

120034-01

보안 과제(), 일반 과제(O) / 공개(O), 비공개()발간등록번호(O)
농식품연구성과 후속지원사업 2021년도 최종보고서

발간등록번호

11-1543000-003607-01

소성조절 단백질 부착 마그네틱 비즈를 이용한 정자 분리 기술 개발과 수정란 생산키트 개발

2021.07.13

주관연구기관 / (주) 누리사이언스
협동연구기관 / 강원대학교

2021

소성조절 단백질 부착 마그네틱 비즈를 이용한 정자 분리 기술 개발과 수정란 생산키트 개발

농림식품기술기획평가원
농림축산식품부

농림축산식품부
(전문기관)농림식품기술기획평가원

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “소 성 조절 단백질 부착 마그네틱비즈를 이용한 정자 분리 기술 개발과 수정란 생산키트 개발”(개발기간 : 2020. 04. 20 ~ 2021. 04. 19)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2021.07.13

주관연구기관명 : ㈜ 누리사이언스 (대표자) 김 동 구 (인)
협동연구기관명 : 강원대학교 산학협력단 (대표자) 신대영 (인)



주관연구책임자 : 김 동 구

협동연구책임자 : 박 춘 근

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

< 요약 문 >

※ 요약문은 5쪽 이내로 작성합니다.

사업명		농식품연구성과후속 지원사업			총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성)		
내역사업명 (해당 시 작성)					연구개발과제번호		120034-1
기술 분 류	국가과학기술 표준분류	LB0602	50%	LB0603	30%	LA0604	20%
	농림식품 과학기술분류	AB0103	50%	AB0101	30%	SA0203	20%
총괄연구개발명 (해당 시 작성)							
연구개발과제명		소 성 조 절 단 백 질 부 착 마그네틱비즈를 이용한 정자 분리 기술 개발과 수정란 생산키트 개발					
전체 연구개발기간		2020. 04. 20. - 2021. 4. 19. (12개월)					
총 연구개발비		총 187,000천원 (정부지원연구개발비: 150,000천원, 기관부담연구개발비 : 37,000천 원, 지방자치단체: 0천원, 그 외 지원금: 0 천원)					
연구개발단계		기초[] 응용[<input checked="" type="checkbox"/>] 개발[] 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	소의 성 조절 제제인 흘맘 단백질을 이용해 시험관 소 수정란의 성 조절 제제로서의 활용 기술 개발을 목적으로 성 조절용 단백질과 마그네틱 비즈 물질과의 결합체를 제작하고 이를 활용해 고효율의 X 또는 Y정자 분리 기술을 확립하고자함. 제작된 마그네틱나노비 즈 성 조절 제제를 이용하여 시험관 수정란 생산 효율 검증을 통해 95%이상의 성 감별된 수정란 생산을 목표로 함.				
		전체 내용	1. 흘맘 성 조절용 항체 단백질의 마그네틱 나노물질에의 결합 기 술 확립하고자 카르복실기 부착 마그네틱 나노물질에의 항체 단백 질 결합 기술 개발하며 프로테인 A/G 부착 마그네틱 나노물질에의 항체 단백질 결합 기술 개발함. 2. 마그네틱 결합 항체 단백질의 고 순도 정제 기술 개발하고자 고 순도 단백질 결합 마그네틱 물질의 정제 기술 확립하고 제작된 마그네틱비즈 성 분리 제제의 안정화 기술을 개발함 3. 마그네틱을 이용한 정자 분리 효능 검증하고자 단백질 결합 마 그네틱 나노물질을 이용한 X 및 Y 정자 분리기술을 확립하고 마 그네틱 분리 정자의 운동성 및 활력성 검증하며 유전자 검증 및 유 세포분석을 통한 분리 정자의 순도 및 생존성을 검증함 4. 마그네틱 분리 정자를 이용한 시험관 수정란 성 조절 효능 검증 하고자 분리된 X정자 또는 Y 정자를 이용한 시험관 수정란 배반포 발 달 영향 분석하고 분리된 정자를 이용한 수정란 생산 효율 검증하며 유전자 검증을 통해 생산된 수정란의 성비 조절 효능을 검증함.				

연구개발성과	소의 성 조절용 단백질 제제와 마그네틱비즈를 결합시킨 성 조절용 수정란 생산을 위한 키트 제품을 개발하였음.											
연구개발성과 활용계획 및 기대 효과	수정란 이식을 통한 우량 유전 형질을 지닌 암소의 대량 번식을 위한 최적의 성 조절 목적 달성을 위한 성 조절 키트를 제작함으로써 단기간에 걸친 고 우량우 생산을 위해 활용가능하며 우수 유전능력의 암소 생산 및 유전 능력 개량에 적용 가능할것임. 젖소를 비롯해 한우와 같은 비육우의 암소 대량 생산용으로서 제품 활용을 통하여 국내 축산물의 생산성 증가와 구제역등의 가축 질병 대처를 위한 축산업 위기 극복을 위한 대안으로서의 활용이 기대됨.											
연구개발성과의 비공개여부 및 사유	해당사항 없음											
연구개발성과의 등록·기탁 건수	논문	특허	보고서 원문	연구 시설·장비	기술 요약 정보	소프트웨어	표준	생명자원		화합물	신품종	
								생명 정보	생물 자원		정보	실물
연구시설·장비 종합정보시스템 등록 현황	구입기관	연구시설·장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)			ZEUS 등록 번호	
국문핵심어 (5개 이내)	성 조절단백질		체외 수정		마그네틱 비즈		정자 분리				성 조절 효능	
영문핵심어 (5개 이내)	Gender selection protein		IVF		Magnetic nano particle		Sperm seperation				Gender selection	

< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요	-----	1
2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행내용	-----	5
3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도	-----	8
4. 목표 미달 시 원인분석(해당 시 작성)	-----	23
5. 연구개발성과 및 관련 분야에 대한 기여 정도	-----	24
6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획	-----	25
별첨 자료 (참고 문헌 등)	-----	26

