitrosalicylic acid) 100 μl씩 첨가
- 100°C에서 15분간 반응시킨 후 얼음 위에서 식힘
- 증류수 900 μl 넣고 혼합
- 각 용액을 96 well plate에 옮기고 540 nm에서 흡광도 측정함

나. 연구결과

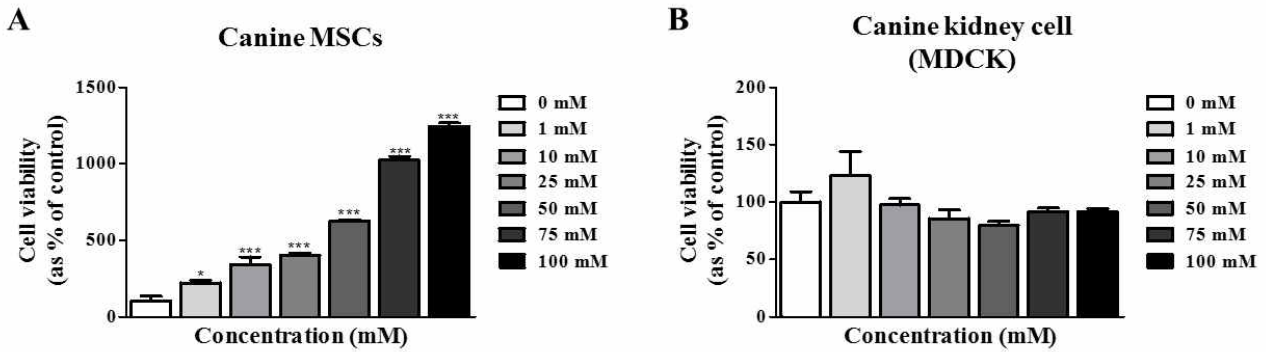


그림. D-allulose의 세포독성 평가. (A) 개 중간엽줄기세포, (B) 개 신장세포.

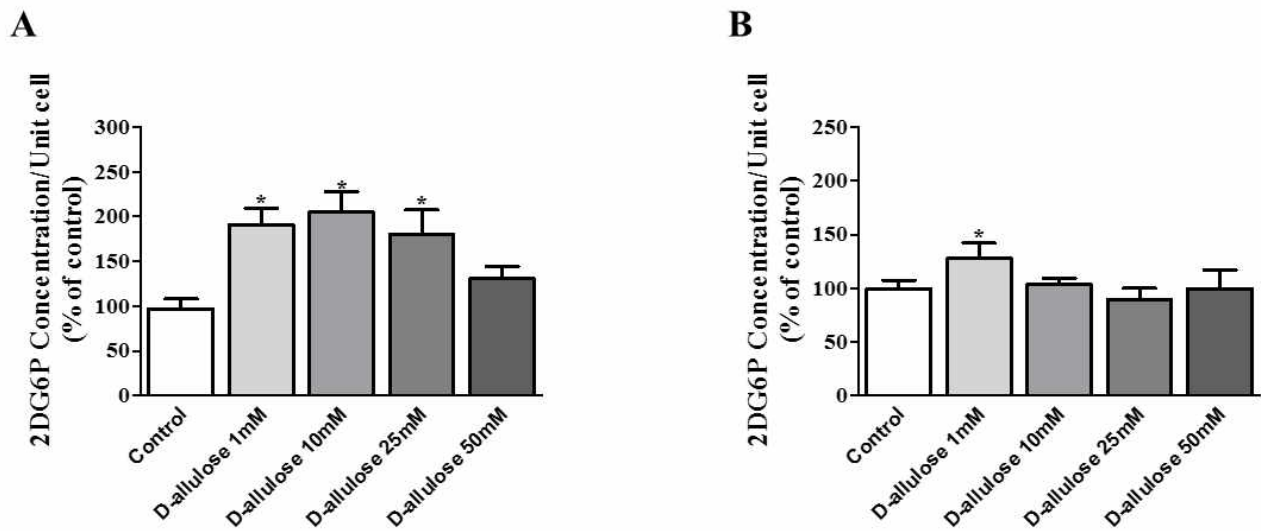


그림. 개 신장세포 및 지방세포에서 D-allulose의 glucose uptake assay. (A) 개 신장세포, (B) 개 지방세포

- 세포로 uptake되는 D-allulose와 glucose의 양을 glucose uptake assay를 이용하여 분석 및 비교 함
- 개 신장세포와 지방세포 모두에서 D-allulose는 1 mM 이상의 농도에서 glucose uptake 효능이 높게 나타남
- 세포 내 glucose 형태가 2DG6P이고, 세포 내에 이 glucose의 농도가 높을수록 세포가 glucose을 많이 흡수한 것으로 해석될 수 있음. 즉, glucose을 혈류 쪽으로 보내지 않고 지방세포에 흡수되어 보존되기 때문에 당뇨에 효과적이라 해석될 수 있음

Amylase inhibitory assay

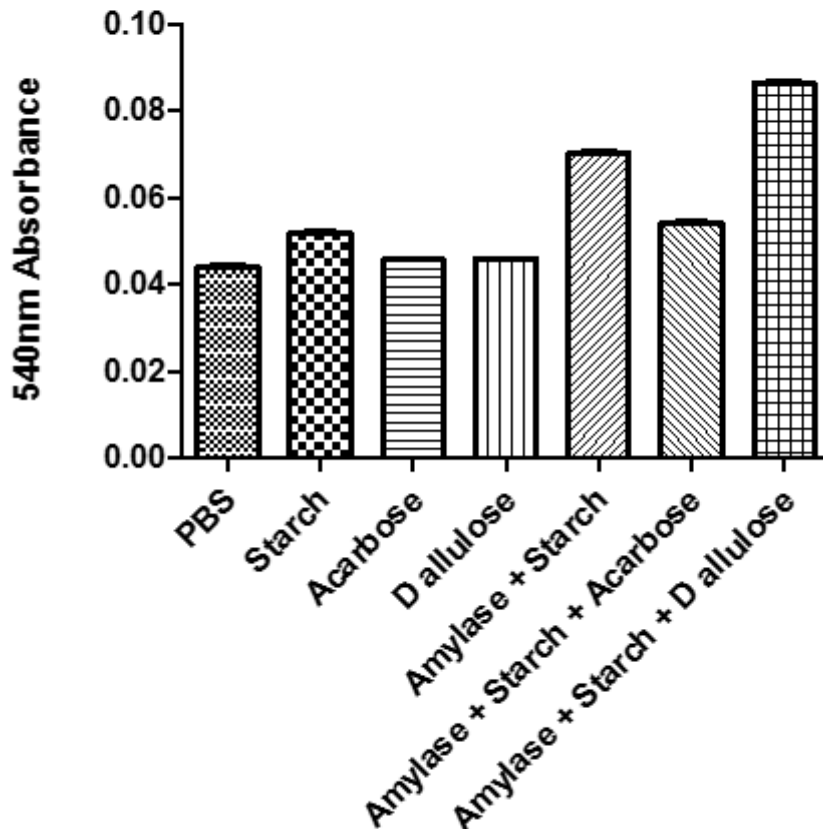


그림. 개 신장 세포에서 D-allulose의 amylase inhibitory assay

- Amylase는 탄수화물을 포도당으로 분해하는 역할을 하며 amylase 활성이 억제되면 탄수화물이 분해되지 않아 혈중 glucose의 농도가 낮아짐
- 본 실험에서는 amylase에 탄수화물과 D-allulose를 처리한 후 amylase 활성이 억제되어 탄수화물의 분해가 감소하는지 분석함
- 실험 결과, D-allulose는 amylase 활성을 억제하지 못한 것으로 나타났으며, glucose uptake assay 결과와 달리 D-allulose는 탄화수화물 분해능에는 효과가 미미한 것으로 여겨짐

2. D-allulose를 이용한 Velixer 처방식의 제품화

벨릭서 DM/F(Diabetes Mellitus Disease Food)

기존의 해외 반려견 당뇨질환 처방식과의 차별성을 위해 고단백, 저지방, 저탄수화물 포뮬라에 특수원료 D-allulose를 사용하여 해외 파트너사에 제품 차별점을 제공.

In vitro 실험을 통해 항당뇨에 대한 과학적인 근거를 제시함.



05 DM/F
 100% 천연 단백질 함량 100%
 ✓ 믿는 맛
 ✓ 새콤 낫맛 효용성
 ✓ 재배용으로 인한 고품질

DIABETES MELLITUS DISEASE FOOD
 100% 천연 단백질 함량 100%

Veixer's specialty

- LOW GI (저당지수) 식품
 낮은 당지수 식품은 탄수화물 섭취 후 혈당 상승 정도를 낮추고 포만감을 오래 유지시켜 주며 체지방 축적을 줄여줍니다.
- 저당지수 식품
 식이 섬유는 체중을 낮추고 Diabetes의 합병증 예방에 도움이 됩니다. 또한 저당지수 식품 섭취가 장 건강에 도움을 줍니다.
- 저당지수 식품의 효능
 1. 혈당 안정: 저당지수 식품은 저당지수 식품이 혈당 안정을 도와 당뇨 합병증 예방에 도움을 줍니다.
 2. 포만감 증가: 저당지수 식품은 포만감을 증가시켜 식욕을 줄여줍니다.
- 저당지수 식품
 당뇨병 예방에 도움을 줍니다. 또한 포만감을 증가시켜 식욕을 줄여줍니다.

성분	단위	내용	비율
단백질	g	15.00	15.00%
지방	g	11.00	11.00%
탄수화물	g	5.00	5.00%
에너지	kJ	315	315 kJ
칼슘	mg	50	50%
인	mg	50	50%
나트륨	mg	50	50%
비타민 A	μg	50	50%
비타민 B1	mg	50	50%
비타민 B2	mg	50	50%
비타민 B6	mg	50	50%
비타민 E	mg	50	50%
비타민 K	μg	50	50%
비타민 D	μg	50	50%

임상 연구 결과

▶ **Glucose Uptake Assay**

Group	Glucose Uptake (μmol/min)
Control	~1.0
Veixer DM/F	~1.5
Amesbury	~1.2
Amesbury+Glucose	~1.5
Amesbury+Glucose+Veixer	~1.8
Amesbury+Glucose+Veixer+Amesbury	~2.0
Amesbury+Glucose+Veixer+Amesbury+Glucose	~2.2
Amesbury+Glucose+Veixer+Amesbury+Glucose+Veixer	~2.5

▶ **Amesbury Assay**

Group	Amesbury Assay (%)
Control	~10
Veixer DM/F	~15
Amesbury	~12
Amesbury+Glucose	~15
Amesbury+Glucose+Veixer	~18
Amesbury+Glucose+Veixer+Amesbury	~20
Amesbury+Glucose+Veixer+Amesbury+Glucose	~22
Amesbury+Glucose+Veixer+Amesbury+Glucose+Veixer	~25

▶ **Long term supplementation of Diabetes appeared to reduce the body weight gain and reduced hepatic mass!**

1. 반려견에서 가수분해 새우 단백질 첨가 사료 급여에 따른 피부 면역 증진 효과 평가(In Vivo-진행 중)

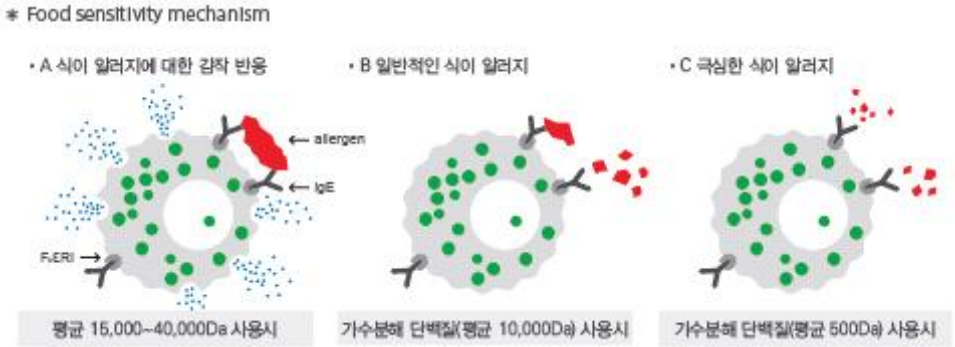
가. 연구 목적

<가설>

식이알러지 질환에서 “가수분해의 평균달톤수가 낮고 분포도가 정밀할수록 식이알러지 질환의 개선의 시간을 단축시키고, 임상 효능효과가 높다.”

