

120026-01

보안 과제(), 일반 과제(○) / 공개(○), 비공개(), 발간등록번호(○)
농식품연구성과후속지원사업 2021년도 최종보고서

발간등록번호
11-1543000-003600-01

GABA와 유기태 철과기반의 경구용 자돈 빈혈 예방 제품 개발 및 상용화

GABA와 유기태 철분 기반의 경구용 자돈 빈혈예방 제품 개발 및 상용화

2021. 7. 12.

2021

주관연구기관 / (주)미래생명자원
협동연구기관 / 건국대학교 산학협력단

농림식품기술기획평가원
농림축산식품부

농림축산식품부
농림식품기술기획평가원

제출문

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “GABA와 유기태철분 기반의 경구용 자돈 빈혈예방 제품 개발 및 상용화”(개발기간 : 2020.04.20 ~ 2021.04.19)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2021.07.12

주관연구기관명 :

김성진

협동연구기관명 :

송창선



주관연구책임자 : 한 종 권

협동연구책임자 : 오 재 욱

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

< 요약 문 >

사업명	농식품연구성과후속지원사업			총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성)			
내역사업명 (해당 시 작성)				연구개발과제번호		320033011HD030	
기술분류	국가과학기술 표준분류	LA0904	50%	LA0404	30%	LC0109	20%
	농림식품 과학기술분류	CA0105	50%	RB0101	30%	AB0201	20%
총괄연구개발명 (해당 시 작성)							
연구개발과제명	GABA와 유기태철분 기반의 경구용 자돈 빈혈예방 제품 개발 및 상용화						
전체 연구개발기간	2020.04.20. - 2021.04.19. (12 개월)						
총 연구개발비	총 150,000 천원 (정부지원연구개발비:100,000 천원, 기관부담연구개발비 : 50,000 천원)						
연구개발단계	기초[] 응용[] 개발[o] 기타(위 3가지에 해당되지 않는 경우)[]		기술성숙도 (해당 시 기재)		착수시점 기준() 종료시점 목표()		
연구개발과제 유형 (해당 시 작성)							
연구개발과제 특성 (해당 시 작성)							
연구개발 목표 및 내용	최종 목표		<ul style="list-style-type: none"> ○ GABA(γ-aminobutyric acid)와 유기태철분 기반의 경구용 자돈 빈혈예방 제품 개발 및 상용화 ○ 본 과제의 목표는 GABA의 EPO 증가 효능과 유기태 철 및 철분 흡수증진 제제 등의 철분 생체이용성증가 solution을 이용하여, 적용 단계는 암신통, 포유모돈, 이유자돈의 사료에 첨가하는 경구용 자돈 빈혈 예방 제품의 개발이다. ○ 본 과제를 통하여 사료회사 및 실제 농가를 설득하기 위한 필드실험 데이터의 확장 및 검증 자료를 확보하여 매출을 발생시키는 것을 최종 목표로 하고 있다. 				
	전체 내용		<ul style="list-style-type: none"> ○ 자돈은 출산 후 3주령에 약 4배의 크기로 체중이 증가되며, 생리적으로 적혈구의 수가 증가되지 못하여 필연적으로 빈혈이 초래된다. 이로 인해 전 세계적으로 예외없이 생후 3일령에 철분주사를 처치하여, 자돈에게 큰 스트레스를 주게 되고 그로인해 육질감소, 생산성 감소 등의 산업적 손해가 발생한다. 또한, 수의사가 아닌 근무자가 한 마리씩 주사를 처치하기 때문에 일정한 투여비율이 감소하며, 그 인력소모도 지대하다. ○ 본 연구팀은 2017년 수행한 농생명산업기술개발사업을 통해 GABA를 이용한 in vivo와 in vitro 연구를 통하여 GABA의 포유모돈과 자돈의 섭취로 인해 적혈구 전구물질인 erythropoietin (EPO)가 증가한다는 결과를 여러 차례 확인하였으며, rat을 이용한 실험에서도 적혈구수와 EPO 수치가 증가하는 것을 확인하였다(우수과제 선정). ○ 주관기관인 미래생명자원은 후속과제지원사업을 통해 실제 농가 검증실험을 통하여, ‘주사제를 대체할 수 있는 이유자돈의 빈혈을 예방하는 경구용 제품’의 농가 검증실험자료 확보 및 시장 판매 확산에 목표를 두고 있다. 				
	1단계 (해당 시 작성)	목표					
	n단계 (해당 시 작성)	내용					
		목표					
		내용					
연구개발성과	○ 본 연구과제를 통한 필드농장 검증 실험을 진행하였으며, 철분주사 처치를 하는 그						

	<p>룹과 비교하여 경구용 철분제제를 섭취한 그룹에서 동등 이상의 체중 증가 효과를 확인하였음</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 각 실험 농장에서 모든 및 자돈에 대해 구제역, 돼지열병, 돼지코로나 바이러스 검사 시 모두 음성판정 있었음 ○ GABA와 piperine의 돼지 신장세포를 활용한 erythropoietin 기전 확립하였음 ○ 국내 및 해외 매출 목표를 모두 초과달성하였음 ○ 그 외 고용창출, 인력양성, 학술발표를 달성하였음 											
연구개발성과 활용계획 및 기대 효과	<ul style="list-style-type: none"> ○ 샘플 제작 후 국내 농장 배포 및 효능 확인 ○ 국내 및 해외 버전 마케팅 자료 작성 후 판촉 진행 (진행 중) ○ 본 연구자료를 바탕으로 자체 추가 확증실험 진행 											
연구개발성과의 비공개여부 및 사유												
연구개발성과의 등록·기탁 건수	논문	특허	보고서 원문	연구 시설·장비	기술 요약 정보	소프트 웨어	표준	생명자원		화합물	신품종	
								생명 정보	생물 자원		정보	실물
연구시설·장비 종합정보시스템 등록 현황	구입 기관	연구시설·장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)		ZEUS 등록번호		
국문핵심어 (5개 이내)	가바		에리스로포이에틴		빈혈		경구용		철분 생체이용성			
영문핵심어 (5개 이내)	GABA		Erythropoietin		anemia		oral administration		Fe bioavailability			

■ 농림축산식품연구개발사업 관리기준 [별지 제17호 서식] <제23조제3호 관련>

최종보고서

보안등급
일반[○], 보안[]
농식품연구성과후속지원사업

중앙행정기관명		농림식품기술기획평가원		사업명	사업명		
전문기관명 (해당 시 작성)				내역사업명 (해당 시 작성)			
광고번호		농축 2020-61호		총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성)			
				연구개발과제번호	320033011HD030		
기술분류	국가과학기술 표준분류	LA0904	50%	LA0404	30%	LC0109 20%	
	농림식품과학기술분류	CA0105	50%	RB0101	30%	AB0201 20%	
연구개발과제명		국문	GABA와 유기태철분 기반의 경구용 자른 빈혈예방 제품 개발 및 상용화				
		영문	Development of oral anemia-preventing materials for piglet using GABA and organic iron				
주관연구개발기관		기관명	(주)미래생명자원		사업자등록번호		
		주소	(우)05836, 서울 송파구 범원로 9길 26 D동 510호		법인등록번호		
연구책임자		성명	한종권		직위	연구소장	
		비탁처	직장전화		휴대전화		
			전자우편		국가연구자번호		
연구개발기간		전체	2020.04.01 - 2021.03.31 (12개월)				
		단계 (해당 시 작성)	1단계	2020.04.01 - 2021.03.31 (12개월)			
			n단계				
연구개발비 (단위: 천원)		정부지원 연구개발비	기관부담 연구개발비	그 외 기관 등의 지원금 지방자치단체 기타		연구개발비 의 지원금	
		현금	현금	현물	현금	현물	
총계		150,000	5,000	45,000	155,000	45,000	
1단계		1년차	150,000	5,000	45,000	200,000	
		n년차					
공동연구개발기관 등 (해당 시 작성)		기관명	책임자	직위	휴대전화	전자우편	
						비고 역할 기관유형	
공동연구개발기관		건국대학교 산학협력단	오재욱	교수			대학
위탁연구개발기관		경동대학교 산학협력단	심인숙	교수			대학
연구개발기관 외 기관							
연구개발담당자 실무담당자		성명	박근태		직위	책임연구원	
		비탁처	직장전화		휴대전화		
			전자우편		국가연구자번호		

이 최종보고서에 기재된 내용이 사실임을 확인하며, 만약 사실이 아닌 경우 관련 법령 및 규정에 따라 제재처분 등의 불이익도 감수하겠습니다.

2021년 5월 24일

연구책임자

한종권

주관연구개발기관의 장
공동연구개발기관의 장
위탁연구개발기관의 장

김성진 (직인)
송창선 (직인)
이영훈 (직인)



농림축산식품부장관·농림식품기술기획평가원장 귀하

최종보고서										보안등급		
										일반[o], 보안[]		
중앙행정기관명		농림식품기술기획평가원			사업명		사업명		농식품연구성과후속지원사업			
전문기관명 (해당 시 작성)					사업명		내역사업명 (시 작성)					
공고번호		농축 2020-61호			총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성)							
					연구개발과제번호		320033011HD030					
기술분류	국가과학기술 표준분류	LA0904	50%	LA0404	30%	LC0109	20%					
	농림식품과학기술분류	CA0105	50%	RB0101	30%	AB0201	20%					
연구개발과제명		국문	GABA와 유기태철분 기반의 경구용 자돈 빈혈예방 제품 개발 및 상용화									
		영문	Development of oral anemia-preventing materials for piglet using GABA and organic iron									
주관연구개발기관		기관명	(주)미래생명자원			사업자등록번호						
		주소	(우)05836, 서울 송파구 법원로 9길 26.D동 510호			법인등록번호						
연구책임자		성명	한종권			직위		연구소장				
		연락처	직장전화				휴대전화					
			전자우편				국가연구자번호					
연구개발기간		전체	2020.04.19. - 2021.04.19. (12 개월)									
		단계 (해당 시 작성)	1단계	2020.04.19. - 2021.04.19. (12 개월)								
			n단계									
연구개발비 (단위: 천원)		정부지원 연구개발비	기관부담 연구개발비		그 외 기관 등의 지원금				합계		연구개발비 외 지원금	
		현금	현금	현물	현금	현물	현금	현물	현금	현물		합계
총계		150,000	5,000	45,000					155,000	45,000	200,000	
1단계	1년차	150,000	5,000	45,000					155,000	45,000	200,000	
	n년차											
공동연구개발기관 등 (해당 시 작성)		기관명	책임자		직위	휴대전화	전자우편	비고				
								역할		기관유형		
공동연구개발기관		건국대학교 산학협력단	오재욱		교수					대학		
위탁연구개발기관		경동대학교 산학협력단	심인숙		교수					대학		
연구개발기관 외 기관												
연구개발담당자 실무담당자		성명	박근태			직위		책임연구원				
		연락처	직장전화				휴대전화					
			전자우편				국가연구자번호					

이 최종보고서에 기재된 내용이 사실임을 확인하며, 만약 사실이 아닌 경우 관련 법령 및 규정에 따라 제재처분 등의 불이익도 감수하겠습니다.

2021년 5월 24일

연구책임자: 한종권 (인)

주관연구개발기관의 장: 김성진 (직인)
 공동연구개발기관의 장: 송창선 (직인)
 위탁연구개발기관의 장: 이영훈 (직인)

농림축산식품부장관·농림식품기술기획평가원장 귀하

< 요약 문 >

※ 요약문은 5쪽 이내로 작성합니다.

사업명		농식품연구성과후속지원사업			총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성)		
내역사업명 (해당 시 작성)					연구개발과제번호		320033011HD030
기술 분류	국가과학기술 표준분류	LA0904	50 %	LA0404	30 %	LC0109	20%
	농림식품 과학기술분류	CA0105	50 %	RB0101	30 %	AB0201	20%
총괄연구개발명 (해당 시 작성)							
연구개발과제명		GABA(γ -amminobutyric acid)와 유기태철분 기반의 경구용 자돈 빈혈예방 제품 개발 및 상용화					
전체 연구개발기간		2020. 04. 20. - 2021. 4. 19. (12개월)					
총 연구개발비		총 200,000 천원 (정부지원연구개발비: 150,000천원, 기관부담연구개발비 : 50,000천원, 지방자치단체: 천원, 그 외 지원금: 천원)					
연구개발단계		기초[] 응용[] 개발[o] 기타(위 3가지에 해당되지 않는 경우)[]		기술성숙도 (해당 시 기재)		착수시점 기준() 종료시점 목표()	
연구개발 목표 및 내용	최종 목표		<ul style="list-style-type: none"> ○ GABA(γ-amminobutyric acid)와 유기태철분 기반의 경구용 자돈 빈혈예방 제품 개발 및 상용화 ○ 본 과제의 목표는 GABA의 EPO 증가 효능과 유기태 철 및 철분 흡수증진 제제 등의 철분 생체이용성증가 solution을 이용하여, 적용 단계는 암신통, 포유모돈, 이유자돈의 사료에 첨가하는 경구용 자돈 빈혈 예방 제품의 개발이다. ○ 본 과제를 통하여 사료회사 및 실제 농가를 설득하기 위한 필드실험 데이터의 확장 및 검증 자료를 확보하여 매출을 발생시키는 것을 최종 목표로 하고 있다. 				
	전체 내용		<ul style="list-style-type: none"> ○ 자돈은 출산 후 3주령에 약 4배의 크기로 체중이 증가되며, 생리적으로 적혈구의 수가 증가되지 못하여 필연적으로 빈혈이 초래된다. 이로 인해 전 세계적으로 예외없이 생후 3일령에 철분주사를 처치하여, 자돈에게 큰 스트레스를 주게 되고 그로인해 육질감소, 생산성 감소 등의 산업적 손해가 발생한다. 또한, 수의사가 아닌 근무자가 한 마리씩 주사를 처치하기 때문에 일정한 투여비율이 감소하며, 그 인력소모도 지대하다. ○ 본 연구팀은 2017년 수행한 농생명산업기술개발사업을 통해 GABA를 이용한 in vivo와 in vitro 연구를 통하여 GABA의 포유모돈과 자돈의 섭취로 인해 적혈구 전구물질인 erythropoietin (EPO)가 증가한다는 결과를 여러 차례 확인하였으며, rat을 이용한 실험에서도 적혈구수와 EPO 수치가 증가하는 것을 확인하였다 (우수과제 선정). ○ 주관기관인 미래생명자원은 후속과제지원사업을 통해 실제 농가 검증실험을 통하여, '주사제를 대체할 수 있는 이유자돈의 빈혈을 예방하는 경구용 제품'의 농가 검증실험자료 확보 및 시장 판매 확산에 목표를 두고 있다. 				
	1단계 (해당 시 작성)	목표					
		내용					
n단계 (해당 시 작성)	목표						
	내용						

연구개발성과	<ul style="list-style-type: none"> ○ 본 연구과제를 통한 필드농장 확증 실험을 진행하였으며, 철분주사 처치를 하는 그룹과 비교하여 경구용 철분제제를 섭취한 그룹에서 동등 이상의 체중 증가 효과를 확인하였음 ○ 각 실험 농장에서 모돈 및 자돈에 대해 구제역, 돼지열병, 돼지코로나 바이러스 검사시 모두 음성판정 있었음 ○ GABA와 piperine의 돼지 신장세포를 활용한 erythropoietin 기전 확립하였음 ○ 국내 및 해외 매출 목표를 모두 초과달성하였음 ○ 그 외 고용창출, 인력양성, 학술발표를 달성하였음 												
연구개발성과 활용계획 및 기대 효과	<ul style="list-style-type: none"> ○ 샘플 제작 후 국내 농장 배포 및 효능 확인 ○ 국내 및 해외 버전 마케팅 자료 작성 후 판촉 진행 (진행 중) ○ 본 연구자료를 바탕으로 자체 추가 확증실험 진행 												
연구개발성과의 비공개여부 및 사유													
연구개발성과의 등록·기탁 건수	논문	특허	보고서 원문	연구 시설·장비	기술 요약 정보	소프트웨어	표준	생명자원		화학물	신품종		
								생명 정보	생물 자원		정보	실물	
연구시설·장비 종합정보시스템 등록 현황	구입 기관	연구시설·장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)				ZEUS 등록번호	
국문핵심어 (5개 이내)	가바		에리스로포이에틴		빈혈		경구용				철분 생체이용성		
영문핵심어 (5개 이내)	GABA		Erythropoietin		anemia		oral administration				Fe bioavailability		

< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요
2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행내용
3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도
4. 목표 미달 시 원인분석(해당 시 작성)
5. 연구개발성과 및 관련 분야에 대한 기여 정도
6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획

1. 연구개발과제의 개요

○ 이유자돈 시기의 중요성

‘갓 이유한 자돈의 사료섭취는 평생 중 가장 긴 하루’ 라고 표현될 정도로 이유 자돈의 사료 섭취는 출하 시까지 기간 중 가장 중요한 시기이며 사료섭취가 충분하지 못하게 되면 출하 체중에서 큰 차이를 나타낸다. 하지만, 여전히 발육 정체가 일어나는 원인들이 남아있으며, 크게 주사 스트레스, 체지방 감소, 소화기능 저하, 면역력 저하, 빈혈 등이 있는데, 특히 빈혈은 예외 없이 모든 이유자돈에서 일어나는 생리적 현상이다.

자돈의 체중은 급속하게 증량되어 출산 시에는 1.0 ~ 1.5kg 정도에 지나지 않지만 3주령에는 약 4백의 크기로 증체된다. 이처럼 생리적으로 체중증가 속도는 빠르는데 비하여 혈액내의 적혈구 수가 증가되지 못하여 생후 3주령이 되면 생리적인 빈혈을 초래한다. 이를 방지하면 식욕부진, 황달, 위축, 설사 등으로 생산성에 지대한 악영향을 미친다.

○ 이유자돈의 철분 부족

신생 자돈의 철분 요구량은 생후 3주간 제2가 철로서 300mg 정도가 필요한데 젖이나 사료, 흙 등을 통하여 120mg 정도를 흡수하고 나머지 180mg은 별도로 보충을 해주어야하며, 농가에서는 대부분 3일령과 10일령 각 2회 구분하여 주사하고 있다. 국내 및 국외 대부분의 농가에서 철분주사제의 필수성에 의해 주사제를 사용하고 있으나, 그 부작용의 위험은 여전히 존재하고 있다.

이유자돈 철분 필요량(mg)	300
신생자돈 체내 철분량	50
모유 및 사료, 기타	70
주사제 철분량	180

○ 철분주사제의 부작용

국외와 국내 양돈 사육에서 이유자돈의 철분공급은 거의 100%이상 철분주사제를 사용하고 있으며, 마치 철분주사 이외에는 다른 방법이 없는 것으로 인식되어 인력과 시간, 금액 투자, 주사제의 위험성을 무릅쓰고 철분주사제를 사용하고 있다. 하지만, 철분주사제는 분명한 문제점과 주의해야 할 부분들이 존재하고, 큰 경제적 손실로 이어질 수 있다.

돼지의 비타민 E, 셀레늄 결핍증은 심근의 변성, 간의 괴사, 골격근의 변성 등을 유발하여 주로 급성장하는 어린자돈의 갑작스런 폐사를 일으킨다. 이 결핍증이 있는 자돈에 철분주사의 투여 시 동일한 근변성을 일으키며, 심장근육의 변성으로 인해 심장마비로 급사가 발생하는 이른바 철분쇼크가 발생한다. 그 이유는 비타민E와 셀레늄이 결핍된 상태에서 철분주사를 맞게 되면 철분대사가 원활히 이뤄지지 못해 주사한 철분이 체내로 흡수되지 않고 독이 되어 다리 근육이 검붉게 괴사되고 다리를 절며, 결국 철분중독으로 인해 폐사하게 된다.

