

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

11-1543000-002207-01

고효율 식물 DNA 추출 및 저장 법 최적화를 통한 분자육종용 바 이오 세라믹 제품 개발 및 사업 화 최종보고서

2018. 3. 30.

주관연구기관 / 연암대학교

농림축산식품부

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “고효율 식물 DNA 추출 및 저장법 최적화를 통한 분자유종용 바이오 세라믹 제품 개발 및 사업화”(개발기간 : 2015. 12. ~ 2017. 12.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2018. 3. 30.

주관연구기관명 : 연암대학교 산학협력단 김 규 현 (인)
협동연구기관명 : (대표자)
참여기관명 : (대표자)



주관연구책임자 : 김현정

협동연구책임자 :

참여기관책임자 :

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

3. 보고서 요약서

보고서 요약서

| | | | | | |
|-------------------|--------------------|---|---------------------------|---------------|---|
| 과제 고유 번호 | 115089022 SB010 | 해당 단계 연구 기간 | 2016.12- 2017.12 | 단계구분 | 2단계/2단계 |
| 연구사업명 | 중사업명 | 농식품기술개발사업 | | | |
| | 세부사업명 | 농생명산업기술개발사업 | | | |
| 연구과제명 | 대과제명 | | | | |
| | 세부과제명 | 고효율 식물 DNA 추출 및 저장법 최적화를 통한 분자육종용 바이오 세라믹 제품 개발 및 사업화 | | | |
| 연구책임자 | 김현정 | 해당단계 참여연구원 수 | 총: 4명 내부: 2명 외부: 2명 | 해당단계 연구개발비 | 정부: 80,000천원 민간: 천원 계: 80,000천원 |
| | | 총 연구기간 참여연구원 수 | 총: 8명 내부: 4명 외부: 4명 | 총 연구개발비 | 정부: 160,000천원 민간: 천원 계: 160,000천원 |
| 연구기관명 및 소속 부서명 | 연암대학교 친환경원예계열 | | | 참여기업명 | |
| 국제공동연구 | 상대국명: | | | 상대국 연구기관명: | |
| 위탁연구 | 연구기관명: | | | 연구책임자: | |

※ 국내·외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

| | |
|-------------------------|--|
| 연구개발성과의 보안등급 및 사유 | |
|-------------------------|--|

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 | | 10-20 17-01 15277 | | | | | | | | | |

국가과학기술중합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

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

요약

1. DNA 추출 적합 다공성 세라믹 큐브 제작 및 선발.
2. 작물 별 10품종에 세라믹 큐브 4종의 DNA 채취 효율 비교.
3. 세라믹 큐브의 최적 PCR 조건 및 DNA 저장 조건

보고서 면수

4. 국문 요약문

| | | 코드번호 | D-01 | | |
|---------------------------|---|------|--------|--------------|--|
| 연구의 목적 및 내용 | <ul style="list-style-type: none"> - 바이오세라믹 큐브를 이용한 식물체 DNA 추출 조건 확립 - 우수 세라믹 큐브를 이용한 DNA 보관 조건 확립 - 세라믹 큐브를 이용한 FTA 카드형 폴더 개발 및 제품화 | | | | |
| 연구개발성과 | <ol style="list-style-type: none"> 1. 원예작물품종육성과 shuttle breeding의 우수개체 선발의 효율적 공급시스템의 공급과 실용화에 기여 <ul style="list-style-type: none"> - DNA 추출 적합 다공성 세라믹 큐브 제작 및 선발. 2. 쉽고 빠른 작물 DNA 추출 시스템 개발 및 PCR 조건 확립. <ul style="list-style-type: none"> - 작물 별 10품종에 세라믹 큐브 4종 스크리닝. - 작물 조직별 DNA 채취 효율 비교. - 세라믹 큐브의 최적 PCR 조건 확립. 3. 기술이전을 통한 제품 제작. <ul style="list-style-type: none"> - 시제품 제작 및 국내 육종현장에 적용. - Shuttle breeding 현장(태국)에 적용 및 성능 평가. 4. 국내 중요 원예작물 맞춤형 다공성 세라믹 큐브 제공. <ul style="list-style-type: none"> - 작물별 선발 된 세라믹 큐브의 DNA 저장 조건(온도, 수분, 보존기간등) 최적화. - 보관 시료의 PCR 조건 최적화. 5. 특허화 및 고급기술의 지적 재산권화로 국가 경쟁력 확보. | | | | |
| 연구개발성과의 활용계획 (기대효과) | <p>[활용계획]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 국내 DNA extraction 제품에 비해 DNA 추출 시간 단축 (50배 이상). - 육종 현장에서 MAS를 위한 샘플링 작업 속도 향상 (50배 이상). - 친환경성 제품(세라믹 큐브 사용으로 페놀과 클로로포름 사용 없음)으로 환경오염 0%. - 신제품으로 연결하여 지적재산권 취득. <p>[기대효과]</p> <ul style="list-style-type: none"> - DNA를 추출하는데 소요되는 시간을 획기적으로 단축. - 전문인력과 고가 장비 없이 DNA를 추출할 수 있음. - 산림자원, 수산자원 및 동물 자원 육종에도 적용할 수 있을 것으로 생각함. | | | | |
| 중심어 (5개 이내) | 다공성 세라믹 큐브 | 분자유종 | DNA 추출 | 중합효소 연쇄반응 | |

5. 영문 요약문

< SUMMARY >

| | | 코드번호 | D-02 | | |
|--------------------------|---|-----------------------|----------------|-----|--|
| Purpose& Contents | <ul style="list-style-type: none"> - Establishment of plant DNA extraction condition using bio-ceramic cubes - Establishment of DNA storage condition using superior ceramic cubes - Development and commercialization of FTA card type folder using ceramic cubes | | | | |
| Results | <p>Numerous methods to easily obtain DNA available for PCR such as heat, microwave, and NaOH mediated extractions have been reported. However, these methods have drawbacks that the extraction efficiency of the genetic material is not uniform, and reproducibility of PCR reaction is low. In this study, a new method for rapidly isolating PCR templates from plants was developed by putting a porous solid phase (Biocube) in contact with a sample, in which the templates of interest are sucked into the pores of Biocube. The Biocube was directly added into a PCR tube as a template without a solvent extraction process. In order to examine the absorption efficiency of the templates, the 14 kinds of Biocube were constructed with different combinations between main component and manufacturing temperature and subjected to evaluate their compatibility for PCR. In the case of total DNA from leaves, stems, roots, and fruits in plants (tomatoes, peppers, chinese cabbages, water melons, radishes) all of them showed similar results. In contrast, using the purified gDNA varied according to the main component and cube manufacturing temperature. When Biocubes were applied to the pepper leaves there was a higher amplification in the PCR product.</p> | | | | |
| Expected Contribution | <ul style="list-style-type: none"> - Improved sampling speed for MAS at the breeding site (more than 50 times) - Significantly shortens the time required to extract DNA (more than 50 times) -DNA can be extracted without professional manpower and expensive equipments. - Applicable to forest resources, fishery resources and animal resource breeding. | | | | |
| Keywords | Porous Ceramic cube | Molecular breeding | DNA extraction | PCR | |

6. Contents

- I. Outline of research and development project
- II. Status of domestic and overseas technology development
- III. Research and development contents, and results
- IV. Achievement of goal and contribution to related field
- V. Plan to use the research results
- VI. Overseas science and technology information collected during research and development
- VII. Representative research achievements of research and development tasks
- VIII. References

7. 본문목차

< 목 차 >

| | |
|------------------------------|----|
| 1. 연구개발과제의개요 | 7 |
| 2. 국내외 기술개발 현황 | 11 |
| 3. 연구수행 내용 및 결과 | 16 |
| 4. 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 | 24 |
| 5. 연구결과의 활용계획 등 | 26 |
| 6. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보 | 27 |
| 7. 연구개발과제의 대표적 연구실적 | 28 |
| 8. 참고문헌 | 29 |

1. 연구개발과제의 개요

| | |
|------|------|
| 코드번호 | D-03 |
|------|------|

1-1. 연구개발 목적

- 바이오세라믹 큐브를 이용한 식물체 DNA 추출 조건 확립
- 우수 세라믹 큐브를 이용한 DNA 보관 조건 확립
- 세라믹 큐브를 이용한 FTA 카드형 폴더 개발 및 제품화

1-2. 연구개발의 필요성

- 유전체 서열의 대량 분석 기술의 발달에 의한 식물유전체 정보 증가와 기후변화에 의한 새로운 병원체 출현으로 **식물분자유종 분야에서 PCR의 중요성은 더욱 더 증가하고 있음**. PCR은 molecular mapping과 같은 농업적으로 유용한 형질의 유전학적 연구와 품종 육성 과정 중에 분자마커를 이용한 개체 선발에 널리 활용되고 있음.
- 원예작물의 육종과정 중 분자유종이 보편화 되어 감에 따라 작물의 조직으로부터 얻은 DNA를 이용해 단시간에 유전형질을 분석하는 방법인 marker assisted selection(MAS)이 차지하는 중요성이 높아짐. 분자유종에 사용되는 MAS 과정에서 가장 중요한 것은 대상으로 하는 원예작물로 부터의 DNA 추출과 PCR임.
- 식물체에서 DNA를 분리하는 과정은 기본적으로 ①식물체 분쇄, ②세포용해(cell lysis), ③용해된세포에서 DNA추출 등의 단계로 이루어짐. 작물마다 세포조직 및 DNA구조에 따라 필요한 추출 방법이 조금씩 다름.
- Template로 DNA를 준비하는 과정은 여러가지 단계를 거치기 때문에 상당히 번거로운 일이며, 이와 같은 문제를 해결하고자 액상 추출법, membrane이나 silica coated magenetic beads 등을 이용한 추출법이 보고되었음.
- TissueLyser와 같은 식물 조직 마쇄용 장비나 magenetic beads를 이용한 자동화 추출 기기를 이용할 경우, 분자마커 분석에 필요한 DNA 준비는 상대적으로 간편함(Figure 1). 그러나 **DNA 추출을 위해서는 고가의 장비와 어느 정도 훈련을 받은 전문인력이 필요할 뿐만 아니라 다양한 분리방법이 개발되어 있다고 할지라도 여전히 시간과 비용이 많이 드는 문제점이 있음**.