<명제>

식이알러지는 개체에 따라서 원치 않는 면역반응이며 면역반응이 일어나기 위해서는 특이단백질의 분자량에 따라서 Mast cell의 receptor와 결합하는 유/무가 나뉘고 이는 과립형태의 Histamine의 방출의 유/무와 연결되어 가려움증 및 피부질환을 나타나게 한다.



나. 안전성 자료 (매우 중요)

사료검정기관의 성적서 (유해물질 검사, 및 품질관리기준에 준한 데이터) 있습니다.

특수성분이 아닌 단백질 원료는 별도의 독성실험을 하지 않습니다.

다. 연구 용도

(1) 논문 출판을 위한 데이터 확보

- 현 연구에서 식이알러지 질환 개체 임상효능평가 진행하여 데이터 (CADESI-04, VAS 등) 확보.

- 논문 출판 등에 해마루 진료진 참여자 2~3인의 author 등재

(2) 국가과제 혹은 기업 프로젝트 협동 수행

- 농림수산물기술기획평가원 제 농축 2017-74호 “수출전략형 노령 펫용 기능성 맞춤형 사료 제품 개발”

(3) 기타

- 임상효능평가를 진행하여 국제수의피부학회에 공동발표를 목적으로 함.

- 포스터 발표 등에 해마루 진료진 참여자 2~3인의 author 등재

라. 연구 대상 범위 및 정의

(1) 시험군 정의 : 식이알러지 질환 개체에 Velixer US/F(가수분해새우단백질) 적용

à 식이알러지 개체에 가수분해 단백질 평균달톤수 1,000 이하를 적용 (상업용 처방식)

(2) 대조군 정의 : 식이알러지 질환 개체에 Royal Canin Hypoallergenic 적용

à 식이알러지 개체에 가수분해 단백질 평균달톤수 6,000 이상을 적용 (상업용 처방식)

Rule in

- 피부질환이 개선과 악화가 반복된 개체
- 간식급여 Control 완벽히 되는 보호자, Single pet owner, 가족구성원 3명 이하
- 1세~7세의 Small Breed.

Rule out

- 기생충질환, 세균성피부질환, 곰팡이성 피부질환
- 기타 현 피부질환에 영향을 줄 수 있는 질환
- 보호자의 성향 : 남/여, Age(45세 이상), 간식의 급여, Multi pet, 가족구성원

마. 연구 기간

(1) 예상 연구 기간 (12)개월

(2) 예상 최대 환자 수

(가) 시험군 (15)개체

(나) 대조군 (15)개체

바. 상세한 시술/검사 과정

(1) 임상연구 개체 선정 방법

- 제거 식이(elimination diet)를 8주동안 시행하여 식이 알러지가 확진이 된 개체 (단, 해당 8주는 연구 기간에 포함되지 않음).

- 이미 식이 알러지로 확진이 된 개체.

- Dietary rechallenge를 통해 임상증상이 나타난 상태에서 시작.

(2) 연구 진행 방법

- 환자들을 실험군, 대조군으로 나누어 각각 해당되는 식이 알러지용 처방식을 3개월간 급여.
- 간식을 포함한 일체의 단백질원 차단
- 벨릭서 처방 전후 치료 내용이 달라지지 않음.
- 급여량을 포함한 보호자 교육.
- 시작일 포함 매 2주마다 내원하여 평가 진행. 제공된 연구자용 자료에 평가 수치 기입 및 사진 촬영.

(3) 모니터링 방법

- 병원 방문 횟수 : 2주당 한 번 방문 (개체당 3개월 평가)
- 방문 시 실시할 검사 항목 : CADESI-04, PVAS, TEWL, SCH , 사진(Top view, Side view, 병변 부위)
- 기본 혈액 검사 : CRP 와 기본혈청 검사를 0주차, 4주차, 8주차, 12주차 방문시 각각 실시
- 위 모니터링 방법은 상호 협의 하에 일부 변경될 수 있음.

<모니터링 스케줄 정리>

주차	0주차(시작일)	2주차	4주차	6주차	8주차	10주차	12주차
대문 일화 (2019.00.00)							
혈액검사 실시 여부 (Yes / No)							
CADESI-4 점수							
PVAS 점수							
TEWL / SCH 점수 (00 / 00)	Left Medial Flank						
	Right Medial Flank						
	Left Flank						
	Right Flank						
Top view 사진 실시 여부 (Yes / No)							
Side view 사진 실시 여부 (Yes / No)							
병변부 사진 실시 여부 (Yes / No)							
보호자 안내 사항							
평가 책임 사항							

<참고자료>

(1) CADESI-04, PVAS 관련 내용

- 첨부파일 확인. CADESI-04는 Atopiscore로 쉽게 측정하실 수 있습니다.
- PVAS는 환자의 평가가 아닌 '보호자'에게 물어보는 항목입니다.

(2) TEWL, SCH 평가

- 첨부파일 확인. TEWL(Trans Epidermal Water Loss, 경피수분손실도), SCH(Stratum Corneum Hydration, 피부수분도)를 측정할 수 있는 GP Skin Barrier Pro 제품을 사용하여, TEWL과 SCH를 측정합니다.
- 측정 기기는 제일사료가 제공합니다.

(3) 보호자 제공 서류

- 보호자 안내서
- 보호자 동의서
- 보호자 혜택 및 피해보상 정책

임상 연구에 참여하는 보호자에게 효능평가 완료 후 12개월 처방식 무상 제공 (소형견 기준)

- 제품의 안내서 및 안전성 자료 제공 (시험사료의 유해물질 성분 분석 결과서)
- 잔류농약, 공팡이독소, 보존제(BHA, BHT, 에토시퀸 등), 중금속

사. 첨부 자료

Case Report Form, 보호자용 동의서 및 안내서, 평가자용 자료.

아. 연구 결과

6. 실험 결과.

6.1. 혈액 검사 수치.

- 특이사항 없음.

6.2. CADESI-04 수치 (표 3., 표 4., 그림 1., 그림 2.)

표 3. 실험군의 CADESI-04 측정치.

CADESI-04 (실험군)							
	0주차	2주차	4주차	6주차	8주차	10주차	12주차
공혈	40	23	18	12	14	7	7
운동이	80	56					
평균	60	39.5	18	12	14	7	7

그림 1. 실험군의 CADESI-04 측정치 그래프.



표 4. 대조군의 CADESI-04 측정치.

CADESI-04 (대조군)							
	0주차	2주차	4주차	6주차	8주차	10주차	12주차
삼월이	18	8	13	6	8	5	6
오우리	15	12	10	11	8	11	5
평균	16.5	10	11.5	8.5	8	8	5.5

그림 2. 대조군의 CADESI-04 측정치 그래프.



- 환자 '몽셀'의 경우, 8 주차 수치를 제외하면 12 주간 CADESI-04 수치의 지속적인 감소를 보이고 있다. 8 주차에서는 약간 증가했지만, 전체적인 그래프는 감소하는 경향을 보이고 있다.
- 환자 '은동이'의 경우, 실험 시작 후 2 주간 CADESI-04 수치가 매우 크게 감소했다. 해당 환자는 현재 2 주차까지 내원했으며, 앞으로 12 주차까지 지속적으로 관찰 예정이다.
- 환자 '삼월이'와 '오프리'의 경우, 0 주차에서 큰 수치를 기록하진 않았고, 12 주차 측정까지 약간 감소하는 경향을 보이고 있다.
- 환자들의 평균을 보면 CADESI-04 수치가 점진적으로 감소하고 있음을 알 수 있다. 단, 환자 '은동이'의 수치가 평균 그래프의 기울기에 지대한 영향을 주고 있기 때문에, '은동이'의 12 주차까지의 주차별 수치가 중요할 것으로 보인다.

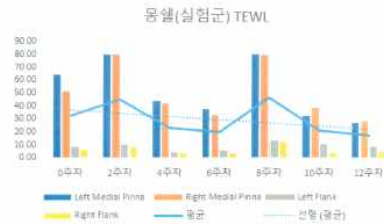
6.4. TEWL 수치

(1) 몽셀 (실험군) (표 6., 그림 4.)

표 6. 몽셀(실험군)의 각 부위별, 주차별 TEWL 측정치.

몽셀(실험군)		0주차	2주차	4주차	6주차	8주차	10주차	12주차
TEWL	Left Medial Pinna	64.10	80.00	44.00	37.30	80.00	32.00	26.80
	Right Medial Pinna	51.20	80.00	41.50	33.10	79.50	38.70	28.40
	Left Flank	8.45	10.10	4.00	5.40	13.10	10.50	8.50
	Right Flank	6.90	8.80	3.20	3.60	12.20	3.90	4.80
	평균	32.66	44.73	23.18	19.85	46.20	21.28	17.13

그림 4. 몽셀(실험군)의 각 부위별, 주차별 TEWL 측정치 그래프.



- 환자 '몽셀'이 TEWL은 Left Medial Pinna 와 Right Medial Pinna 에서 지속적으로 높게 측정되었다. 단, 0 주차에 비해 12 주차에서 크게 감소한 것을 확인할 수 있다.
- 평균 그래프의 전반적인 경향성은 약간 감소하는 것을 확인할 수 있다.

6.5. SCH 수치

(1) 몽셀 (실험군) (표 10., 그림 8.)

표 10. 몽셀(실험군)의 각 부위별, 주차별 SCH 측정치.

몽셀(실험군)		0주차	2주차	4주차	6주차	8주차	10주차	12주차
SCH 점수	Left Medial Pinna	0	23	22.3	22	21	15	18
	Right Medial Pinna	11.3	24.6	11	28.3	25.7	12	12.3
	Left Flank	6.25	16.3	6.7	4.2	12.7	9.7	6.7
	Right Flank	15.6	22.3	4	6.3	15	17.3	15
	평균	8.29	21.55	11.00	15.20	18.60	13.50	13.00

그림 8. 몽셀(실험군)의 각 부위별, 주차별 SCH 측정치 그래프.



- Left Medial Pinna 의 SCH는 증가, Right Medial Pinna 와 Left Flank 의 SCH는 감소하는 경향을 보이고 있다.
- Right Flank 의 SCH 경향성은 크게 달라지지 않았다.
- SCH의 전반적인 평균은 미미하게 증가하는 경향을 보이고 있다.

6.3. PVAS 수치 (표 5., 그림 3.)

표 5. 실험군과 대조군의 PVAS 측정치.

	PVAS						
	0주차	2주차	4주차	6주차	8주차	10주차	12주차
몽셀	6.5	5	5	3	4	3	
은동이	8	8	8				
삼월이	3	1	3	4	5	4	5
오프리	5	5	5	5	5	5	5

그림 3. 실험군과 대조군의 PVAS 측정치 그래프.



- 환자 '몽셀'의 경우, PVAS 수치가 점점 감소하는 경향을 보이고 있다.
- 환자 '은동이'의 경우, PVAS 수치가 높은 상태에서 유지되고 있다.
- 환자 '삼월이'의 경우, PVAS 수치가 점점 증가하는 경향을 보이고 있다.
- 환자 '오프리'의 경우, PVAS 수치가 중간에서 유지되고 있다.

(2) 은동이 (실험군) (표 7., 그림 5.)

표 7. 은동이(실험군)의 각 부위별, 주차별 TEWL 측정치.

은동이(실험군)		0주차	2주차	4주차	6주차	8주차	10주차	12주차
TEWL	Left Medial Pinna	9.60	6.70	8.80				
	Right Medial Pinna	10.20	4.30	9.90				
	Left Flank	12.70	4.60	4.70				
	Right Flank	12.90	4.70	4.70				
	평균	11.35	5.08	7.03				

그림 5. 은동이(실험군)의 각 부위별, 주차별 TEWL 측정치 그래프.



- 환자 '은동이'의 경우 2 주차에서 극적으로 모든 부위의 TEWL이 감소하였다.
- 4 주차 측정에서는 다소 수치들이 올라갔지만, 그럼에도 불구하고 0 주차에 비해 낮게 측정되었다.
- 경향성을 파악하기 위해서는 추가적인 주차별 수치들이 필요하다.

(2) 은동이 (실험군) (표 11., 그림 9.)

표 11. 은동이(실험군)의 각 부위별, 주차별 SCH 측정치.

은동이(실험군)		0주차	2주차	4주차	6주차	8주차	10주차	12주차
SCH 점수	Left Medial Pinna	2.7	3.7	0				
	Right Medial Pinna	11.7	9	5				
	Left Flank	2	3	0				
	Right Flank	1	0.7	0				
	평균	4.35	4.10	1.25				

그림 9. 은동이(실험군)의 각 부위별, 주차별 SCH 측정치 그래프.