즉, 이유 자돈의 빈혈 예방을 위해서는 단순한 철분 공급 뿐만 아니라 철분 대사가 원활히 이루어 질 수 있도록 생체 내 환경을 만들어 주는 것은 반드시 필요하다.

○ 철분 생체 이용성 증가 solution

1) 유기태 철 (B-TRAXIM®)

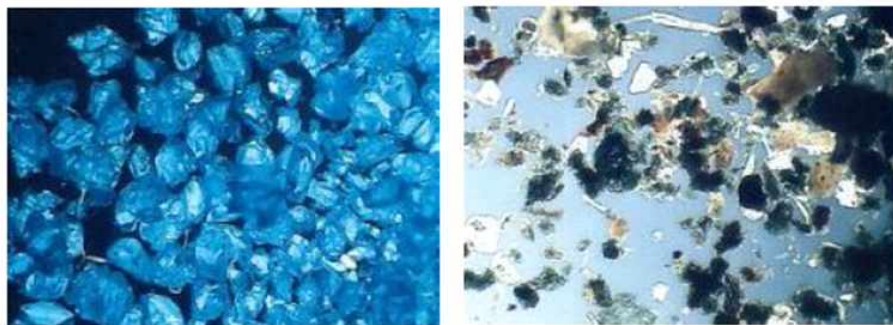
모든 사료 내에 유기태 미네랄은 높은 생체이용성 (bioavailability)으로 바로 젖과 혈액 내에 미네랄 수



준을 증가시킴과 동시에 철분의 일일 요구량 극복에 중요하다. 유기태 미네랄은 알려진 바와 같이 무기태 미네랄에 비해 생물학적 활성이 높고 혈액 샘플 당 철분이 125~185% 정도로 측정되고 있으며 이것은 철분이 바로 젖으로 이전될 수 있는 가능성을 의미한다. 갓 난 돼지에 있어서 철분은 태어난 당일에 주사 또는 젖을 통해 얻게 되며, 철분의 젖으로의 이전은 갓 난 돼지의 피부색을 개선시키는데 중요하다.

이 기간의 갓 난 돼지 사료 내에 유기태 미네랄 (B-TRAXIM)을 공급함으로써 높은 수준의 생물학적 활성을 가진 철분 성분이 이유 전 갓 난 돼지의 사료 섭취율이 떨어짐에도 불구하고 red skin을 나타냈으며 외부 저항력도 강해졌다.

본 연구에서 사용할 유기태 미네랄 B-TRAXIM-Fe[®]은 glycine과 Fe이 1:1의 비율로 결합된 착화합물 형태의 유기태 미네랄이며, 단순한 섭취, 흡수수준에서 벗어난 가축 체 내에서의 고유한 기능 발현을 통한 이용성까지 고려된 특화된 철분제이다. 무기태 철이나 일반 유기태 철과는 달리 분자량이 낮고 용해성이 우수하여 낮은 pH 환경에서 안정하므로 장 전체에서 효과적으로 흡수 및 이용 (흡수율 약 5.2배 vs 무기태 철)된다. 또한, 각각의 초미립자에 미네랄과 아미노산이 균일하게 함유되어 있어 사료 배합 시 이상적인 배합도와 분산력을 지닌 유기태 철이다.



B-TRAXIM 유기태 철
Crystalline 구조

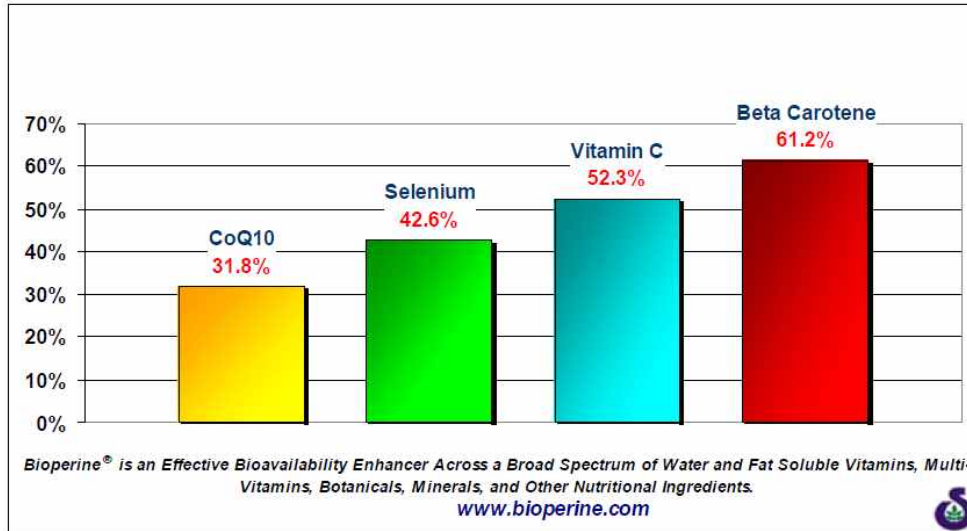
무기태 철
Amorphous 구조

2) Piperine

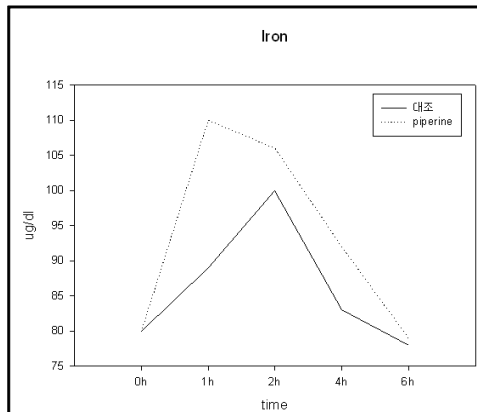
Piperine은 향신료로 많이 사용되는 흑 후추 (*Piper nigrum*)의 활성성분으로 약간의 매운맛을 갖는 물질이며, 항산화효과, 위액분비 촉진, 장속의 가스 제거 등의 효능이 알려져 있고 간세포 보호, 류마티스 관절염 완화, 비만억제, 지방암, 대장암, 폐암 등의 항암효과 등이 보고되고 있다.

본 연구과제에서 Piperine의 중요한 역할은 유효성분들의 흡수율과 이용률을 증진시킨다는 것이며, 관련 문헌들이 다수 발표되었다.

흡수 물질	논문 제목	발간 저널
Curcumin	Influence of Piperine on the Pharmacokinetics of Curcumin in Animals and Human Volunteers.	Planta Med. 1998.
Polyphenol	Piperine Enhances the Bioavailability of the Tea Polyphenol (-)-Epigallocatechin-3-gallate in Mice	J. Nutr. 2004.
beta-carotene	Piperine, an Alkaloid derived from Black pepper increases serum response of Beta- Carotene during 14-Days of Oral Beta Carotene Supplementation	Nutrition Research.
CoQ10	Piperine derived from black pepper increases the plasma levels of coenzyme Q10 following oral supplementation.	J. Nutr. Biochem. 2000.



Piperine의 흡수촉진 물질들에는 수용성 비타민, 지용성 비타민, 항산화제, 아미노산, 미네랄 등이 있으며, 이 중 Fe, Ca, Zn, Se 등 trace mineral의 흡수를 증진시킨다. 주관기관인 (주)미래생명자원에서는 육계 실험을 통하여 piperine이 철 (Fe)의 생체이용률을 증가시킨다는 사실을 실험을 통하여 규명한 바 있다.



(그림) piperine 에 의한 육계에서의 철분 흡수 증가 (자체 실험)

○ γ -aminobutyric acid (GABA) 기반의 erythropoietin (EPO) 증강제

GABA는 자연계에 널리 분포하는 비단백질 아미노산의 일종으로 동물의 경우 뇌, 신장, 심장, 폐 등에서 발견되며 식물의 경우 발아 현미, 녹차 등에서 많이 검출되고 있다. GABA는 억제성 신경전달물질로서 중추신경계 신경전달물질 중 약 30%를 차지하며 다른 신경전달물질에 비하여 약 200-1,000배의 고농도로 존재한다. GABA는 혈압상승 억제, 시력증진, 항불안, 항경련 등 인체에 많은 생리적인 메카니즘의 조절에 관여하는 것으로 알려져 있고, 성장호르몬의 분비 조절에도 관여하며 통증완화에도 효과가 있는 것으로 알려져 있어 약리적으로 매우 주목받는 물질이다.

GABA는 세계적으로도 식품소재로서 1980년대 중반부터 이용되기 시작하였으며, 2001년경부터 본격

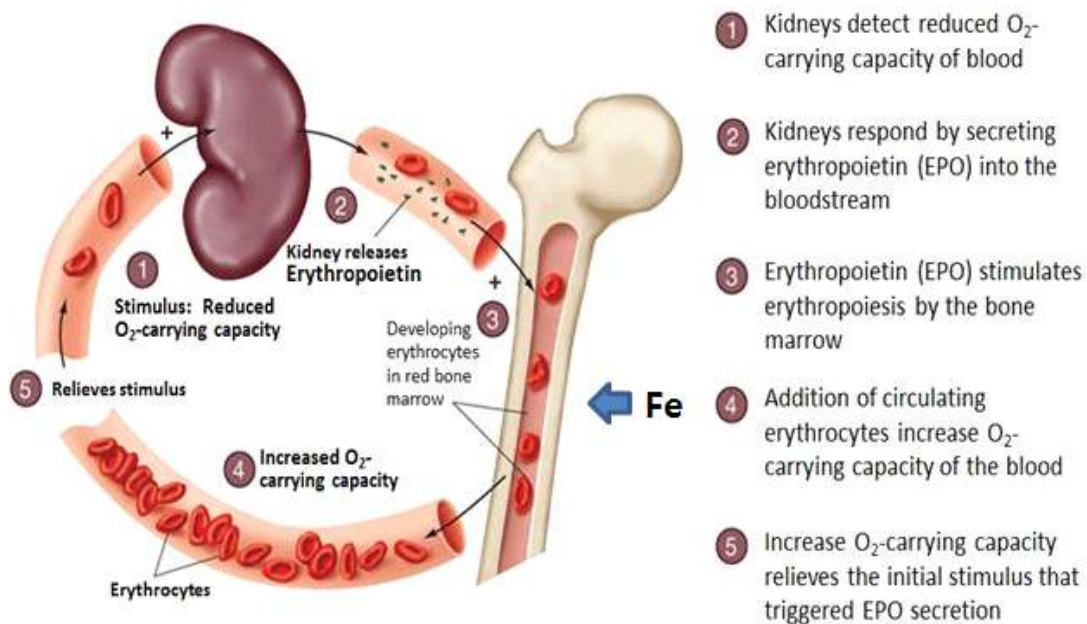
적으로 시장을 형성하기 시작한 소재이다. GABA는 4개의 탄소로 구성되어 있고, glutamate decarboxylase (GAD)의 L-glutamate의 탈탄산 반응에 의해 CO₂와 함께 생성되며, pyridoxal-5'-phosphate dependent 경로로 합성되는 것으로 알려져 있다.

주관기관인 (주)미래생명자원 신소재연구소에서는 다년간 GABA 이용한 *in vivo* 실험 연구를 진행하면서 GABA가 EPO 생성을 촉진하는 결과를 여러 차례 확인하였다. 또한, EPO 증가 뿐 만 아니라 적혈구에서도 그 수가 증가하는 것을 확인하였다. Rat을 이용한 GABA의 음수첨가 실험에서 3주간 섭취시켰을 때 GABA 첨가군에서 유의적인 EPO 증가를 확인하였고, 나아가 적혈구 수치도 증가하는 것을 확인하였다. 또한, 유전자 발현분석과 Western blot을 이용한 단백질 발현 분석에서도 GABA 섭취 시, EPO 생성 유전자와 EPO-Receptor의 유전자의 발현과 그에 따른 단백질 발현이 증가하는 것을 확인하였다. 실험동물의 신장 조직에서 면역염색 microscopy 검경 결과, 유의한 EPO와 EPO-Receptor의 발현 증가를 확인하였다.

또한, 양돈 실험에서도 GABA 섭취 시 혈액분석결과에서 유의한 EPO 증가를 확인하였다. 이유자돈, 포유 모돈, 육성돈 세 가지 시기별 양돈에게 GABA를 사료에 50ppm 첨가 시, 모든 시험군에서 EPO의 유의적인 증가를 확인하였으며, 그 외에도 사료 효율이 개선되는 결과를 얻을 수 있었다.

※ Erythropoietin (EPO)

EPO란 사람의 신장에서 주로 생성되는 조혈인자로서 적혈구 계열 전구세포의 성장 및 분화를 촉진시켜 성숙한 적혈구의 생성을 도와주는 역할을 하는 호르몬이며, 전 세계 인구 5%에 해당하는 신부전증 유래의 빈혈환자 뿐 아니라 자가 수혈, 항암제 투여 및 AIDS 치료 시의 빈혈 치료를 위하여 사용되는 의약품이다. EPO는 세계 바이오시밀러 시장에서 가장 크게 연구 및 개발되고 있는 제제이며, 1g에 67만 달러에 거래되는 초고가의 의약품 성분이다.



(그림) EPO의 조혈작용 모식도

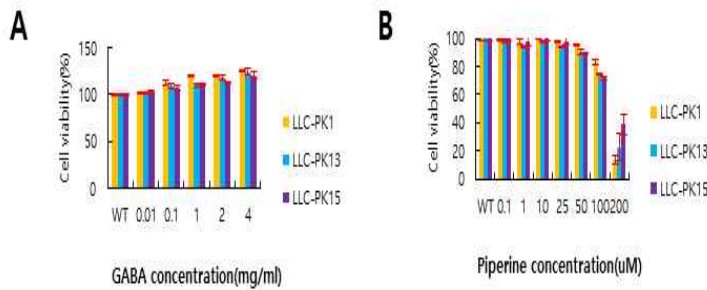
○ 선행 연구 - 게재된 논문 중심으로.



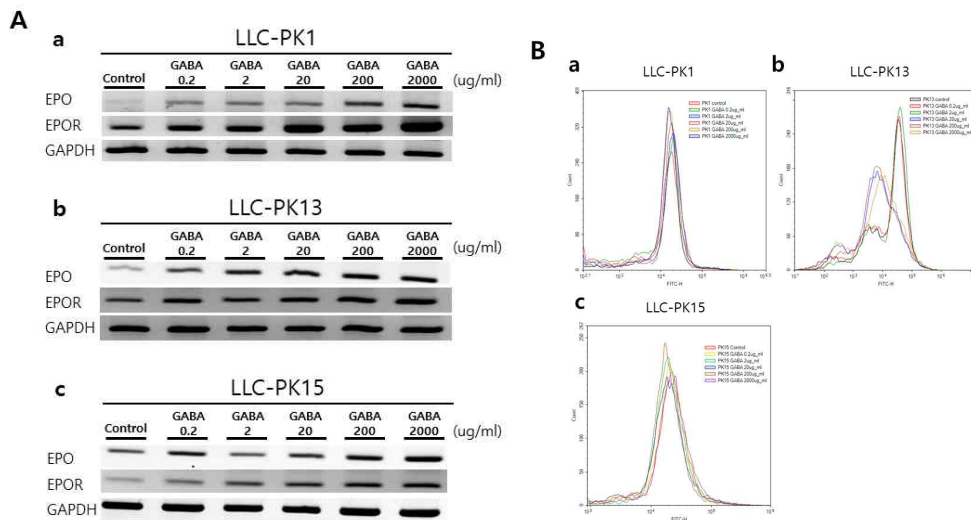
Induction of functional erythropoietin and erythropoietin receptor gene expression by gamma-aminobutyric acid and piperine in kidney epithelial cells



① 돼지 신장세포와 면역세포로부터 유래된 LLC-PK1, LLC-PK3, LLC-PK15 세포를 사용하여 GABA와 piperine을 농도별로 처리 시 세포독성과 분화를 확인

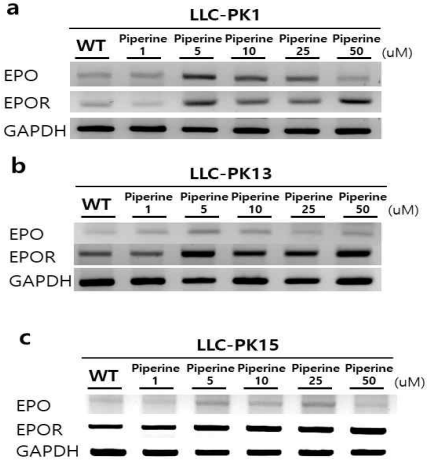


② 돼지 신장세포주에 GABA 처리시 EPO와 EPO receptor의 mRNA 및 단백질 변화 분석



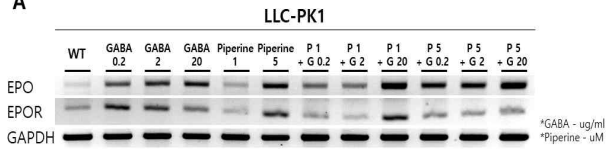
③ 돼지 신장세포주에 piperine 처리시 EPO와 EPO receptor의 mRNA 및 단백질 변화 분석