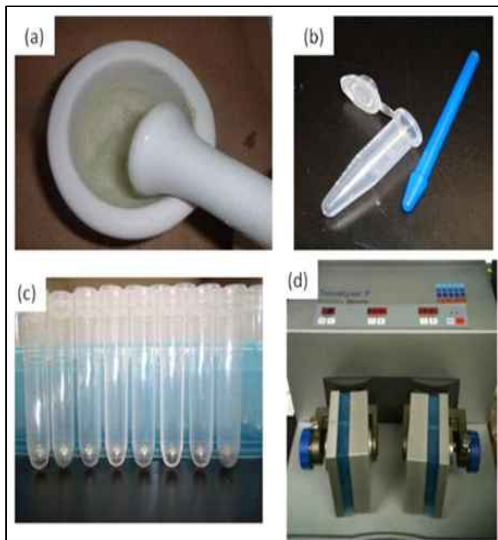


Figure 1. Leaf material can be disrupted by grinding in (a) a mortar and pestle (b) with a pestle in a microcentrifuge tube, or (c) by adding a metal ball to the tube and grinding in a (d) Quiagen TissueLyser or similar equipment.

- DNA 분자마커를 이용한 marker screening을 위해서는 대규모 개체를 가진 집단의 분석이 필요한 경우 뿐만 아니라 육종가나 분석전문가의 필요에 의해 실시간으로 분자 표지 분석이 필요하며, 이를 위해 신속한 시료 채취와 DNA 추출이 필요함.
- 예로 육종세대 단축을 위해 shuttle breeding의 중요성이 커지고 있음을 고려할 때 해외 또는 장거리 출장에서 DNA를 분석 이전까지 안전하게 유지할 수 있는 저장법 개발이 시급함.
- 실제 commercial breeding 현장에서는 특정 분자표지에 대한 유전형 분석과 바이러스 감염 유무를 대량으로 시료 검사하는 것뿐만 아니라 소규모의 시료에서 분석해야 하는 경우도 자주 발생하는데, 이를 위해 기존의 DNA 추출법을 사용하는 것은 시간적 제약 때문에 적합하지 못 할 때가 많음.
- 식물체로부터 DNA를 분리하는데 많은 시간이 드는 것은 기본적으로 마쇄, 침전, EtOH세척과 같은 필요 이상의 절차를 포함하기 때문임. 특히 기존 정제 방법에서는 조직 마쇄 과정이 공통적으로 포함되는데, 이는 목적으로 하는 DNA이외에 페놀, PCR 저해 단백질 등과 같은 다양한 오염 물질을 함께 나출시킴. 결과적으로 조직 마쇄 과정이 실시간 검정과 신속한 분석을 저해하는 원인으로 작용함.
- 결과적으로 PCR 반응을 저해하는 이들 물질을 제거하는데 많은 시간과 노력이 해결되지 않는다면 DNA를 신속한 분리하는 것은 여전히 제약이 따를 수밖에 없음(Figure 2).

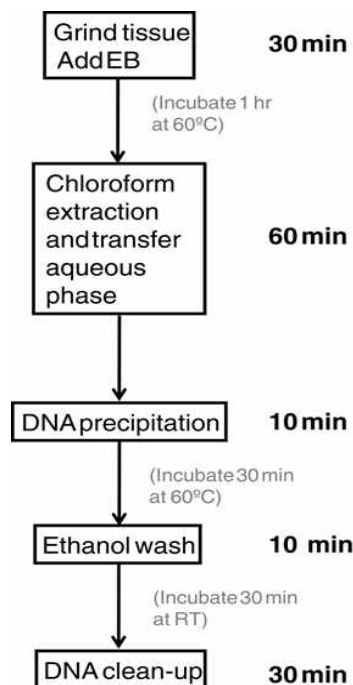


Figure 2. Flowchart of five major steps of the DNA extraction method. It takes 2 h and 20 minutes hand-on time to complete a 96-well plate. One technician can process two 96-well plates in a working day.

- 육종현장에서는 사용하는 PCR 분석에서 사용되는 template의 양이 소량인 경우가 대다수임. 기존의 정제방법을 사용하면 필요 이상으로 많은 양의 template를 뽑게 되고, 잉여 template는 결과의 재확인을 위한 이용 외에 별다른 쓰임새가 없거나 추출 DNA의 보관에 많은 문제(저장 공간 및 비용)가 발생함.

- 특히 상업육성용 분리집단이나 도입한 유전자원에서 특정 형질과 연관된 분자표지를 이용한 유전형 분석을 하거나, 육성용 분리집단 또는 포장에서 우수개체 선발 시 template DNA를 신속하게 준비해야하는 상황이 자주 발생.
- 육종 필드에서 DNA 샘플을 채취하는 과정은 다소 번거롭고 시간이 많이 걸리는 단점이 있음. 대규모의 집단에 대한 DNA 분석 테스트를 위한 샘플링을 할 때 주로 96 well 플레이트에 띄얌 또는 상엽을 채취하여 플레이트 구멍에 집어넣음. 이 과정에서 촘촘한 구멍에 맞도록 샘플을 조각내는 과정이 필요함(Figure 3).
- 96 well의 작은 구멍에 샘플을 집어 넣는 과정에서 **샘플이 다른 번호로 잘 못 들어가거나 샘플끼리 섞이는 경우가 다수 발생함**. 이는 마커 테스트 이후 우수한 개체를 정확하게 선발하는데 심각한 어려움을 초래하는 원인이 됨.

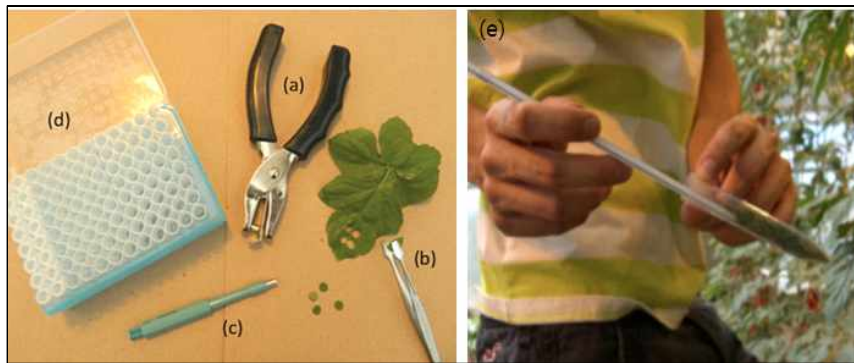
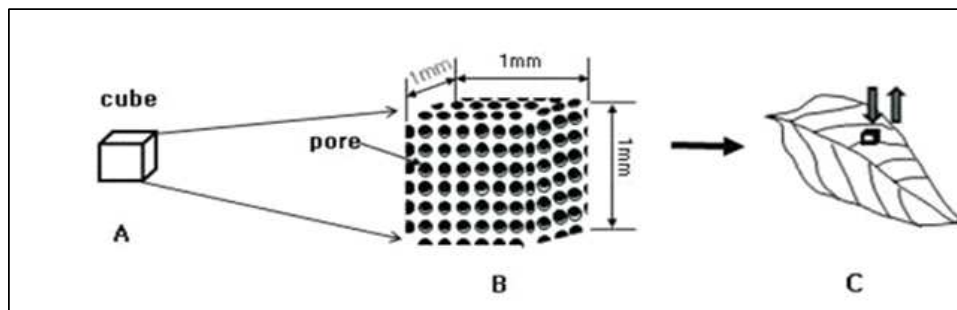


Figure 3. Leaf material for DNA can be collected using (a) a paper punch, (b) forceps, or (c) a biopsy punch. After collection samples are placed in (d) a 96 wells plate for grinding and DNA extraction. (e) Leaf material being collected in 15 ml tube.

- 해외 포장에서 정교하게 DNA 샘플을 채취하는데 어려움이 있음(Figure 3). 채취된 식물체 샘플이나 현장에서 추출된 DNA들은 마커 분석을 할 수 있는 실험실까지 장시간 이동해야함. 이 과정에서 발생하는 DNA의 분해를 방지하기 위해서 **식물체 샘플과 추출된 DNA는 즉시 얼려서 보관해야하고, 냉동 상태에서 항공을 이용해 수송해야하는 번거로움이 있음**.
- 작물분자유종 분야에서 PCR의 중요성 증가로 인해 PCR용 template를 육종현장에서 누구나 DNA 샘플을 쉽게 채취하고 DNA를 신속하게 분리하는 방법이 필요함. Shuttle breeding이 보편화 되면서 추출한 DNA를 별도의 냉동 저장 없이 장기 보관과 항공 메일로 수송이 가능한 **방법 개발이 필요함**.
- 때문에 PCR에 필요한 소량의 template를 분석이 필요할 때 마다 간단히 뺄 수 있다면 위에서 언급한 현실적인 문제들을 손쉽게 해결할 수 있을 것임. 이와 같은 목적으로 사용하고 있는 기술은 FTA 카드를 이용하는 것임.
- **그러나 FTA 카드의 문제점은**
 - 1) 대량으로 즙액을 짤 때 손목에 물리적인 무리가 많이 있음.
 - 2) 즙액을 흡수한 멤브렌을 다시 2mm의 크기로 조각화 필요.
 - 3) 조각을 template로 사용했을때 즙액을 내는 방법, 식물조직의 특성, 추출하는 사람에 따라서 PCR의 증폭 결과의 재현성이 낮음.
 - 4) 재현성을 높이기 위해서 즙액을 흡수한 멤브렌으로부터 DNA 정제 재추출하는 번거로운 과정을 거치는 문제가 있음.