1. 연구개발과제의 개요

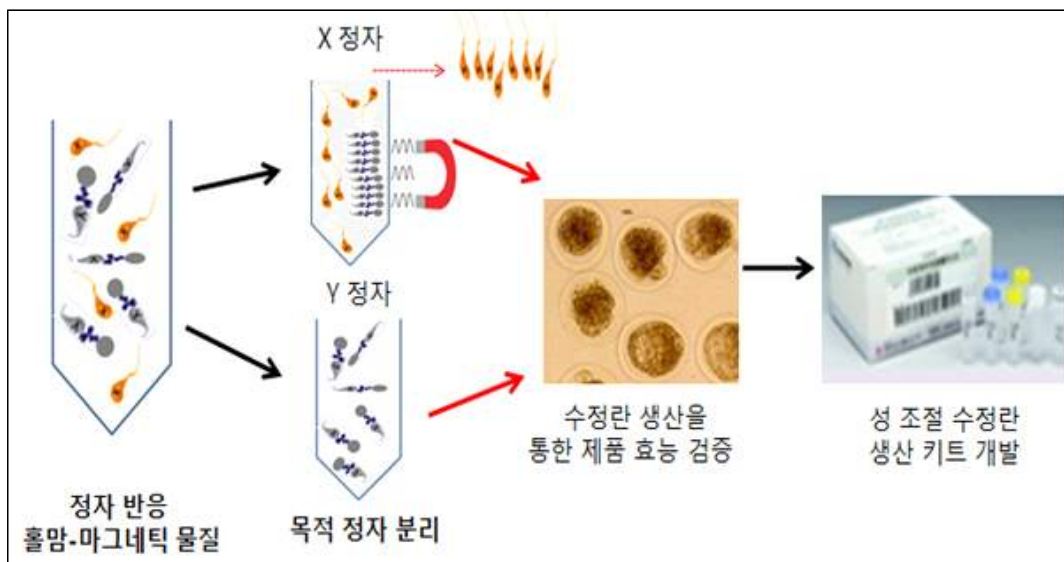
1-1. 연구 개발 필요성

- 축산물 수요의 증대로 인한 생산성 및 소득 증대의 필요성
- 성 분리 및 수정란 이식을 활용한 고급육 생산 및 단기간 개량 가능
- 현재 국내의 성 감별 시장은 해외 제품의 의존도가 높으며, 그 비용이 높아 농가에 막대한 부담이 됨
- 정자의 크기, 질량, 밀도의 차이에 근거한 원심분리, 칼럼정제법은 정자의 순도가 낮음
- 암수 정자의 DNA 함량, 밀도의 차이를 이용한 유세포 분리기법은 레이저와 고압전기 자극 등으로 인한 정자의 운동성 및 생존성의 감소로 이어짐
- 성 염색체 분석법은 정확성이 높으나 초기배로부터 중기상 (metaphase) 상태를 얻기 힘들어 확인이 다소 떨어지며 장시간을 요구하는 단점이 있음
- 형광 화학물질 (Hoechst33342)의 사용은 수정란 유전자 안전성이 문제화됨
- 성 감별 키트는 가축의 대량증식기술개발 및 산업화에도 응용됨
- 현재 축산 농가에서 경제적, 실용적이며 성 분리 효과가 높은 키트가 요구되는 실정임
- 일반 냉동 정액에 적용하여 우량 소 생산력을 통해 가축 개량 사업에 적용 가능함
- 성 감별 키트를 이용한 고능력 번식우군의 개량 효율을 극대화하고, 농가 소득 증대 및 경쟁력 향상은 중요한 요점임

1-2. 연구 개발 개요

정자의 성을 선택적으로 결합하는 바이오 제제와 마그네틱 비즈를 결합시킨 제제 개발을 통하여 고 순도의 정자 분리 방법을 개발하고 이를 토대로 체외 수정란 생산 기법을 통하여 수정란 성 조절용 키트 개발을 목표로 함.

< 연구 개발 개요 >



1-3. 주요 연구 내용

1) 홀맘 성 조절 단백질 결합 마그네틱 나노물질 개발

(1) COOH 기 코팅 마그네틱 나노물질에의 단백질 결합 제제 제작

- 카르복실기 코팅 처리 마그네틱 비즈에의 홀맘 단백질 결합 반응
- 홀맘 단백질의 카르복실기 코팅 처리 마그네틱 비즈에의 결합 특성 FACS 검증
- 홀맘 코팅 카르복실기 마그네틱 비즈에의 정자 결합 특성 분석

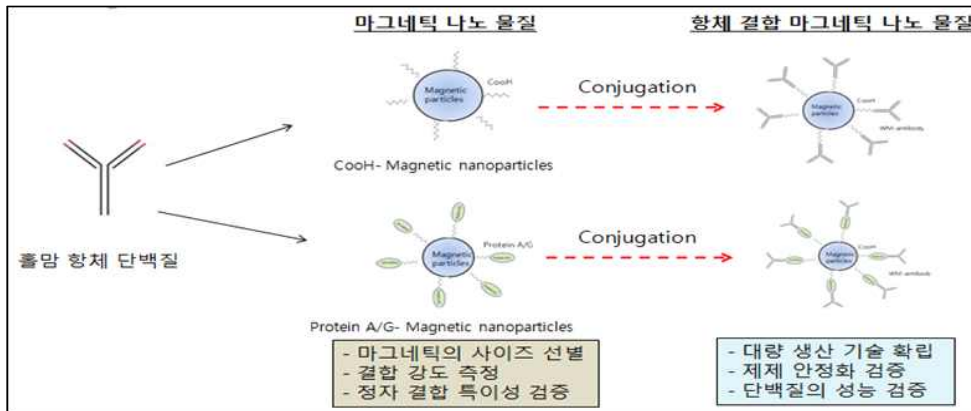
(2) 프로테인 G 코팅 마그네틱 나노물질에 단백질 결합 성 조절용 물질 제작

- Protein G 코팅 처리 마그네틱 비즈에의 홀맘 단백질 결합 반응
- 홀맘 단백질의 Protein G 코팅 처리 마그네틱 비즈에의 결합 특성 FACS 검증
- 홀맘 코팅 Protein G 코팅 마그네틱 비즈에의 정자 결합 특성 분석

(3) 마그네틱 물질의 안전화 기술 확보

- 홀맘 코팅 마그네틱 제제의 온도 변화에 따른 안전화 검증

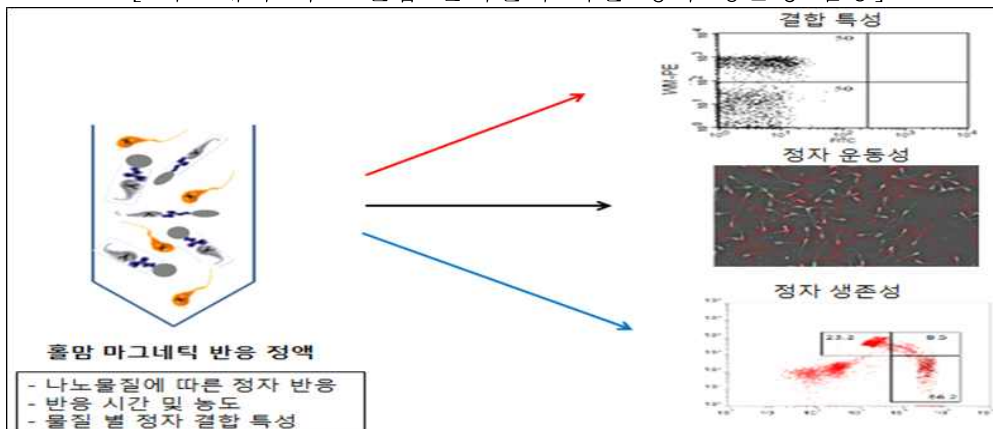
[마그네틱 비즈를 이용한 단백질 결합 방법]