A

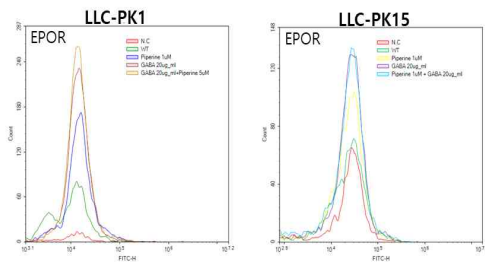


④ 돼지 신장세포주에 GABA와 piperine 시너지 효과 확인

A

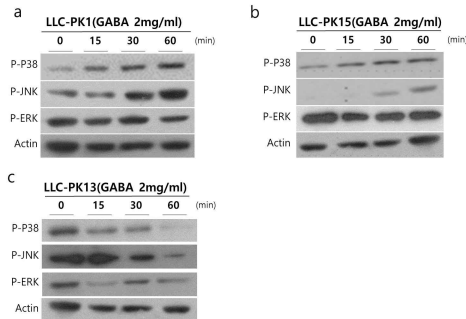


B

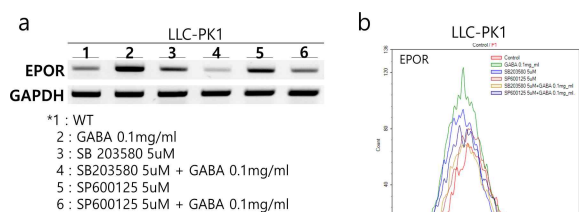


⑤ GABA의 EPO, EPOR 발현 기전과 MAPK pathway의 관련성에 대하여 연구

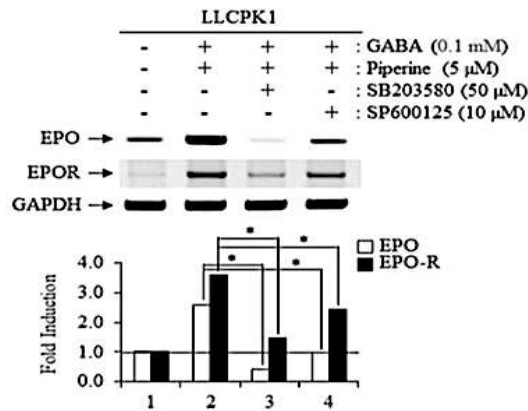
A



B

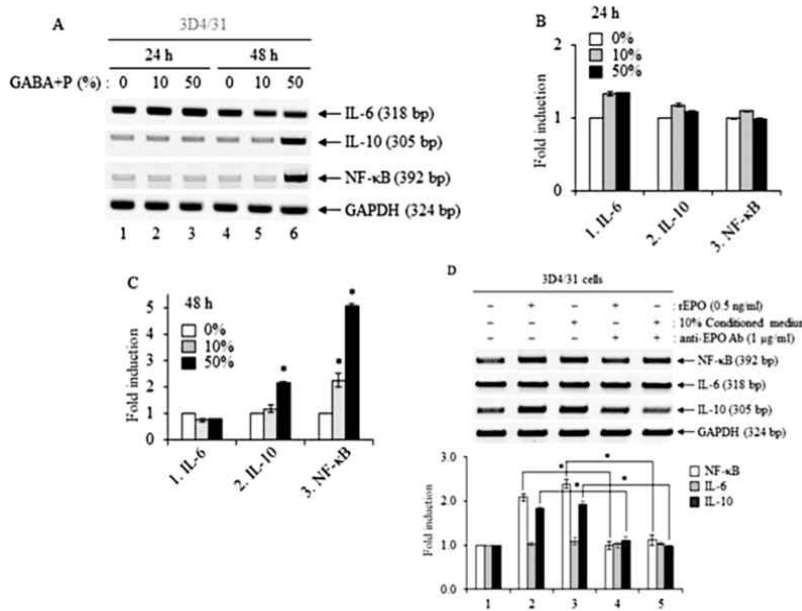


⑥ Co-treatment의 작용이 저해제에 의해 p38, JNK 그리고 ERK의 인산화 변화를 western을 통하여 확인

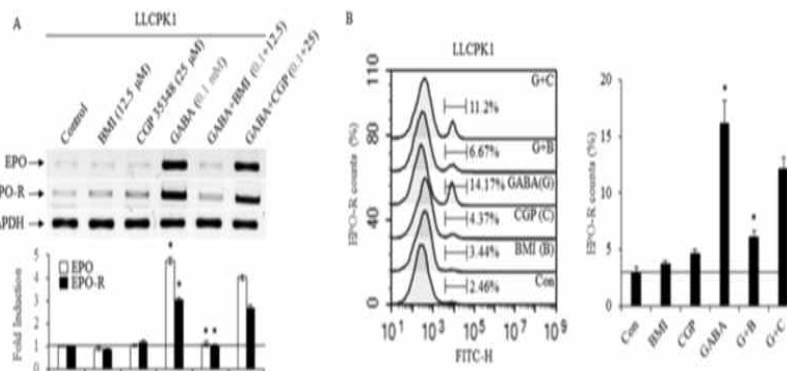


-GABA+piperine에 의한 발현 변화는 MAPK의 p38과 JNK pathway와 연관되어 있음을 확인

⑦ GABA + piperine이 macrophage cell line에서 염증성 및 항염증성 유전자의 발현 및 관여 receptor protein 조사



⑧ LLCPK1 세포에서 GABA 및 그의 저해제를 사용하여 GABA A receptor를 통해 조절되는 것을 확인



Gamma Aminobutyric Acid Increases Absorption of Glycine-Bound Iron in Mice with Iron Deficiency Anemia

-철결핍성 유도 마우스에 GABA와 유기태 철분의 병용투여가 철분흡수를 증진 연구

① 철 결핍 마우스에서 GABA와 유기태 철분의 병용투여 후 정상 사료섭취군 정도의 체중 회복 효과

Group	Body weight (g)		Body weight gain (g/day)	Feed intake (g/day)	FER (%)
	Initial	Final			
NC	18.3 ± 0.4	29.5 ± 3.6 [#]	0.19 ± 0.05 [#]	1.5	12.49 ± 3.81
PC	18.4 ± 0.6	25.6 ± 3.2 [*]	0.12 ± 0.04 [*]	0.8	14.98 ± 3.89
G0.5	18.2 ± 1.2	25.5 ± 3.6 [*]	0.12 ± 0.04 [*]	0.8	15.21 ± 4.04
G1	18.6 ± 0.4	26.3 ± 1.8 [*]	0.13 ± 0.02 [*]	0.9	14.17 ± 3.75
G2	18.1 ± 0.8	26.9 ± 4.9 [*]	0.15 ± 0.07 ^{*#}	1.1	13.29 ± 4.31
IO	18.3 ± 0.4	29.2 ± 1.7 [*]	0.18 ± 0.02 [#]	1.3	13.97 ± 1.65
O	18.2 ± 0.4	29.7 ± 4.5 [#]	0.19 ± 0.07 [#]	1.3	14.69 ± 4.32
G2+O	18.4 ± 0.5	30.9 ± 2.4 [#]	0.21 ± 0.03 [#]	1.6	13.00 ± 2.57

Data are expressed as mean ± SD; NC, negative control (diet iron content of 45 ppm); PC, iron deficiency anemia (diet iron content of 4.5 ppm); G0.5, gamma aminobutyric acid (GABA) 0.5 mg/100 g body weight (BW)/day; G1, GABA 1 mg/100 g BW/day; G2, GABA 2 mg/100 g BW/day; IO, inorganic iron 0.4 mg/100 g BW/day; O, organic iron 0.4 mg/100 g BW/day; and G2+O, GABA 2 mg/100 g BW/day + organic iron 0.4 mg/100 g BW/day. * $P < 0.05$, compared with the negative control; # $P < 0.05$, compared with the positive control

② 철결핍 마우스에 GABA 및 유기태 철분의 단독 또는 병용투여 후 혈청, 간, 비장의 철분 축적

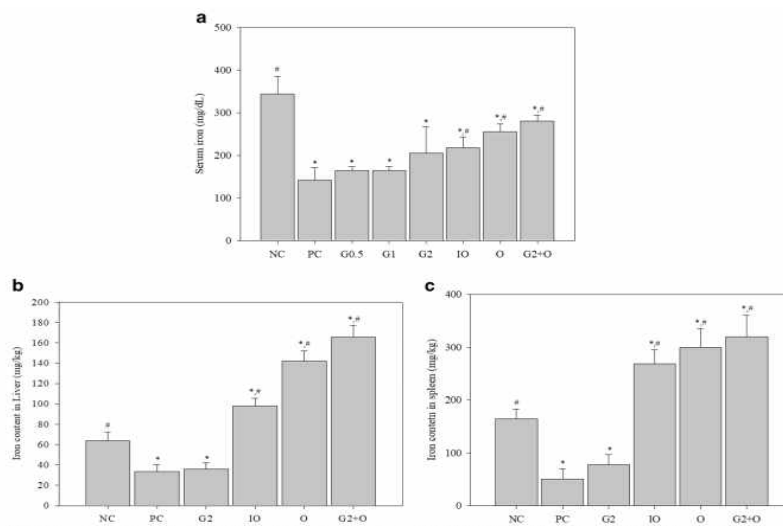


Fig. 1 Serum iron and iron contents in the liver and spleen of mice ($n = 8$) fed various concentrations of gamma aminobutyric acid (GABA) and two types of iron for 8 weeks. Data are expressed as mean ± SD of triplicate in each group. (A) Serum iron in mice, (B) iron content in liver tissue, and (C) iron content in spleen tissue. NC, negative control (diet iron content of 45 ppm); PC, iron deficiency anemia (diet iron content of 4.5 ppm); G0.5, GABA 0.5 mg/100 g body weight (BW)/day; G1, GABA 1 mg/100 g BW/day; G2, GABA 2 mg/100 g BW/day; IO, inorganic iron 0.4 mg/100 g BW/day; O, organic iron 0.4 mg/100 g BW/day; and G2+O, GABA 2 mg/100 g BW/day + organic iron 0.4 mg/100 g BW/day. * $P < 0.05$, compared with the negative control; # $P < 0.05$, compared with the positive control

③ 혈구분석 (적혈구, hemoglobin, HCT, MCV, MCH, MCHC 분석)

Table 4 Red blood cell index counts in mice fed various GABA concentrations and two types of iron for 8 weeks ($n = 8/\text{group}$)

Group	Red blood cells ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	Hemoglobin (g/dL)	HCT (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	RDW (%)
NC	10.8 \pm 0.7 [#]	16.0 \pm 0.6 [#]	55.1 \pm 0.6 [#]	55.1 \pm 1.4 [#]	15.6 \pm 0.9 [#]	30.1 \pm 0.7 [#]	13.4 \pm 0.3 [#]
PC	7.3 \pm 0.6 [*]	11.7 \pm 0.7 [*]	45.6 \pm 0.8 [*]	42.3 \pm 0.9 [*]	7.8 \pm 0.4 [*]	22.8 \pm 0.6 [*]	16.9 \pm 1.4 [*]
G0.5	7.6 \pm 0.5 [*]	12.6 \pm 1.0 [*]	50.4 \pm 1.4 [*]	48.7 \pm 1.5 [*]	8.8 \pm 0.4 [*]	25.3 \pm 0.5 [*]	16.5 \pm 0.9 [*]
G1	8.4 \pm 0.7 [*]	13.0 \pm 0.5 [*]	51.4 \pm 2.7 [*]	47.8 \pm 1.0 [*]	8.9 \pm 0.3 [*]	25.2 \pm 0.3 [*]	15.1 \pm 1.1 ^{*,#}
G2	8.7 \pm 0.4 [*]	13.2 \pm 0.4 [*]	51.5 \pm 0.9 [*]	49.7 \pm 0.8 [*]	10.2 \pm 0.4 [*]	25.1 \pm 0.7 [*]	14.6 \pm 1.4 ^{*,#}
IO	9.7 \pm 0.4 [*]	13.5 \pm 0.6 [*]	57.2 \pm 0.4 [*]	54.1 \pm 0.4 [#]	14.1 \pm 0.6 [#]	27.4 \pm 0.6 [*]	14.3 \pm 0.1 ^{*,#}
O	9.9 \pm 0.6 [*]	14.5 \pm 0.6 [*]	58.0 \pm 1.4 [#]	55.3 \pm 0.9 [#]	14.5 \pm 0.4 [#]	27.4 \pm 0.4 [*]	13.8 \pm 0.4 [#]
G2+O	10.7 \pm 0.6 [#]	15.8 \pm 0.6 [#]	60.2 \pm 1.8 [#]	56.0 \pm 0.9 [#]	14.9 \pm 0.4 [#]	27.6 \pm 0.7 [*]	13.6 \pm 0.7 [#]

Data are means \pm SD of triplicate in each group; NC, negative control (diet iron content of 45 ppm); PC, iron deficiency anemia (diet iron content of 4.5 ppm); G0.5, GABA 0.5 mg/100 g body weight (BW)/day; G1, GABA 1 mg/100 g BW/day; G2, GABA 2 mg/100 g BW/day; IO, inorganic iron 0.4 mg/100 g BW/day; O, organic iron 0.4 mg/100 g BW/day; G2+O, GABA 2 mg/100 g BW/day+organic iron 0.4 mg/100 g BW/day; HCT, hematocrit; MCV, mean corpuscular volume; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; and RDW, red blood cell distribution width. ^{*} $P < 0.05$, compared with the negative control; [#] $P < 0.05$, compared with the positive control

- GABA + 유기태철분 투여그룹에서 적혈구, Hb 수치가 정상사료군 수준으로 회복

④ 백혈구 분석 (WBC, neutrophil, lymphocytes, monocytes, eosinophils, basophils)

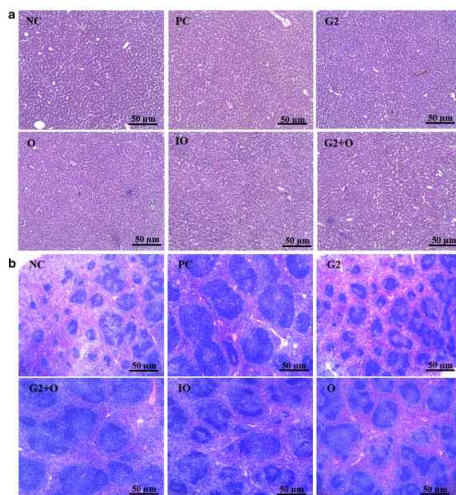
Table 5 White blood cell differential counts in mice fed various GABA concentrations and two types of iron for 8 weeks ($n = 8/\text{group}$)

Group	White blood cells ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	Neutrophils (%)	Lymphocytes (%)	Monocytes (%)	Eosinophils (%)	Basophils (%)
NC	3.4 \pm 1.4	18.3 \pm 5.6	75.5 \pm 5.8	1.3 \pm 0.3	4.5 \pm 1.9	0.43 \pm 0.33
PC	3.5 \pm 1.3	8.7 \pm 3.5	78.3 \pm 25.2	1.0 \pm 0.4	3.7 \pm 1.7	0.55 \pm 0.28
G0.5	3.1 \pm 1.8	13.7 \pm 3.9	77.7 \pm 3.2	1.6 \pm 0.7	3.0 \pm 2.3	0.59 \pm 0.30
G1	3.3 \pm 1.9	15.1 \pm 6.5	78.9 \pm 3.5	1.5 \pm 0.6	4.7 \pm 2.8	0.83 \pm 0.54
G2	3.3 \pm 1.6	11.7 \pm 4.2	78.6 \pm 4.2	1.6 \pm 0.8	6.6 \pm 6.0	0.75 \pm 0.77
IO	3.4 \pm 1.8	18.6 \pm 5.1	79.1 \pm 3.6	1.6 \pm 0.7	4.5 \pm 2.1	0.50 \pm 0.27
O	3.1 \pm 1.1	13.6 \pm 6.3	80.5 \pm 3.6	2.1 \pm 1.0	4.9 \pm 5.8	0.45 \pm 0.21
G2+O	2.9 \pm 1.3	11.4 \pm 2.8	81.8 \pm 4.3	1.7 \pm 1.0	8.4 \pm 12.5	0.70 \pm 0.6

Data are mean \pm SD of triplicate in each group; NC, negative control (diet iron content of 45 ppm); PC, iron deficiency anemia (diet iron content of 4.5 ppm); G0.5, GABA 0.5 mg/100 g BW/day; G1, GABA 1 mg/100 g BW/day; G2, GABA 2 mg/100 g BW/day; IO, inorganic iron 0.4 mg/100 g BW/day; O, organic iron 0.4 mg/100 g BW/day; and G2+O, GABA 2 mg/100 g BW/day+Organic iron 0.4 mg/100 g BW/day

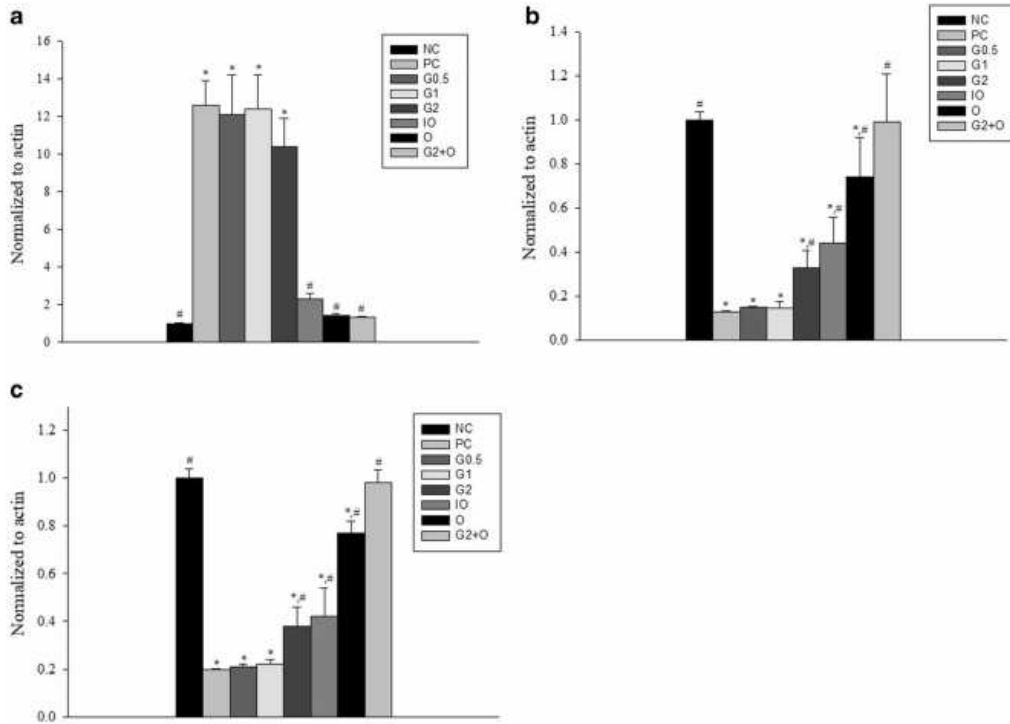
- 백혈구 및 그 소분류 세포에 영향을 주지 않음

⑤ 간 및 비장의 H&E stain 결과



- 간, 및 비장에 조직학적 영향을 미치지 않음.

⑥ 철분 흡수 관련 유전자 발현 (DMT-1, transferrin, transferrin receptor)



○ Gamma-aminobutyric acid increases erythropoietin through overexpression of hypoxia-inducible factors in rats (Biomolecule, submitted)

- 일반 rat에 GABA의 투여가 erythropoiesis에 미치는 영향 연구

① GABA 3 주간 급여 시 혈청 내 EPO 수치 변화

Table 1. Effects of GABA on serum erythropoietin in rats.

	NC	G50	G100	G200
Erythropoietin (mIU/mL)	59.9 ± 10.3	97.2 ± 10.7**	97.7 ± 11.2**	120.1 ± 14.9***

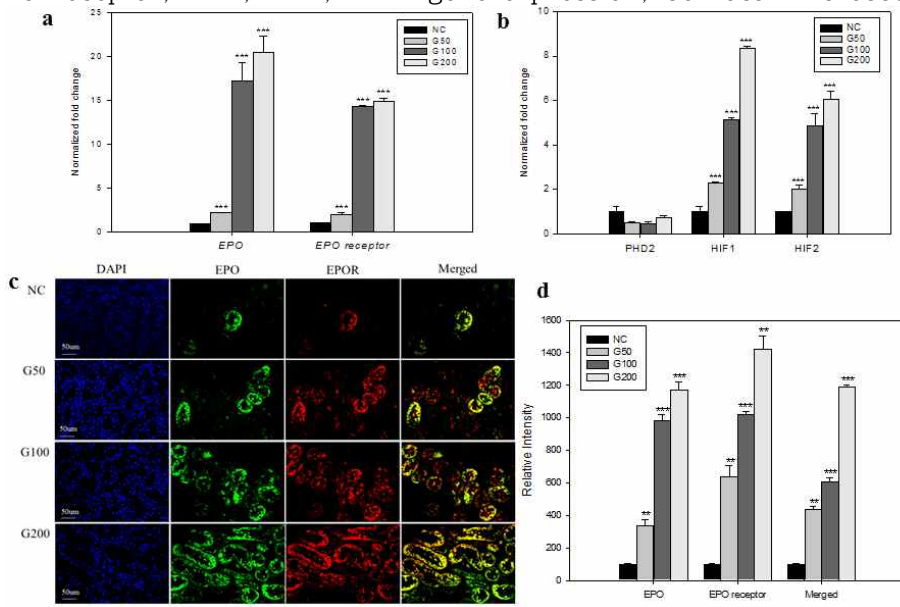
② GABA 3 주간 급여 시 적혈구 생성 증가

Table 2. The Red blood cell indices counts in rat fed various GABA concentrations for 3 weeks.