- Right Medial Pinna 와 Right Flank 의 SCH는 감소, Left Medial Pinna 와 Left Flank 의 SCH는 증가하는 경향을 보이고 있다.
- 전반적인 평균의 경향성을 확인하기 위해서는 추가적인 자료가 필요하다.

(3) 삼월이 (대조군) (표 12., 그림 10.)

표 12. 삼월이(대조군)의 각 부위별, 주차별 SCH 측정치.

삼월이 (대조군)		0주차	2주차	4주차	6주차	8주차	10주차	12주차
SCH 점수	Left Medial Pinna	13	10.3	0.7	11	4	4.3	0
	Right Medial Pinna	16.3	7.6	4.3	0.7	3	1	1.3
	Left Flank	8.7	9.7	0.7	13	9.7	9.7	4.7
	Right Flank	2.7	6.3	1.3	11.7	8.3	10.7	6.3
	평균	10.18	8.48	1.75	9.10	6.25	6.43	3.08

그림 10. 삼월이(대조군)의 각 부위별, 주차별 SCH 측정치 그래프.



- Left Medial Pinna, Right Medial Pinna, Left Flank 의 SCH 는 감소하는 경향을 보이고 있다.
- Right flank 의 SCH는 증가하는 경향을 보이고 있다.
- 전반적인 평균의 경향성은 감소하고 있다.

7. 중간 결론.

- CADESI-04 의 경우, 실험군과 대조군 모두 점점 감소하는 경향성을 보였다.
- PVAS 의 경우, 몽벨(실험군)은 감소, 삼월이(대조군)는 증가하는 경향성을 보였다. 오오리(대조군)는 5 점에서 유지되고 있다.
- TEWL 의 경우, 몽벨(실험군)은 감소, 삼월이(대조군)와 오오리(대조군)은 증가하는 경향성을 보였다.
- SCH 의 경우, 몽벨(실험군)은 증가, 삼월이(대조군)와 오오리(대조군)은 감소하는 경향성을 보였다.
- 단, 은동이(실험군)의 경우 추가적인 주차별 측정치가 필요하다.

(4) 오오리 (대조군) (표 13., 그림 11.)

표 13. 오오리(대조군)의 각 부위별, 주차별 SCH 측정치.

오오리 (대조군)		0주차	2주차	4주차	6주차	8주차	10주차	12주차
SCH 점수	Left Medial Pinna	0.25	7.7	0.7	0	0	0.3	0
	Right Medial Pinna	1.75	5.7	1.7	0	1.67	4.3	0.3
	Left Flank	0.25	2	3	0.3	0	0	0
	Right Flank	0	2	0.3	0	0.3	0	0
	평균	0.56	4.35	1.43	0.08	0.49	1.15	0.68

그림 11. 오오리(대조군)의 각 부위별, 주차별 SCH 측정치 그래프.



- 환자 '오오리'의 SCH 수치들은 전반적으로 매우 낮게 나타난 편이다. 특히, 6 주차와 12 주차에서는 두 수치를 제외하고는 모두 0으로 나왔다.
- 전반적인 평균의 경향성은 감소하고 있다.

황선영

2. 가수분해 새우 단백질 이용한 Velixer 처방식의 제품화

벨릭서 US/F(Ultra Skin Food) 처방식 제품군 중에서 제일 매출이 높은식이알러지용 처방식을 개발하고자 여러 단백질 원료 중에서 가수분해가 균질하고 평균 달톤수가 낮은 원료 채택함. 가수분해 새우 단백질(평균 500달톤)을 사용하여 다국적기업의 제품인 Anallergenic(평균 1,000달톤)보다 우수한 제품을 개발하였고 제품화하여 현재 매출 1위의 제품임.



NO. 10 US/F ULTRA SKIN FOOD
민감한 식이 알러지 관리에 도움을 주는 처방식

Velixer's speciality
HYDROLYZED SHRIMP PROTEIN (수소화 새우 단백질)
중요 영양소 함유 새우 단백질 가수분해 단백질 사용함 (수소화)
ESSENTIAL FATTY ACID
민감한 피부 관리에 도움을 주는 필수 지방산 함유함 (오메가 3,6,9)
SKIN SOOTHING EFFECT
피부 자극을 완화하는 유수 성분 함유함 (비타민 B5, E)

중요 영양소 함량

성분	기준 (%)	내용	기준 (%)
개체	100%	개체	100%
수분	10%	비타민 A	3,000 IU/kg
ASH	10%	비타민 B1	100 mg/kg
칼슘	0.5%	비타민 B2	100 mg/kg
인	0.5%	비타민 B6	100 mg/kg

Food Sensitivity Mechanism
A. 새우 단백질은 면역 반응을 일으킴. B. 알러겐 단백질은 면역 반응을 일으킴. C. 가수분해 단백질은 알러겐 반응을 일으키지 않음.

Molecular Weight Distribution of Hydrolyzates in US/F using hydrolyzed shrimp protein

Molecular weight (kDa)	% of proteins
100	5
50	15
20	40
10	25
5	15

관련 논문 근거
* Hydrolyzed Shrimp Protein has its peptides greater than 3 kDa, so even 1 kDa, would ensure that proteins are not stimulating any allergic response.

1. Velixer UL/F 처방식의 임상효능평가(In Vivo-진행중)

- 가. 시험목적
실제 임상효능평가에 대한 데이터를 축적하고 안전성과 효능이 입증된 근거를 통해 경쟁사 처방식 제품에 비해 경쟁력 있는 제품을 선보임.
- 나. 시험기간 및 장소
1) 기 간 : 2019년 7월 ~ 11월 (총 16주)
2) 장 소 : 전남대학교 수의과대학 및 광주 지역 동물병원 협조
- 다. 대상 개체
평가 전 혈액 검사를 시행하여 평가할 개체 군 선발(실제 질환군 중 1~7연령)
- 라. 시험사료 표기 및 시험설계 주요 내용
(1) 대조구 및 시험구 구분

- * 대조구 : 기존 결석 질환용 처방식 급여
- * 시험구 : 벨릭서 UL/F 처방식 시험사료 급여

(2) 시험처리 및 시험 방법

W1	W2	W3	W4	W5	W6	W7	W8	W9	W10	W11	W12	W13	W14	W15	W16
기존사료급여			시험사료급여						기존사료급여						
		pH				pH				pH				pH	
		채혈				채혈				채혈				채혈	

마. 평가항목

- (1) 뇨 pH : 방광 천자를 통해 원뇨의 pH 측정
- (2) 음수량 : 눈금이 있는 동일한 유리 물그릇 제공(1일 1회 오후 8시경 보호자가 측정하여 기록, 연구원 1월 1회 통화)
- (3) 혈액 검사 : 1월 1회, BUN/Creatinine, ALT, AST 등(안전성 평가 목적, 보호자 동의서 작성 必)
- (4) 체중 평가 : 동일한 체중계로 월 1회 측정
- (5) 분변 지수 : 보호자가 기록

바. 연구 결과

- (1) 체중 및 신체검사 소견
 - 특이 사항 없음
- (2) 혈액검사
 - 특이 사항 없음
- (3) 뇨 pH
 - (가) 비글견 (n=3): 총 12주 시험사료 급여함.
 - 실험 전 평균 8.7 로서 다소 염기성을 띄고 있음. 이는 사육 환경 및 식이와 관련이 있을 것으로 판단됨. 실험
 - 시작 전 2주간 음수량 및 사료 관리를 매일매일 체크하여, 충분히 영향을 줄 수 있는 요소 (탈수 및 오염)을 배제하였음. 뇨 검사상 감염이나 특이 소견 없었음.
 - 12주차까지의 결과에서 평균 8-9 정도로서 변화가 유의적이지 않음 (그림 1).

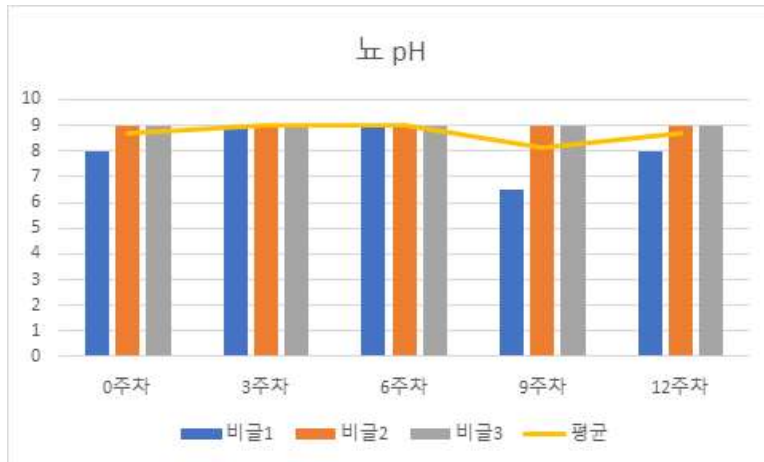


그림 1. 비글견에서의 시험사료 투여에 의한 뇨 pH의 변화

(나) 일반 가정견 (n=4): 총 6주간 시험사료 급이 (방광염, 결석에 대한 우려)

- 시험사료 급이 한 6주차까지 4마리 평균 7.25 (0주차), 6.75 (6주차)로 감소함 (그림 2). 그러나 한 마리에서 발생한 방광염 때문에 항생제 투약 후 6주차의 자료가 포함되어, 시험사료로 인한 산성화는 아닌 것으로 판단됨.
- 3주차에 약간의 상승의 경향이 있고, 데이터간의 편차가 심해 전체적으로 통계적 유의성은 없어 보임.
- 이후 5, 6주 차에서 각각 struvite crystal, 방광염 발생으로 사료 변경 후 뇨 pH가 산성화 됨.

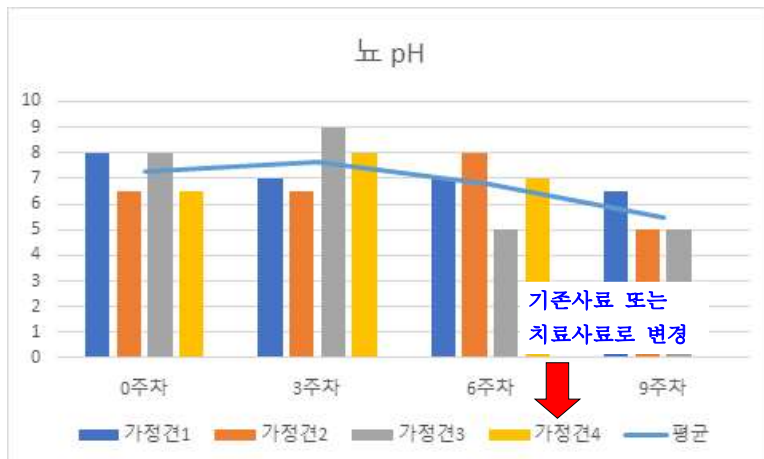


그림 2. 일반 가정견에서의 시험사료 투여에 의한 뇨 pH의 변화

(4) 뇨 비중

(가) 비글 (n=3)

- 총 12주간 뇨 비중이 증가하는 경향을 보임 (그림 3). 그러나 뇨 비중의 정상 범위에서의 차이이므로 임상적 의미는 크지 않을 것으로 생각됨.
- 회사의 자료에 따른 사료의 염분 함량의 증가와 밑의 데이터를 볼 때, 음수량의 감소와 관련될 수 있음.

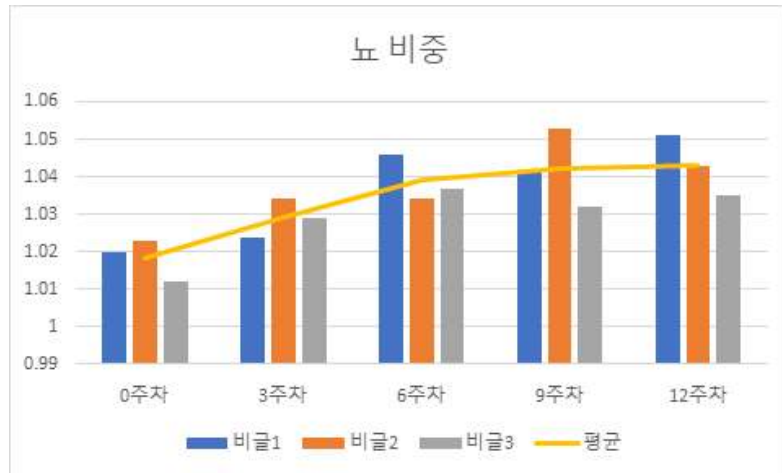


그림 3. 비글견에서의 시험사료 투여에 의한 뇨 비중의 변화

(나) 일반 가정견 (n=4)

- 비글견과 마찬가지로 6주차까지의 시험사료 투여에 의해 유의미한 뇨비중의 상승을 보여 주고 있음 (그림 4).
- 가정견에서는 정상범위를 넘어서는 범주로의 상승이 보이고 있어, 이에 대한 변화는 주시할 필요가 있음. 보통 뇨비중의 증가는 탈수, 음수량 저하 등의 원인이 많으나, 건강한 개체에서의 변화는 임상적 의미 보다는 사료의 성분으로 인한 것일 가능성이 큼.
- 사료의 염분 함량의 증가와 관련될 수 있음.
- 기존 사료로 변경 후에 비중은 다시 내려가기 시작함.