따라서 PCR을 이용한 DNA마커 분석을 위해 DNA를 신속하게 분리할 수 있는 **소재와 방법이 필요한 시점임**.
- FTA 카드의 단점을 해결할 수 있는 새로운 기법으로 신속한 식물 바이러스 RNA추출을 위해 최근 국

내 소기업에서 우리 기술로 개발한 다공성 세라믹의 활용 가능성이 높은 것으로 판단됨. 다공성 세라믹 큐브(BCS folder, Biocube system)는 DNA 추출 과정에서 시간과 노동력을 가장 많이 요구하는 식물 분쇄, 세포벽 용해, 불순물제거의 과정을 거치지 않고도 식물 세포 안에 들어있는 핵만을 선택적으로 흡수 하는 성질이 있음(Figure 4).



- 다공성 세라믹 큐브를 활용한 식물의 RNA 바이러스 추출에 대한 사용은 보고되고 있으나, 이를 식물에 적용하여 식물 DNA 추출에 이용한 사례는 없음.
- 분자유종에 있어서 DNA의 정확하고 신속한 분리와 장거리 수송 가능 여부는 우수 계통 선발과정의 효율 극대화로 육종의 첨단화 기여가 가능함. 이를 위해, 다공성 세라믹 큐브를 활용한 원예작물 DNA 추출 조건 확립과 이에 적합한 맞춤형 다공성 세라믹 큐브의 선발과 PCR 제품 개발이 좋은 방안 가운데 하나가 될 것으로 기대함.

1-3. 연구개발 범위

○ 바이오세라믹 큐브를 이용한 식물체 DNA 추출 조건 확립

- 국내에서 중요하게 육종되고 있는 5가지 원예작물(고추, 토마토, 무, 수박, 배추)를 대상으로 대량의 다공성 세라믹 큐브 스크리닝을 통한 작물별 DNA 추출 적합 다공성 세라믹 큐브 선발.
- 다공성 세라믹 큐브 맞춤형 PCR 조건 확립

○ 우수 세라믹 큐브를 이용한 DNA 보관 조건 확립

- 선발된 맞춤형 세라믹 큐브의 DNA 저장 조건과 저장 기간 테스트로 장기간 안전하게 DNA를 보관할 수 있는 조건 확립.
- PCR 반응액 조건 확립으로 작물 맞춤형 세라믹 큐브를 이용해 추출한 DNA를 template로 사용하여 PCR을 통한 증폭 효율 증대로 원예작물의 분자유종 과정 중 선발과정의 효율 극대화.

○ 세라믹 큐브를 이용한 FTA 카드형 폴더 개발 및 제품화

- 샘플 채취 후 별도의 처리없는 one-step 폴더형 DNA extraction 제품 개발

2. 국내외 기술개발 현황

코드번호

D-04

1) 국내 제품생산 및 시장 현황

○ 다공성 세라믹 큐브

- 다공성 세라믹 큐브는 세계 최초로 개발한 PCR용 주형을 신속하고 간편하게 분리할 수 있도록 고안된 다공성 세라믹 소재임(그림 1-A & B).
- 다공성 세라믹 큐브 기공의 크기와 표면 특성 조절을 통해 PCR 및 RT-PCR 반응 저해 물질을 제거하고 기공 크기보다 작은 생물학적 분자(gDNA, RNA, Plant virus 등)를 흡수함.
- 다공성 세라믹 큐브를 식물체 앞에 직접 찌른(그림 1-C) 다음 생물학적분자가 흡수된 다공성 세라믹 큐브(그림 1-E)를 PCR tube에 넣고 PCR 또는 RT-PCR용 mixture와 함께 증폭반응을 수행하여 결과(그림 1-F)를 확인함.
- 다공성 세라믹 큐브를 활용한 생물학적분자 준비 방법은 크게 두 가지로 나눌 수 있는데, 안에 직접 찢러 주형을 준비하거나(그림 1-C), DNA 또는 RNA 추출용 용액을 이용해 잎을 마쇄한 다음 원심분리하고 회수한 상층액을 Biocube에 묻혀 주형을 준비하는 방법(그림 1-D)이 있음. 전자는 소량의 시료 분석에 적합하고 후자는 대량의 시료 분석에 적합함.
- 현재 바이러스 진단용 다공성 세라믹 큐브의 활용은 검증되었으나 식물체 gDNA 추출은 보고되지 않아 다공성 세라믹 큐브의 식물 DNA 추출과 응용이 필요하다고 생각됨.

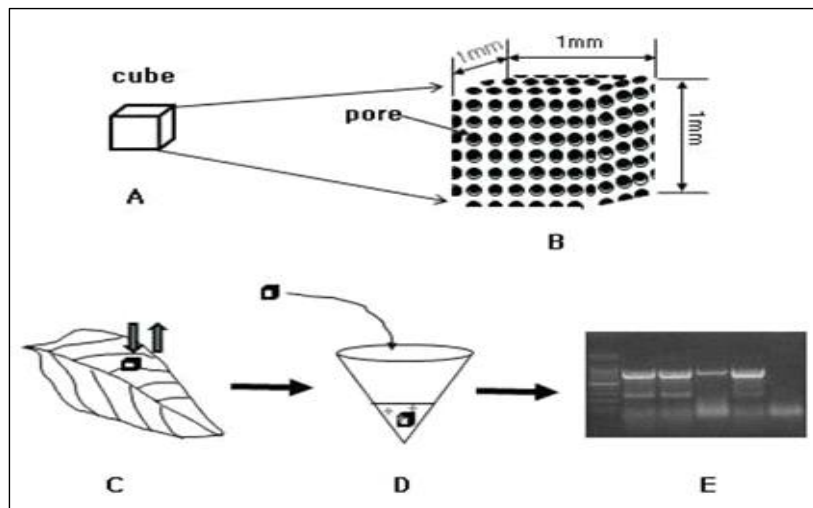


그림 1. 바이오큐브를 이용한 핵산분리 개념도.

○ 작물 육종과 분자표지

- 유전학에 기초한 신품종 작물 육성은 멘델의 법칙이 재발견된 1900년대 초에 이르러 본격적으로 시작되었으나, 품종의 유전적 개량, 농약 및 비료 사용, 기계화 및 작물 재배 기법 등의 향상으로 전 세계 작물 수확량이 급격하게 증가했음에도 불구하고, 기후변화와 급격한 인구 증가로 안정적인 식량 공급에 많은 어려움이 있음(식물분자육종 최신기술, 2014).
- 작물의 유전적 개량은 교잡변이나 잡종강세, 돌연변이 선발을 통해 이루어져 왔고, 최근에는 DNA 염기서열 분석 기법의 획기적인 발달로 서열 정보를 기반으로 한 분자표지를 이용한 분자육종기술의 활용성이 급속하게 증가하고 있음(식물분자육종 최신기술, 2014).

○ DNA 분자표지

- 분자육종 기술은 병 저항성이나 품질 등의 주요 원예형질을 원하는 대상에 도입하고자 할 때,

직접 식물을 재배하여 원하는 개체를 선발하기 이전에 형질 연관 DNA 분자표지로 목표 형질의 존재 유무와 유전형(Homo와 Hetero)을 미리 판독함으로써 원하는 개체(병저항성이나 수확량 등이 뛰어난 우수개체)를 선발할 수 있는 육성효율을 높이는 기술임

- 결과적으로 기존의 방식(시간과 비용이 많이 드는 표현형 분석)에 비해 DNA 분자표지를 이용한 분자유종 기술은 신품종 육종 시간과 비용을 획기적으로 절감하는데 도움을 주며, PCR (polymerase chain reaction) 기술과의 결합을 통해 다양한 형태의 분자표지(CAPS, SCAR, SSR, SNP 등)를 활용할 수 있게 됨으로써 신품종 작물 육성을 위한 보편적인 기술로 자리매김 하고 있음.
- 국내에서는 벼, 콩, 고추, 배추, 수박, 토마토 등의 주요 작물 육성 시, 형질과 연관된 DNA 분자표지를 이용해 새로운 품종 개발이 이루어지고 있으며, 국공립 연구소와 대학, 그리고 종묘회사에서는 분자유종 효율을 높이고자 목적 형질과 연관된 분자표지를 개발에 많은 노력을 기울이고 있음.
- 이처럼 DNA 분자표지 연구가 활발한 이유는 분자표지가 갖는 상업적 중요성(육종연한 단축 및 정확도 향상) 때문이며, 국내 종묘회사 및 연구소에서는 규모에 따라 년 간 적게는 1만에서 많게는 100만점 이상의 PCR 반응을 수행하는 것으로 알려져 있음.

○ 식물 genomic DNA 추출법

- 식물의 genomic DNA(gDNA) 추출은 크게 시료 마쇄단계, gDNA 결합 및 세척단계, gDNA 회수단계로 구성되어 있고, CTAB buffer를 이용한 염침전법과 silica matrix 기반 DNA-binding column을 이용한 DNA 탈부착 방식이 주로 이용 되고 있음. 전자와 후자는 각각 solution-base method와 column-based method로 불리며, DNA-binding column을 이용한 column-based method은 고가임에도 불구하고 무엇보다 편리성 때문에 상용 제품의 대다수를 차지하고 있음. 또한 위 두 방식과 함께 자동화기기를 이용한 대량 추출에 적합한 magnetic bead를 이용한 추출 방식도 보고되어 있음.