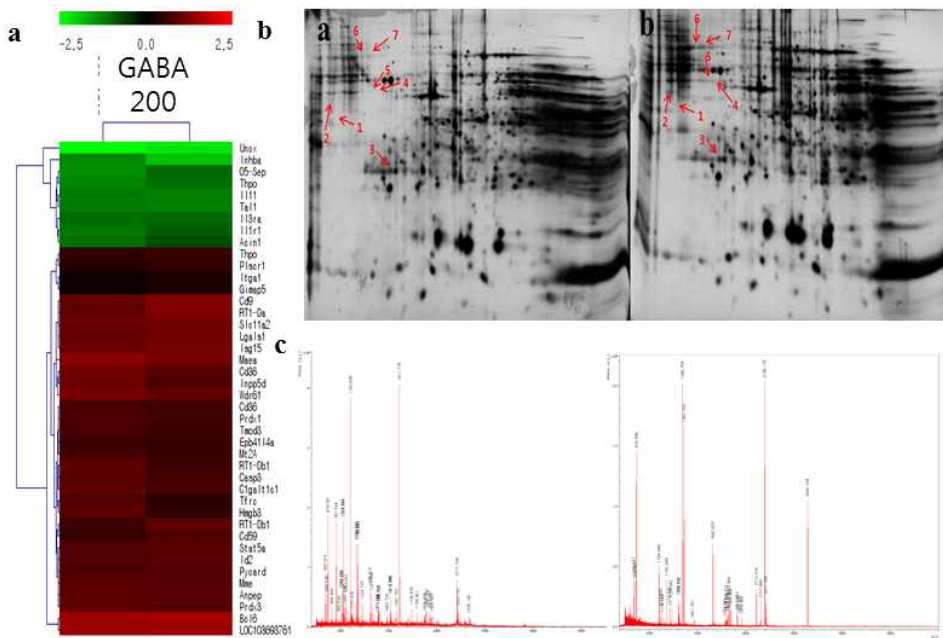
Group	Red blood cell (10 ³ /mm ³)	MCV (fl)	HCT (%)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	Hemoglobin (g/dL)	PLT (K/uL)
NC	5.9 ± 0.23	60.0 ± 2.57	37.2 ± 1.52	22.1 ± 0.50	36.3 ± 1.42	13.5 ± 0.25	726.6 ± 74.81
G50	6.2 ± 0.13*	60.7 ± 1.60	37.1 ± 0.86	22.7 ± 2.07	37.7 ± 3.08	13.7 ± 0.29	757.6 ± 48.57
G100	6.2 ± 0.24	61.3 ± 1.01	37.4 ± 1.41	21.9 ± 1.12	36.1 ± 1.72	13.3 ± 0.32	679.5 ± 116.00
G200	6.3 ± 0.28*	60.7 ± 2.33	38.2 ± 1.98	22.1 ± 0.63	37.2 ± 1.66	13.5 ± 0.31	690.3 ± 188.65

NC, negative control; G50, 50 ppm GABA; G100, 100 ppm GABA; G200, 200 ppm GABA; MCV, mean corpuscular volume; HCT, hematocrit; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; PLT, platelet; *P < 0.05, Student's t-test, compared with the negative control.

③ EPO, EPO receptor, HIF1, HIF2, PHD2 gene expression, Confocal microscopy



④ 신장 조직 내 GABA 처리군 및 대조군의 단백질 2DE 분석 및 identification, 조직의 mRNA microarray



⑤ 2DE 분석 및 MALDI-TOF 분석 동정 (7개 단백질 발현 증가)

Table 3. MS identification of differentially expressed protein spots in GABA-treated rat kidney.

Spot NO.	Protein name	gi NO. ^a	Matched peptides	Protein sequence coverage (%)	Protein score	Molecular weight (Dalton)	Expression fold ^b
1	NADH dehydrogenase 1 alpha subcomplex subunit 9 (Ndufa9)	564349298	21	43	188	42252	239.3
2	DOPA decarboxylase, isoform CRA_b (Ddc)	149016961	15	33	131	55109	256.7
3	Leukemia inhibitory factor (Lif)	4235628	8	23	70	35344	48.6
4	isocitrate dehydrogenase[NADP], mitochondrial precursor (Idh2)	62079055	12	29	99	51391	23.2
5	Serum albumin (Alb)	124028612	26	39	238	70682	4.3
6	transketolase isoform X1 (Tkt)	564387998	16	40	113	68314	5.7
7	succinate dehydrogenase, flavoprotein subunit (Sdha)	18426858	17	35	102	72596	4.8

^agi NO.: GenInfo Identifier. ^bExpression fold: the fold of differentially expressed proteins of the 200 ppm GABA-treated group versus the control group.

⑥ 동정된 단백질의 GO enrichment analysis

Table 4. The GO enrichment analysis of differentially expressed proteins.

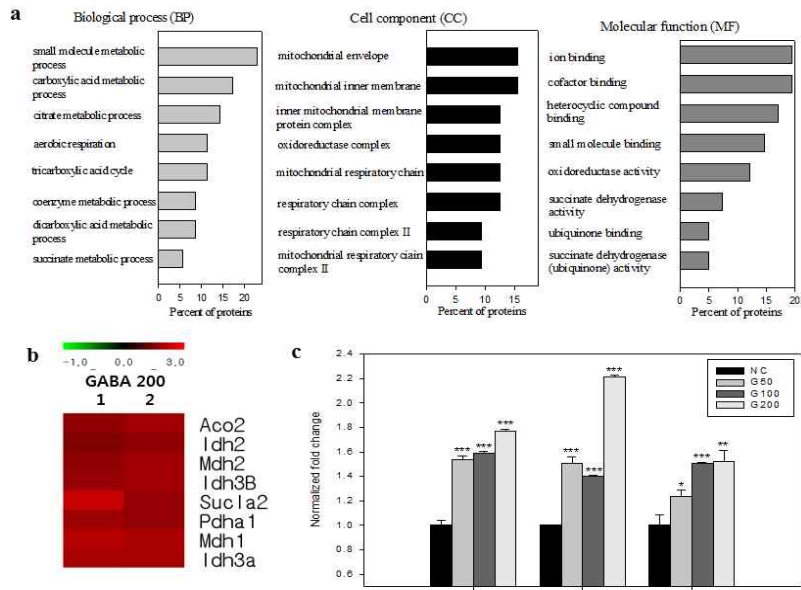
GO name	Pathway ID	Genes	Count	P-value
Molecular function (MF)				
cofactor binding	GO.0048037	Acly, Alb, Ddc, Idh2, Sdha, Sdhb, Sdhc, Tkt	8	1.81E-11
succinate dehydrogenase activity	GO.0000104	Sdha, Sdhb, Sdhc	3	1.83E-07
succinate dehydrogenase (ubiquinone) activity	GO.0008177	Sdha, Sdhb	2	0.000279
ubiquinone binding	GO.0048039	Sdhb, Sdhc	2	0.000419
oxidoreductase activity	GO.0016491	Idh2, Ndufa9, Sdha, Sdhb, Sdhc	5	0.000629
ion binding	GO.0043167	Acly, Alb, Ddc, Idh2, Sdha, Sdhb, Sdhc, Tkt	8	0.00279
small molecule binding	GO.0036094	Acly, Alb, Ddc, Idh2, Sdha, Tkt	6	0.00707
heterocyclic compound binding	GO.1901363	Acly, Alb, Ddc, Idh2, Sdha, Sdhc, Tkt	7	0.00707
organic cyclic compound binding	GO.0097159	Acly, Alb, Ddc, Idh2, Sdha, Sdhc, Tkt	7	0.00727
coenzyme binding	GO.0050662	Idh2, Sdha, Tkt	3	0.0104
metal ion binding	GO.0046872	Acly, Alb, Idh2, Sdhb, Sdhc, Tkt	6	0.0148
pyridoxal phosphate binding	GO.0030170	Alb, Ddc	2	0.0241
binding	GO.0005488	Acly, Alb, Ddc, Lif, Sdha, Sdhb, Sdhc, Tkt	8	0.0494
Biological process (BP)				
citrate metabolic process	GO.0006101	Acly, Idh2, Sdha, Sdhb, Sdhc	5	5.71E-09
tricarboxylic acid cycle	GO.0006099	Idh2, Sdha, Sdhb, Sdhc	4	1.19E-06
small molecule metabolic process	GO.0044281	Acly, Ddc, Idh2, Ndufa9, Sdha, Sdhb, Sdhc, Tkt	8	2.48E-06
aerobic respiration	GO.0009060	Idh2, Sdha, Sdhb, Sdhc	4	3.49E-06
carboxylic acid metabolic process	GO.0019752	Acly, Ddc, Idh2, Sdha, Sdhb, Sdhc	6	7.41E-05

⑦ Significantly enriched KEGG pathway

Table 5. Significantly enriched KEGG pathways of differentially expressed proteins.

Pathway ID	Pathway name	Gene symbol
20	Citrate cycle (TCA cycle)	Acly, Idh2, Sdha, Sdhb, Sdhc, Sdhc
1100	Metabolic pathways	Acly, Ddc, Idh2, Ndufa9, Ndufab1, Sdha, Sdhb, Sdhc, Sdhc, Tkt
1200	Carbon metabolism	Idh2, Sdha, Sdhb, Sdhc, Sdhc, Tkt
190	Oxidative phosphorylation	Ndufa9, Ndufab1, Sdha, Sdhb, Sdhc, Sdhc
5012	Parkinson s disease	Ndufa9, Ndufab1, Sdha, Sdhb, Sdhc, Sdhc
4932	Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)	Ndufa9, Ndufab1, Sdha, Sdhb, Sdhc, Sdhc
5010	Alzheimer s disease	Ndufa9, Ndufab1, Sdha, Sdhb, Sdhc, Sdhc
5016	Huntington s disease	Ndufa9, Ndufab1, Sdha, Sdhb, Sdhc, Sdhc
1120	Microbial metabolism in diverse environments	Acly, Idh2, Tkt
1230	Biosynthesis of amino acids	Idh2, Tkt

⑧ EPO pathway 관련 Gene Ontology 분석 (mRNA microarray)



⑨ GABA가 TCA cycle에 관여하며, ATP 생성 관여 및 NADH dehydrogenase 활성 증가 시킴

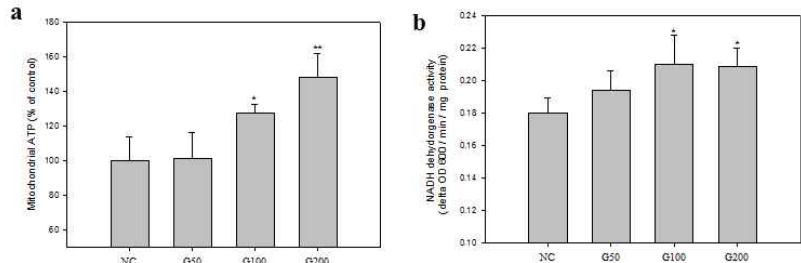
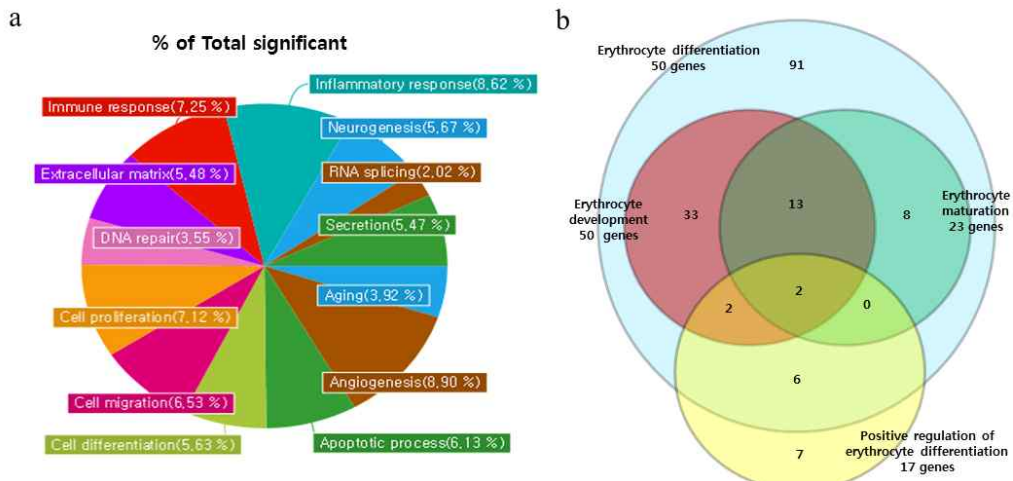


Figure 4. Effects of GABA on the content of ATP production and NADH dehydrogenase activity from kidney mitochondria. (A) ATP quantification assay. (B) NADH dehydrogenase activity assay. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared with control group.

⑩ Microarray 결과 유의적 발현 유전자들의 주요 카테고리 및 EPO 생성 관련 유전자의 수



○ GABA와 piperine이 돼지 신장세포주에서 유전자 regulation에 관한 연구(Epub ahead print)

Effects of gamma-aminobutyric acid and piperine on gene regulation in pig kidney epithelial cell lines

Juhyun Shin, Yoon-Mi Lee, Jeongheon Oh, Seunghwa Jung, Jae-Wook Oh

Received September 25, 2019. Accepted December 24, 2019

○ 실제 양돈 농가 실험 결과

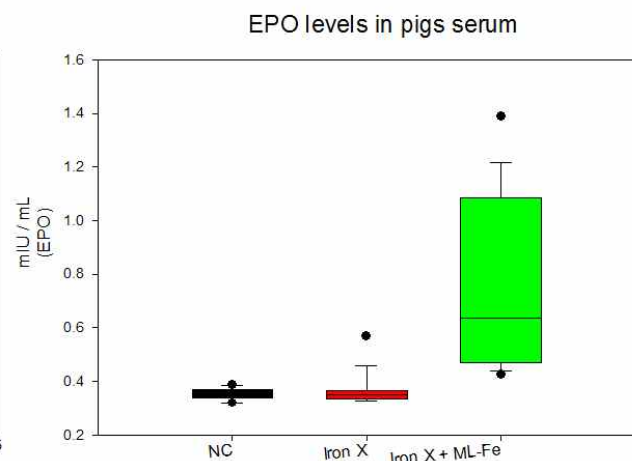
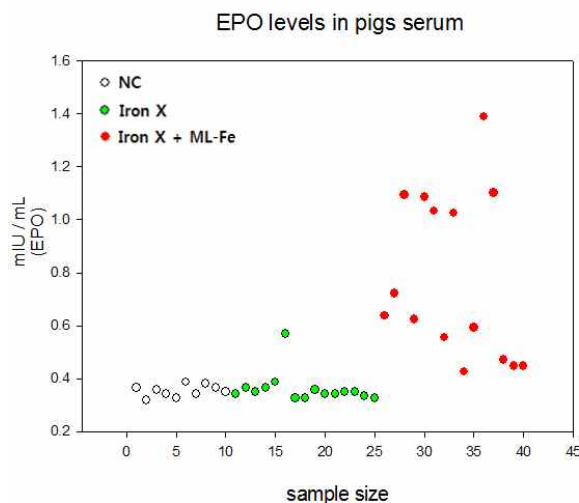
- 이천 소재 D축산 농가 1차 실험

D 축산 1차 예비실험 64일령 계체 결과		
	철분주사	철분주사 X(GABA-Fe)
체중 (kg)	대조군	실험군
64일령	17.9	17.8

- 이천 소재 D축산 농가 2차 실험

D 축산 2차 실험 19, 49일령 계체 결과			
	철분주사	철분주사 X(무첨가)	철분주사 X(GABA-EPO)
체중 (kg)	대조군	실험군	실험군
19일령	6.03	5.56	5.43
49일령	14.8	12.5	14.8

- 자돈 혈액 내 EPO 수치

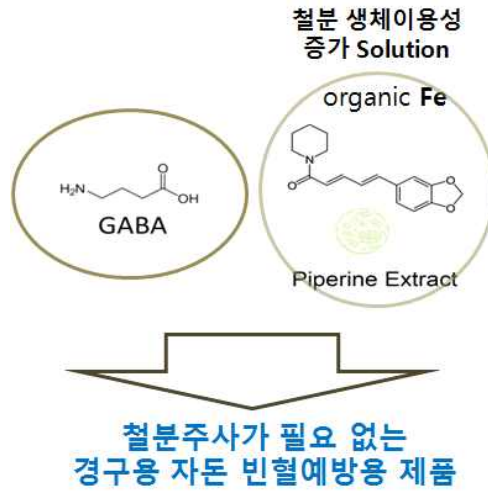


- 실제 농가에서 철분주사를 처치하지 않고 GABA 및 유기태 철분을 급여하였을 때, 초기 약 20일령에는 약간의 체중감소가 있었으나, 50일령에는 철분주사군의 체중을 회복하였음.

- 혈액 내 EPO 수치 역시 유의하게 증가하였음.

→ 사료회사 및 실제 농가를 설득하기 위해선 필드실험 데이터의 확장 및 검증 필요

- 본 과제에 목표는 GABA의 EPO 증가 효능과 유기태 철 및 철분 흡수증진 제제 등의 철분 생체이용성 (bioavailability) 증가 solution을 이용하여, 적용 단계는 임신돈, 포유모돈, 이유자돈의 사료 혹은 음수에 첨가하는 경구용 자돈 빈혈 예방 제품의 개발이다.