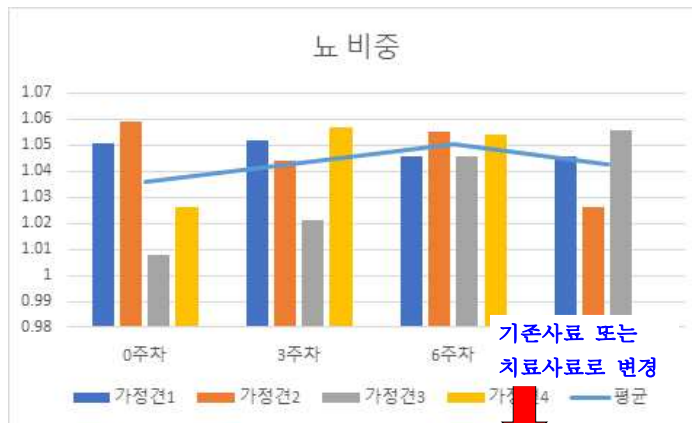


그림 4. 가정견에서의 시험사료 투여에 의한 뇨 비중의 변화

(5) 음수량

(가) 비글견 (n=3)

- 수컷 비글견에게 약 600g, 암컷 약 500g 정도의 사료를 하루 2번에 걸쳐 급여 (매일 두 번씩 특이사항 및 급수, 급이 환경을 체크함).
- 신선한 물은 급수리고 2L 씩 급수 후, 남은 양 측정. 매일 측정하고 주별 평균 비교함 (그림 5).



그림 5. 비글견 및 환자들 급이/급수 도구

- 음수량은 일정한 경향은 찾기 힘들지만, 처음에 비해 12주차에서 전체적으로 감소한 것을 알 수 있음 (그림 6).

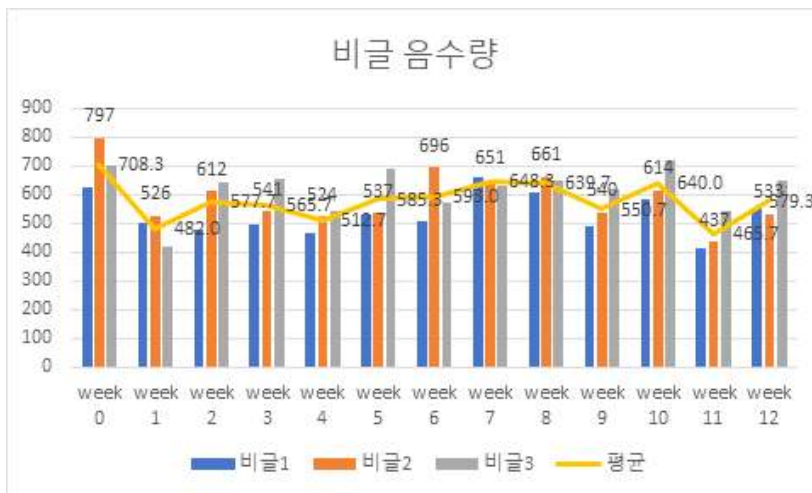


그림 6. 비글견의 시험사료 급이에 의한 음수량의 변화

(나) 일반 가정견 (n=4)

- 비글견과 달리 시험사료를 급이한 기간 동안 일정한 경향을 찾기 힘들. 평균적으로 유의적 차이를 보이지 않음 (그림 7).

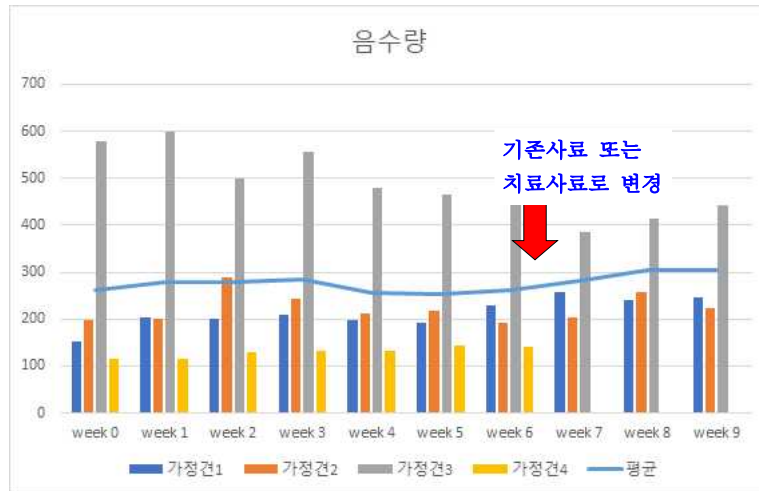


그림 7. 가정견에서의 시험사료 투여에 의한 음수량의 변화

(6) 특이 사항

(가) 비글견 (n=3)

- 비글견 각각 6주차 (1, 2), 9 (3)주 차에서 struvite crystal 발생 (그림 8). 시험사료를 12주까지 지속한 결과, 지속적 12주차까지 crystal이 지속적으로 관찰됨.

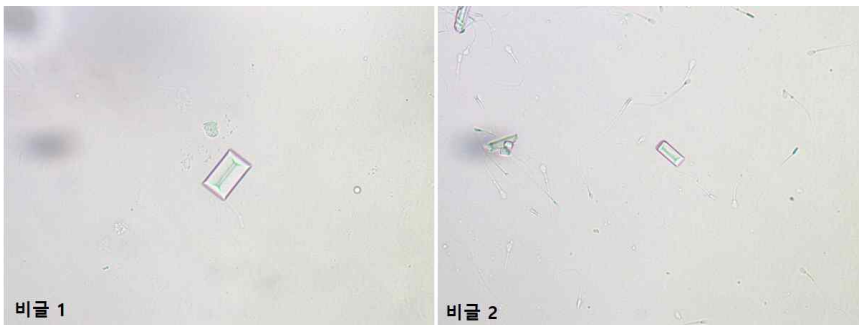


그림 8. 비글견에서 시험사료 투여 후 6주차 발생한 뇨 내의 struvite crystal

(나) 일반 가정견 (n=4)

- 일반 가정견 1에서 6주차 뇨 검사에서 마찬가지로 struvite crystal이 발생했으며, 가정견 3에서는 방광염이 발생하였음 (그림 9). 항생제 투약 이후 1주만에 뇨 pH가 산성화 됨.
- 결석의 양상과 방광염의 특징으로 볼 때, 뇨 pH의 알카리성 특징 때문으로 고려됨.

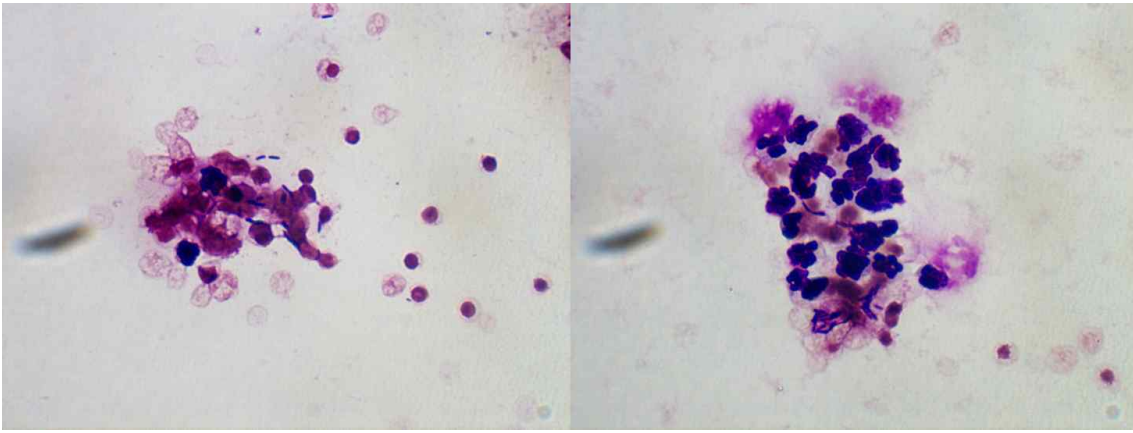


그림 9. 가정견 3에서 시험사료 투여 후 5주차 발생한 뇨 내의 방광염으로 인한, 염증세포와 간균들

(6) 결론

- 시험 사료는 정상견에서 뇨의 pH의 영향은 뚜렷하지 않으나, 알카리 뇨를 산성화 시키지는 못함.
- 시험사료로 인한 전체 정상견의 음수량의 변화 또한 일정하지 못함. 같은 환경 속의 비글견의 경우, 음수량 감소로 인한 뇨 비중의 증가를 가져옴.
- 사료 성분으로 인한 뇨 비중의 증가가 관찰됨.
- 사료 성분과 뇨 pH의 변화와 결석발생에 대한 정밀한 조사가 필요함.

(7) 추후 계획

- 벨릭서 UL/F(Urinary Light Disease Food)
- UL/F 사료 급여 후 음수량과 방광내의 pH를 측정하는 임상효능평가를 전남대 동물의료센터와 진행함. 실제 데이터의 결과가 100% 입증되지 않아 2차 시험 배합비를 적용하여 2020년에 다시 실험하고자 함.



1. 이 외의 상품화된 Velixer 제품들 및 성과

가. 벨릭서 17종 제품 카탈로그





동물병원 전용 처방식 브랜드, 벨릭서를 소개합니다.



01 수의사를 위한 처방식

수의사에 의해 처방된 동물용 처방식입니다. 오직 수의사가 있는 동물병원에서 처방되고, 처방 목적에 따라 처방됩니다. 국내 유일의 수의사 처방 동물용 처방식이며, 수의사 처방 동물용 처방식에 수의사 처방 동물용 처방식입니다.

02 객관적인 과학적 연구와 처방성을 가진 처방식

가장 많이 사용되지 않았던 기능성 성분인 천연 식물성 단백질을 사용하였습니다. 당분과 지방 함량을 저감하여, 동물 건강을 위한 처방식입니다. 동물 건강을 위한 처방식입니다. 국내 유일의 수의사 처방 동물용 처방식입니다.

03 최신 영양학을 적용한 영양 포뮬라

AACCO, IANOM 기술을 접목하여, 영양 균형을 극대화하였습니다. 동물 건강을 위한 처방식입니다. 국내 유일의 수의사 처방 동물용 처방식입니다.



www.velixer.co.kr
070-4042-0305




다양한 질환의 예방과 관리를 위한 2종의 예방식과 13종의 처방식!

수의 임상에서 식이요법은 질병 치료의 시작과 끝입니다



수의 임상에서 식이요법은 질병 치료의 시작과 끝입니다

01 JUNIOR 12개월 이하의 소형견 위한

성장기에 빠른 에너지 전환에 도움을 주는 크로모실 함유. 체중 관리에 도움을 주는 단백질과 지방산. EPA/DHA 함유. 높은 기초생체 단백질 함량.

06 O/F 사별, 이별, 재혼, 재혼

벨릭스 플(Celastrolin)을 통한 노약동물들 사용자에게 체중 감소에 식이 자극 도움. 불만족스러운 수의사 처방 크로모실로 인해 불만족스러움. 동물사 입양자가 쉬운 관리의 도움을 위해 천연 항산화 성분 사용. 질병과 우울 복합에는 용 연어유 및 노약견에 천연 증진제 도움.