○ 실시간 분석을 위한 식물 gDNA 추출 방법 필요

- 분자표지 분석 시 주요 장애 요인 가운데 하나는 PCR에 필요한 주형(template)을 대량으로 신속하게 준비하는 것임. 예로 국내 종묘회사에서는 작물별 파종시기가 비슷하고 다량의 작물을 밭에 정식해야 하기 때문에 특정 기간 내(파종 후 포장 정식까지 2~3개월 이내)에 다량의 시료(약 5~30만 점)를 분석해야 함.
- DNA 분자마커를 이용한 marker screening을 위해서는 대규모 개체를 가진 집단의 분석이 필요한 경우 뿐만 아니라 육종가나 분석전문가의 필요에 의해 실시간으로 분자 표지 분석이 필요하며, 이를 위해 신속한 시료 채취와 DNA 추출이 필요함. 예로 육종세대 단축을 위해 shuttle breeding의 중요성이 커짐. 따라서 해외 또는 장거리 출장에서 DNA를 분석 이전까지 안전하게 유지 할 수 있는 저장법 개발이 시급함.
- 실제 commercial breeding 현장에서는 특정 분자표지에 대한 유전형 분석과 바이러스 감염 유무를 대량으로 시료 검사하는 것뿐만 아니라 소규모의 시료에서 분석해야 하는 경우도 자주 발생하는데, 이를 위해 **기존의 DNA 추출법을 사용하는 것은 시간적 제약 때문에 적합하지 못 할 때가 많음.**
- 다량의 시료에서 gDNA를 신속하고 간편하게 추출하는 방식은 당연히 자동화기기를 이용하는 것이나, gDNA 추출에 드는 고가의 장비와 시약 및 소모품 등으로 인한 비용 상승에 때문에 사용에 제한이 있음. 예로서 옥수수나 밀 등과 같은 세계 주요 곡물 육종의 경우, 분자표지 분석 점수가 년 간 수억 개 이상인 것으로 알려져 있는데, 몬산토를 포함한 2-3개의 다국적 기업에 비해 국내 종묘 회사, 국공립연구소, 대학교 실험실 등에서 비용과 실용적인 측면 때문에 DNA 추출용 자동화기기 운용이 쉽지 않음(그림 2).



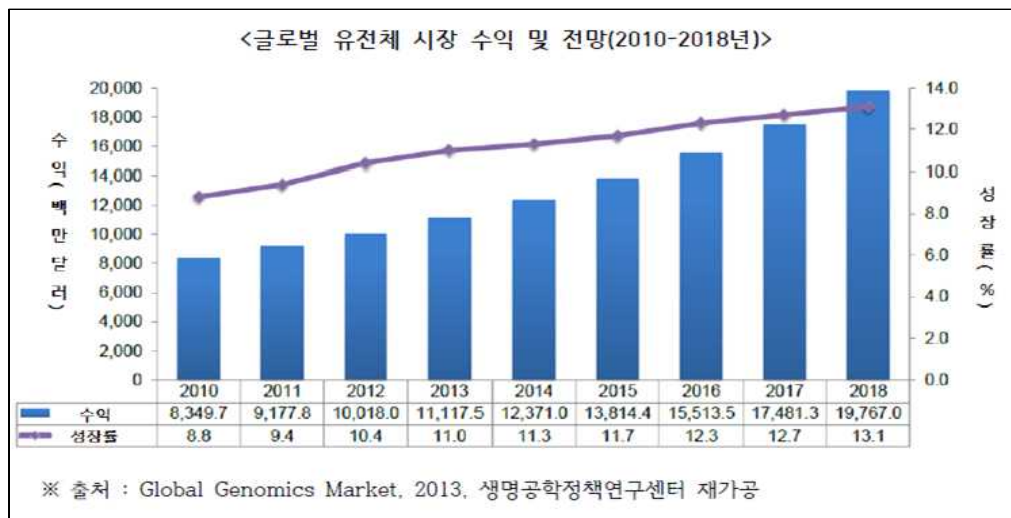
자료: 바이오니아

그림 2. 분자진단검사 플로우

2) 국외 제품생산 및 시장 현황

○ 글로벌 유전체 시장규모는 2013년 111억달러에서 연평균 12.2%로 성장하여 2018년 198억 달러로 성장할 전망이다

- 유전체 기술을 촉진시키기 위해 여러 국가에서 상당한 투자지원이 이뤄지고 있어 유전체 시장성장에 영향을 끼치고 있음.



○ 유전체 시장의 성장요인

- 다양한 국가에서 유전체 응용기술을 촉진시키기 위해 상당한 투자가 이뤄지고 있음
- 유전체분석 자동화기기 시장으로 인해 유전체 연구비용 및 시간 절약이 가능해짐
- 전체 게놈 시퀀싱의 상당한 성공을 바탕으로 선도 기업들이 새로운 유전체 응용 기술에 집중하기 시작함.

○ 유전체 정보를 바탕으로 급속 성장하는 분자진단 시장

- 세계 분자진단 시장의 비중은 지역별로 미국>유럽>일본>기타 순으로 큼
- 회사별로 Roche> Qiagen> Gen-probe> Cepheid 순으로 전체 분자진단 시장의 54% 차지 (그림3)

<2010년 세계 분자진단 현황>

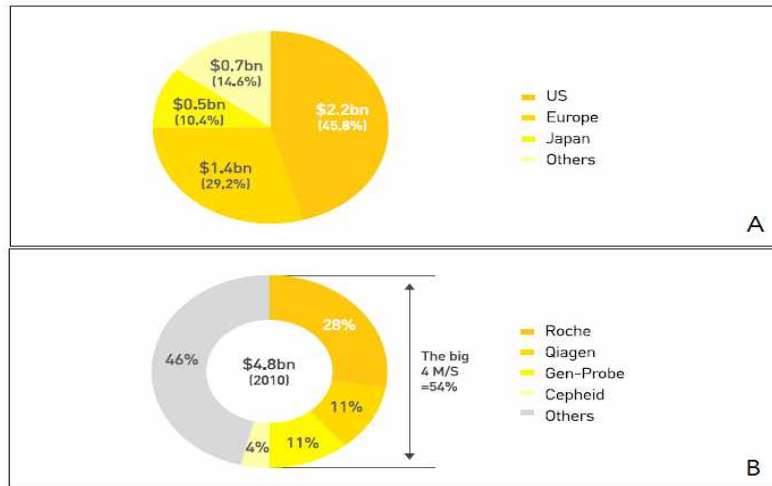
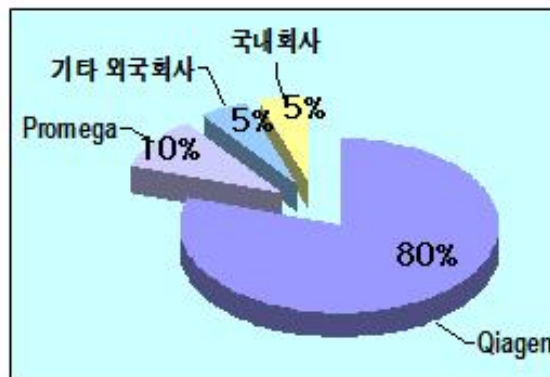


그림3. (A)지역별 현황, (B)회사별 현황.

자료: 바이오산업분석, 2012, 우리투자증권 리서치센터 이승호

- 핵산 정제와 관련된 시장의 규모는 국내 생물화학 약 3,000억
- DNA 추출관련 제품 약 150억이고 바이러스를 포함한 RNA 추출관련 제품은 약 300억 정도로 추정
- DNA 추출 제품의 국내 생산 비중은 5% 이하(그림4)



(from (주)싸이언스월드닷컴 조영준)

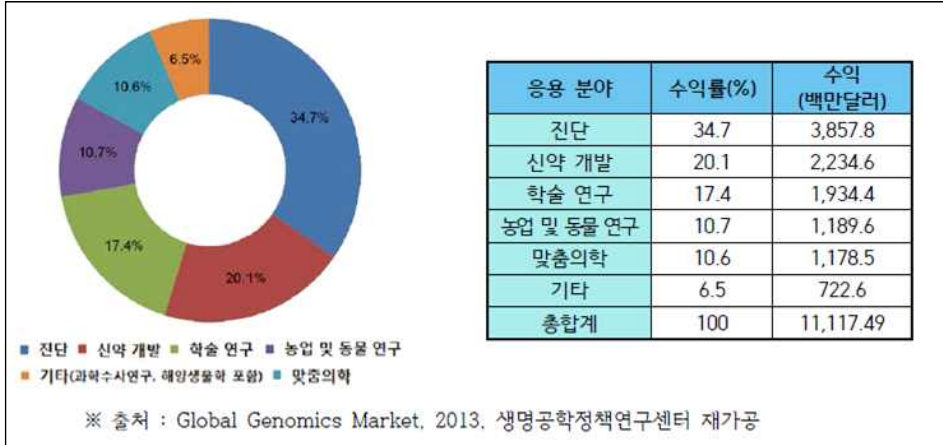
그림4. 해외 기업과 국내기업의 DNA 추출 관련 제품 점유율

○ 분자진단의 사업성

- 분자진단은 유전 정보 물질인 DNA 또는 RNA를 분석 및 검출하는 진단 방법의 한 분야로 2009년 기준 약 40억달러의 시장 규모가 추산됨
- 특히 오는 2012년 이후 이머징 마켓의 시장은 연간 20%이상 고성장할 것으로 전망됨. 미국, 유럽 등 선진국 대비 진단 분야의 고신장세가 예상되는 시장이라 생각됨.
- 2013년 글로벌 유전체 응용분야 시장에서 진단 분야가 34.7%로 가장 많은 수익을 창출함. 진단 분야에서는 향후 분자진단이 가장 유망한 응용분야가 될 것으로 예상됨. 또한 시퀀싱 기술의 발달로 향후 맞춤의학, 맞춤육종 분야가 상당한 성장을 이룰 전망이다

- 다양한 기업에서 유전체 응용기술에 집중하는 추세로 유전체 시장 성장에 영향을 미칠 전망이다.