2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행 내용

○ 양돈 필드실험 및 품질관리 시스템 구축 (확증실험)

- GABA와 유기태 철분 급여를 통한 양돈 필드실험 수행
- 양돈 필드실험 3회 수행
- 1회 수행시 처리구 당 모든 5두 및 자돈 약50두 목표
- 3회 중 1회는 자돈 도축 및 신장 조직 분석, 혈액 분석
- 실험농장의 실제 인력, 시간, 주사제 비용 포괄 조사 및 경구첨가제 금액 비교
- 양돈 실험 전 모든 농장의 구제역 바이러스, 돼지열병 바이러스, 돼지델타코로나 바이러스 검사

가. GABA와 유기태철분 급여를 통한 양돈 필드실험 수행 - 3회

1) 1차 실험 (예비실험)

실험목적	가바론(GABA+iron)의 자돈철분 주사 대체 가능성 평가		
실험 기간	2018.07 - 2018.09		
실험 방법	a. 실험 동물 : 모든 및 출산 자돈 b. 실험 장소 : 이천 D 축산 c. 실험 설계 : 2 treats x 3 rep. x 10 heads (60두) d. 섭취 방법 : 모든 사료 분만 10일 전 첨가, 자돈 이유시기까지 첨가 e. 첨가량 : 0.1% 가바론 f. 측정 시기 : 자돈 54일령		
결과			
a. 체중 (kg)			
일령	정상군 (철분주사)	가바론 (주사 X)	
54일	17.9	17.8	
비고	-예비실험으로 positive control group을 두지 않고 진행. 철분주사와 철분제를 급여하지 않은 그룹에서 집단 폐사가 발생할 수 있는 위험이 있으므로 정상군(Negative control)과 실험군으로 진행 -체중 측정시기도 예비실험이기 때문에 종료 시 1회만 측정하였음 -추후 본 실험에서 채혈을 진행 할 예정임		

2) 2차 실험

실험목적	가바론(GABA+iron)의 자돈철분 주사 대체 가능성 평가		
실험 기간	2018.09 - 2018.11		
실험 방법	a. 실험 동물 : 모돈 및 출산 자돈 b. 실험 장소 : 이천 D 축산 c. 실험 설계 : 3 treats x 3 rep. x 10 heads (90두) d. 섭취 방법 : 모돈 사료 분만 10일 전 첨가, 자돈 이유시기까지 첨가 e. 첨가량 : 0.1% 가바론 f. 측정 시기 : 자돈 19, 49일령, 25일령 채혈 수행		
결과			
a. 체중 (kg)			
일령	정상군 (철분주사)	가바론 (주사 X)	무첨가 (주사 X)
19일	6.03 ± 1.02	5.56 ± 0.85	5.43 ± 0.93
49일	14.8 ± 1.84	14.8 ± 2.03	12.5 ± 2.31
b. 혈액 분석 (25일령)			
Group	Fe (ug/dL)	RBC (x 10 ⁶ cells/uL)	Hemoglobin (g/dL)
정상군	196.0 ± 21.4	6.3 ± 0.22	13.1 ± 2.04
가바론	124.1 ± 15.4	5.9 ± 0.18	10.1 ± 1.29
무첨가	38.8 ± 2.7	5.4 ± 0.30	7.8 ± 0.54
c. 혈액 내 Erythropoietin 수치 (mIU/mL)			
<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;"> <p>EPO levels in pigs serum</p> </div> <div style="text-align: center;"> <p>EPO levels in pigs serum</p> </div> </div>			

3) 본실험 2차

실험목적	가바론(GABA+iron)의 자돈철분 주사 대체 가능성 평가
실험 기간	2020.12 - 2021.01
실험 방법	a. 실험 동물 : 모돈 및 출산 자돈 b. 실험 장소 : 이천 M 양돈 농장 c. 실험 설계 : 3 treats x 5 rep. x 10 heads (150두) d. 섭취 방법 : 자돈 이유시기까지 첨가 (14일간) e. 첨가량 : 0.1% 가바론 f. 측정 시기 : 자돈 23, 43일령, 25일령 채혈 수행, 해부 수행

결과			
a. 체중 (kg)			
일령	정상군 (철분주사)	가바론 (주사 X)	무첨가 (주사 X)
생시	1.3	1.3	1.3
23일	7.0 ± 1.11	6.8 ± 1.07	5.9 ± 1.28
43일	13.9 ± 2.40	14.0 ± 1.25	11.8 ± 2.37
Δ체중 (종료-생시)	12.6	12.7	10.5

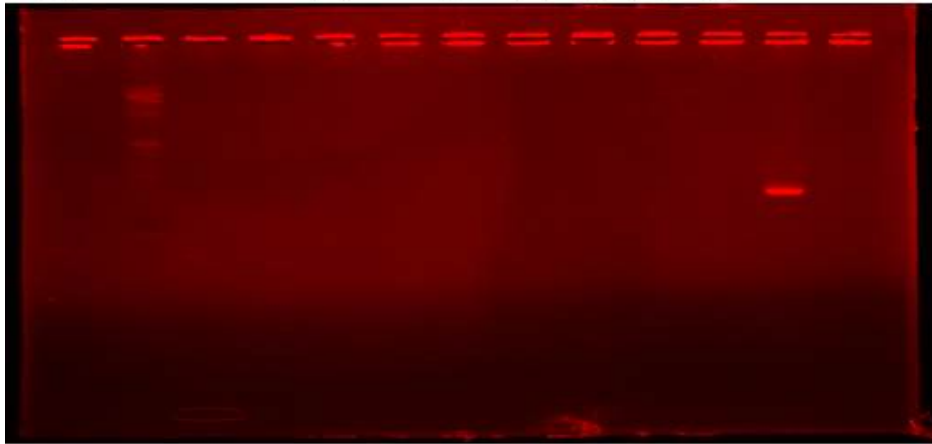
b. 해부
- 자돈 23일령 각 처리군 당 3두 해부



- 해부 후 신장 적출, 건국대학교 전달

c. 바이러스 검사 결과 - 구제역 바이러스

S1 M S2 S3 P1 P2 P3 P4 P5 P6 P7 PC NC

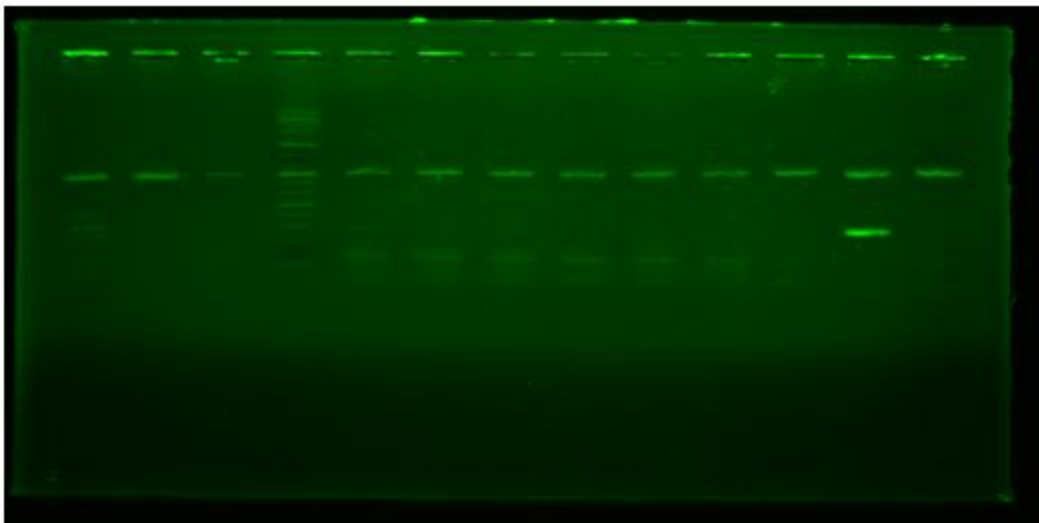


S: sow, 모돈 P: piglet, 자돈

- 모든 혈액 내에서 구제역 바이러스 검출 안됨

c. 바이러스 검사 결과 - 돼지 열병 바이러스

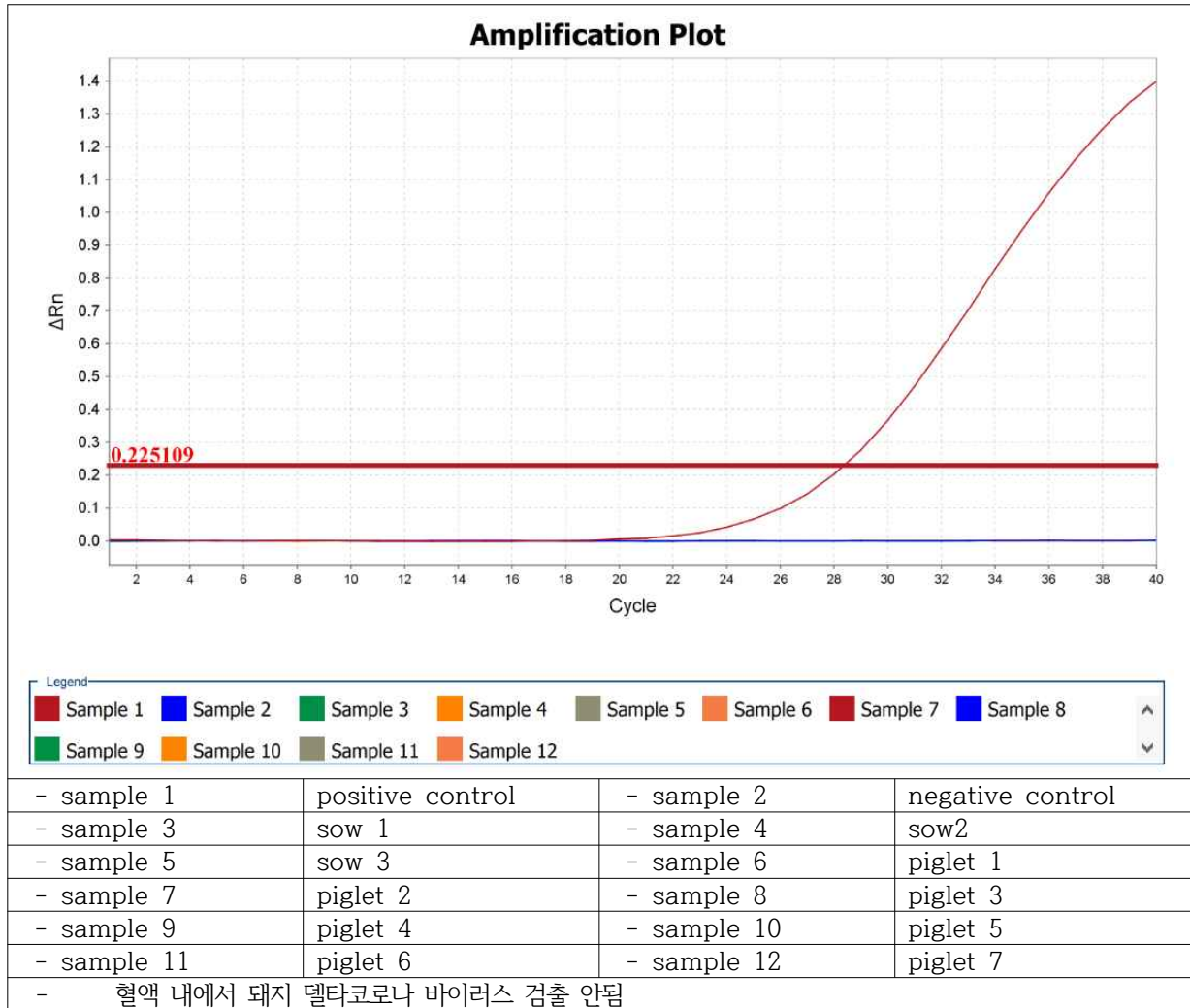
S1 S2 S3 M P1 P2 P3 P4 P5 P6 P7 PC NC



S: sow, 모돈 P: piglet, 자돈

- 모든 혈액 내에서 구제역 바이러스 검출 안됨

c. 바이러스 검사 결과 - 돼지 델타코로나 바이러스



3)-1 실험 농가 내 바이러스 검사

가) 동물실험의 적절한 관리와 신뢰성

- , 바이오 연구의 활성화로 인해 실험동물의 이용한 전임상 연구의 중요성이 부각되고 있고, 설치류 뿐만 아니라 중대동물 및 영장류를 이용한 다양한 실험이 진행되며, 연구기관 간 실험 동물의 이동, 검역 등의 행위가 증가하고 있다.
- 실험동물을 이용한 동물실험을 진행하거나 관리하는데 있어서는 실험동물 및 동물실험의 적절한 관리를 통하여 동물실험에 대한 윤리성 및 신뢰성을 높여 생명과학 발전과 국민 보건 향상에 이바지 함을 목적으로 동물의 생명 존중 등 국민의 정서를 함양하는 데에 이바지함을 목적으로 하는 동물보호법이 이에 관한 규정의 근간을 이루고 있다.

나) 신생자돈의 철분 공급

- 신생자돈의 영양소 고급원인 모유에는 철분이 함유되어 있기는 하나 급격히 성장하는 데 필요한 철분 요구량에는 턱없이 부족하다. 따라서 생후 3일 이내에 철분 주사를 목이나 엉덩이 부위에 근육주사를 한다. 돼지가 태어나서 처음 겪게 되는 투약은 몸에서 무언가가 떨어져 나가는 경험을 할 정도로 고통을 수반한다.
- 갓 태어난 돼지의 빈혈은 양돈 시스템이 현대적으로 발전되어 온 결과 필연적으로 발생할 수 밖에 없는 문제이다. 돼지가 철분을 섭취하는 원천인 흙으로부터 구조적으로 차단되어 있기 때문이다.

다) 빈혈예방과 철분주사

- 주사는 빈혈을 예방하기 위해 노동력 측면에서 쉽지는 않지만 철분 투여의 균일도 면에서 예측 가능한 수준이기 때문에 빈혈의 예방에 효과적이다. 돼지에게 철분이 빈혈을 예방하는 필수적인 영양물질이라고 해도 과용량은 독성을 갖고 있다. 경구로 섭취하는 것은 일반적으로 안전하다. 체내 흡수에 내재적인 방어기전이 작동하기 때문이다.

4) 양돈 고위험군 바이러스 검사

- 본 위탁연구에서는 실험에 사용된 모돈과 자돈의 질병여부를 검사하고, 그 실험결과에 대한 신뢰성을 검증하기 위해 수행하였다. 실험 농장의 모돈 및 자돈의 혈액을 채혈하여 한국에서 발생하는 고위험군 바이러스를 PCR을 사용하여 검사하였다. 검사 바이러스 항목은 구제역 (foot and mouth disease), 아프리카 돼지열병 (ASFV; african swine fever virus), 돼지델타코로나 바이러스 (PDCov, porcine deltacoronavirus) 3종이었으며, 농장 별 10두를 선별하여 혈액 내 바이러스 유무를 검사하였다.

가) 구제역 바이러스

가)-1. 개요

- 구제역 바이러스는 소, 돼지, 양, 염소 및 사슴 등 발굽이 둘로 갈라진 동물(우제류)에 감염되는 질병으로 전염성이 매우 강하며 입술, 혀, 잇몸, 코 또는 지간부 등에 물질(수포)이 생기며, 체온이 급격히 상승되고 식욕이 저하되어 심하게 앓거나 어린 개체의 경우 폐사가 나타나는 질병이다. 세계 동물보건기구에서 지정한 중요 가축 전염병으로 가축전염예방법 제1종 가축전염병에 속한다.

가)-2. 사용 검사 kit

- 본 kit는 유전적 데이터베이스를 기초로 구제역바이러스의 비 구조단백질을 직접 검출하여 매우 신속 정확하게 검출 할 수 있도록 하였으며 3시간 만에 역전사 중합연쇄반응 (RT-PCR, Reverse transcription-polymerase chain reaction)을 이용하여 특이적인 유전자만을 증폭시키는 특징이 있어 매우 신속하고 신뢰할 수 있는 방법이다.

가)-3. 검사 원리

- 물의 수포액, 조직, 타액, 비즙 또는 혈액에서 구제역 바이러스 병원체를 검출하기 위해 역전사 중합효소연쇄반응으로 정성 검출하는 동물용 유전자 바이러스 검출 시약이다. 본 제품은 동물질병에 대한 병성감정에 필요한 시약으로 가축방역기관 중 구제역 정밀진단기관에서 사용하는 시약이다.

가)-4. 검사 방법

- 1) FMDV detection premix를 분석에 필요한 개수만큼 꺼내어 clean bench혹은 PCR table 상에 준비한다.
- 2) 각각의 tube에 DNase/RNase free water를 18uL씩 첨가한다.
- 3) 상기 tube에 준비한 추출된 핵산 용액 2uL씩 첨가한다. 또한 양성대조구의 경우 제품 내 포함되어 있는 positive control 2uL, 음성 대조구의 경우 water를 첨가한다.
- 4) Tube를 덮고 spin down 하여 첨가된 용액을 tube하단으로 모은 뒤 vortexing 하여 고르게 혼합한다.
- 5) 균질화된 혼합액을 다시 spin down하여 하단으로 모은 후 아래의 표와 같이 설정된 PCR을 수행한다.

6) 검사 결과 확인

[표] RT-PCR Cycling Condition

RT-PCR cycle		Temp.	Time
1 Cycle	Reverse transcription reaction	45°C	30 min.
	Inactivation of reverse transcriptase	94°C	5 min
35 Cycles	Denaturation	94°C	30sec
	Annealing	55°C	30sec
	Extension	72°C	45sec
1 Cycle	Final extension	72°C	5 min

1) Target Product Size : 326 bp

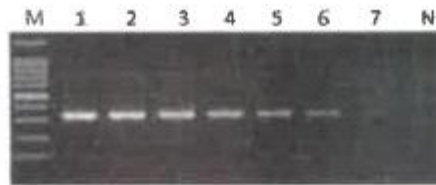


Fig 1. Electrophoresis of PCR product by LiliF™ FMDV type-U RT-PCR Kit
 Lane M, 100bp molecular ladder (iNtRON Biotechnology);
 Lane 1~7, FMDV type-U positive sample; Lane N, Negative control

) 구제역 바이러스

나)-1. 개요

- 돼지열병 바이러스는 치명적인 바이러스성 출혈성 돼지 전염병이다. 이병률이 높고 급성형에 감염되면 치사율이 거의 100%에 이르기 때문에 양돈 산업에 엄청난 피해를 주는 질병이다. 따라서 이 질병이 발생하면 세계동물보건기구에 발생 사실을 즉시 보고해야 하며 돼지와 관련된 국제교역도 즉시 중단되게 되어있다. 우리나라에서는 이 질병을 가축전염예방법상 제1종 법정전염병으로 지정하여 관리하고 있다. 이 병에 걸리면 고열, 설사, 변비 등과 함께 몸이 파랗게 변하고 비틀거리는 증상을 나타낸다. 주로 접촉을 통해 전염되며 전파속도가 빠르다. 하지만 소 등 다른 가축에게 전염되지 않고 인체에도 아무런 영향이 없다. 전 세계적으로 분포하지만, 북미, 오세아니아, 유럽의 일부에서는 박멸되어 거의 발생하지 않는다. 우리나라에서 발생 기록은 1996년 39건, 1997년에 20건 등이었다가 1999년 8월 용인을 마지막으로 국내에서 발생하지 않아 정부는 다시 2001년 12월 전국적으로 예방접종을 중단하였다. 그러나 2002년 봄에 돼지열병이 다시 발생하였고, 그 해 가을과 봄, 여름에 연이어 발생하였다.

나)-2. 사용 검사 kit

- LiliF ASFV RT -PCR kit

- 본 키트는 감염의심 돼지의 백혈구, 혈장, 전혈 및 감염된 돼지의 비장, 신장, 림프절 편도 등의 조직 검체로부터 돼지 전염성 위장염 바이러스와 유행성 설사 바이러스 병원체를 동시 검출하기 위해 역전사 중합효소반응으로 정성 검출하는 유전자 검출용 시약이다. 즉, 돼지열병 감염 의심돈의 백혈구, 혈장, 전혈 및 감염된 돼지의 비장, 신장, 림프절 편도 등의 조직 유제액으로부터 바이러스 유전자 추출키트를 이용하여 추출된 viral RNA로부터 제품 내 공급되는 양성대조물질을 첨가하여 신속하게 정성적으로 유전자를 검출할 수 있는 제품이다.

)-3. 검사방법

1) 돼지 열병 detection premix를 분석에 필요한 개수만큼 꺼내어 clean bench 혹은 PCR table 상에 준비한다.

2) 각각의 tube에 DNase/RNase water를 18uL 씩 첨가한다.

3) 상기 tube에 준비된 검액 2uL씩 첨가한다. 양성대조구의 경우 제품 내 포함되어 있는 positive control, 음성대조구의 경우 water를 2uL 첨가한다.

4) Tube 뚜껑을 덮고, spin down하여 첨가된 용액을 tube 하단으로 모은 뒤 vortexing 하여 고르게 혼합한다.

5) 균질화 된 혼합액을 다시 한번 spin down 하여 tube 하단으로 모은 후 아래의 표와 같이 설정된 RT-PCR을 수행한다.