2) 마그네틱 결합 홀맘 단백질에 의한 정자 영향분석

- 마그네틱의 비즈에 결합 단백질의 농도별에 따른 정자 생존성 영향 분석
- 마그네틱의 반응 시간별에 따른 정자 영향 분석

[마그네틱 비즈 결합 단백질에 의한 정자 생존성 검증]

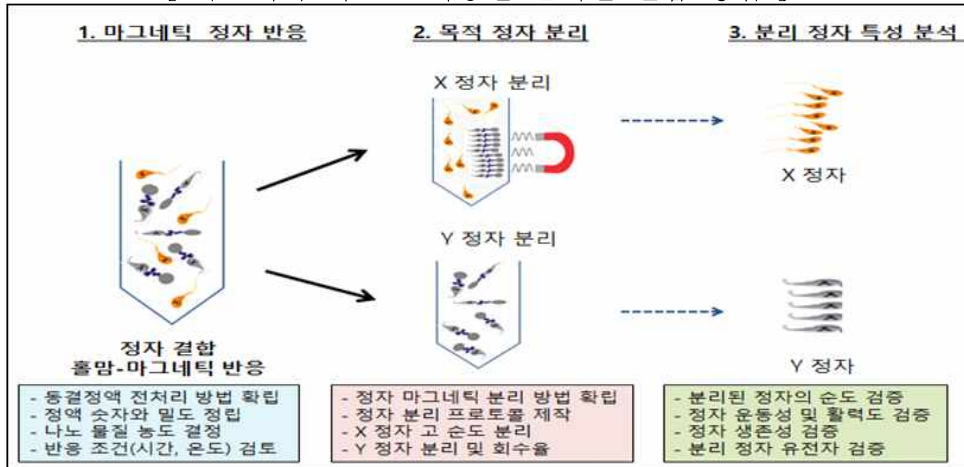


3) 마그네틱 나노 물질을 이용한 X 정자 및 Y정자 고 순도 분리 기술 개발

(1) 성 조절용 단백질 결합 마그네틱을 이용한 X 정자 또는 Y 정자의 분리 효능 검증

- Protein G 코팅 처리 마그네틱 비즈를 활용한 정자 분리 효능을 유세포분석기로 분리 효능 분석
- 마그네틱의 농도별에 따른 정자 분리 효능 검증

[마그네틱 비즈를 이용한 단백질 결합 방법]



4) 홀담 단백질 결합 마그네틱 물질의 효능 검증

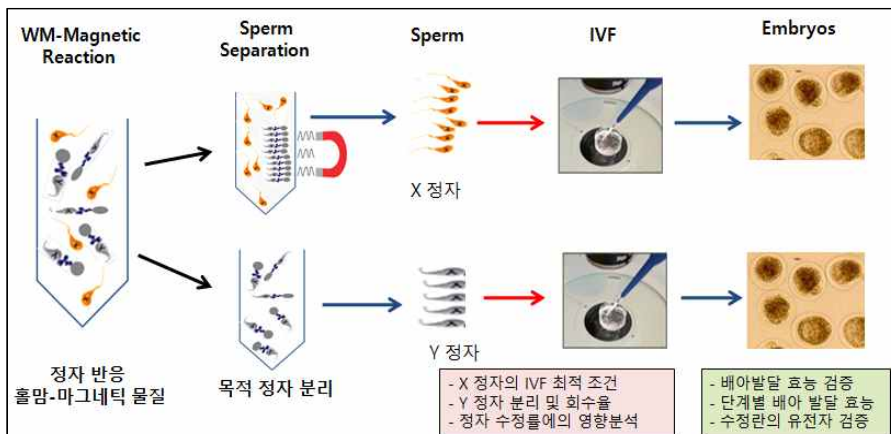
(1) 성 분리 제품의 처리 후 정자의 특성 검증

- 성 분리 제품을 정자에 처리 후 정자의 회수율을 검토함
- Computer analysis system software (CASA)를 통한 성 분리 정자의 운동성 및 활력도를 분석함
- 성 감별 제품을 처리하여 성 분리된 정자의 생존성 및 침체막 온진성을 유세포 분석기를 이용하여 검증함

5) 성 분리 정액을 이용하여 생산된 수정란 발달 영향 분석

- 마그네틱 물질을 이용하여 분리된 X 정자를 이용하여 소 난자와 체외 수정을 실시함
- 성 분리한 정자의 처리를 통해 생산된 수정란 생산 효율 및 발달률을 비교 검토함

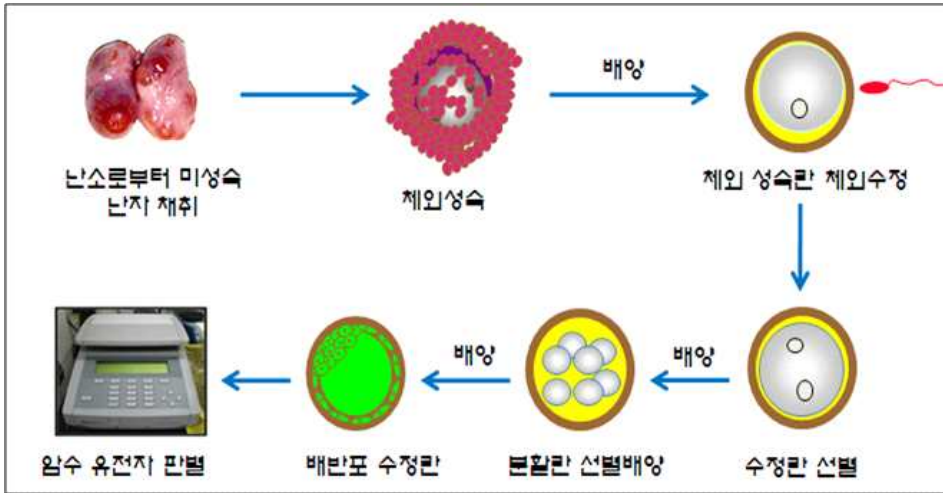
[성 분리 정자를 이용한 제품 효능 검증 및 수정란 생산]



6) 체외 수정란의 성비 효능 검증

체외 수정에서 유래된 수정란을 이용하여 X 염색체 또는 Y 염색체에 특이적인 primer를 이용하여 각 수정란의 성비를 검증함

[시험관 수정란 생산을 통한 남자 발달 영향 및 성비 검증]



2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행 내용

1) 성 조절용 단백질의 마그네틱 비즈 결합

(1) 마그네틱 나노비즈

시판중인 COOH는 0.5um와 1um 크기의 마그네틱 비즈를 사용하였음. Protein G 코팅처리된 마그네틱 나노비즈는 1um와 10um를 사이즈 제품을 구매하여 본 연구과제의 성 조절용 단백질 결합 마그네틱 재료로서 활용하였음 (Table 1).