<응용분야별 수익률 분석(2013년)>



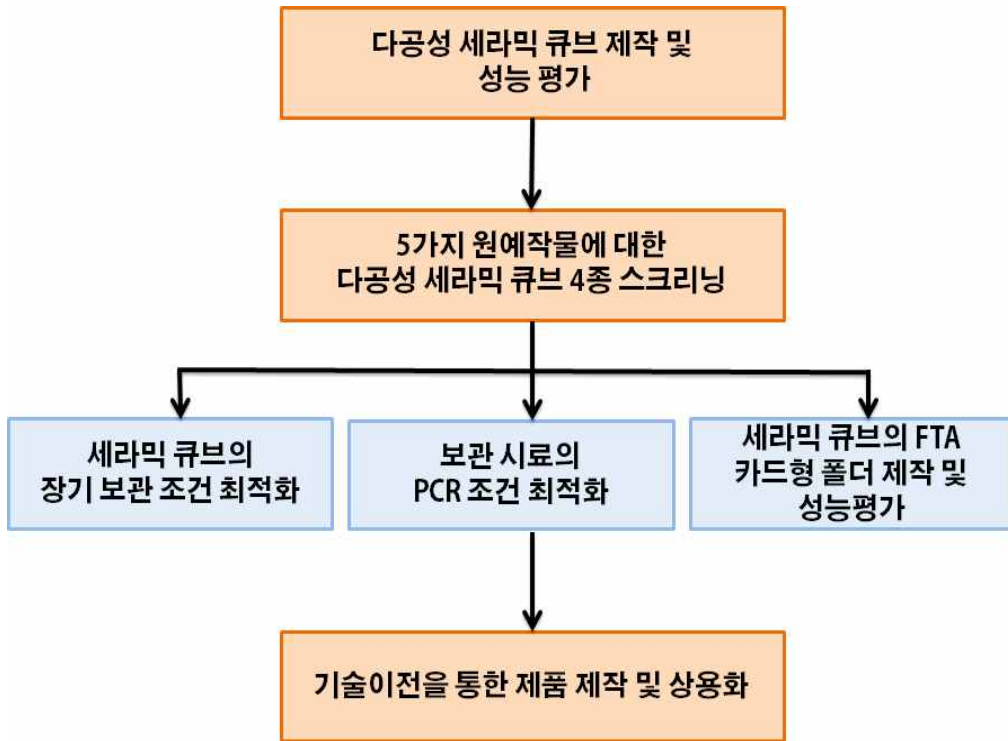
3. 연구수행 내용 및 결과

코드번호 D-05

<추진방법>

| 차수 | 세부 개발내용 | 수행 기관 | 기술개발기간 (단위:개월) | | | | | | | | | | | | 비고 | |
|------------------|--|-------|----------------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|--|
| | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | | |
| 1 차 년 도 | 1. DNA 추출 적합 다공성 세라믹 큐브 제작 및 선발 | 주관 | ■ | ■ | ■ | | | | | | | | | | | |
| | 2. 작물 별 10품종에 세라믹 큐브 4종 스크리닝 | 주관 | | ■ | ■ | ■ | ■ | | | | | | | | | |
| | 3. 작물 조직별 DNA 채취 효율 비교 | 주관 | ■ | ■ | ■ | ■ | | | | | | | | | | |
| | 4. 세라믹 큐브의 최적 PCR 조건 확립. | 주관 | ■ | ■ | ■ | | | | | | | | | | | |
| | 5. 작물별 선발 된 세라믹 큐브의 DNA 저장 조건(온도, 수분, 보존기간) 최적화 | 주관 | | | | ■ | ■ | ■ | | | | | | | | |
| | 6. 보관 시료의 PCR 조건 최적화 | 주관 | | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | | | | | | |
| 2 차 년 도 | 7. 1차 시제품 제작 | 주관 | | | | | | ■ | ■ | ■ | ■ | | | | | |
| | 8. 성능 평가 및 개선을 통한 2차 시제품 제작 | 주관 | | | | | | | ■ | ■ | ■ | ■ | | | | |
| | 9. 농촌진흥청 농과원 채소과에 시제품 제공, 및 국내 육종현장에 적용 후 피드백 받기 | 주관 | | | | | | | | ■ | ■ | ■ | | | | |
| | 10. Shuttle breeding 현장(태국)에 적용 및 성능 평가 | 주관 | | | | | | | | ■ | ■ | ■ | ■ | | | |
| | 11. 제품 제작 및 상용화 | 주관 | | | | | | | | | | | | ■ | ■ | |
| | 12. 완제품 생산 | 주관 | | | | | | | | | | | | ■ | ■ | |

<추진체계>



<연구결과>

1. 다공성 세라믹 큐브 3점 제작 및 성능 평가

- 다공성 세라믹 큐브 제작 방법에 따라 pore size가 다른 LTCC를 함유한 3종 큐브 제작. (표1)

표1. LTCC를 함유하여 만든 3종의 큐브 정보

| Cube no. | Ingredient | Manufacturing temperature(°C) | Cube size (mm3) (width x length x height) | Pore range (um) |
|----------|------------|-------------------------------|--|-----------------|
| 50 | LTCC | 650 | 0.5 x 1 x 0.5 | 0.7-1.2 |
| 51 | LTCC | 750 | 0.5 x 1.5 x 0.5 | 0.7-1.2 |
| 52 | LTCC | 850 | 0.5 x 2 x 0.5 | 0.7-1.2 |

- 바이오큐브를 사용하여 DNA 추출
 - 핀셋으로 바이오큐브를 앞의 윗면에 위치시킴
 - 손으로 압력을 가해서 앞위에서 바이오큐브를 눌러서 DNA를 흡수 시킴.
 - DNA를 흡착하고 있는 큐브를 그대로 PCR의 주형으로 사용함
 - PCR후 DNA 흡수 여부를 아가로즈 젤 상에서 확인 함.(그림1)

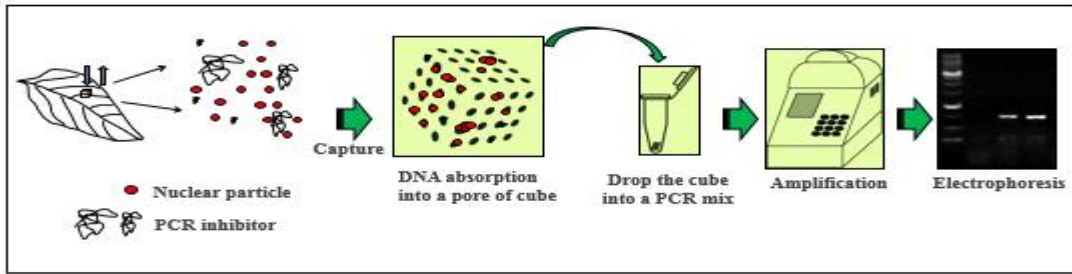


그림1. 바이오큐브를 사용하여 DNA를 추출하는 방법

- 작물에 3종 큐브를 적용 하여 DNA 추출 후 PCR로 DNA extraction 여부 확인(그림2)
 - 토마토 10품종을 대상으로 바이오큐브 3종(50, 51, 52)를 사용하여 식물체 부위별 DNA 추출
 - 토마토 과형(OVATE) 판별 분자표지로 PCR
 - PCR을 통해 3가지의 바이오큐브의 식물체 각 부분별 DNA 추출 여부 확인

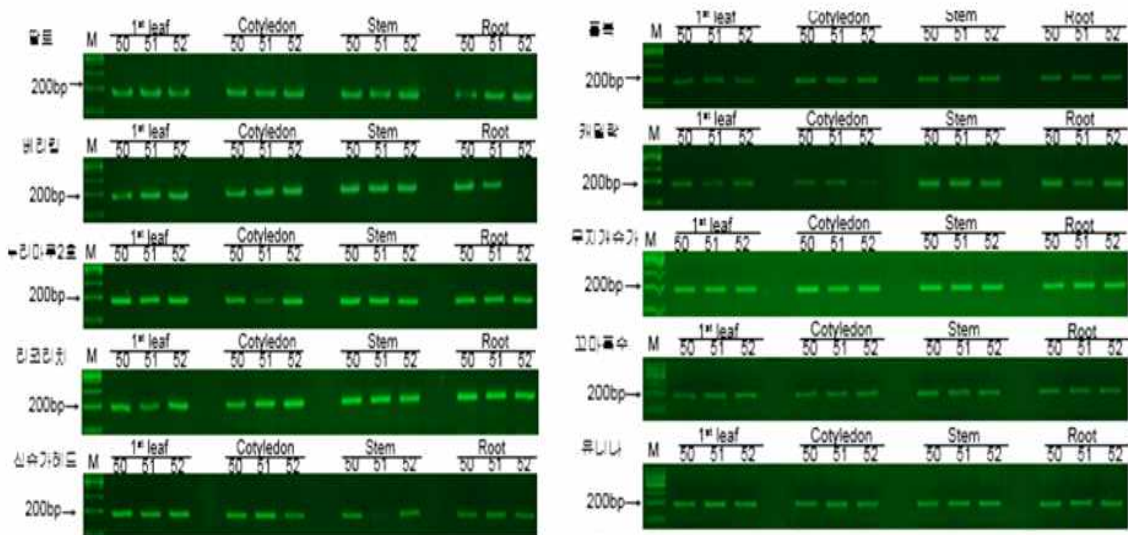


그림2. 토마토의 제1엽, 떡잎, 줄기, 뿌리에 3종의 바이오큐브(50, 51, 52)를 적용하여 EP2256 분자 표지를 적용하여 PCR한 결과

- 3종의 큐브 모두 토마토의 제1엽, 떡잎, 줄기, 뿌리에서 매우 우수한 DNA 추출을 보임
- 뿌리에서는 매뉴얼방식으로 DNA를 뽑을시 그 회수율이 매우 낮는데 비하여, 큐브를 사용하였을 경우 오염으로 인한 DNA 깨짐 현상 없이 매우 깨끗하게 뽑히는 것을 확인함.
- 고추 10품종을 대상으로 바이오큐브 3종(50, 51, 52)를 사용하여 식물체 부위별 DNA 추출
- 고추 과형(OVATE) 판별 분자표지로 PCR 수행(그림3)
- PCR을 통해 3가지의 바이오큐브의 식물체 각 부분별 DNA 추출 여부 확인