[표] RT-PCR Cycling Condition

	RT-PCR cycle	Temp.	Time
1 Cycle	Reverse transcription reaction	45°C	30 min.
	Inactivation of reverse transcriptase	94°C	5 min
40 Cycles	Denaturation	94°C	20 sec
	Annealing	60°C	20 sec
	Extension	72°C	40 sec
1 Cycle	Final extension	72°C	5 min

6) 결과 확인

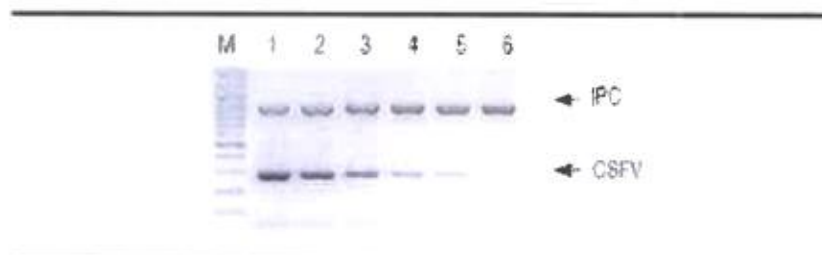


Fig 1. Electrophoresis of PCR product by Lillif™ CSFV RT-PCR Kit
Lane M, 100bp molecular ladder (INIRON Biotechnology); Lane 1~7, CSFV positive sample;
Lane N, Negative control

다) 돼지 델타코로나 바이러스

다)-1. 개요

- 돼지델타코로나 바이러스는 구제역과 증상은 비슷하지만 치사율은 낮은 것으로 알려졌지만, 미국에서 포유자돈의 치사율이 40% 이상으로 심각하였고, 중국에서도 상당한 피해를 입었다. 현재까지 돼지델타코로나 바이러스의 병원성 연구는 미국을 중심으로 일부 연구실에서 수행되었으나, 그 병원성의 결과는 약간씩 다르다. 현재까지 돼지델타코로나의 증상이 PEDV와 TGEV와 유사하게 설사, 구토 및 탈수를 유발하며, 치사율도 PEDV나 TGEV 보다 낮은 것으로 보고되고 있다. 또한 모든 연령의 돼지에서 돼지델타코로나 바이러스가 고르게 검출되며, 감염된 돼지의 장조직 소견도 두 바이러스와 비슷하다.

국내 돼지델타코로나 바이러스의 감염상황에 대해서는 농장 별 검사결과 양성 두수는 약 6.3%에 이르렀으며, 농가의 생산성적에 큰 영향을 미치고 있다.

)-2. 사용 검사 kit

- ViroReal kit Swine Delta Coronavirus

- 본 kit는 돼지델타코로나 바이러스의 3'UTR을 감지한다. 이 kit를 사용하면 급성 영향을 받은 돼지의 대변, 체액, 혈액에서 분리된 돼지델타코로나 바이러스 RNA를 빠르고 민감하게 검출할 수 있다. 이 검사는 돼지 전염병설사바이러스 (PEDV) 또는 전염성 위장염 바이러스 (TGEV) 를 검출하지 않는다.

다)-3. 검사 방법

1) 돼지 검체로부터 RNA를 분리한다. 분리에 사용한 kit는 Qiagen, viral RNA mini kit를 사용하여 RNA를 분리하였다.

2) 분리한 RNA는 매뉴얼에 따라 아래와 같이 real-time pcr tube에 첨가하였다.

		Per sample
Preparation of Master Mix (mix well)	Nuclease-free Water*	2.0 µl
	RNA Reaction Mix	5.0 µl
	SDCV Assay Mix	1.0 µl
	RNA IPC Assay Mix	1.0 µl
	RNA IPC Target* (freshly diluted 1:500)	1.0 µl
	Total volume Master Mix	10.0 µl
Preparation of PCR	Master Mix	10.0 µl
	RNA-Sample*	10.0 µl
	Total volume	20.0 µl

3) PCR condition

Program 1	Program 2	Program 3
Cycles: 1 Analysis: None	Cycles: 1 Analysis: None	Cycles: 45 Analysis: Quantification Acquisition at 60°
50°C 15 min	95°C 20 sec	95°C 5 sec 60°C 1 min

For ABI PRISM® 7500:
Ramp speed: Without "fast cycling" parameter

For LightCycler® 480 instrument:
Detection format: 2 Color Hydrolysis Probe
(dyes see above)

: 본 검사에 사용한 Real-time PCR 장비는 ABI PRISM 7500을 사용하였다.

4)검사 결과 해석

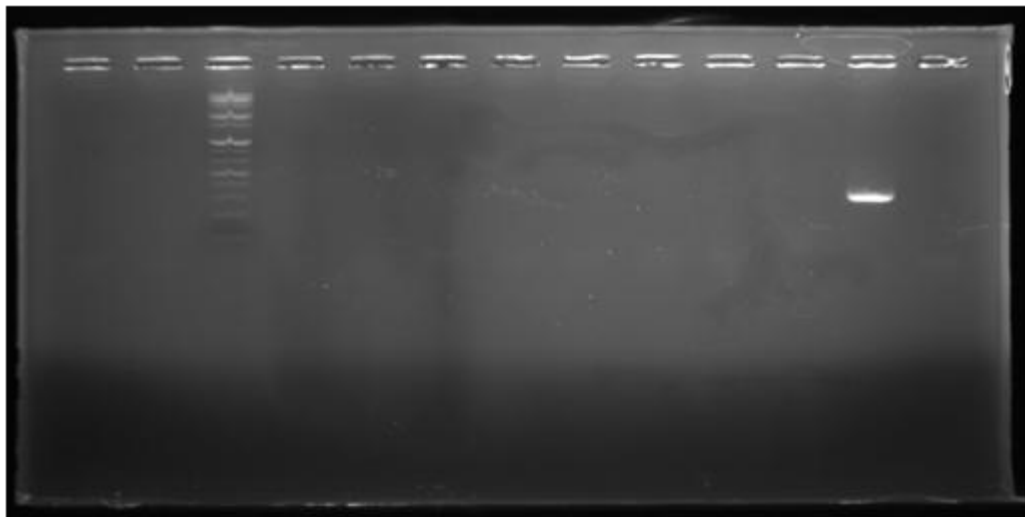
For a valid interpretation, the following criteria must be fulfilled:

	Ct/Cp (VIC / HEX channel) swine delta coronavirus target	Ct/Cp (Cy5 channel) RNA IPC target	Interpretation
Negative control	Negative	26-29*	Valid
Positive control (freshly diluted 1:500), approx. 10,000 copies, 1 µl/PCR	26-29	26-29*	Valid
Extraction negative control (optional)	Negative	26-29	Valid
Negative sample	Negative	26-29	Valid
Positive sample	Positive	26-29/negative	Valid

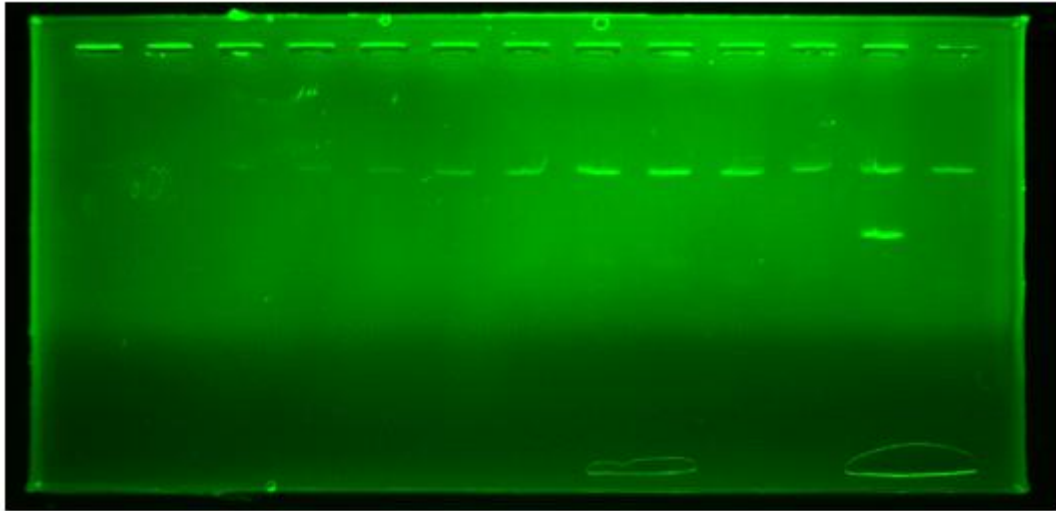
*In the case that the RNA IPC target has been added to the master mix

: 검사 결과 positive control의 Ct/Cp ratio와 비교하여 음성과 양성을 판별하였다.

4) 본 실험 2차

실험목적	가바론(GABA+iron)의 자돈철분 주사 대체 가능성 평가		
실험 기간	2020.12 - 2021.01		
실험 방법	a. 실험 동물 : 모돈 및 출산 자돈 b. 실험 장소 : 이천 J 양돈 농장 c. 실험 설계 : 3 treats x7 rep. x 10 heads (210두) d. 섭취 방법 : 자돈 이유시기까지 첨가 (24일간) e. 첨가량 : 0.1% 가바론 f. 측정 시기 : 자돈 28, 57일령, 25일령 채혈 수행, 해부 수행		
결과			
a. 체중 (kg)			
일령	정상군 (철분주사)	가바론 (주사 X)	무첨가 (주사 X)
생시	1.4 ± 0.21	1.1 ± 0.30	1.4 ± 0.20
28일	8.7 ± 0.64	7.7 ± 0.57	7.9 ± 0.63
57일	21.0 ± 1.44	20.7 ± 2.64	21.9 ± 1.57
Δ체중 (종료-생시)	19.7	19.6	20.5
위축두수	10	4	17
- 해부 후 신장 적출, 건국대학교 전달			
c. 바이러스 검사 결과 - 구제역 바이러스			
S1 S2 M S3 P1 P2 P3 P4 P5 P6 P7 PC NC			
			
S: sow, 모돈 P: piglet, 자돈			
- 모든 혈액 내에서 구제역 바이러스 검출 안됨			
c. 바이러스 검사 결과 - 돼지열병 바이러스			

M S1 S2 S3 P1 P2 P3 P4 P5 P6 P7 PC NC

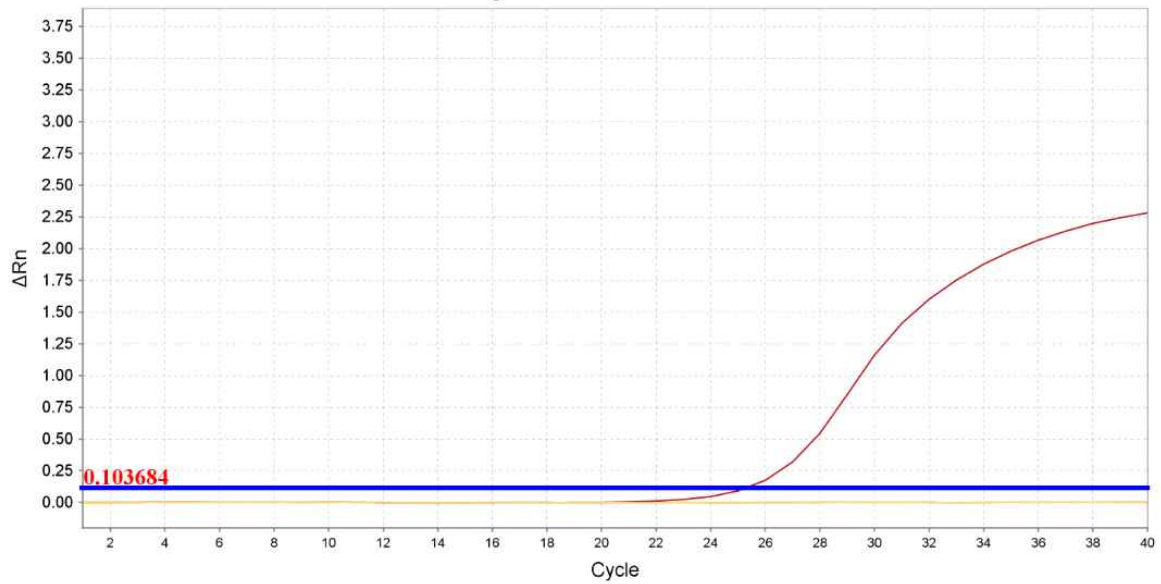


S: sow, 모돈 P: piglet, 자돈

- 모든 혈액 내에서 돼지열병 바이러스 검출 안됨

c. 바이러스 검사 결과 - 돼지델타코로나 바이러스

Amplification Plot



Legend							
Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4	Sample 5	Sample 6	Sample 7	Sample 8
Sample 9	Sample 10	Sample 11	Sample 12				

- sample 1	positive control	- sample 2	negative control
- sample 3	sow 1	- sample 4	sow2
- sample 5	sow 3	- sample 6	piglet 1
- sample 7	piglet 2	- sample 8	piglet 3
- sample 9	piglet 4	- sample 10	piglet 5
- sample 11	piglet 6	- sample 12	piglet 7

- 혈액 내 돼지 델타코로나 바이러스 검출 안됨

바이러스 검사 최종결과

농장	검사 바이러스	모돈1	모돈2	모돈3	자돈1	자돈2	자돈3	자돈4	자돈5	자돈6	자돈7
전주 Y농장	구제역	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	돼지열병	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	델타코로나	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
이천 M농장	구제역	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	돼지열병	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	델타코로나	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
천안 J농장	구제역	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	돼지열병	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	델타코로나	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- 3곳에서 구제역과 돼지열병, 델타코로나 바이러스는 모두 음성으로 확인되었음.

나. 첨가제 주요 성분 분석 (제품 표준화, 함량 보증)

1) GABA

시험 성적서


접수번호 (문서번호)	성-2020-0217	의뢰자 / 의뢰업체명	박근태 / ㈜미래생명자원
접수일자	2020. 11. 17	통보일자	2020. 11. 24
시료명	ML-F1		
분석항목	GABA		
시험방법	식품공전(2020), 사료공전(2020)		

샘플명	분석항목	결과	단위	비고
ML-F1	GABA	4.13	%	-

시험검사원 : 전용재

위의 내용은 의뢰자가 제공한 시료에 대한 시험 결과이며, 이 시험 성적서는 용도 이외의 상업적인 광고 및 선전, 소송 및 기타 법적 요건으로 사용할 수 없습니다.

2020. 11. 24


(주) 미래생명자원
MILAE 신소재연구소 (인)
 MILAE BIORESOURCES CO., LTD.

New Materials and Resources Development Research Center
 서울시 송파구 법원로 9길 26, D동 506-512호(문정동, 에이치비지니스파크)
 Tel: 02-2203-7397 Fax: 02-2203-7398

2) 철분

시 험 성 적 서


접수번호 (문서번호)	상-2020-0218	의뢰자 / 의뢰업체명	박근태 / ㈜미래생명자원
접수일자	2020. 11. 17	통보일자	2020. 11. 24
시료명	ML-F1		
분석항목	Fe		
실험방법	식품공전(2020), 사료공전(2020)		

샘플명	분석항목	결과	단위	비고
ML-F1	Fe	2.14	%	-

시험검사원 : 전용자

위의 내용은 의뢰자가 제공한 시료에 대한 시험 결과이며, 이 시험 성적서는 용도 이외의 상업적인 광고 및 선전, 소송 및 기타 법적 요건으로 사용할 수 없습니다.

2020. 11. 24


(주) 미래생명자원
MILAE 신소재연구소(인)
MILAE BIORESOURCES CO., LTD.

New Materials and Resources Development Research Center
 서울시 송파구 법원로 9길 26, D동 506~512호(문정동, 에이치비지니스파크)
 Tel: 02-2203-7397 Fax: 02-2203-7398

시험 성적서

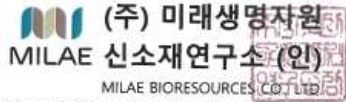
접수번호 (문서번호)	상-2020-0218	의뢰자 / 의뢰업체명	박근태 / ㈜미래생명자원
접수일자	2020. 11. 17	통보일자	2020. 11. 24
시료명	ML-F1		
분석항목	Fe		
실험방법	식품공전(2020), 시료공전(2020)		

샘플명	분석항목	결과	단위	비고
ML-F1	Fe	2.14	%	-

시험검사원 : 전용재

위의 내용은 의뢰자가 제공한 시료에 대한 시험 결과이며, 이 시험 성적서는 용도 이외의 상업적인 광고 및 선전, 소송 및 기타 법적 요건으로 사용할 수 없습니다.

2020. 11. 24



(주) 미래생명자원
MILAE 신소재연구소 (인)
 MILAE BIORESOURCES CO., LTD.
 New Materials and Resources Development Research Center
 서울시 송파구 법원로 9길 26, D동 506~512호(문정동, 에이치비지니스파크)
 Tel: 02-2203-7397 Fax: 02-2203-7398

- 실험농장의 실제 인력, 시간, 주사제 비용 포괄 조사 및 경구첨가제 금액 비교

다. 첨가비

	가격(원) /kg	가격/g	첨가량	첨가량/kg	첨가비/kg
Piperine	400,000	400	1ppm	1mg	0.4
유기태 Fe	15,000	15	100ppm	100mg	1.5
GABA	17,000	17	100ppm	100mg	1.7
첨가비 합					3.6

2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행 내용 (건국대학교)

○ 자돈 신장조직 분석 및 *in vitro* 결과 일관성 규명

가. 연구개발 목표

- 다년간 GABA를 이용한 *in vivo* 실험 연구를 수행하여 gamma-Aminobutyric acid (GABA)의 포유모든 섭취가 erythropoietin (EPO) 생성을 촉진하고, 포유자돈에게도 EPO가 증가한다는 결과를 여러 차례 확인하였으며, Rat을 이용한 실험에서도 적혈구 수와 EPO의 수치가 증가하는 것을 확인한 연구팀에 협력하여 본 연구팀은 돼지 신장세포 유래 세포주에서 EPO와 EPO-R의 발현이 GABA와 piperine 섭취에 의해 synergistically 증폭됨을 발견하였다. 본 과제의 목표는 GABA와 철 (Fe)의 생체이용성 증대 기술을 통하여 포유 모든 및 자돈의 사료에 공급함으로써 이유자돈의 빈혈을 예방하는 경구용 제품 개발에 목표를 두고 있다.

나. 연구범위 및 연구 수행 방법

1) 세포주를 이용한 microarray data 분석

- 자돈 신장세포 유래 세포주에서 GABA 및 Piperine 처리 후 발현 조절되는 유전자를 microarray 실험을 통하여 분석, 관련된 기전을 조사한다. Data에 대한 검증은 선별된 유전자의 발현을 RT-qPCR을 통하여 확인한다. 또한, 선행 연구로 JNK 와 MAPK 기전이 이 발현 조절에 관여함을 발견하여, 이에 대한 저해제 처리 후 발현정도를 조사한다.

- 자돈에서 무처리, 철분제 처리, 실험군 처리 후 신장 조직 채취 및 분석

처리를 하지 않은 자돈군과 비교하여, 철분제 투여와 실험군 투여 후 개체의 변화를 보기 위해 신장 조직을 채취, 관심유전자에 대한 조절 조사를 진행한다. 이를 위하여 신장조직에서 total RNA를 추출하여 RT-qPCR 실험법을 통한 이들의 분석 및 Immunohistochemistry 실험을 이용하여 발현의 차이를 조사한다.