[Table 1. 마그네틱 비즈의 종류 및 특성]

Material	Coating	Size (μm)	Volume in 1 vial (mL)	Concentration	Company
Magnetic	Protein G	1	1	1%	Pierce
		10	2	1%	Merck
	COOH	0.5	10	3%	NanoBrick
		1	10	3%	

(2) 홀담 성 조절용 단백질 생산 및 정제

- 홀담 소 성조절용 단백질은 무혈청용 배지에 단백질 생산 세포주의 세포 대량 배양을 통하여 단백질을 생산하였음.
- 생산된 세포 생산 성 조절용 단백질의 농축을 위하여 Ammonium sulfate 침전 방법을 이용해 단백질 침전을 실시하였음.
- 침전된 농축 성 조절용 단백질을 농축 또는 불순물 제거를 위하여 100kDa의 여과 membrane을 이용해 100kDa 미만의 적은 분자량을 지닌 단백질을 포함한 화학물질을 제거하고 90%이상 순수한 성 조절용 단백질을 분리 정제하였음.
- 분리된 단백질의 순도 결정은 SDS-Western 분석방법으로 분석하였음.

(3) 카르복실기 마그네틱 비즈에의 성 조절용 단백질 결합

- ① COOH-Mag 비즈를 MES 용액에 2회 세척하고 EDC(20mg/ml)를 녹임.
- ② 1ml의 EDC 용액과 sulfo-NHS 용액(20mg/ml)을 MES 용액에 첨가
- ③ 실온에서 30분간 반응 시키고 원심분리로 상층액 제거
- ④ 800ul의 MES와 200ul의 성 조절 단백질을 섞어 준 후, 실온에서 2-3시간 반응
- ⑤ 15ul의 Etanolamin을 첨가한 후 30분동안 반응시킨 후 PBST 용액으로 2번 세정 실시
- ⑥ 상층액을 제거한 후, PBS(-)용액으로 3-4회 세정을 실시한 후, 정자 분리용으로 사용

(4) Protein G 마그네틱 비즈에의 성 조절용 단백질 결합

Thermo 제품과 Merck 제품간에서 약간의 결합 반응이 상이하는 다음과 같은 절차로 Protein G 부착 마그네틱에 성 조절용 단백질을 결합시킴.

- ① 150ul (0.5mg)의 protein G-Mag 비즈를 1.5ml 튜브에 넣고 150ul의 B/W buffer를 넣고 2-3회 세척을 실시함.
- ② 1ml의 B/W 용액을 첨가하고 vortex로 1분간 잘 섞어준 후 상층액을 제거
- ③ 490ul의 B/W 용액에 성 조절단백질 10ul(60ug)을 넣고 잘 섞어줌
- ④ Protein G-Mag와 성 조절 단백질을 섞어 준 후, 실온에서 1시간 반응

- ⑤ 자석을 이용해 결합하지 않은 단백질 상층액을 제거한 후, 500ul의 B/W 용액으로 2-3회 세정을 실시
- ⑥ 상층액을 제거한 후, PBS(-)용액으로 3-4회 세정을 실시한 후, 정자 분리용으로 사용

2) 홀맘 단백질 결합 마그네틱을 이용한 정자 결합 특성 분석

- ① 한우 동결정액을 37도 온수에 녹인 후, 1000G, 5분간 원심분리를 실시
- ② 원심분리 후 상층액의 동결액을 제거한 후, PBS(-) 0.5ml을 첨가한 후 세척 실시
- ③ 세척 후, 정자를 피펫팅하여 suspension 실시
- ④ 준비된 정자를 이용해 COOH 결합 나노물질 또는 Protein G 결합 마그네틱 나노물질과의 결합용으로 활용

3) 성 감별 키트의 처리

- ① 동결 정액 스트로우를 35 ~ 37°C의 온수에서 용해
- ② 15ml conical tube에 정액을 넣고 KO solution 4.5ml을 첨가하여 피펫팅 후 1500rpm에서 5분간 원심분리 하여 상층액을 제거하고, 동일한 과정을 한 번 더 반복하여 동결 보존액을 깨끗이 제거
- ③ 정자 pellet에 KO solution 1ml을 첨가하여 정자를 부유함
- ④ 100 μ l의 홀맘 (1 vial)을 피펫팅 하여 가라앉은 마그네틱을 부유시킨 후 정자에 첨가
- ⑤ 정자와 홀맘을 피펫팅하여 꼼꼼히 섞어주고 20분간 38°C에서 반응시킴. 이 때 마그네틱 비즈가 가라앉지 않고 반응을 효과적으로 돕기 위해 주기적으로 inverting 함
- ⑥ 20분 후 5ml round tube에 홀맘을 처리한 정자를 옮긴 후 KO solution 3ml을 첨가
- ⑦ 마그네틱 장치에 round tube를 꽂은 후 38°C에서 5분 간 정치
- ⑧ 피펫을 이용하여 상층액 (X 정자) 1.5ml을 1.5ml tube에 조심스럽게 회수
- ⑨ 회수한 정자를 1500rpm에서 5분간 원심분리 후 침전된 정자 pellet을 체외 수정에 사용

4) 정자의 특성 검증

(1) 정자의 운동성 분석

- 성 감별 키트를 정자에 처리한 후 0, 2, 4 그리고 6시간 마다 CASA program을 이용하여 정자의 운동성을 검사함
- 정자의 운동성 파라미터는 total motility (TM), progressive motility (PM), velocity average path (VAP), velocity straight line (VSL), curvilinear velocity (VCL), amplitude of lateral head displacement (ALH), beat-cross frequency (BCF), straightness (STR) 그리고 linearity (LIN)을 분석함

(2) 정자의 생존성 및 침체막 온전성 검토

- 유세포 분석기를 이용하여 정자에 성 감별 키트를 처리 후 0, 2, 4 그리고 6시간에서 정자의 생존성과 침체막 온전성을 검증함
- 정자의 생존성을 분석하기 위해 SYBR-14와 PI를 이중 염색함
- FITC-PNA와 PI를 이중 염색 하여 침체 반응을 일으킨 정자를 분석함