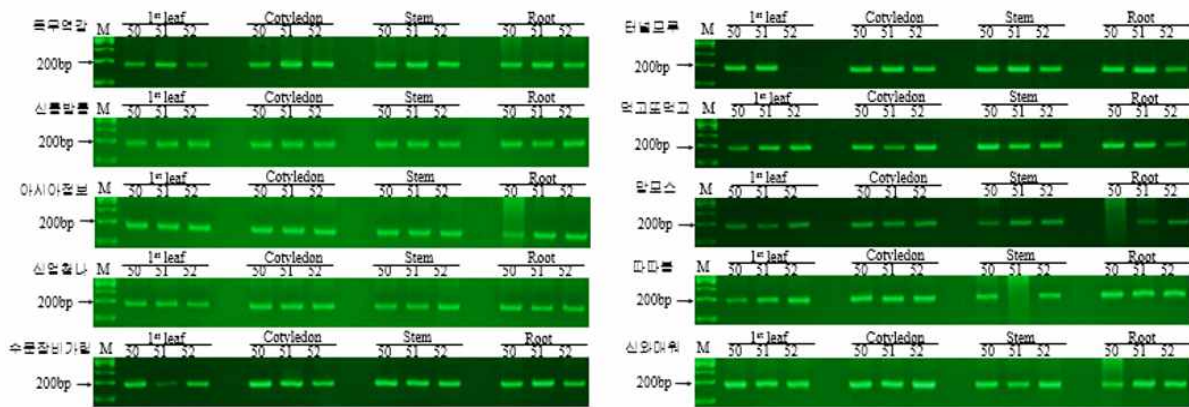


그림3. 토마토의 제1엽, 떡잎, 줄기, 뿌리에 3종의 바이오큐브(50, 51, 52)를 적용하여 EP2256분자 표지를 적용하여 PCR한 결과

2. 작물별 세라믹 큐브의 장기 보관 조건 (온도 및 보관기간) 탐색

- 온도- 저장온도 별 보관 조건 탐색 (-80° C, -20° C, 4° C, 16° C, 30° C, 60° C)
- 보관기간 - 보관기간 별 저장조건탐색(1주, 2주, 4주, 8주, 12주, 16주)

- 토마토에서는 -20° C, 4° C, 16° C, 30° C에 보관하였을 때 DNA 가 안정적으로 보관되는 것을 알 수 있음
- 토마토에서는 바이오큐브로 DNA 추출 후 4주까지 안정적으로 모든 온도에서 깨짐 현상 없이 보관되는 것을 알 수 있음. (그림3.)

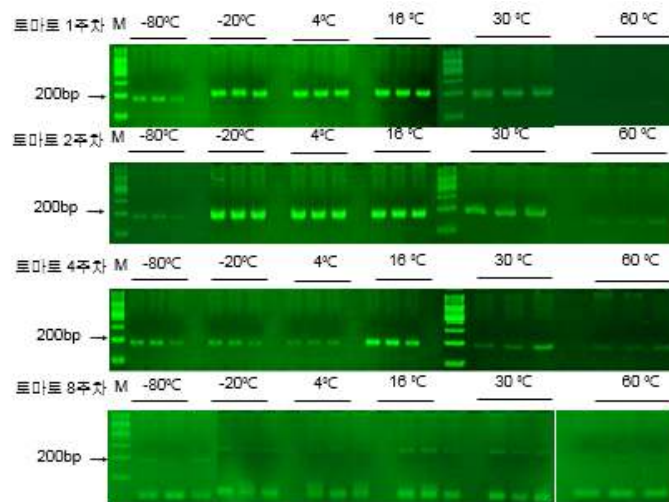


그림3. 토마토에서 51번 큐브를 활용하여 DNA 추출 후 보관 온도와 기간별로 차이를 두어 실험한 결과

- 고추에서는 -80° C와 60° C에서 보관한 큐브는 PCR 반응이 전혀 나타나지 않음. 1주차에서도 보관이 되지 않음.
- 고추에서는 20° C, 4° C, 16° C, 30° C에 보관하였을 때 DNA 가 안정적으로 보관되는 것을 알 수 있음
- 고추에서는 바이오큐브로 DNA 추출 후 4주까지 안정적으로 모든 온도에서 깨짐 현상 없이 보관되는 것을 알 수 있음. (그림4.)

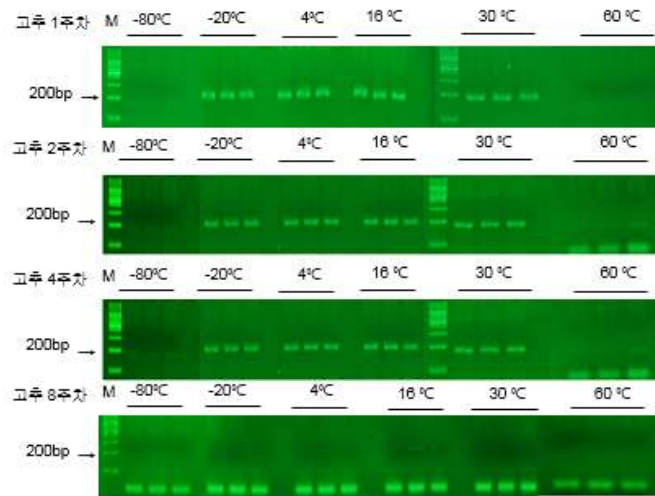


그림4. 고추에서 51번 큐뷰를 적용하여 DNA 추출 후 온도와 보관기간에 차이를 두어 실험한 결과

- 배추에서는 본엽에서 DNA를 추출함.
- 배추에서는 모든 온도(-80° C, -20° C, 4° C, 16° C, 30° C, 60° C)에서 보관하였을 때 DNA 가 안정적으로 보관되는 것을 알 수 있음
- 배추에서는 바이오큐브로 DNA 추출 후 8주까지 안정적으로 모든 온도에서 깨짐 현상 없이 보관되는 것을 알 수 있음. (그림5.)

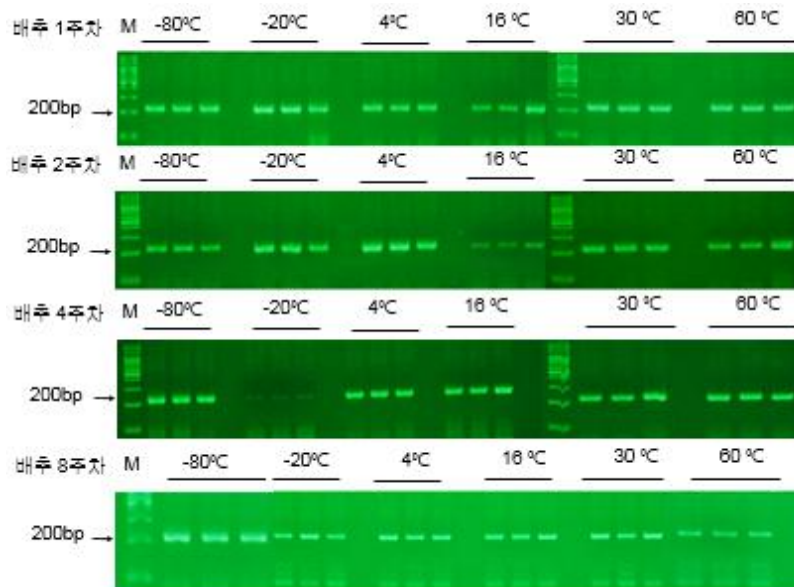


그림5. 배추에서 51번 큐브를 적용하여 DNA 추출 후 온도와 보관기간에 차이를 두어 실험한 결과

- 무에서는 본엽에서 DNA를 추출하여 보관 온도 및 기간 조건을 탐색함.
- 무에서는 모든 온도(-80° C, -20° C, 4° C, 16° C, 30° C, 60° C)에서 보관하였을 때 DNA 가 안정적으로 보관되는 것을 알 수 있음
- 무에서 바이오큐브로 DNA 추출 후 8주까지 안정적으로 모든 온도에서 깨짐 현상 없이 보관되는 것을 알 수 있음. (그림6.)

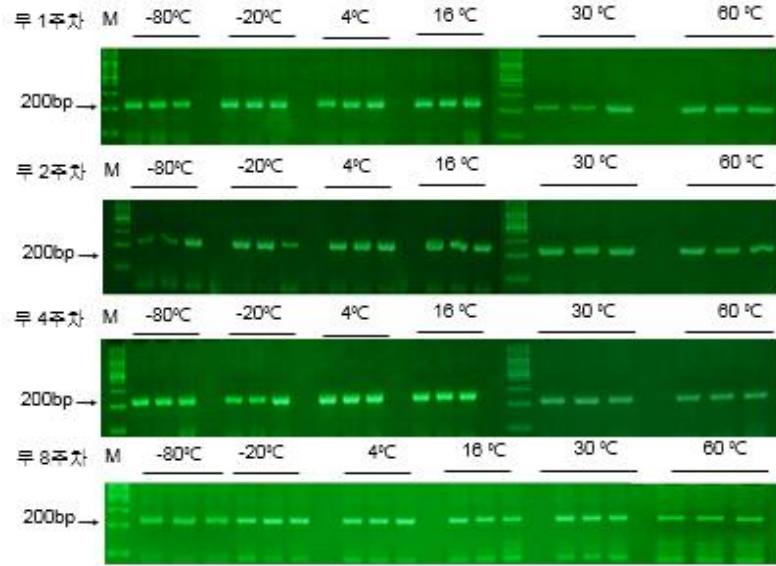


그림5. 무에서 DNA 추출 후 온도와 보관기간에 차이를 두어 실험한 결과(큐브51)