다. 연구개발 수행 내용

다-1) 세포주를 이용한 microarray data 분석 방법

- 돼지 신장 세포 유래 LLC-PK1 (ATCC ® CL101™)을 DMEM (Dubecco's Modified Eagle's Medium)에 8% FBS (Fetal Bovine Serum), 100U/mL penicillin & 100ug/mL streptomycin 유지하였다. 처리를 위하여 GABA, PIP(piperine), MAPK 저해제 SB202190과 SP600125가 사용되었다.

- RNA는 TRIzol reagent 과 RNeasy mini kit을 통하여 추출되었으며, NanoDrop을 통하여 그 농도와 quality가 검사되었다. cRNA은 Agilent 's Quick Amp labeling kit을 통하여 제작된 후 MacroGen에서 이후 microarray 과정이 진행되었다. 1.65 µg cRNA는 43,803 probes을 가진 Agilent Porcine Gene Expression microarray에 hybridization 되었다.

- 데이터 분석은 R2.15.1의 Extraction v11.01.1.1 software을 통하여 이뤄졌으며 flag을 통하여 quality check이 진행되었다. Probe signal은 log (base2) value로 치환된 후 각 처리군 (GABA, PIP, GABA + PIP)에 대한 quantile normalization이 수행되었다. 이후 fold changes (FC)는 무처리군에 대하여 계산되었으며, FC가 >1.5 이거나 <-1.5인 2,393 probes에 대한 분석을 수행하였다

다-2) 세포주를 이용한 microarray data 분석 결과

- Heatmapper을 이용하여 heatmap plot은 Pearson measurment method을 통한 average linkage clustering method을 이용하여 수행되었다 (그림1).

Heatmap에서 나타나듯이, GABA와 PIP처리는

각각 혹은 종합적으로 다양한 유전자 발현을 저해 혹은 촉진하였다.

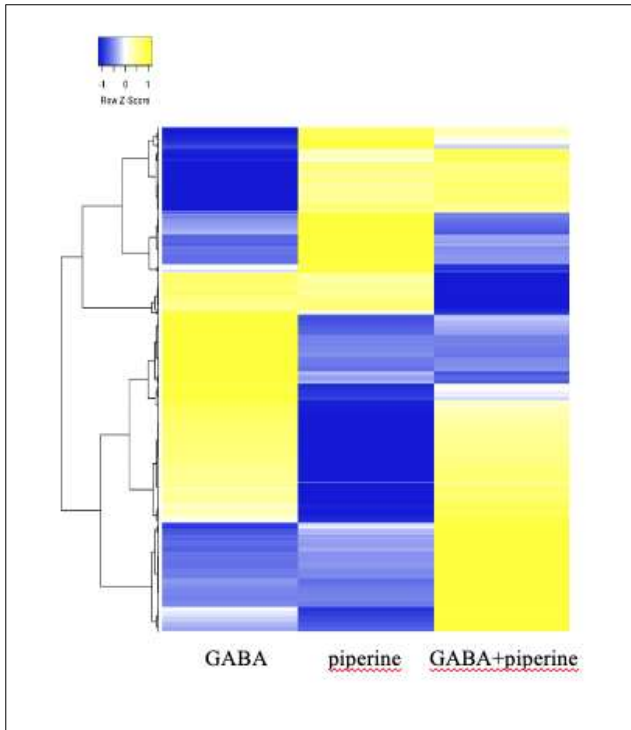


그림1. LLC-PK1세포에서 Hierarchical clustering을 통하여 data set의 GABA, PIP 혹은 두 개의 처리에 따른 발현 변화를 나타내는 heatmap으로, average linkage와 Euclidean cluster을 통하여 cluster이 계산되었다.

- GABA와 PIP에 의하여 synergistically 조절되는

유전자에 대한 Gene Ontology Analysis을 통한 관련된 기전을 분석하기 위하여 이 중 후보군 선정을 하였다. 선정 기준은 GABA 처리시 FC가 1.5 이상인 유전자 중에, GABA 혹은 PIP 단독처리에 비해 그 FC가 높은 유전자를 filtering하여 227개의 후보유전자를 얻었다. Synergistically down regulated 된 유전자를 검출하기 위하여, 단독 처리시 FC가 1.0과 1.1 사이에 있으나, co-treatment시 FC가 -1.5 이하인 20개의 유전자 후보를 얻었다. GABA 단독 처리 혹은 GABA/PIP co-treatment에 의해 발현이 저해된 유전자 숫자가 적어 GO analysis을 수행하지 못하였다. 이를 제외한 나머지 GO analysis은 아래 (그림 2)에 있다.

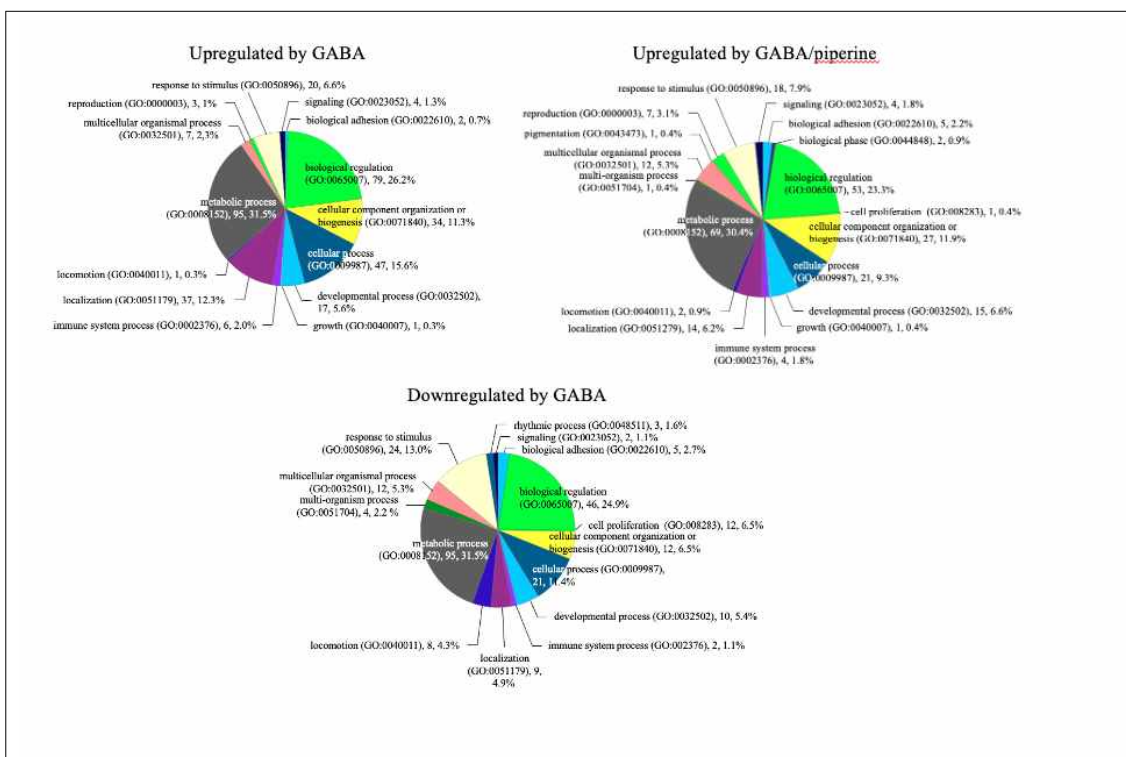
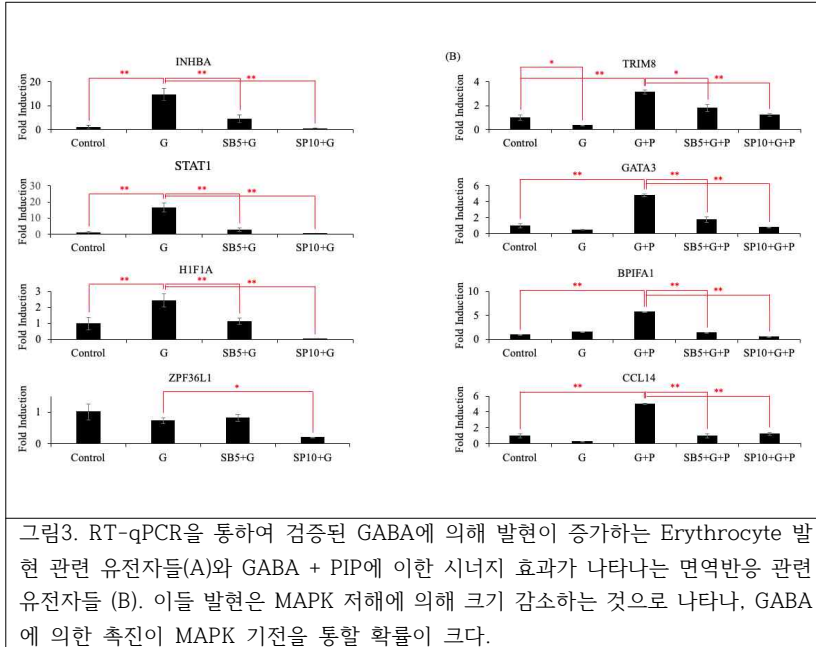


그림2. PANTHER에 기반한 GO analysis 결과

- 예상된 바와 같이, GABA 처리는 erythrocyte 발현에 관여하는 유전자 촉진에 영향을 미치는 것으로 나타났다. 이 중 INHBA, STAT1, HIF1A는 RT-qPCR을 통하여 검증되었다. 시너지 효과가 나타나는 유전자들 중에 TRIM8, GATA3, BPIFA1 그리고 CCL4은 면역과 관련된 기전에 관여하여 그에 대한 발현도 또한 검증되었다. (그림3)



라. 자돈 신장 조직 분석

라-1) 자돈에서 무처리, 철분제 처리, 실험군 처리 후 신장 조직 채취 및 RNA 추출 방법

- 자돈에서 GABA의 효능에 대한 분석으로 위하여 무처리 개체 둘과, 정상사육 자돈 둘 (철분주사 처리) 그리고 실험군 자돈 둘 (철분주사 없이 첨가제만 처리) 총 6마리의 자돈에서 신장을 채취하여 조직에서 RNA를 추출하였다. DNase 처리 후 AccuPower RT PreMix을 통해

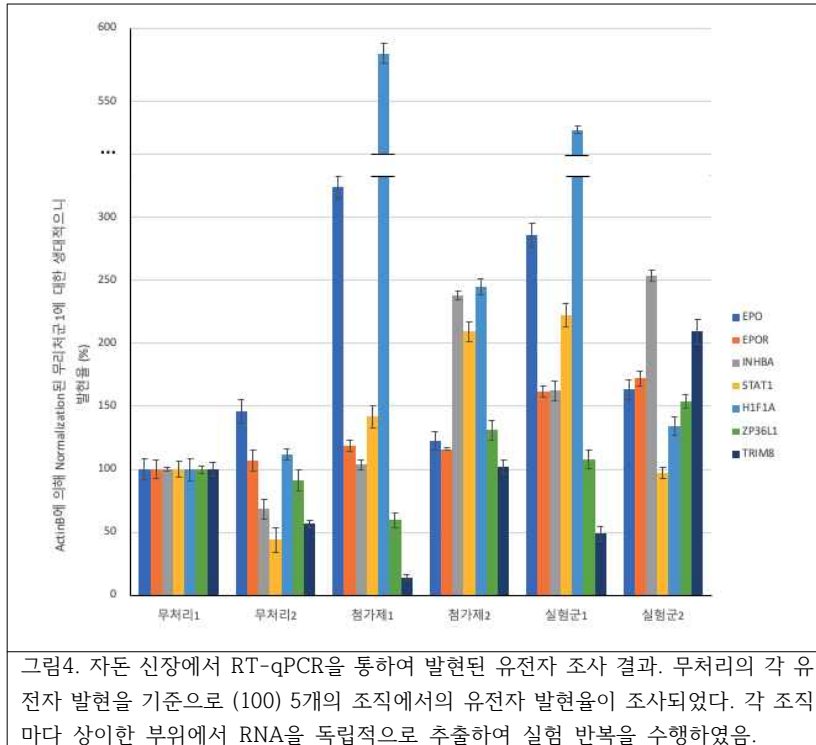
- First strand cDNA을 제작, RT-qPCR을 통하여 선행연구에서 선정된 후보유전자 발현을 조사하였다. 조사를 위하여 신장에서 다른 부위에서 독립적으로 RNA이 추출되어 2 반복실험을 실시하였다. 오차 범위 내에 신장의 부위에 따른 발현율은 유사한 것으로 조사되었다.

라-2) 자돈에서 무처리, 철분제 처리, 실험군 처리 후 신장 조직에서의 erythrocyte와 면역 관련 유전자 발현 조사에 대한 결과

- 자돈에서 철분제 주사와 첨가제 급여 후 신장에서의 관심 유전자 발현은 아래와 같다 (그림 4). 그림에서 볼 수 있듯이, 무처리 자돈 신장 간의 오차가 높은 편이다. 따라서, 개체별 차이가 많은 것으로 추측된다. 그러나, 대체적으로 EPO 발현이 철분 첨가제와 실험군에 높은 것을 알 수가 있다. 또한 흥미롭게도, 출분 첨가제에 의해 EPO-R의 발현이 높아지지 않은 것에 비하여, 실험군에서는 EPO-R의 발현이 현저히 증가하였다. 한 개의 실험군에서는 이외에도 STAT1, HIF1A이 현저히 높아진 것을 통하여, 이 개체에서 erythrocyte 관련 기전이 활성화되었을 것으로 추측된다. 다른 한 실험군은 EPO와 EPO-R 함께 INHBA와 ZP36FL1이 현저히 높아졌으나, STAT1이 변하지 않은 것으로 조사되었다. 또한 면역관련 TRIM8 유전자 발현은 한 개의 실험군에서 현저히 높아진 것으로 조사되었다.

- 결과적으로, 개체 간 차이가 다소 높으나, 직접적인 증가가 *in vivo* 에서 다년간 그 발현이 증가된 것이 확인된 EPO와 본 연구 조사에서도 발견되었다. 특히, 본 연구진은 협력을 통하여 수행한

세포주 실험에서 돼지 신장 조직에서 EPO-R도 또한 증가함을 관찰하였다. 따라서, GABA는 EPO 뿐만 아니라 그 receptor인 EPO-R의 발현을 증대하여 erythrocytes 발현에 기여하는 것으로 추측된다. 또한 관련 유전자도 증가하는 것으로 조사되었으나, 개체 차이가 크기 때문에 더 많은 집단 조사가 필요할 것으로 생각된다.



라. 정량적 성과 지표

- 논문 1건
- 시제품 매출액 발생 : 종료 후 1년차에 30,000 천원





3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도

1) 연구수행 결과

(1) 정성적 연구개발성과

- 필드농장 확증실험 완료 및 효능 확인
- GABA와 piperine의 in vitro 실험을 통한 기전 연구 완료
- 품질관리 시스템 확립
- 인력양성, 신규 고용, 학술발표 목표 달성

(2) 정량적 연구개발성과(해당 시 작성하며, 연구개발과제의 특성에 따라 수정이 가능합니다)

- 목표 매출액 : 10,000천원, 56,850천원 달성
- 목표 수출액 : 10,000천원, 56,050천원 달성

< 정량적 연구개발성과표(예시) >

(단위 : 건, 천원)

성과지표명		연도	1단계 (2020~2021)	n단계 (YYYY~YYYY)	계	가중치 (%)	
전담기관 등록·기탁 지표 ¹⁾	제품화	목표(단계별)	1		1	10	
		실적(누적)	1		1	10	
	매출액	목표(단계별)	30,000		30,000	30	
		실적(누적)	56,850			30	
	수출액	목표(단계별)	10,000		10,000	10	
		실적(누적)	56,050			10	
	고용	목표(단계별)	1		1	10	
		실적(누적)	1		1	10	
	학술발표	목표(단계별)	1		1	20	
		실적(누적)	0		0	20	
	인력양성	목표(단계별)	1		1	20	
		실적(누적)	1		1	20	
	연구개발과제 특성 반영 지표 ²⁾						
	계						100
계						100	

- * 1) 전담기관 등록·기탁 지표: 논문[에스시아이 Expanded(SCIE), 비SCIE, 평균Impact Factor(IF)], 특허, 보고서원문, 연구 시설·장비, 기술요약정보, 저작권(소프트웨어, 서적 등), 생명자원(생명정보, 생물자원), 표준화(국내, 국제), 화합물, 신제품 등을 말하며, 논문, 학술발표, 특허의 경우 목표 대비 실적은 기재하지 않아도 됩니다.
- * 2) 연구개발과제 특성 반영 지표: 기술실시(이전), 기술료, 사업화(투자실적, 제품화, 매출액, 수출액, 고용창출, 고용효과, 투자유치), 비용 절감, 기술(제품)인증, 시제품 제작 및 인증, 신기술지정, 무역수지개선, 경제적 파급효과, 산업지원(기술지도), 교육지도, 인력양성(전문 연구인력, 산업연구인력, 졸업자수, 취업, 연수프로그램 등), 법령 반영, 정책활용, 설계 기준 반영, 타 연구개발사업에의 활용, 기술무역, 홍보(전시), 국제화 협력, 포상 및 수상, 기타 연구개발 활용 중 선택하여 기재합니다 (연구개발과제 특성별로 고유한 성과지표를 추가할 수 있습니다).

< 연구개발성과 성능지표 >

평가 항목 (주요성능 ¹⁾)	단위	전체 항목에서 차지하는 비중 ²⁾ (%)	세계 최고		연구개발 전 국내 성능수준	연구개발 목표치		목표설정 근거
			보유국/보유기관	성능수준	성능수준	1단계 (2020~2021)	n단계 (YYYY~YYYY)	
1	철분주사 대체 여부	80	없음	없음	없음	동등성 100%		판매되는 제품 없음
2								

- * 1) 정밀도, 인장강도, 내충격성, 작동전압, 응답시간 등 기술적 성능판단기준이 되는 것을 의미합니다.
- * 2) 비중은 각 구성성능 사양의 최종목표에 대한 상대적 중요도를 말하며 합계는 100%이어야 합니다.

(3) 세부 정량적 연구개발성과(해당되는 항목만 선택하여 작성하되, 증빙자료를 별도 첨부해야 합니다)

[과학적 성과]

논문(국내외 전문 학술지) 게재

번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCIE 여부 (SCIE/비SCIE)	게재일	등록번호 (ISSN)	기여율

국내 및 국제 학술회의 발표

번호	회의 명칭	발표자	발표 일시	장소	국명

기술 요약 정보

연도	기술명	요약 내용	기술 완성도	등록 번호	활용 여부	미활용사유	연구개발기관 외 활용여부	허용방식

보고서 원문

연도	보고서 구분	발간일	등록 번호

생명자원(생물자원, 생명정보)/화합물

번호	생명자원(생물자원, 생명정보)/화합물 명	등록/기탁 번호	등록/기탁 기관	발생 연도

[기술적 성과]

지식재산권(특허, 실용신안, 의장, 디자인, 상표, 규격, 신제품, 프로그램)

번호	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국명	출원				등록			기여율	활용 여부
			출원인	출원일	출원 번호	등록 번호	등록인	등록일	등록 번호		

○ 지식재산권 활용 유형

※ 활용의 경우 현재 활용 유형에 √ 표시, 미활용의 경우 향후 활용 예정 유형에 √ 표시합니다(최대 3개 중복선택 가능).