11 I/F 근골격계 이상, 사별, 이별, 재혼

- 소화기 연화 작용을 통한 소화, FOS, FOS, FOS
- 크로모실 함유. 불만족스러운 수의사 처방
- 프로바이오티스 함유. 장 건강
- 영양비 합조를 통해 소화기 연화 도움

02 ADULT 12개월 이상 소형견 위한

역상적인 체중 증가를 막기 위해 단백질 함량. 영양제 수사에 의해 체중 관리. 국내 유일의 수의사 처방 동물용 처방식. 동물 건강을 위한 처방식입니다. 국내 유일의 수의사 처방 동물용 처방식.

07 S/F 사별, 이별, 재혼, 재혼

단일 개로부터 단백질과 지방산 함량을 사용자에게 사별 입양에 의해 감소 도움. 불만족스러운 수의사 처방 크로모실로 인해 불만족스러움. 동물사 입양자가 쉬운 관리의 도움을 위해 천연 항산화 성분 사용. 질병과 우울 복합에는 용 연어유 및 노약견에 천연 증진제 도움.

12 K/F 만성 신장 질환, 요양 및 사별에 대한 케어

- 단백질 함량을 낮춰 신장 건강에 도움
- 낮은 인 함량(0.3%)으로 신장 건강에 도움
- 동물 건강을 돕는 크로모실로 인해 불만족스러움
- 영양비 합조를 통해 소화기 연화 도움

03 D/F 개와 고양이 동반 생활, 노령견 위한 케어

특정 단백질과 지방산 함량을 조절. 동물 건강을 위한 처방식입니다. 국내 유일의 수의사 처방 동물용 처방식. 동물 건강을 위한 처방식입니다. 국내 유일의 수의사 처방 동물용 처방식.

08 A/F 사별, 이별, 재혼, 재혼

영양 조제가 필요한 동물들 관리. 동물사 입양에 의해 불만족스러움. 동물사 입양자가 쉬운 관리의 도움을 위해 천연 항산화 성분 사용. 질병과 우울 복합에는 용 연어유 및 노약견에 천연 증진제 도움.

13 L/F 만성 신장 질환, 요양 및 사별에 대한 케어

- 소화기 연화 작용을 통한 소화기 연화
- 낮은 인 함량(0.3%)으로 신장 건강에 도움
- 동물 건강을 돕는 크로모실로 인해 불만족스러움
- 영양비 합조를 통해 소화기 연화 도움

04 J/F 관절 질환, 이별, 재혼, 재혼

국내 유일의 수의사 처방 동물용 처방식. 동물 건강을 위한 처방식입니다. 국내 유일의 수의사 처방 동물용 처방식. 동물 건강을 위한 처방식입니다. 국내 유일의 수의사 처방 동물용 처방식.

09 L/F/F 관절 질환, 이별, 재혼, 재혼

노년 동물들의 관절 질환을 예방. 동물 건강을 위한 처방식입니다. 국내 유일의 수의사 처방 동물용 처방식. 동물 건강을 위한 처방식입니다. 국내 유일의 수의사 처방 동물용 처방식.

14 H/F 만성 신장 질환, 요양 및 사별에 대한 케어

- 내분비 질환을 예방하기 위한 케어
- 낮은 인 함량(0.3%)으로 신장 건강에 도움
- 동물 건강을 돕는 크로모실로 인해 불만족스러움
- 영양비 합조를 통해 소화기 연화 도움

05 DM/F 당뇨, 재혼, 재혼, 재혼

사별, 이별, 재혼, 재혼. 동물 건강을 위한 처방식입니다. 국내 유일의 수의사 처방 동물용 처방식. 동물 건강을 위한 처방식입니다. 국내 유일의 수의사 처방 동물용 처방식.

10 US/F 사별, 이별, 재혼, 재혼

동물 건강을 위한 처방식입니다. 국내 유일의 수의사 처방 동물용 처방식. 동물 건강을 위한 처방식입니다. 국내 유일의 수의사 처방 동물용 처방식.

15 US/F 만성 신장 질환, 요양 및 사별에 대한 케어

- 단백질 수치를 낮춰 신장 건강에 도움
- 내분비 질환을 예방하기 위한 케어
- 낮은 인 함량(0.3%)으로 신장 건강에 도움
- 동물 건강을 돕는 크로모실로 인해 불만족스러움
- 영양비 합조를 통해 소화기 연화 도움



수의 임상에서 식이요법은 질병 치료의 시작과 끝입니다

06 DM/F 당뇨, 재혼, 재혼, 재혼

사별, 이별, 재혼, 재혼. 동물 건강을 위한 처방식입니다. 국내 유일의 수의사 처방 동물용 처방식. 동물 건강을 위한 처방식입니다. 국내 유일의 수의사 처방 동물용 처방식.

10 US/F 사별, 이별, 재혼, 재혼

동물 건강을 위한 처방식입니다. 국내 유일의 수의사 처방 동물용 처방식. 동물 건강을 위한 처방식입니다. 국내 유일의 수의사 처방 동물용 처방식.

15 US/F 만성 신장 질환, 요양 및 사별에 대한 케어

- 단백질 수치를 낮춰 신장 건강에 도움
- 내분비 질환을 예방하기 위한 케어
- 낮은 인 함량(0.3%)으로 신장 건강에 도움
- 동물 건강을 돕는 크로모실로 인해 불만족스러움
- 영양비 합조를 통해 소화기 연화 도움

나. 벨릭서 제품 출시 뉴스 기사

news1 뉴스 포토 이슈 카드뉴스

정치 사회 경제 산업 전국 월드 문화 연예 스포츠 여행 **OTV**

공민·전시 | 출판 | 종교 | 정책 | 문화일반 | 건강 | 날씨 | 운세·명운 | 차·교통 | 반려동물 | 유모

중 · 문화 · 반려동물

뜨는 '식용곤충', 국내업체 반려동물 사료로 개발...사료시장 '지각변동'

제일사료... 밀원 사용한 세계 최초 '치방식' 사료로 경쟁력 확보
(서울=뉴스1) 김원수 기자 | 2019-07-20 10:00 송고 | 2019-07-22 13:07 최종수정

실종아들 찾기 +
이승이 (여자) 2019년 10월 25일 발생

가사보기 | 네이트문의 | 좋아요 1개 | 공유하기 | 트위터 | 페이스북 | 인스타그램 | 카카오톡 | 뉴스



개 사료 이미지(지퍼데이) 유무스

식용곤충의 의학적 효능이 속속 입증되고 있는 가운데 국내 업체가 세계 최초로 식용곤충을 활용한 사료를 개발, 눈길을 끌고 있다. 특히 저방식 사료여서 해외 브랜드가 독점하던 기능성 사료 시장에도 판도 변화가 예상된다.

20일 업계에 따르면 농촌진흥청과 강남세브란스병원 박준성 교수팀은 공동 연구를 통해 식용곤충 고소에 (갑색거저리)가 수송 받은 암컷자의 영양 상태 개선과 면역력 향상에 효과가 있음을 밝혀냈다.

제일사료, 동물병원 전용 국내 처방식 브랜드 '벨릭서' 출시

국내 최초 밀원을 이용한 아토피처방식 APF 등 9종 출시
등록 : 2019.07.16 05:26:08 수정 : 2019.07.16 10:18:28 | 이복원 기자 d.wlee@dalry.com



제일사료(대표이사 윤하운)가 동물병원 전용 처방식 브랜드 '벨릭서(Veixer)' 제품을 15일 출시했다. 벨릭서(Veixer)는 수의사를 뜻하는 'Veterinarian'의 'V'와 만능을 지칭하는 'elixir'의 합성어로 "수의업 상에서 질병의 시작과 끝은 '식이'라는 개념"이라는 의미를 지닌 처방식 제품이다.

벨릭서(Veixer)는 수입과 수출의 불균형이 큰 반려동물 사료 분야의 경쟁력을 높이기 위한 국가과제에 농림수산식품기술개발사업(제 농축 2017-74호, 수출전환형 노벨맞춤 기능성 맞춤형 사료 제품 개발)의 지원을 받아 연구개발 및 브랜드(3년간 총연구비 16억)를 확보했다.

특히 해외 수출 시 경쟁력을 높이기 위해 국내에 자생하는 한방재료(추홍, 노박덩굴뿌리, 영랑취, 여주, 크로콜리스)를 활용했다는 점에서 해외 처방식과 차별성을 가지고 있다는 것이 제일사료 측 주장이다.

'벨릭서(Veixer)' 처방식 연구에는 충북대 수의대(김지훈 교수), 건국대 내 분자기업(박희재)이(이영익 대표)가 합동연구개발로 참여했다.



수의사를 위한 처방식 '벨릭서(Veixer)'는 총 9종으로 구성되어 있다. 그중 국내 최초 곤충연식용 사료인 APF(아토피질환 처방식)는 국립육산과학원(영양생리팀)과 충북대 수의대(장준혁 교수)의 합동 연구를 통해 임상적인 효능이 입증됐다.

조주재 제일사료 수의연구소장은 "벨릭서는 수의사의, 수의사를 위한, 수의사에 의한 처방식"이라며 "수의사가 있을 동물병원에 유동 공급할 것"이라고 밝혔다.

이어 "앞으로 벨릭서(Veixer)의 지속적인 발전을 위해 국내 임상가, 수의과대학과 지속적인 협업을 할 예정이다."

제일사료, 동물병원 전용 처방식 '벨릭서' 출시

등록일 : 2019.07.16 10:20:16 | 김원수 기자 junho1208@net.co.kr



[노트필] 하림그룹 제일사료(대표이사 윤하운)는 동물병원 전용 처방식 브랜드 '벨릭서(Veixer)'를 출시했다고 15일 밝혔다.

벨릭서는 '수출전환형 노벨맞춤 기능성 맞춤형 사료 제품 개발' 국가과제에 농림수산식품기술개발사업에서 3년간 15억원의 연구비를 지원받아 개발됐다.

연구개발에는 충북대학교 수의대 김지훈 교수 연구팀, 동대학교 수의대 장준혁 교수 연구팀, 건국대학교 내 분자기업 리제닉스, 국립육산과학원 영양생리팀 등이 참여했다.

특히 이 제품은 해외 수출 시 경쟁력을 높이기 위해 국내에 자생하는 우송과 노박덩굴뿌리 등 한방 원료를 공급했다. 국내 최초 곤충연식용 사료인 APF(아토피질환처방식)를 비롯해 총 9종의 처방식 제품이 출시됐다.

조주재 제일사료 수의연구소장은 "벨릭서는 '수의사의, 수의사를 위한, 수의사에 의한' 처방식"이라며 "앞으로도 벨릭서의 지속적인 발전을 위해 국내 임상가, 수의과대학과 지속적으로 협업해 나갈 것"이라고 말했다.

제일사료, '벨릭서' 출시... '수입' 장악한 처방식 사료에 '도전장'

국내 최초 밀원을 이용한 아토피처방식 APF 등 9종 출시
등록 : 2019.07.16 05:26:08 수정 : 2019.07.16 10:18:28 | 이복원 기자 d.wlee@dalry.com

1 | 밀원 이용한 아토피 처방식... 국가과제 연구지원 받아



제일사료의 동물병원 전용 처방식 사료브랜드 '벨릭서(Veixer) © News1

(서울=뉴스1) 최서은 기자 = 제일사료(대표 윤하운)가 오는 15일 동물병원 전용 처방식 사료브랜드 '벨릭서(Veixer)'를 출시, 수입 처방식이 장악한 사료시장에 도전장을 낸다.

14일 제일사료에 따르면 벨릭서 브랜드는 농림수산식품부 산하 농림식품기술기획평가원에서 3년간 15억원의 지원을 받아 연구개발한 끝에 탄생했다. 이는 수입 사료가 높은 비중을 차지하고 있는 반려동물 사료시장에서 국내 사료의 경쟁력을 높이기 위한 국가과제(수출전환형 노벨맞춤 기능성 맞춤형 사료 제품 개발)로 진행됐다.

벨릭서는 수의사를 뜻하는 영문(Veterinarian) 앞자리인 'V'와 만능을 지칭하는 뜻을 가진 'elixir'의 합성어다. 수의업상에서 질병의 시작과 끝은 '식이'라는 의미를 지닌 처방식 제품이다.

특히 이 제품은 해외 수출 시 경쟁력을 높이기 위해 국내에 자생하는 한방재료인 우송, 노박덩굴뿌리, 영랑취, 여주, 크로콜리스 등을 활용했다는 점에서 수입 처방식과 차별성을 갖고 있다는 것이 제일사료의 설명이다.

벨릭서 처방식 사료 연구에는 장지훈 충북대 수의대 교수, 건국대 내 분자기업인 리제닉스 이영익 대표가 참여했다.