3. 분자유종을 위한 효율적인 DNA 추출용 큐브 배열 테스트

- 채소 분자유종에 사용하는 식물체 DNA 추출 부위는 주로 잎이 사용된다. 특히 토마토와 고추에서는 떡잎 또는 본엽에서 DNA 추출 함. 토마토의 떡잎은 파종 후 4주 이내의 것을 사용하는데, 사이즈는 가로 0.6~0.9cm, 세로 2.2~3.5cm이다. 토마토의 본엽의 사이즈는 가로 1.0~3.8cm, 세로 2.9~6.0cm 임. (그림6)

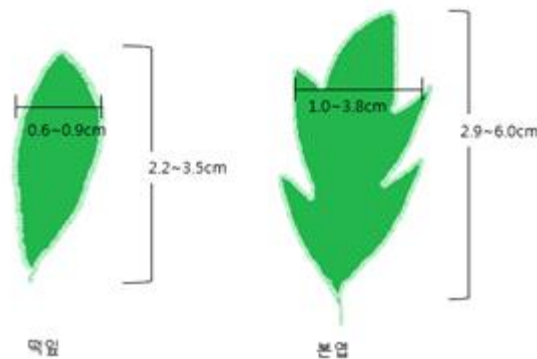


그림6. 토마토의 떡잎(좌)과 본엽(우) 모식도 및 사이즈 측정

- 따라서 떡잎과 본엽에 적용하는 바이오큐브의 배열 범위는 떡잎과 본엽의 사이즈 범위를 넘지 않도록 배치되도록 함. 큐브의 수를 4개와 8개로 달리하여 폴더에 부착함. (그림7) DNA 회수율을 높이기 위하여 모든 배열에는 0.1mm의 높이로 구멍을 뚫고 큐브를 부착시켜 폴더를 눌러서 압력을 가할 때 큐브가 식물체의 잎속으로 완전히 박힐 수 있도록 유도함.

- 8개라는 큐브의 숫자는 현장에서 육종가들이 MAS 테스트에 분자 마커를 평균 8개정도를 사용하므로 작물 개체당 DNA수는 대략 8개가 적당하다는 현장 의견을 수렴함. 또한 PCR을 위한 96plate의 한 줄의 수가 8개라서 한번에 8개를 큐브를 적용시키면, 하나의 식물체에서 동일한 8개의 DNA를 빠르게 뽑을 수 있어 효율적임.

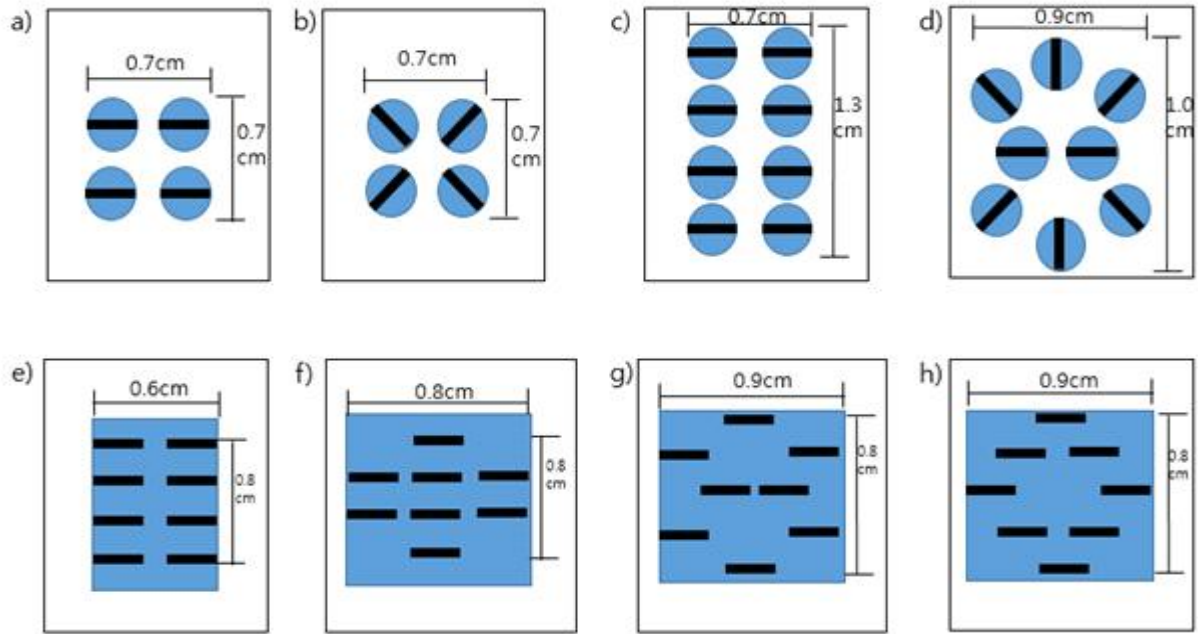


그림 7. 큐브 배열별 8종류의 키트 모식도

- 8종류의 큐브배열을 토마토 유니나 품종(아시아종묘)에 적용시켜봄. (그림 8) 배열 c와 배열 f에서는 한 개의 큐브에서 DNA가 잘 뽑히지 않는 모습을 보임.



그림 8. 큐브 배열별 8종류의 키트로 토마토의 DNA를 추출하여 PCR한 결과

- 8종류의 큐브배열을 수박에 적용시켜봄. (그림 9) 배열 d에서는 잘 뽑히지 않고 배열 h에서는 4개의 큐브에서 DNA가 잘 뽑히지 않는 모습을 보임. 수박에 적용했을때는 배열 f와 g에서 가장 잘 뽑힘.

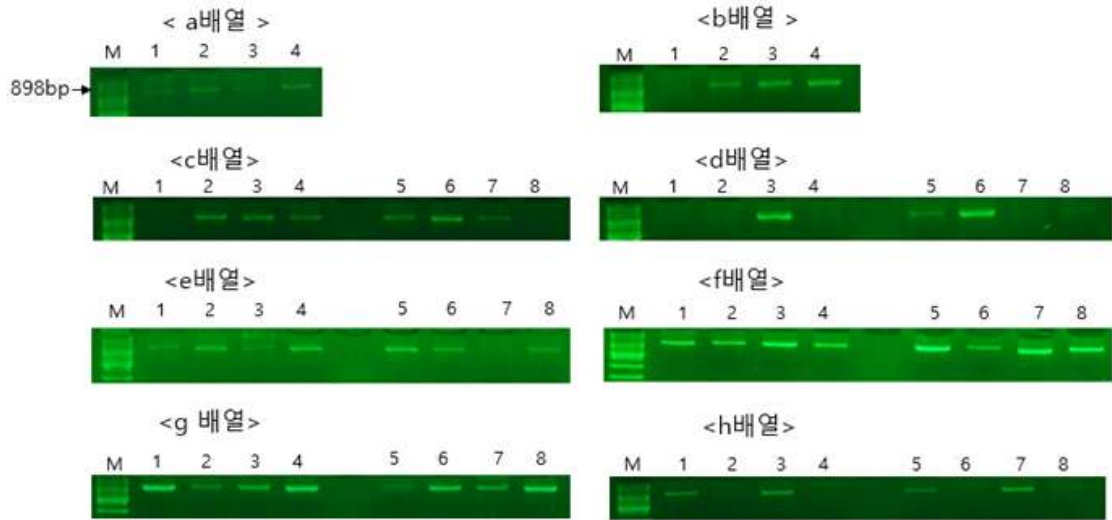


그림 9. 큐브 배열별 8종류의 키트로 수박의 DNA를 추출하여 PCR한 결과

<연구개발성과>

○ 특허성과

- 출원일자: 2017. 09. 08
- 특허명: 다공성 고체상 배열을 포함하는 DNA 추출용 키트
- 출원인: 연암대학교 산학협력단(2-2005-003506-9)
- 출원국: 대한민국
- 출원번호: 10-2017-0115277
- 발명자의 성명: 김현정

○ 사업화성과 및 매출실적

- 사업화 성과: 바이오큐브시스템에 해당 기술이전 및 제품개발

| 항목 | 세부항목 | | 성 과 | |
|-----------|-------------------|---------------------|-----------|---------------------|
| 사업화 성과 | 매출액 | 개발제품 | 개발후 현재까지 | 0억원 |
| | | | 향후 3년간 매출 | 0.1억원 |
| | | 관련제품 | 개발후 현재까지 | 억원 |
| | | | 향후 3년간 매출 | 0.1억원 |
| | 시장 점유율 | 개발제품 | 개발후 현재까지 | 국내 : 100% 국외 : % |
| | | | 향후 3년간 매출 | 국내 :100% 국외 : % |
| | | 관련제품 | 개발후 현재까지 | 국내 : 100% 국외 : % |
| | | | 향후 3년간 매출 | 국내 : 100% 국외 : % |
| | 세계시장 경쟁력 순위 | 현재 제품 세계시장 경쟁력 순위 | | 1위 |
| | | 3년 후 제품 세계 시장경쟁력 순위 | | 1위 |