번호	제품화	방어	전용실시	통상실시	무상실시	매매/양도	상호실시	담보대출	투자	기타

저작권(소프트웨어, 서적 등)

번호	저작권명	창작일	저작자명	등록일	등록 번호	저작권자명	기여율

신기술 지정

번호	명칭	출원일	고시일	보호 기간	지정 번호

기술 및 제품 인증

번호	인증 분야	인증 기관	인증 내용		인증 획득일	국가명
			인증명	인증 번호		

표준화

○ 국내표준

번호	인증구분 ¹⁾	인증여부 ²⁾	표준명	표준인증기구명	제안주체	표준종류 ³⁾	제안/인증일자

- * 1) 한국산업규격(KS) 표준, 단체규격 등에서 해당하는 사항을 기재합니다.
- * 2) 제안 또는 인증 중 해당하는 사항을 기재합니다.
- * 3) 신규 또는 개정 중 해당하는 사항을 기재합니다.

○ 국제표준

번호	표준화단계구분 ¹⁾	표준명	표준기구명 ²⁾	표준분과명	의장단 활동여부	표준특허 추진여부	표준개발 방식 ³⁾	제안자	표준화 번호	제안일자

- * 1) 국제표준 단계 중 신규 작업항목 제안(NP), 국제표준초안(WD), 위원회안(CD), 국제표준안(DIS), 최종국제표준안(FDIS), 국제표준(IS) 중 해당하는 사항을 기재합니다.
- * 2) 국제표준화기구(ISO), 국제전기기술위원회(IEC), 공동기술위원회1(JTC1) 중 해당하는 사항을 기재합니다.
- * 3) 국제표준(IS), 기술시방서(TS), 기술보고서(TR), 공개활용규격(PAS), 기타 중 해당하는 사항을 기재합니다.

[경제적 성과]

□ 시제품 제작

번호	시제품명	출시/제작일	제작 업체명	설치 장소	이용 분야	사업화 소요 기간	인증기관 (해당 시)	인증일 (해당 시)

□ 기술 실시(이전)

번호	기술 이전 유형	기술 실시 계약명	기술 실시 대상 기관	기술 실시 발생일	기술료 (해당 연도 발생액)	누적 징수 현황

- * 내부 자금, 신용 대출, 담보 대출, 투자 유치, 기타 등

□ 사업화 투자실적

번호	추가 연구개발 투자	설비 투자	기타 투자	합계	투자 자금 성격*
1	GABA 생산		생산비 (원료, 장비사용료 등)	51,000천원	

□ 사업화 현황 - ML-F1 : 내수용, ML-F2 : 수출용

번호	사업화 방식 ¹⁾	사업화 형태 ²⁾	지역 ³⁾	사업화명	내용	업체명	매출액		매출 발생 연도	기술 수명
							국내 (천원)	국외 (달러)		
1	자가 실시	기존 제품 개선	국내	ML-F1	자돈 철분주사 대체 사료첨가제	대한제당 농협사료 다원케미칼	42,900		2020	
2	자가 실시	기존 제품 개선	국내	ML-F1	"	대한제당 농협사료 다원케미칼	13,950		2021	
3	자가 실시	기존 제품 개선	국외	ML-F2	"	Besta Biotech Co., Ltd	25,782		2020	
4	자가 실시	기존 제품 개선	국외	ML-F2	"	(주)티에이비인터내셔널	30,268		2020	

- * 1) 기술이전 또는 자기실시
- * 2) 신제품 개발, 기존 제품 개선, 신공정 개발, 기존 공정 개선 등
- * 3) 국내 또는 국외

□ 매출 실적(누적)

사업화명	발생 연도	매출액		합계	산정 방법
		국내(천원)	국외(달러)		
ML-F1 (F2)	2020	42,900	13,950	56,850	본사 매출장
ML-F1 (F2)	2021	56,050		56,050	본사 매출장
합계				112,900	

□ 사업화 계획 및 무역 수지 개선 효과

성과					
사업화 계획	사업화 소요기간(년)				
	소요예산(천원)				
	예상 매출규모(천원)	현재까지	3년 후	5년 후	
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년 후	5년 후
		국내 국외			
향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획					
무역 수지 개선 효과(천원)	수입대체(내수)	현재	3년 후	5년 후	
	수출				

□ 고용 창출

순번	사업화명	사업화 업체	고용창출 인원(명)		합계
			2021년	yyyy년	
1	ML-F2(Fe)	ML-F2(Fe)	1		1
합계			1		1

□ 고용 효과

구분			고용 효과(명)
고용 효과	개발 전	연구인력	7
		생산인력	0
	개발 후	연구인력	8
		생산인력	0

□ 비용 절감(누적)

순번	사업화명	발생연도	산정 방법	비용 절감액(천원)
합계				

□ 경제적 파급 효과

(단위: 천원/년)

구분	사업화명	수입 대체	수출 증대	매출 증대	생산성 향상	고용 창출 (인력 양성 수)	기타
해당 연도							
기대 목표							

□ 산업 지원(기술지도)

순번	내용	기간	참석 대상	장소	인원

□ 기술 무역

(단위: 천원)

번호	계약 연월	계약 기술명	계약 업체명	계약업체 국가	기 징수액	총 계약액	해당 연도 징수액	향후 예정액	수출/ 수입

[사회적 성과]

□ 법령 반영

번호	구분 (법률/시행령)	활용 구분 (제정/개정)	명 칭	해당 조항	시행일	관리 부처	제정/개정 내용

□ 정책활용 내용

번호	구분 (제안/채택)	정책명	관련 기관 (담당 부서)	활용 연도	채택 내용

설계 기준/설명서(시방서)/지침/안내서에 반영

번호	구분 (설계 기준/설명서/지침/안내서)	활용 구분 (신규/개선)	설계 기준/설명서/ 지침/안내서 명칭	반영일	반영 내용

전문 연구 인력 양성

번호	분류	기준 연도	현황										
			학위별				성별		지역별				
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타
1	학위	2020	1				1		1				

산업 기술 인력 양성

번호	프로그램명	프로그램 내용	교육 기관	교육 개최 횟수	총 교육 시간	총 교육 인원

다른 국가연구개발사업에의 활용

번호	중앙행정기관명	사업명	연구개발과제명	연구책임자	연구개발비

국제화 협력성과

번호	구분 (유치/파견)	기간	국가	학위	전공	내용

홍보 실적

번호	홍보 유형	매체명	제목	홍보일

포상 및 수상 실적

번호	종류	포상명	포상 내용	포상 대상	포상일	포상 기관

[인프라 성과]

연구시설·장비

구축기관	연구시설/ 연구장비명	규격 (모델명)	개발여부 (○/×)	연구시설·장비 종합정보시스템* 등록여부	연구시설·장비 종합정보시스템* 등록번호	구축일자 (YY.MM.DD)	구축비용 (천원)	비고 (설치 장소)
강릉 과학산업진흥원	추출, 농축, 분무건조기		x	x	x			강릉 과학산업진흥원

* 「과학기술기초법 시행령」 제42조제4항제2호에 따른 연구시설·장비 종합정보시스템을 의미합니다.

2) 목표 달성 수준

추진 목표	달성 내용	달성도(%)
○ 제품화	○ 제품화 완료	○ 100
○ 매출액 - 10,000천원	○ 매출액 - 56,850천원	○ 100
○ 수출액 - 10,000천원	○ 수출액 - 56,050천원	○ 100
○ 고용창출 - 1인	○ 고용창출 - 1인 (이준영, 사료마케팅)	○ 100
○ 학술발표 - 1건	○ 학술발표 - 코로나로 인해 학회 미개최	○ 100
○ 인력양성 - 1인	- 학술논문 게재예정	○ 100
	○ 인력양성 - 1인 (박근태, 박사학위)	

4. 목표 미달 시 원인분석(해당 시 작성합니다) - 해당사항 없음

5. 연구개발성과의 관련 분야에 대한 기여 정도

- 현재 국내에서 철분주사를 대체 및 사료첨가제는 전무한 실정이며, 철분주사와 병행 섭취하는 제품은 판매되고 있으나 판매가 미진하다.
- 본 연구과제로 인해 사료첨가제로써 철분주사를 대체할 수 있다는 인식의 전환을 심어준 계기가 될 수 있으며, 추후 농장 마케팅을 통해 대체 효능을 재평가 받고 대형 사료회사에서의 주문 및 철분주사 대체용 자돈 사료 제품 출시가 가능할 것으로 예상된다.

< 별첨 자료 >

중앙행정기관 요구사항	별첨 자료
1.	1) 연구개발보고서 초록
	2) 자체평가의견서
	3) 연구성과 활용계획서
2.	1)
	2)

연구개발보고서 초록

과 제 명	GABA와 유기태철분 기반의 경구용 자돈 빈혈예방 제품 개발 및 상용화				
	Development and commercialization of oral swine anemia prevention product based on GABA and organic ferric iron				
주 관 연구 기 관	(주)미래생명자원		주 관 연 구 책 임 자	(소속) (주)미래생명자원	
참 여 기 업				(성명) 한 종 권	
총 연구개발비 (150,000천원)	계	150,000 천원	총 연구 기간	2020.04.20 ~ 2021.04.19(1년)	
	정부출연 연구개발비	100,000 천원	총 참 여 연 구 원 수	총 인원	11
	기업부담금	50,000 천원		내부인원	11
	연구기관부담금			외부인원	

○ 연구개발 목표 및 성과

- GABA(γ -aminobutyric acid)와 유기태철분 기반의 경구용 자돈 빈혈예방 제품 개발 및 상용화
- 본 과제의 목표는 **GABA의 EPO 증가 효능과 유기태 철 및 철분 흡수증진 제제** 등의 철분 생체이용성 증가 solution을 이용하여, 적용 단계는 암신통, 포유모돈, 이유자돈의 사료에 첨가하는 경구용 자돈 빈혈 예방 제품의 개발이다.

- 본 과제를 통하여 사료회사 및 실제 농가를 설득하기 위한 필드실험 데이터의 확장 및 검증 자료를 확보하여 매출을 발생시키는 것을 최종 목표로 하고 있다.

- 샘플 제작 후 국내 농장 배포 및 효능 확인
- 국내 및 해외 버전 마케팅 자료 작성 후 판촉 진행 (진행 중)
- 본 연구자료를 바탕으로 자체 추가 확증실험 진행

○ 연구내용 및 결과

- 자돈은 출산 후 3주령에 약 4배의 크기로 체중이 증가되며, 생리적으로 적혈구의 수가 증가되지 못하여 필연적으로 빈혈이 초래된다. 이로 인해 전 세계적으로 예외없이 생후 3일령에 철분주사를 처치하여, 자돈에게 큰 스트레스를 주게 되고 그로인해 육질감소, 생산성 감소 등의 산업적 손해가 발생한다. 또한, 수의사가 아닌 근무자가 한 마리씩 주사를 처치하기 때문에 일정한 투여비율이 감소하며, 그 인력소모도 지대하다.

- 본 연구팀은 2017년 수행한 농생명산업기술개발사업을 통해 GABA를 이용한 in vivo와 in vitro 연구를 통하여 GABA의 포유모돈과 자돈의 섭취로 인해 적혈구 전구물질인 erythropoietin (EPO)가 증가한다는 결과를 여러 차례 확인하였으며, rat을 이용한 실험에서도 적혈구수와 EPO 수치가 증가하는 것을 확인하였다.

- 주관기관인 미래생명자원은 후속과제지원사업을 통해 실제 농가 확증실험을 통하여, ‘주사제를 대체할 수 있는 이유자돈의 빈혈을 예방하는 경구용 제품’의 농가 확증실험자료 확보 및 시장 판매 확산에 목표를 두고 있다.

○ 연구성과 활용실적 및 계획

성과지표명			(단위 : 건, 천원)			
			연도	1단계 (2020~2021)	n단계 (YYYY~YYYY)	계
전담기관 등록·기탁 지표 ¹⁾	제품화	목표(단계별)	1		1	10
		실적(누적)	1		1	10
	매출액	목표(단계별)	30,000		30,000	30
		실적(누적)	56,850			30
	수출액	목표(단계별)	10,000		10,000	10
		실적(누적)	56,050			10
	고용	목표(단계별)	1		1	10
		실적(누적)	1		1	10
	학술발표	목표(단계별)	1		1	20
		실적(누적)	0		0	20
	인력양성	목표(단계별)	1		1	20
		실적(누적)	1		1	20
	연구개발과제 특성 반영 지표 ²⁾					
계					100	
					100	

자체평가의견서

1.

	과제번호			농축 2020-61호	
사업구분	농식품연구성과후속지원사업				
연구분야	축산			과제구분	단위
사업명	농식품연구성과후속지원사업				주관
총괄과제	기재하지 않음			총괄책임자	기재하지 않음
과제명	GABA와 유기태철분 기반의 경구용 자돈 빈혈 예방 제품 개발 및 상용화			과제유형	개발
연구개발기관	2020.04.20. - 2021.04.19			연구책임자	한종권
연구기간 연구개발비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차년도	2020.04.20. - 2021.04.19	150,000	50,000	200,000
	2차년도				
	3차년도				
	4차년도				
	5차년도				
	계				
참여기업					
상대국	상대국연구개발기관				

※ 총 연구기간이 5차년도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망

2. 평가일 :

3. 평가자(연구책임자) :

소속	직위	성명
(주)미래생명자원 신소재연구소	연구소장	한 종 권

4. 평가자(연구책임자) 확인 :

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 : 우수

- 철분주사를 대체할 사료첨가제는 전무한 한국 실정에서 연구개발제품인 GABA와 유기태 철분 제제는 유일한 대체제품으로 부상할 것임
- 연구실 결과가 아닌 실제 양돈농장을 대상으로 실험을 진행하였으며, 농장에서도 납득할 만한 결과를 얻었음
- 실험을 실시한 농장 3곳 모두 유의미한 결과를 얻었으며, 동등이상의 결과가 확인되었음

2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : 우수

- 현재 국내 양돈농장에서 본 제품의 발주가 있었으며, 매출이 발생하였고 목표치를 초과달성하였음
- 수출부분에서도 동남아 국가의 발주가 있었으며, 수출매출액 목표치를 초과달성하였음
- 그 외 신규채용, 인력 양성등의 목표를 달성하였음

3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : 우수, 보통, 미흡, 극히불량)

- 국내, 해외 마케팅 자료를 작성중이며, 적극적 홍보를 통해 매출증대에 기여할 예정임

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : 우수

- 일반적인 연구과제와는 달리 실제 농장을 섭외하고 돼지 무게 측정 등 매우 고된 과정이었음에도 불구하고, 3건의 농장 섭외 및 돼지체중 측정, 채혈 등을 매우 성실히 수행한 것으로 판단됨

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : 보통

- 학술발표가 1건이 예정되어 있었으나, 코로나19로 인해 학회의 연기 및 미개최 되었음
- 따라서, 현재 연구되어진 데이터를 기반으로 학술논문을 게재할 예정이며, 연구내용과 알맞은 저널을 탐색중임

II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체 평가
제품화	30	30	목표 달성
매출액	10	10	목표 달성
수출액	10	10	목표 달성
고용창출	10	10	목표 달성
인력양성	20	30	목표 달성
학술발표	20	0	코로나로 인해 학회 미개최 대면이 필요없는 논문으로 발행 예
합계	100점	80	

III. 종합의견

1. 대한 종합의견

2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항 - 없음

3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

- 향후 지속적이고 공격적인 판촉활동으로 국내 및 수출액 발생에 목표를 두고 있음
- 개발된 기술의 추가적인 실험을 통해 판촉물의 주기적 업데이트를 통해 학술적 저변을 확대
- 철분주사를 대체할 수 있는 사료첨가제는 불가능하다는 인식을 바꿀 수 있는 토대를 마련하게 된 계기임

IV. 보안성 검토

○ 본 과제로 파생된 GABA-EPO의 특허를 출원하였으며, 현재는 공개되어 있는 상태임
 , 본 특허를 통해 GABA와 유기태철분을 결합한 빈혈예방 사료첨가제에 관한 특허를 진행할 예정임
본 연구과제에서 진행된 결과 및 raw data는 연구노트와 개인 PC(1인)에 저장되어 있으며, 본 연구소는
외부인이 출입이 통제되는 시스템으로 타인에 접근이 불가능함.

과제 종료 후에도 연구자산에 대한 보안에 대해 적극적으로 노력하겠음

보안성이 필요하다고 판단되는 경우 작성함.

연구성과 활용계획서

1. 연구과제 개요

사업추진형태	<input checked="" type="checkbox"/> 자유응모과제 <input type="checkbox"/> 지정공모과제		분 야	축산
연구과제명	<i>GABA와 유기태철분 기반의 경구용 자돈 빈혈예방 제품 개발 및 상용화</i>			
주관연구개발기관	(주)미래생명자원		주관연구책임자	한종권
연구개발비	정부지원 연구개발비	기관부담연구개발비	기타	총연구개발비
	150,000,000	50,000,000		200,000,000
연구개발기간	2020.04.01. - 2021.03.31			
주요활용유형	<input type="checkbox"/> 산업체이전 <input type="checkbox"/> 교육 및 지도 <input type="checkbox"/> 정책자료 <input checked="" type="checkbox"/> 기타(매출증대) <input type="checkbox"/> 미활용 (사유:)			

2. 연구목표 대비 결과

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
① 제품화 및 매출액, 수출액 발생(40,000천원)	102,000천원 발생
② 고용창출, 인력양성	고용 1인, 인력 1인(박사학위)
③ 학술발표	코로나로 인해 학회 연기, 논문 발간 예정

* 결과에 대한 의견 첨부 가능

3. 연구목표 대비 성과

(단위 : 건수, 백만원, 명)

성과 목표	사업화지표										연구기반지표											
	지식 재산권				기술 실시 (이전)		사업화				기술 인증	학술성과			교육 지도	인력 양성	정책 활용·홍보		기타 (타연구 활용비) (명)			
	특허 출원	특허 등록	품종 등록	S M A R T	건 수	기 술 료	제 품 화	매 출 액	수 출 액	고 용 창 출		투 자 유 치	논 문	SCI			비 SCI	논 문 평 가 I F		학 술 발 표	정 책 활 용	홍 보 전 시
단위	건	건	건	건	건	백만원	건	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건	명	건	건				
가중치							30	10	10	10				20	20							
최종 목표							1	10	10	1				1	1							
당해 년도	목표						1	10	10	1				1	1							
	실적						1	10	10	1				0	1							
달성률 (%)							100	100	100	100				0	100							

4. 핵심기술

구분	핵심기술명
①	철분주사 대체가능한 GABA와 유기태철분 및 bioavailability를 증진시키는 사료첨가제
②	
③	

5. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)				
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복제	외국기술 소화·흡수	외국기술 개선·개량	특허 출원	산업체이전 (상품화)	현장애로 해결	정책 자료	기타
①의 기술										
②의 기술										
③의 기술										
·										
·										

* 각 해당란에 v 표시

6. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
①의 기술	
②의 기술	
③의 기술	

7. 연구종료 후 성과창출 계획

(단위 : 건수, 백만원, 명)

성과 목표	사업화지표										연구기반지표								
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술인증	학술성과			교육지도	인력양성	정책 활용·홍보		기타 (타연구활용예외)
	특허출원	특허등록	품종등록	S M A R T	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용창출		투자유치	논문				학술발표	정책활용	
											SCI		비SCI	논문평균IF					
단위	건	건	건	건	백만원	건	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	명	건	건			
가중치							30	30	30				10						
최종목표							100	100	2				1						
연구기간내 달성실적							50	50	1										
연구종료후 성과창출 계획							50	50	1				1						

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 농식품연구성과후속지원사업 사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 농식품연구성과후속지원사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀 유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 됩니다.