벨릭서는 총 9종으로 구성돼 있다. 이 중 국내 최초 곤충연식용 사료인 APF(아토피질환처방식)는 국립육산과학원 영양생리팀과 충북대 수의대 장준혁 교수팀이 함께

다. 벨릭서 17종의 사료 성분 등록증 일부

[별지 제8호서식]
등록번호 제 H420121 호

사료 성분 등록증

대표자 : 윤하은 생년월일 : 1955년 1월 2일
 업체명 : 제일사료주식회사 대표(수입)등록번호 6300000-502-1987-0001
 소재지 : 대전광역시 대덕구 대전로1331번길 240 (대화동)

사료의 종류 : 배합사료/그밖의 동물·어류용 사료의 명칭 : 애완개 39-대영농동물
 사료의 형태 : 엑스투루전(형질) 사료의 용도 : 애완농물용
 제조국가 : 국내산
 제품명(영문명) : 벨릭서 포피(Velixer Puppy)

성분명	조지방	조지방	조지방	조지방	단	수분
성분량	35.0% 이상	19.0% 이상	3.0% 이하	10.0% 이하	1.0% 이상	0.8% 이상
성분량	12.0% 이하	12.0% 이하				

*사료관리법, 제12조제2항 및 같은 법 시행규칙 제 12조제3항에 따라 위와 같이 사료의 성분등록을 하였음을 증명합니다.

2018년 8월 30일

대전광역시

210m×297m(인쇄용지(1종) 120g/㎡)

[별지 제8호서식]
등록번호 제 H420126 호

사료 성분 등록증

대표자 : 윤하은 생년월일 : 1955년 1월 2일
 업체명 : 제일사료주식회사 대표(수입)등록번호 6300000-502-1987-0001
 소재지 : 대전광역시 대덕구 대전로1331번길 240 (대화동)

사료의 종류 : 배합사료/그밖의 동물·어류용 사료의 명칭 : 애완개 44-대영농동물
 사료의 형태 : 엑스투루전(형질) 사료의 용도 : 애완농물용
 제조국가 : 국내산
 제품명(영문명) : 벨릭서 비만(Velixer Obesity (O/F))

성분명	조지방	조지방	조지방	조지방	단	수분	조단백질
성분량	8.0% 이상	7.0% 이상	7.5% 이하	0.9% 이상	0.7% 이상	12.0% 이하	32.0% 이상
성분량							

*사료관리법, 제12조제2항 및 같은 법 시행규칙 제 12조제3항에 따라 위와 같이 사료의 성분등록을 하였음을 증명합니다.

2018년 8월 30일

대전광역시

210m×297m(인쇄용지(1종) 120g/㎡)

[별지 제8호서식]
등록번호 제 H420123 호

사료 성분 등록증

대표자 : 윤하은 생년월일 : 1955년 1월 2일
 업체명 : 제일사료주식회사 대표(수입)등록번호 6300000-502-1987-0001
 소재지 : 대전광역시 대덕구 대전로1331번길 240 (대화동)

사료의 종류 : 배합사료/그밖의 동물·어류용 사료의 명칭 : 애완개 41-대영농동물
 사료의 형태 : 엑스투루전(형질) 사료의 용도 : 애완농물용
 제조국가 : 국내산
 제품명(영문명) : 벨릭서 연할(Velixer Dental (D/F))

성분명	조단백질	조지방	조지방	조지방	단	수분
성분량	22.0% 이상	13.0% 이상	5.0% 이하	9.0% 이하	0.0% 이상	0.7% 이상
성분량						

*사료관리법, 제12조제2항 및 같은 법 시행규칙 제 12조제3항에 따라 위와 같이 사료의 성분등록을 하였음을 증명합니다.

2018년 8월 30일

대전광역시

210m×297m(인쇄용지(1종) 120g/㎡)

라. 보호자 홍보 및 수의사 대상 제품 교육 세미나



마. 수의사 컨퍼런스 및 학술 대회 참가



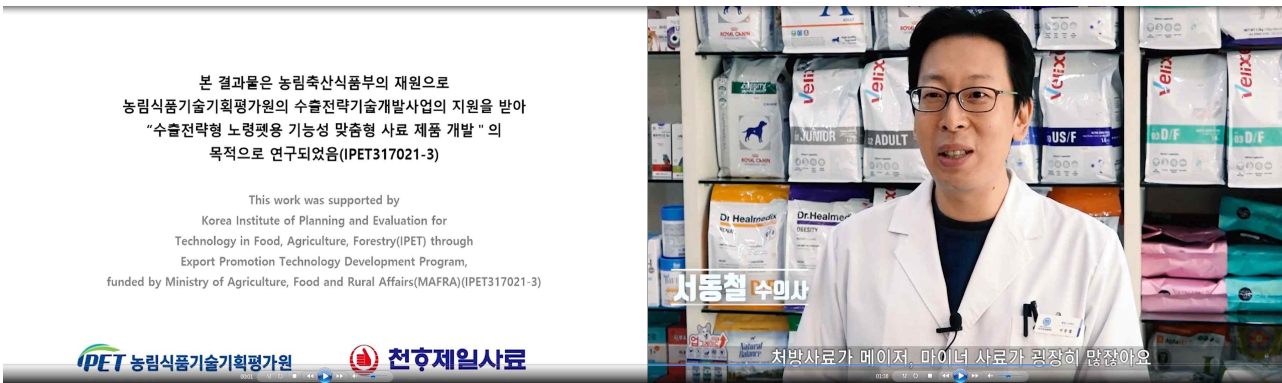
바. 기타 외부 매체 홍보



- SBS TV 동물농장 자문위원 출연



- EBS 세상에 똥똥한 개는 없다 자문위원 출연 및 제품 협찬



- 제품 홍보 영상 제작

사. 제품 거래 명세서 일부

거래명세표 일부(2019.01.26. 기준)

거래명세표 (공급받는자보관용)					책번호	권	호	
2019년 1월 26일 No. [] 귀하					등록번호	305-86-08366		
아래와 같이 계산합니다.					상호 (법인명)	제일사로 주식회사	성명	윤하은
합계금액 109,000 원정					사업장 소재지	대전광역시 대덕구 대전로1331번길 240 (제일사로(주))		
					업태	종목		
월일	품목 / 규격	단위	수량	단가	공급가액	세액		
01 26	01 벨릭서 주니어(독)		3	12,540	34,200	3,420		
01 26	02 벨릭서 A/F(독)		4	15,180	55,200	5,520		
01 26	02 벨릭서 어덜트(독)		4	11,550	42,000	4,200		
01 26	03 벨릭서 D/F(독)		4	13,530	49,200	4,920		
01 26	기타 추가 (배송비, 환불 수수료 등)		1	0	0	0		
01 26	기타 (할인 등)		1	-89,660	-81,509	-8,151		
*** 이하 여백 ***								
소계					99,091	9,909		
미수금	합계	109,000		인수자				

거래명세표 (공급자보관용)					책번호	권	호	
2019년 1월 26일 No. [] 귀하					등록번호	305-86-08366		
아래와 같이 계산합니다.					상호 (법인명)	제일사로 주식회사	성명	윤하은
합계금액 109,000 원정					사업장 소재지	대전광역시 대덕구 대전로1331번길 240 (제일사로(주))		
					업태	종목		
월일	품목 / 규격	단위	수량	단가	공급가액	세액		
01 26	01 벨릭서 주니어(독)		3	12,540	34,200	3,420		
01 26	02 벨릭서 A/F(독)		4	15,180	55,200	5,520		
01 26	02 벨릭서 어덜트(독)		4	11,550	42,000	4,200		
01 26	03 벨릭서 D/F(독)		4	13,530	49,200	4,920		
01 26	기타 추가 (배송비, 환불 수수료 등)		1	0	0	0		
01 26	기타 (할인 등)		1	-89,660	-81,509	-8,151		
*** 이하 여백 ***								
소계					99,091	9,909		
미수금	합계	109,000		인수자				

거래명세표 일부(2019.12.31. 기준)

거래명세표 (공급받는자보관용)					책번호	권	호	
2019년 12월 30일 No. [] 고양 귀하					등록번호	305-86-08366		
아래와 같이 계산합니다.					상호 (법인명)	제일사로 주식회사	성명	윤하은
합계금액 303,600 원정					사업장 소재지	대전광역시 대덕구 대전로1331번길 240 (제일사로(주))		
					업태	종목		
월일	품목 / 규격	단위	수량	단가	공급가액	세액		
12 30	10 벨릭서 US/F(독)		20	15,180	276,000	27,600		
12 30	[증정상품] 10 벨릭서 US/F(독)		5	0	0	0		
*** 이하 여백 ***								
소계					276,000	27,600		
미수금	합계	303,600		인수자				

거래명세표 (공급자보관용)					책번호	권	호	
2019년 12월 30일 No. [] 고양 귀하					등록번호	305-86-08366		
아래와 같이 계산합니다.					상호 (법인명)	제일사로 주식회사	성명	윤하은
합계금액 303,600 원정					사업장 소재지	대전광역시 대덕구 대전로1331번길 240 (제일사로(주))		
					업태	종목		
월일	품목 / 규격	단위	수량	단가	공급가액	세액		
12 30	10 벨릭서 US/F(독)		20	15,180	276,000	27,600		
12 30	[증정상품] 10 벨릭서 US/F(독)		5	0	0	0		
*** 이하 여백 ***								
소계					276,000	27,600		
미수금	합계	303,600		인수자				

아. 인력 창출() 외 3인)

출력일시 : 2019.11.29 13:05

4대 사회보험 가입자 가입내역 확인서					
발급번호	[]	발급일시	2019-11-29 13:04		
주민(외국인)등록번호	[]	성명	[]		
■ 가입 내역(발급일자 현재기준) 1 / 1					
내역 구분	성명	가입자종별	사업장 관리번호	사업장명칭	자격취득일 (신고일수일)
국민연금	[]	사업장가입자	30586083660	제일사로주식회사	[]
건강보험	[]	직장가입자	30586083660	제일사로주식회사	[]
산재보험	[]	사업장가입자	30586083660	제일사로주식회사	[]
고용보험	[]	사업장가입자	30586083660	제일사로주식회사	[]
> 외 가입자 가입내역 확인서는 [확인용]으로 신청 발급된 것임을 알려드립니다. [확인용]은 4대 사회보험의 업무목적 외 기타 업무 목적을 위해 신청한 것으로 제직종류명, 경력종류명, 다음종류명 다른 용도로 사용시에는 발급 기관에 문의하여야 하는 것을 알려드립니다. > 타 기관 제출을 위한 용도로 발급을 원하시는 경우에는 각 해당 기관 창구로 신청하시기 바랍니다. > 외 가입자 가입내역 확인서는 국민연금공단, 국민건강보험공단, 근로복지공단의 가입자 정보와 실시간 연계를 하여 제공하는 것입니다. (문의전화: 국민연금 1355, 건강보험 1577-1000, 산재 고용보험 1588-0075) > 가입자 가입내역 확인서의 내용이 사실과 다를 경우에는 해당 공단으로 직접 문의하시기 바랍니다. > 국가 가입내역은 해당 보험료와 관련된 문의사항에 답변드리지 않습니다. > [산재보험]의 경우, 전업 및 발육업 등 거친신고 사업장은 근로자 고용정보 신고 대상이 아니므로 자격취득일은 표기되지 않습니다. > 가입자 가입내역 확인서는 [사업장 관리번호]를 기준으로 작성되었습니다. > 동일 일자 국민연금, 건강보험, 고용보험, 산재보험의 가입내역은 확인합니다. 동일 일자 4대 사회보험 가입내역을 확인합니다.					
국민연금 이 사	국민연금 이 사	근로복지 대전지역	근로복지 대전지역	고용보험 대전지역	고용보험 대전지역

3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

3-1. 목표

		코드번호	B-05-01
구분	내용		
최종목표	수출가능한 경쟁력있는 4제품의 제품화 - 우슬을 이용한 관절질환 처방식 - Celastrol을 이용한 비만질환 처방식 - Allulose를 이용한 당뇨질환 처방식 - 발효 추출물과 프로폴리스를 이용한 노령견 전용 사료		
세부목표	사료첨가제개발 및 효능 검증 - 발효 양파마늘의 기호성 평가 및 천연보존제 평가 - 개에서 D-allulose의 hypoglycemic 효과 검증 - 개에서 celastrol의 항비만, 항 leptin 효과 검증 - 우슬 및 프로폴리스의 면역능 증진 효과 검증 SCI 논문 3편 이상, KCI논문 3편 이상 기술이전 (2) 특허출원 (4) 매출목표 45억 (최소 25억 이상)		