5) 체외수정 실시

난소는 지역 도축장에서 수집하여 실온의 0.9% saline에 넣어 실험실로 운반하였음. 직경 2 ~ 8mm 크기의 난포로부터 COCs (cumulus oocyte complex)를 수집하여 10 μ g/ml FSH (follicle stimulating hormone), 1 μ g/ml β -Estradiol, 1 μ g/ml LH (luteinizing hormone) 및 10% FBS (fetal bovine serum)가 포함되어 있는 TCM-199 (tissue culture medium-199)에서 20 ~ 22시간동안 37 $^{\circ}$ C, 4% CO₂의 환경에서 성숙시킴. 성숙된 난자는 난구 세포를 제거하고 수정 배지인 KO solution으로 옮긴 후, 성 분리된 (X 추정) 정자 (1 \times 10⁶ cells/ml)와 18 ~ 20시간 동안 수정되었음. 체외 수정 후 난자에 부착되어 있는 정자 및 난구세포를 피펫팅 하여 제거한 후 CR1-aa 배양액으로 옮겨 주었으며 48시간 마다 배양액을 교체함. 체외 수정 후 48시간에 난할률을 분석하였으며 192시간까지 수정란을 배양하였음.

6) 수정란의 성비 검증

성 판별 시 투명대에 부착되어 있을 수 있는 정자를 제거하고자 수정 후 8일차에서 5% promase를 이용하여 수정란의 투명대를 벗긴 후 세포질을 3차 증류수 2 μ l에 넣어 -20 $^{\circ}$ C 환경에서 개별 저장함. 소 특이적으로 반응하는 ConBV primer와 음성 특이적으로 반응하는 ConEY primer를 이용하여 DNA를 증폭하였으며 98 $^{\circ}$ C 40초, 52 $^{\circ}$ C 40초, 72 $^{\circ}$ C 40초의 한 cycle을 총 40 cycle 반응시켰음. 암컷의 경우 ConBV만이 반응하여 하나의 밴드 (216 bp)가 나타나며 수컷일 경우 두 개의 밴드 (216 bp and 181 bp)를 확인할 수 있음. 100 bp ladder를 이용하였으며 female control로 소 난관 상피 세포를 사용함. 사용한 primer sequence는 Table 2과 같으며 증폭된 PCR products는 1.5% 아가로스 겔에서 전기영동을 내린 후 UV 광에서 관찰함.

[Table 2. 소 수정란 성 감별 유전자 검증용 primer]

Primer	Nucleotide sequences	Product size (bp)	Reference
ConBV	F :5' -TGGAAGCAAAGAACCCCGCT-3'	216 bp	Plucienniczak et al., 1982. Machaty et al., 1993.
	R : 5' -TCGTCAGAAACCGCACACTG-3'		
ConEY	F : 5' -GATCACTATACATACACCACT-3'	181 bp	Plucienniczak et al., 1982.
	R : 5' -GCTATGACACAAATTCTG-3'		

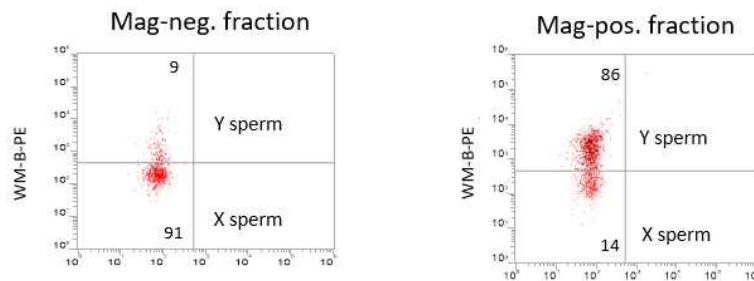
3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도

3-1. 연구수행 결과

(1) 정성적 연구개발성과

가. 마그네틱을 이용한 정자 분리 및 분리 순도 결정

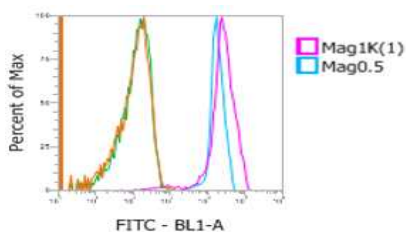
- 홀맘 단백질 결합 Protein G 마그네틱 비즈를 이용해 소 동결정자를 이용한 정자 분리를 시행하였음.
- 자석을 이용해 분리된 정자 분획과 마그네틱 결합 정자 분획을 회수하여 각 정자 분획에 존재하는 정자의 특성을 유세포분석기를 이용해 분석하였음 (그림 1).
- 마그네틱 비즈 결합 정자 분획을 채취하고 마그네틱과 결합한 양성 정자군을 분석한 결과 single 정자가 존재하는 분획에서는 91%이상의 높은 확률로 마그네틱 비결합 정자에서 홀맘 음성의 X 정자가 존재하고 있다는 사실이 판명되었음.
- 마그네틱 비즈와 결합한 정자 분획을 분석한 결과 86%의 비율로 홀맘 양성의 Y 정자가 분리되었음이 판명되었음.



[그림 1. 마그네틱 음성과 양성 결합 정자군에서의 성 판별]

나. COOH-마그네틱 비즈와 홀맘 단백질의 결합 특성 분석

- 홀맘 단백질을 이용해 COOH-Magnetic 비즈(0.5,1K)에의 결합 효능을 검증하기 위하여 유세포분석기를 이용해 분석한 결과, 1K의 COOH-Mag는 대조군에 비해서 554.9배의 결합 peak를 나타내었고 0.5 K의 COOH-Mag는 대조군에 비해서 252.2배의 결합력을 나타내었음 (그림 2).
- 본 결과는 0.5K의 마그네틱 비즈에 비해서 1K의 마그네틱 비즈에 홀맘 단백질이 약 2배이상의 많은 단백질이 결합되고 있음이 관찰되었음. 즉 마그네틱의 사이즈에 비례하여 홀맘 단백질이 결합되어 있음을 시사하는 결과로서 정상적인 홀맘 단백질의 결합력을 나타냄.