4. 목표달성도 및 관련분야 기여도

| | | 코드번호 | D-06 | |
|------------|--|--|---------|---|
| 4-1. 목표달성도 | | | | |
| 구분 | 연구범위 | 연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법) | 달성도 (%) | 구체적인 내용 |
| 1차 년도 | <ul style="list-style-type: none"> 다공성 세라믹 큐브 4점 제작 및 성능 평가 | <ul style="list-style-type: none"> pore size가 다른 LTCC 3종 세라믹 큐브 제작 작물별 DNA 추출 적합 다공성 세라믹 큐브 선발 | 100 | <ul style="list-style-type: none"> 다공성 세라믹 큐브 제작 방법에 따라 pore size가 다른 LTCC를 함유한 3종 큐브 제작 작물의 떡잎에 3종 큐브를 적용하여 DNA 추출후 PCR로 DNA extraction 여부 확인 |
| | <ul style="list-style-type: none"> 고추, 토마토, 무, 수박, 배추에 다공성 세라믹 큐브 4종 스크리닝 | <ul style="list-style-type: none"> 작물 별 10품종에 세라믹 큐브 3종 스크리닝 작물 조직별 DNA 채취 효율 비교 세라믹 큐브의 최적 PCR 조건 확립. | 100 | <ul style="list-style-type: none"> 작물별 10품종에 세라믹큐브 3종을 스크리닝함 <ul style="list-style-type: none"> - 고추: 독무역강외 9종 - 토마토: TY250외 9종 - 배추:농협계통 62외 9종 - 무: 농협계통 583외 9종 - 수박: 농협계통 54번외 9종 작물별 떡잎, 제1엽, 줄기, 뿌리, 종자에서 DNA를 추출하여 PCR후 DNA extraction 여부 확인 세라믹 큐브별 최적 PCR 조건 확립(프라이머 조합에 따른 최적 annealing 온도 확립) |
| | <ul style="list-style-type: none"> 세라믹큐브로 추출한 DNA 이용하여 PCR을 통한 분자마커 테스트 | <ul style="list-style-type: none"> 고추-병저항성 표지 5점 적용 토마토-과형연관표지 3점, 과색연관표지 2점 무-병저항성 마커 3점 수박-병저항성 표지 3점 배추-병저항성 표지 3점 작물별 10품종의 잎으로부터 DNA를 바이오큐브로 추출 후 분자표지 적용 | 100 | <ul style="list-style-type: none"> 작물별 10품종의 잎으로부터 DNA를 바이오큐브로 추출 후 이를 주형으로 하여 병저항성 및 과형연관 마커 테스트 실시 중 |
| | <ul style="list-style-type: none"> 작물별 세라믹 큐브의 장기 보관 조건 (온도 및 보관기간) 탐색 | <ul style="list-style-type: none"> 온도- 저장온도 별 보관 조건 탐색 (-80° C, -20° C, 4° C, 18° C, 25° C, 35° C, 60° C) 보관기간-보관기간 별 저장조건탐색(1주,2주, 4주, 8주, 12주, 16주) | 100 | <ul style="list-style-type: none"> 작물의 분엽으로부터 DNA를 바이오큐브로 추출 후 각각의 온도 조건에서 보관 기간을 달리하여 보관 조건 및 기간을 탐색함. |
| | <ul style="list-style-type: none"> 작물별 보관된 세라믹 큐브 맞춤형 PCR 조건 최적화 | <ul style="list-style-type: none"> 보관 시료의 PCR 조건 최적화 상용 Premix 적용을 통한 바이오큐브 적합 PCR premix조합 선발 | 100 | <ul style="list-style-type: none"> 상용 premix 적용을 통해 바이오큐브를 주형으로 사용했을 때 최고의 PCR 반응을 보이는 Premix 선발 |
| 2차 년도 | <ul style="list-style-type: none"> 바이오큐브 추출 DNA의 농도 체크 | <ul style="list-style-type: none"> 바이오 큐브별 추출 DNA의 농도 테스트 Pore 사이즈에 따른 추출 DNA 농도 측정 및 반영 | 100 | <ul style="list-style-type: none"> PCR을 통해 바이오 큐브별 , 큐브 개수별 추출 DNA의 농도 테스트 PCR을 통해 Pore 사이즈에 따른 추출 DNA 농도 측정 |
| | <ul style="list-style-type: none"> 세라믹 큐브 FTA 카드형 폴더 시제품 제작 및 성능평가 | <ul style="list-style-type: none"> 세라믹 큐브의 적절한 배열 테스트 | 100 | <ul style="list-style-type: none"> 효율적인 DNA 추출 및 보관이 가능한 큐브의 배열 탐색 큐브 4개, 8개, 16개등 수를 조절하여 부착 큐브 부착 형태: 환상배치, 직선 2줄 배치, 대각선 배치 등 |

| | | | |
|---|---|-----|---|
| <ul style="list-style-type: none"> ■세라믹 큐브 폴더의 육종현장에 적용 및 평가 | <ul style="list-style-type: none"> ■Shuttle breeding현장에 적용 및 성능 평가 | 100 | <ul style="list-style-type: none"> ■원예작물에 적용 ■수박육종현장인 태국에서 폴더를 적용하여 국내에서 PCR 테스트로 분석 후 결과 도출 ■필드에서 폴더를 이용한 샘플링 후 냉장 및 냉동 보관할 수 있는 케이스 개발 |
| <ul style="list-style-type: none"> ■기술이전을 통한 제품 제작 | <ul style="list-style-type: none"> ■제품 제작 | 100 | <ul style="list-style-type: none"> ■주식회사 바이오큐브시스템에 DNA 추출 및 보관 조건 기술이전 ■제품 제작 및 상용화 |

4-2. 관련분야 기여도

○ 현재 시중에 판매되고 있는 핵산 분리용 제품은 주로 컬럼 방식이 사용되는데, 세라믹 큐브와 컬럼 방식이 장단점을 비교해 보면 세라믹 큐브를 이용한 핵산 분리법은 상당히 많은 장점을 지니고 있음(참고 1). 이러한 관점에서 세라믹 큐브를 이용한 원예작물 DNA 추출 FTA카드와 PCR 패키지 제품을 개발할 경우 대내외적으로 상당한 경쟁력을 가질 수 있음. 뿐만 아니라 동물/수산물의 진단에도 적극적으로 활용하여 국내 DNA 진단 분야의 경쟁력 향상에 많은 도움이 될 것으로 생각됨.

| | column 방식 | 세라믹 큐브 FTA 카드 |
|-----------------------|--|---------------|
| 실험 절차 | 복잡 | 단순 |
| 주형 획득 시간 | 30분 | 3초 |
| 일일 가능 작업량 (1인 기준) | 100~200 시료 | 1000~2000 시료 |
| 핵산 수득량 | 높음 | 낮음 |
| 소요되는 소모품 (시료 100개 기준) | filter column 100개 bind column 100개 2ml tube 200개 1.5ml tube 200개 1.5ml tip 400개 0.2ml tip 200개 | 세라믹 큐브 100개 |
| 필요한 용매 (시료 100개 기준) | 마쇄용 완충액 60ml 결합용 완충액 60ml 세척용 완충액 120ml | 없음 |
| 원심분리기 | 필요함 | 필요 없음 |
| 사용자의 전문성 | 높은 편 | 낮아도 가능 |
| 작업 피로도 | 매우 높은 | 낮음 |
| 현장 적용성 | 매우 낮음 | 매우 높음 |

5. 연구결과의 활용계획

| 코드번호 | D-07 |
|---|------|
| <p>1) 예상 활용분야</p> <ul style="list-style-type: none"> - 국내 원예작물 MAS 기술의 표준화 추구로 이를 통해 국내 종묘회사, 식물검역원, 지방 농업기술연구소등에 보급 육종 현장 - Shuttle breeding을 수행하는 해외 육종 현장에 보급 - DNA extraction 기술을 유전자원 유전정보 재료 수집과 보관에 활용 - 산림 / 수산 / 동물 육종에 활용 <p>2) 기술적 성과</p> <ul style="list-style-type: none"> - 국내 DNA extraction 제품에 비해 DNA 추출 시간 단축 (50배 이상). - 육종 현장에서 MAS를 위한 샘플링 작업 속도 향상 (50배 이상). - 친환경성 제품(세라믹 큐브 사용으로 페놀과 클로로포름 사용 없음)으로 환경오염 0%. - 신제품으로 연결하여 지적재산권 취득. <p>3) 사업화</p> <ul style="list-style-type: none"> - 세라믹 큐브 FTA 카드형 폴더 제품 제작. - 세라믹 큐브와 PCR mix를 포함한 작물 맞춤형 DNA extraction kit 제작. - DNA 추출의 간소화로 PCR pre-mix 시장의 범위 확대. - 국내 영세 육종회사의 DNA 진단 서비스를 위한 기틀 마련. - 향후 shuttle breeding 지역인 중국, 일본, 동남아, 인도 및 유럽으로 수출 가능. | |

6. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보

| 코드번호 | D-08 |
|---|------|
| <input type="radio"/> 다공성 큐브에 관련한 해외과학기술정보 없음 | |

7. 연구개발과제의 대표적 연구실적

| 번호 | 구분 (논문 /특허 /기타) | 논문명/특허명/기타 | 소속 기관명 | 역할 | 논문게재지/ 특허등록국 가 | 코드번호 | | D-12 | |
|----|--------------------------|---|-----------|----|----------------------|------------------|-----------------|------------------------------|----------------------------|
| | | | | | | Impact Factor | 논문게재일 /특허등록일 | 사사여부 (단독사사 또는 중복사사) | 특기사항 (SCI여부/인 용횟수 등) |
| 1 | 특허 | 다공성 고체상 배열을 포함하는 DNA 추출용 키트 | 연암대학교 | | 대한민국 | | 2017.09.08 | 단독사사 | |
| 2 | 기술 이전 | 다공성 고체상 배열을 포함하는 DNA 추출용 키트 | 연암대학교 | | | | 2017.12.01 | | |
| 3 | 학술 발표 | A potential use of porous ceramic matters for simple preparation of DNA to amplify a target sequence of plant DNA | 연암대학교 | | 프라하 | | 2016.06.28 | 단독사사 | |
| 4 | 학술 발표 | Simple DNA extraction with porous ceramic matters (Biocube) from radish and Chinese cabbage | 연암대학교 | | 중국 | | 2017.05.19 | 단독사사 | |
| 5 | 학술 발표 | 다공성 세라믹 큐브를 활용한 쉽고 빠른 고추 DNA 추출 | 연암대학교 | | 대한민국 | | 2016.04.29 | 단독사사 | 우수논문상 수상 |

8. 참고문헌

| 코드번호 | D-14 |
|----------------------------|------|
| <input type="radio"/> 해당없음 | |

뒷면지

주 의

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