3-2. 목표 달성여부

연구개발목표		가중치(%)	개발 내용	달성도(%)
1차년도 (2017)	발효 마늘양파추출물의 기호성 평가 및 식품보존효과 규명	20%	일반포장의 식품보존효과에 대한 가혹테스트 조건표 작성 및 실험	100%
	온라인테스트베드 어플리케이션 개발	20%	Android 버전 app 및 관리자 웹 개발	100%
	시험사료 생산 (관절 질환용 처방식)	20%	시험사료 생산 및 유성생명과학고 사양테스트(기호성,분변지수) 진행	100%
	시험사료 생산 (치아 질환용 처방식)	20%	처방식 배합비 확정	100%
	국내 자생하는 원료를 이용한 기능성사료 생산 기획	20%	특수원료 구매처 확보 및 분석 완료 (우슬, 액상 프로폴리스, 강황, 바이오프로탐에 대한 구매처 확보 및 분석)	100%
온라인테스트베드를	15%	보호자의 참여 유도를 위한	100%	

2차년도 (2018)	통한 블라인드 기호성 평가 및 분변지수 평가		영양학세미나 진행 후 앱을 통한 경쟁사 제품과 기호성/분변지수 평가	
	온라인테스트베드 어플리케이션 개발	15%	iOS 버전 app 및 관리자 웹 개발	100%
	동물병원 주문/결제 통 합몰 제작	20%	B2B 폐쇄몰 기획 Velixer 도메인 등록	100%
	제품 사업화	20%	신제품 9종 개발 시험사료 생산(치아질환 효능평가, 관절질환 효능평가 진행중) 벨릭서 어덜트 외 8종 성분등록 및 제품 생산	100%
	시험사료 생산 (관절질환용 처방식, 벨릭서 어덜트, 치아질환 처방식)	20%	관절질환 배합비완성, 치아질환 처방식 배합비 완성	100%
	국내 자생하는 원료를 이용한 기능성 사료 생 산 기획	10%	특수원료 구매처 확보 및 분석 완료(노박덩굴, 엉겅퀴, 여주, 갈색거저리, 가수분해닭간, 알룰로스)	100%
3차년도 (2019)	제품 사업화	30%	신제품 6종 개발 벨릭서 US/F 외 5종 성분 등록 및 시제품 생산	100%
	임상효능평가 진행	30%	벨릭서 US/F, UL/F 임상효능평가 (진행 중)	70%
	고양이 제품 개발	25%	신제품 2종 개발 뉴터드 어덜트, O/F 개발 및 출시	100%
	온라인테스트베드 어플리케이션 개발	15%	먹고자고싸고 야옹(고양이) 버전 app 및 관리자 웹 개발	100%
	매출액		2019.12.31. 기준 총 매출액 약 1.9천	10%

3-3. 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후 대책(후속연구의 필요성 등)

가. 매출액

(1) 국내매출액 - 2018년도 1월에 사업화 시작으로 동물병원 직거래 플랫폼(벨릭서몰)을 만들었으나 새로운 사업모델에 대한 보수성향이 강한 기존 동물병원의 반대로 실제 매출은 2018년도 6월부터 발생하기 시작함. 그러나 2019년도 12월 월매출 약 4000만원이 달성되었으며, 이는 서울/수도권에 집중한 매출결과(벨릭서몰 가입 900개 동물병원)이고 2020년부터 서울/수도권을 포함한 전국의 동물병원에 입점(2000개 동물병원 목표)된다면 하반기에 월 2억의 매출이 예상됨. 2020년 국내매출 14억 예상

(2) 해외수출액 - 2017년도부터 해외파트너와의 미팅을 통하여 대만(Mr. Lee), 홍콩(Mr. Poi Chen), 베트남(세이브엠, 현 제일사료 수출중), 인도네시아(Blue sky biotech, 현 제일사료 수출중) 등의 현지 대리점 구축을 완료함. 반려동물 사료의 해외 수출에 통관, 제품등록에 일반적으로 평균 6개월(홍콩 예외)이 소요됨. 따라서 2020년부터 홍콩, 대만, 베트남, 인도네시아에 수출이 시작되며 현지에 Velixer 상표권은 마드리드 협약국가를 포함하여 모두 등록이 완료된 상태임.

a. 베트남 수출업체 계약 : 세이브엠

제일사료와 계약 완료(현재 일반사료 수출중).

Velixer 상표 출원 완료 및 제품 등록 중

2021년 상반기부터 벨릭서 제품 베트남에 출시(연간 2억 예상).

b. 홍콩, 싱가포르, 마카오 : C. VETAPET & COMPAY, POI CHAN

Velixer 상표 출원 완료.

홍콩에 사무실을 두고 있으며 직원70명 중 17명 사료 대리점 운영.

현 로얄캐닌 홍콩 대리점 운영.

홍콩 정부에 제품 등록 필요 없음, 싱가폴은 자체 등록 후 수출 가능함.

2020년 수출 예정이었으나 COVID-19로 인해 지연된 상태(연간 5억 예상).

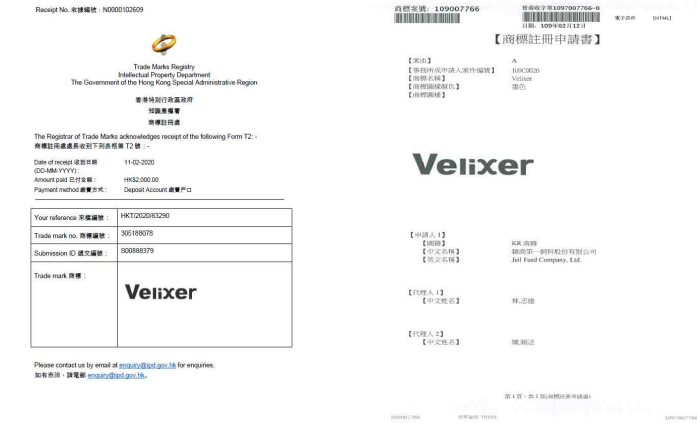
c. 대만 : YEON FOEN

Velixer 상표 출원 완료 및 제품 등록 중(약 6개월 소요, 2021년 2월 예정).

2005년부터 로얄캐닌을 대만에 독점적 대리점을 유지했으며 최근에 계약 종료되어 벨릭서 처방식에 큰 관심을 보임. 물류창고 3개 보유함.

반려동물 영양제, 사료 취급, 20명 영업사원 동물병원 직거래(연간 7억 예상).





Velixer 상표 출원서(HK,TW)

- d. 인도네시아 : 블루스카이 (국내 업체).
 제일사료와 계약완료. (현재 일반사료 수출 중)
 현지 제품 등록 및 처방식 판매 전략 수립 중.
 2021년 수출 예정 (연간 3억 예상).

나. UL/F 임상효능평가

결석질환용 처방식 사료의 임상효능평가를 위해 전남대 동물의료센터와 협업하여 UL/F 시험사료 급여 후 데이터를 받았으나 원래 목표했던 음수량 증가, 뇨 pH (6.0~6.5)를 얻는데 충족한 데이터를 확보하지 못함. 배합률 상의 오차와 실험방법에 대한 오류 등을 검토하여 2차 임상효능평가를 2020년 2월부터 시작할 계획임.

다. 기능성 원료의 경쟁력 확보 및 고부가가치화 전략

(1) 각 기능성 원료의 품질보증 및 납품계약완료

- 우슬(산호한방): 1등급 국내산 우슬을 취급하는 한약도매상이고 연간 최소주문물량을 맞춰주는 조건으로 2년간 품질 보증된 우슬을 독점공급하기로 함. 중국산 우슬을 취급하는 원료 업체는 매우 많으나 품질이 들쭉날쭉하고 효능 효과를 보증할 수 없어 납품가는 높더라도 국내산 우슬을 원료로 결정.
- 노박덩굴(에코센스) : 식품원료를 납품하는 업체로 지리산에서 캐낸 노박덩굴 뿌리를 독점적으로 공급하기로 함. 한방병원에 납품되는 원료로 품질이 보증되며 연 400kg까지 공급(계절적인 이슈가 있어 대량으로 구매하는데 한계가 있음)이 가능함.
- 영경귀(에코센스): 식품원료를 납품하는 업체로 임실에서 생산된 영경귀를 안정적으로 공급
- 강황(에코센스): 식품 수준의 강황을 안정적으로 공급.
- D-알룰로즈(제일제당): FDA에 승인을 받은 안전한 원료로 제일제당과 계약을 체결하여 최소주문량을 지켜주는 조건으로 안정된 품질의 원료를 공급하기로 함.
- 프로폴리스(서울프로폴리스): 연구소기업으로 프로폴리스 제조에 노하우가 있으며 액상 프로폴리스를 분말화하여 제일사료에 공급함. 효능평가에 적극적으로 협조하고 있으며 원료 공급 시에 상급의 프로폴리스를 제공함.

(2) 기능성 원료의 다각화

벨릭서 사료에 포함되는 모든 특수원료는 각각 비교견적 및 검사를 통하여 통과한 원료업체만 선택적으로 계약하여 제일사료 구매팀에서 계약하고 관리운영하고 있으며 원료를 제공하는 업체는 최소발주물량을 보장받고 제일사료는 연구에 사용된 원료를 2년간 독점 사용할 수 있게 함. 원료 업체 한 곳에서 제공받는 것이 사료회사입장에서는 효율적이나 각 원료의 특수성을 고려하여 안정적으로 공급이 가능하고 품질이 유지되는 다수의 업체를 계약함. 내부에서 여러 업체와 계약을 맺는 것에 대한 불만이 있었으나 현재 최소주문물량을 소진할 정도의 판매가 이뤄지고 있어 결과적으로는 품질에 대한 문제를 사전에 차단함.

4. 연구결과의 활용 계획 등

가. 기업화 추진방안

- 주관연구기관인 제일사료(주)가 자체 기술이전을 통해 사업화를 진행 중임.

나. 추가 연구의 필요성

- 결석질환용 처방식(UL/F) 임상효능평가를 전남대 동물의료센터에 의뢰하여 진행했으나 통계적으로 유의하지 못하는 결과로 출시를 보류함.
- 배합률 상의 오차와 실험방법에 대한 오류 등을 검토하여 2차 임상효능평가를 2020년 2월부터 시작할 계획 (방광천자에 의한 염증유발 가능성, 메티오닌과 나트륨 함량의 정확도 등)

다. 타 연구에의 응용

- 본 연구의 결과로 노령견용 처방식의 성과를 활용하여 고양이 처방식의 연구를 진행할 계획
- 피부, 치아, 관절, 비만 질환은 개, 고양이 처방식 기전이 비슷하여 연구성과인 온라인테스트 베드를 적극 활용하여 실제 집에서 기르는 고양이를 대상으로 기호성, 분변지수, 뇨pH를 측정하여 효능효과를 입증할 계획.

라. 기업화 추진방안 / 기술이전

- 주관연구기관인 제일사료(주)가 연구 2년차에 사업화를 시작하여 현재 자가 기술이전 완료
- 기술료 납부(1960만원)를 완료한 상태임.
- 해외수출에 있어서 고양이 처방식과 습식 처방식 라인을 좀 더 보강하여 아시아 국가(대만, 홍콩, 베트남, 인도네시아, 필리핀 등)에 수출할 계획임.