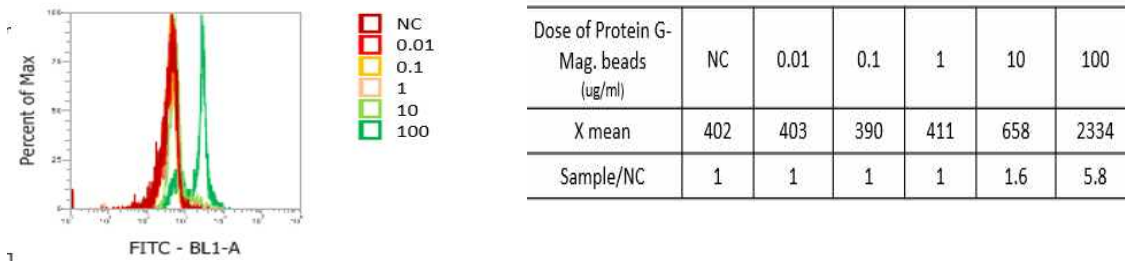


Mag	NC (#8) 1K	NC (#9) 0.5	Mag 1K	Mag 0.5K
X-Mean	59	80	32,743	20,176
Sample/NC	1	1	554.9	252.2

[그림 2. 카르복실기 마그네틱 비즈에의 홀맘 결합 및 특성 분석]

다. Protein G-마그네틱 비즈와 홀맘 단백질의 결합 특성 분석

- 홀맘 단백질을 이용해 Protein G-Magnetic 비즈에의 결합 효능을 검증하기 위하여 유세포분석기를 이용해 정자와 반응 시킨 후, 홀맘 단백질의 결합 정자를 유세포분석기를 이용해 분석한 결과 0.01 - 10ug 농도의 비즈는 대조군과 비교하여 홀맘단백질의 결합이 차이가 없음이 관찰되었음.
- 그러나 100ug농도의 비즈와 정자를 반응 시킨 결과, 대조군에 비해서 약 5.8배의 높은 정자 결합 특성이 관찰되었음 (그림 3).



[그림 3. Protein G 마그네틱 비즈에의 홀맘 결합 및 특성 분석]

라. 마그네틱 비즈 결합 단백질의 농도 변화 분석

- 홀맘 단백질의 최적의 COOH-마그네틱비즈 표면에의 결합하는 최적 농도를 결정하기 위하여 COOH-마그네틱비즈 결합 전과 결합 후의 단백질 농도를 측정하였음.
- 단백질의 농도는 비즈의 크기에 따라 상이하는 100ul의 COOH-마그네틱 비즈당 약 1.46mg - 300ug의 범위에서 최적의 비즈 결합을 위한 단백질 농도임이 판명되었음 (Table 3).

[Table 3. COOH 마그네틱에의 단백질 결합가 분석]

No.	Initial Conc. (mg/mL)	Reaction volume (uL)	Protein Conc. (mg/mL)		
			Before	After	Gap
1	0.3	100	0.44	0.28	0.16
2	1	100	1.19	1.06	0.13
3	1.46	100	1.83	1.49	0.34

- Protein G 마그네틱에의 홀맘 단백질의 결합력을 검증하기 위하여 0.7ug/ul과 3.04ug/ul의 농도별 변화에 따른 홀맘단백질의 비즈 결합력을 비교 검증한 결과, 농도별에 따라 높은 비즈 결합력이 관찰되었음 (Table 4).

[Table 4. Protein G 마그네틱의 단백질 결합가 분석]

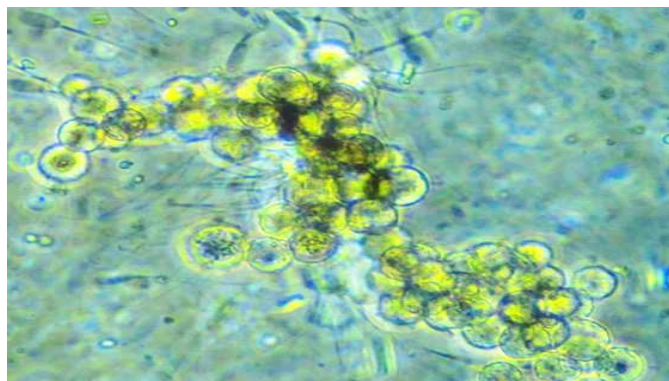
	WM Vol.	Before Conc. (ug/uL)	After Conc. (ug/uL)	Gap
WM-B	30 uL	0.733	0.595	0.138
	150 uL	3.04	2.545	0.495

마. 홀맘 단백질 결합 마그네틱 비즈의 정자 결합 특성 비교 검증

- 홀맘 단백질과 COOH 마그네틱 결합된 비즈와 Protein G 마그네틱 결합 비즈를 이용해 정자와의 응집 반응 유무 검증을 통하여 정상적인 홀맘 반응이 유도되는가를 검증 하였음.
- 동일한 농도의 홀맘 결합 나노 비즈를 이용해 정자와 농도별에 따른 응집 반응 유도 효능을 비교 검증한 결과, 동일한 양의 COOH 마그네틱 비즈에 비해서 Protein G 마그네틱 비즈에서 높은 정자 응집 반응이 관찰되었으며 낮은 40ug/ml의 농도에서도 정자 응집 반응이 관찰되었으며, 비즈의 정자 두부 결합도 정확하게 되어 있는 것을 확인하였음 (그림 4, 5).
- 그러나 COOH 마그네틱을 투여한 정자에서는 고 농도의 비즈 투여에도 불구하고 낮은 정자 응집반응이 유도되어 홀맘과 정자의 정상적인 결합이 일어나지 않고 있다는 사실이 판명되었음.

Type	WM-COOH-Mag				WM-Pro.G-Mag			
condition	40	80	200	500	40	80	200	500
Blocking w/o BSA	±	±	±	±	++	++	++	++
Blocking w/ 0.5% BSA	±	±	+	±	++	++	++	++

[그림 4. 마그네틱 비즈별에 따른 정자 응집 반응 유도능 비교 검증]



[그림 5. Protein G (10um) 비즈의 정자 두부 결합]

바. 홀맘-Protein G 마그네틱 비즈를 이용한 정자 분리 효능 검증

- Protein G 결합 마그네틱 비즈를 이용해 소 정자 분리 효능을 검증하기 위하여 마그네틱 비즈와 정자 결합 반응을 유도하였음.
- 자석을 이용해 마그네틱 비즈 결합 정자를 회수하여 회수된 X 정자의 회수율을 정자수 계산을 통하여 검증하였음. 본 결과 마그네틱의 농도별에 따른 정자 회수율에 변화가 있었으며 50ug/ml를 반응시킨 결과 X 정자는 거의 회수되지 않음을 알 수 있음.
- 500ug/ml의 마그네틱을 첨가한 결과 약 29%의 정자가 제거되었음을 알 수 있으며 1000ug/ml의 비즈를 첨가한 결과 약 45%의 마그네틱 결합 Y 정자가 제거되었음 (Table 5).
- 한우 동결정액을 이용해 한 스트로우당 정자 분리를 위한 최적 농도의 마그네틱 비즈를 결정하기 위하여 500,1000,2000ug 농도의 비즈를 이용해 정자 결합 후, 자석을 이용해 분리된 정자의 숫자변화를 검증한 결과 2000ug/ml에서 최적의 정자 분리 효능이 검증되었음 (Table 6).

[Table 5. 마그네틱 비즈를 이용한 정자 분리 효능 검증]

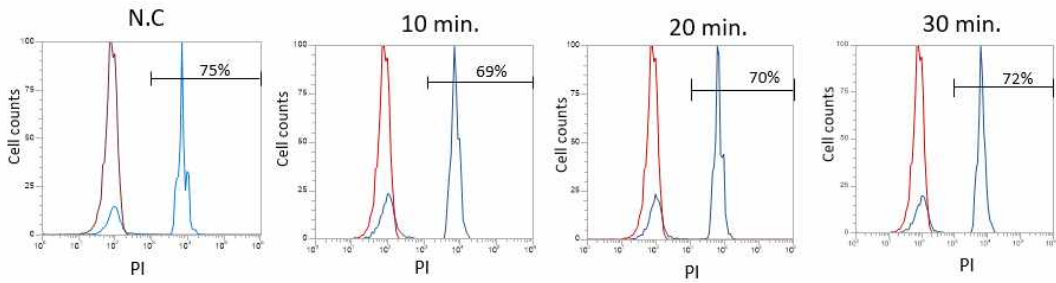
WM-BN (ug/ml)	0	50	100	250	500	1000
Sperm No	4.2 x 10 ⁶	4.2 x 10 ⁶	4.2 x 10 ⁶	4.2 x 10 ⁶	4.2 x 10 ⁶	4.2 x 10 ⁶

[Table 6.한우 동결정액 스트로우당 마그네틱 비즈를 이용한 정자 분리 농도 결정]

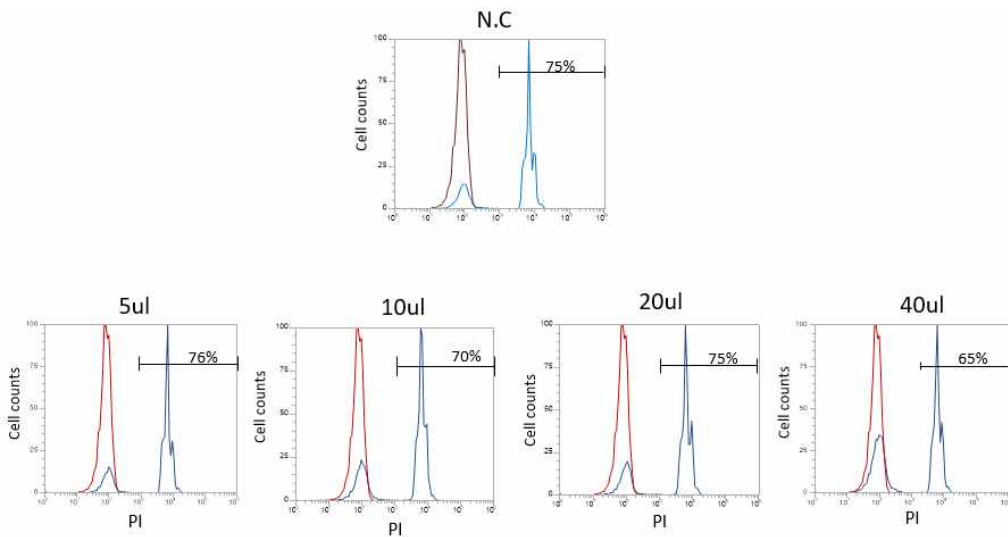
WM-BN (ug/ml)	500		1000		2000	
	before	after	before	after	before	after
Sperm No.	2.29 x 10 ⁷	2.72 x 10 ⁷	1.51 x 10 ⁷	1.4 x 10 ⁷	1.7 x 10 ⁷	1.06 x 10 ⁷

사. 홀맘-Protein G 마그네틱 비즈의 정자 생존성 영향 분석

- Protein G 결합 마그네틱 비즈를 이용해 목적 성을 지닌 소 정자 분리를 위하여 정자와의 반응 시간이 2-30분 필요함. 이 반응 과정에서의 마그네틱 비즈에 의한 정자 생존성에의 영향을 조사하기 위하여 정자 반응시간과 마그네틱 농도 변화에 따른 생존성을 유세포분석기를 활용해 분석하였음 (그림 6).
- 마그네틱 비즈와 정자 반응 시간별에 따른 PI+ dead sperm의 비율을 조사한 결과 반응 시간에 따른 정자 생존성 변화는 관찰되지 않았음. 본 결과는 비즈에 의한 정자 생존성에는 영향이 없기 때문에 정자 분리용 비즈로서의 사용이 가능하다는 사실을 증명한 결과임.
- 마그네틱 비즈의 농도 변화에 따른 정자 생존성에의 영향 분석을 위하여 5,10,20,40ul의 비즈와 정자를 20분간 37도에서 반응 시킨 후, 유세포분석기를 이용한 정자 생존성을 조사하였음 (그림 7).
- 마그네틱의 농도변화에 따른 정자의 생존성에는 영향이 없다는 사실이 판명되었음. 비즈에 의한 농도 변화와 반응 시간에 따른 정자에의 영향이 전혀 없다는 사실은 본 제제를 활용해 제품화예의 적용에 문제가 없다는 사실을 증명함.



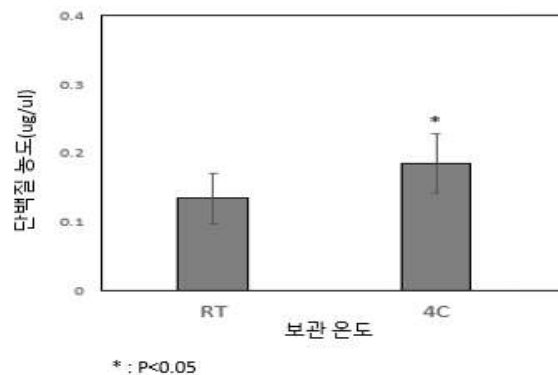
[그림 6. 정자와 마그네틱 비즈의 반응 시간별에 따른 정자 생존성 변화 검증]



[그림 7. 정자와 마그네틱 비즈의 농도별에 따른 정자 생존성 변화 검증]