[별첨 1]

연구개발보고서 초록

과 제 명	(국문) 수출전략형 노령 펫용 기능성 맞춤형 사료 제품 개발				
	(영문) Development of therapeutic and prescription diet for senior pet				
주관연구기관	제일사료(주)		주 관 연 구 책 임 자	(소속) 제일사료(주)	
참 여 기 업	충북대학교, (주)리제닉스			(성명) 조 우 재	
총연구개발비 (1,580,000천원)	계	1,580,000,000	총 연 구 기 간	2017.4.1. ~ 2019.12.31. (2년 9월)	
	정부출연 연구개발비	1,100,000,000	총 연 구 원 수	총 인 원	26명
	기업부담금	480,000,000		내부인원	26명
	연구기관부담금			외부인원	

○ 연구개발 목표 및 성과

< 목 표 >

수출 가능한 경쟁력 있는 4제품의 제품화

- 우슬을 이용한 관절질환 처방식
- Celastrol을 이용한 비만질환 처방식
- Allulose를 이용한 당뇨질환 처방식
- 발효 추출물과 프로폴리스를 이용한 노령견 전용 사료

< 성과,실적(계획) >

특허출원 : 26건 (4)	사업화 제품화 : 17 (4)
특허등록 : 15건 (4)	사업화 매출액 : 1.9억(20억)
논문(SCI) : 5건 (3) 논문(비SCI) : 0건 (3)	사업화 수출액 : 0 (25억)
학술발표 : 16건 (6)	고용창출 : 4 (2)
기술실시 : 1 (2)	인력양성: 4 (0)
교육지도 : 28 (0)	홍보전시 : 70 (3)
기타 : 3 (1)	

협동연구기관(충북대, 리제닉스)과 in vitro, in vivo 연구를 통하여 연구2년차에 사업화 완료 및 자체기술이전 실시
IT를 이용한 온라인테스트베드(먹고자고app) 개발로 추가 처방식 개발을 위한 연구기반 플랫폼 완료
동물병원 직거래 시스템인 벨릭서물 론칭으로 새로운 사업화 모델 구축

○ 연구 개발 성과의 활용 계획

처방식의 임상효능평가를 위한 테스트베드를 구축함으로써 반려동물 먹거리 연구의 혁신을 가져왔으며 추후 연구개발에 활용할 수 있다. 특히 셀라스트롤이 함유된 노박덩굴 뿌리분말이 포함된 처방식 사료의 제품(벨릭서 O/F) 개발을 위해서 마우스와 개의 지방유래세포를 이용하였고, 비만견을 키우고 있는 보호자가 참여하여 수의임상시험까지 완료시킨 과학적인 연구라고 자부할 수 있다. 세계적인 수출 전략형 노령 펫용 기능성 맞춤형 사료의 개발에 성공하였다고 판단된다. 중장기 고수의 창출이 기대된다.

자체평가의견서

1. 과제현황

		과제번호		317021-3	
사업구분	농식품기술개발사업				
연구분야				과제구분	단위
사업명	수출전략기술개발사업				주관
총괄과제	기재하지 않음			총괄책임자	기재하지 않음
과제명	수출전략형 노령 팻용 기능성 맞춤형 사료 제품 개발			과제유형	개발
연구기관	제일사료(주)			연구책임자	조 우 재
연구기간 연구비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차연도	2017.4.1.~2017.12.31	300,000	130,000	430,000
	2차연도	2018.1.1.~2018.12.31	400,000	175,000	575,000
	3차연도	2019.1.1.~2019.12.31.	400,000	175,000	575,000
	4차연도				
	5차연도				
	계		1,100,000	480,000	1,580,000
참여기업	충북대학교, (주)리제닉스				
상대국		상대국연구기관			

※ 총 연구기간이 5차연도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망

2. 평가일 : 2020.2.13.

3. 평가자(연구책임자) :

소속	직위	성명
제일사료(주) 수의영양연구소	연구소장	조 우 재

4. 평가자(연구책임자) 확인 :

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

확 약	
-----	---

I. 연구개발실적

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

1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

해외 처방식 위주의 반려동물 처방식 시장에서, 국내 자생하는 원료를 이용하여 국내기술로 효능평가가 입증된 경쟁력을 갖춘 처방식 제품군(17개)을 연구 기간 내에 사업화하는데 성공했습니다.

2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

반려동물 사료시장에서 국내매출과 해외수출이 진행되면 수출과 수입의 불균형을 해소하며, 국내원료의 기능성 원료화로 고부가가치 및 농가수익 창출이 가능해졌습니다.

3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

온라인테스트베드(먹고자고싸고 멍멍 App)은 추후에 사료개발에 있어 적은 비용과 시간으로 사료 출시 전에 실증적인 자료(기호성, 분변지수, 뇨ph 등)를 제공하여 경쟁력 있는 제품개발에 큰 역할을 할 것입니다.

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

각 질환별 처방식 제품을 개발하는데 있어 주관/협동기관 간의 유기적인 교류로 성실하게 경쟁력을 갖춘 제품 개발에 매진하였습니다.

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

연구기간 매출성과를 제외한 모든 지표를 초과달성하였으며, 특히 논문(SCI 5편), 특허 및 상표권 등록(15건), 학술발표(16건)등은 처방식사업화에 큰 기여를 했습니다.

II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
셀라스트롤의 항비만효과 검증 및 비만질환사료 출시	20	100	In vitro, In vivo검증완료, 시제품화
프로폴리스를 활용하여 시험사료 제작 및 효과검증 및 치아질환 사료 출시	20	100	In vitro, In vivo검증완료, 시제품화
D-allulose의 항당뇨효과 검증 및 당뇨질환사료 출시	20	100	In vitro, In vivo검증완료, 시제품화
우슬의 항염증, 면역증진효과 검증 및 관절질환사료 출시	20	100	In vitro검증완료 및 국방연구소와 협업완료, 시제품화
기호성, 분변지수 평가를 위한 온라인테스트 베드 구축	15	100	안드로이드, iOS 어플리케이션 출시, 특허등록완료
동물병원 직거래 시스템 구축	5	100	벨릭서몰 구축, 사업화완료
합계	100점	100%	

III. 종합의견

1. 연구개발결과에 대한 종합의견

과제요구서에 있는 관절, 치아, 당뇨, 비만 이외에 다른 질환의 처방식을 개발하여 국내 및 해외에 매출을 올릴 수 있는 처방식 제품군(17종)을 제품화 하였습니다.

2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

국내/해외 매출에서 사업화 2년차에 제품화하여 목표보다 부진한 매출액이지만 국내 사업화에 중요한 동물병원직거래 시스템(벨릭서몰)를 구축하였고, 매출액(해외)는 차후 수출을 위해 4개국(홍콩, 대만, 베트남, 인도네시아)에 상표특허권 및 해외파트너 선정을 완료했습니다.

3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

온라인테스트베드(먹고자고싸고 멍멍 App)은 추후의 처방식 개발에 활용되어 경쟁력을 갖춘 제품개발에 활용될 것이며 해외수출의 경쟁력을 갖추기 위해 습식처방식과 질환별 고양이 처방식 제품 개발을 진행할 예정입니다.

IV. 보안성 검토

o 연구책임자의 보안성 검토의견, 연구기관 자체의 보안성 검토결과를 기재함

※ 보안성이 필요하다고 판단되는 경우 작성함.

1. 연구책임자의 의견

특이사항 없음

2. 연구기관 자체의 검토결과

특이사항 없음

연구성과 활용계획서

1. 연구과제 개요

사업추진형태	<input type="checkbox"/> 자유응모과제 <input checked="" type="checkbox"/> 지정공모과제	분 야		
연구과제명	수출전략형 노령 펫용 기능성 맞춤형 사료 제품 개발			
주관연구기관	제일사료(주)		주관연구책임자	조우재
연구개발비	정부출연 연구개발비	기업부담금	연구기관부담금	총연구개발비
	1,100,00,000	480,00,000		1,580,00,000
연구개발기간	2017.4.1.~2019.12.31.			
주요활용유형	<input type="checkbox"/> 산업체이전 <input type="checkbox"/> 교육 및 지도 <input type="checkbox"/> 정책자료 <input checked="" type="checkbox"/> 기타(사업화) <input type="checkbox"/> 미활용 (사유:)			

2. 연구목표 대비 결과

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
셀라스트롤의 항비만효과 검증 및 비만질환사료 출시	O/F 사료 시제품화
프로폴리스를 활용하여 시험사료 제작 및 효과검증 및 치아질환 사료 출시	D/F 사료 시제품화
D-allulose의 항당뇨효과 검증 및 당뇨질환사료 출시	DM/F 사료 시제품화
우슬의 항염증, 면역증진효과 검증 및 관절질환사료 출시	J/F 사료 시제품화
기호성, 분변지수 평가를 위한 온라인테스트 베드 구축	안드로이드, iOS 어플리케이션 출시, 특허등록완료

* 과제요구서에 있던 제품화 4 (관절, 비만, 치아, 당뇨) 사료 이외에 추가로 질환별 맞춤형 사료(피부, 심장, 신장, 결석, 장, 췌장 등)을 같이 개발하여 처방식 브랜드로 출시함. 해외수출액의 증가를 위해서는 노령견 처방식 이외에 고양이 처방식, 습식처방식이 같이 필요하여 추후에 고양이, 습식 처방식 제품개발이 필요함.

3. 연구목표 대비 성과

성과 목표	사업화지표									연구기반지표								
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화				기술 인 증	학술성과			교육 지 도	인 력 양 성	정책 활용-홍보		기 타 (타 연)
	특	특	품	건	기	제	매	수	고		투	논문	논			학	정	

	허출원	허등록	중등록	수	술료	품화	출액	출액	용창출	자유치		SC I	비SC I	문평균 IF	술발표			책활용	보전시	구활용등)
단위	건	건	건	건	백만원	백만원	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건		건		명	건	건	
가중치	3	3		5	5	30	15	20	5		4				4				4	2
최종목표	4	4		2	20	4	2,000	2,500	2		4	3	3		6				3	1
연기간내 달성실적	26	15		1	19.6	17	190.6	328.24	4			5			16	28	4		70	3
달성율(%)	650	375		50	98	425	9.5		2000			166.7			266.7				233.3	300

4. 핵심기술

구분	핵심기술명
①	
②	
③	
·	
·	
·	

5. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)				
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복 제	외국기술 소화·흡수	외국기술 개선·개량	특허 출원	산업체이전 (상품화)	현장에로 해 결	정책 자료	기타
셀라스트롤의 항비만효과 검증 및 비만질환사료 출시	V						V			
프로폴리스를 활용하여 시험사료 제작 및 효과검증 및 치아질환 사료 출시		V			V		V			
D-allulose의 항당뇨효과 검증 및 당뇨질환사료 출시	V						V			
우슬의 항염증, 면역증진효과 검증 및 관절질환사료 출시	V					V	V			
기호성, 분변지수 평가를 위한 온라인테스트 베드 구축	V					V	V	iOT 기술과의 융합이 필요함.		
동물병원 직거래 시스템 구축		V					V			

* 각 해당란에 v 표시

6. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
셀라스트롤의 항비만효과 검증 및 비만질환사료 출시	매출액증진 및 세계최초 노박덩굴의 뿌리를 이용한 비만처방식비만견의 활동량, 체중 상관관계에 대한 논문발표로 차별화된 처방식 홍보
프로폴리스를 활용하여 시험사료 제작 및 효과검증 및 치아질환 사료 출시	매출액 증진, 논문발표 국내 수의치과학회와 협업하여 해외홍보 계획
D-allulose의 항당뇨효과 검증 및 당뇨질환사료 출시	매출액 증진, 논문발표
우슬의 항염증, 면역증진효과 검증 및 관절질환사료 출시	매출액 증진, 국방연구소와 협업하여 특수목적견을 위한 관절사료 개발에 응용
기호성, 분변지수 평가를 위한 온라인테스트 베드 구축	자체기술이전완료, 추가 처방식 개발에 활용 및 IoT 기술과 융합하여 개선 및 활용
동물병원 직거래 시스템 구축	자체기술이전완료, 사업화의 핵심으로 처방식의 동물병원 유통에 활용

7. 연구종료 후 성과창출 계획

성과목표	사업화지표										연구기반지표									
	지식 재산권			기술실시 (이전)		사업화					기술인증	학술성과				교육지도	인력양성	정책 활용·홍보		기타 (타 연구 활용 등)
	특허출원	특허등록	품종등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용창출	투자유치		SCI	비SCI	논문평균IF	학술발표			정책활용	홍보전시	
단위	건	건	건	건	백만원	건	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건	명					
가중치	3	3		5	5	30	15	20	5		4			4				4	2	
최종목표	4	4		2	20	4	2,000	2,500	2		4	3	3	6				3	1	
연구기간내 달성실적	26	15		1	19.6	17	190.632824		4			5		16	28	4		70	3	
연구종료 후 성과창출 계획						2	1200	2000				2		2	10			10	300	

8. 연구결과의 기술이전조건(산업체이전 및 상품화연구결과에 한함)

핵심기술명 ¹⁾			
이전형태	<input type="checkbox"/> 무상 <input type="checkbox"/> 유상	기술료 예정액	천원
이전방식 ²⁾	<input type="checkbox"/> 소유권이전 <input type="checkbox"/> 전용실시권 <input type="checkbox"/> 통상실시권 <input type="checkbox"/> 협의결정 <input type="checkbox"/> 기타()		
이전소요기간		실용화예상시기 ³⁾	
기술이전시 선행조건 ⁴⁾			

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

주 의

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