아. 홀맘-Protein G 마그네틱 비즈의 보관 방법에 따른 제제 안정화

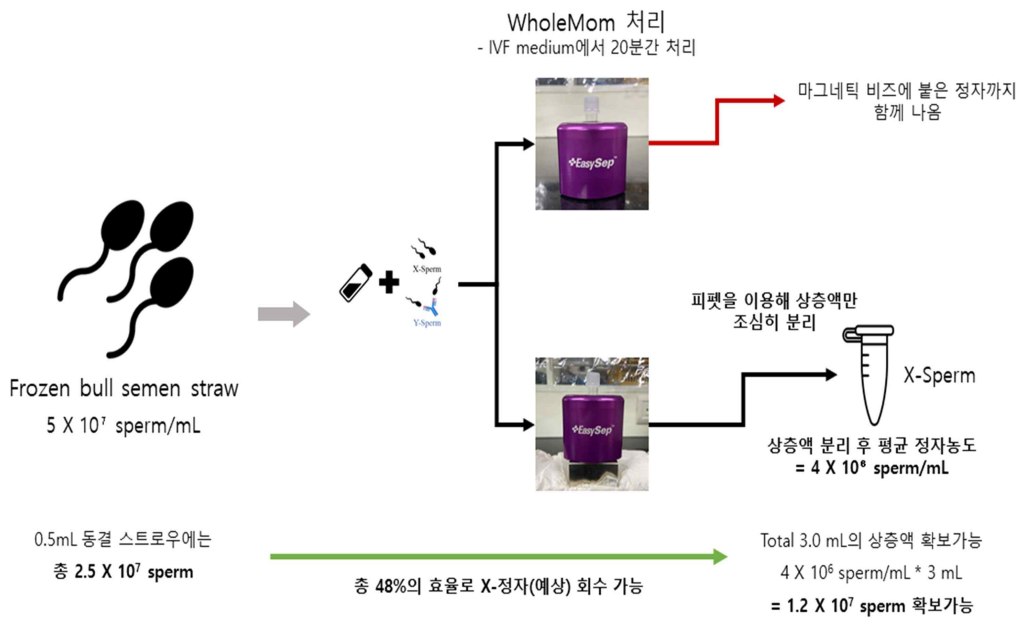
- Protein G 결합 마그네틱 비즈를 이용해 마그네틱 비즈의 보관 온도별에 따른 단백질의 degradation 변화 양상을 단백질 정량 분석기를 이용해 측정하였음 (그림 8).
- 마그네틱 비즈는 4도에서 보관시 실온에서 보관에 비해서 유의한 제제 안정화가 관찰되었음.



[그림 8. 마그네틱 제제의 보관 온도별에 따른 안정화 검증]

자. 성 감별 제품의 처리에 따른 최적의 정자 분리 및 회수율 검토

- 홀맘 단백질 제제를 이용하여 정자의 성 분리를 일으킨 후 회수된 정자 수를 검토한 내용을 그림 9에 나타냄.
- 마그네틱 장치와 round tube를 함께 기울여 정자를 회수하는 방식은 마그네틱 비즈와 응집된 정자 (Y 정자)까지 함께 섞여 나오는 것을 확인.
- 이를 해결하기 위해 기존 마그네틱 장치 아래에 6000G의 네오디움 자석을 추가하여 마그네틱 비즈의 분리 효율을 증가시키고자 함.
- 또한 응집 반응을 일으킨 정자가 함께 회수되는 비율을 낮추고자 기존의 쏟아내는 방식이 아닌 피펫을 이용하여 홀맘을 처리한 정자의 일부를 떠서 이용함.



[그림 9. 홀맘 마그네틱 비즈를 이용한 정자 분리 방법]

- 5 × 10⁷ cells/ml의 동결 정액 스트로우 (0.5ml, 2.5 × 10⁷개)를 용해하여 홀맘 단백질 제제를 처리한 후 1.2 × 10⁷개의 정자가 회수되었음 (Table 7).
- 이를 통해 동결 스트로우 정액의 약 48%의 정자를 회수할 수 있다고 판단되어 짐.

[Table 7. 마그네틱-홀맘 처리 후 정자 분리 효율]

Sperm count in frozen-thawed straw	2.5 × 10 ⁷ cells
Sperm concentration in the supernatant separated after treatment with wholemom	4 × 10 ⁶ cells/ml × 3 ml
Sperm recovery rate after wholemom treatment	1.2 × 10 ⁷ cells (48%)

차. 정자의 운동성 분석

- Table 8은 정자에 홀맘을 처리할 시 정자의 운동성에 미치는 영향을 분석하기 위해 홀맘의 처리 후 0, 2, 4 그리고 6시간에서 정자의 운동성 파라미터를 측정된 결과임.
- 홀맘을 6시간동안 처리한 정자는 TM, PM, VAP, VSL, ALH 및 LIN이 대조군에 비해 유의적으로 높았음.
- 이는 홀맘의 처리가 정자의 운동성에 부정적인 영향을 미치지 않았음을 나타냄.
- 홀맘과 반응시킨 다음 정자를 회수하는 방법이 정자 분리 방법 중 swim-up과 유사한데 이를 통해 운동성이 좋지 않은 정자를 제외하여 수집하기 때문일 것으로 추측됨.

[Table 8. CASA 분석기를 이용해 마그네틱 비즈와의 반응후 정자 운동성 검증]

Parameters	Treatment	Incubation time (hours)			
		0 h	2 h	4 h	6 h
TM (%)	Control	37.6 ± 6.4 ^A	8.4 ± 1.9 ^B	7.0 ± 3.0 ^B	0.6 ± 0.2 ^{a, B}
	WM	27.6 ± 3.1 ^A	8.0 ± 2.3 ^B	8.8 ± 2.6 ^B	5.8 ± 1.2 ^{b, B}
PM (%)	Control	20.8 ± 3.9 ^A	3.4 ± 0.9 ^B	3.00 ± 1.4 ^B	0.0 ± 0.0 ^{a, B}
	WM	13.4 ± 1.4 ^A	3.4 ± 1.7 ^B	3.4 ± 0.8 ^B	2.2 ± 0.2 ^{b, B}
VAP (µm/s)	Control	83.3 ± 5.4 ^A	67.4 ± 7.6 ^{AB}	53.9 ± 5.0 ^B	29.0 ± 7.9 ^{a, C}
	WM	76.2 ± 1.6	54.7 ± 5.7	61.8 ± 12.5	53.5 ± 3.2 ^b
VSL (µm/s)	Control	61.6 ± 4.2 ^A	50.5 ± 9.2 ^{AB}	36.0 ± 4.5 ^{AB}	17.5 ± 5.9 ^{a, C}
	WM	59.0 ± 3.0	40.3 ± 7.0	48.0 ± 10.5	42.0 ± 3.4 ^b
VCL (µm/s)	Control	144.6 ± 11.2 ^A	109.4 ± 11.0 ^{AB}	101.4 ± 7.4 ^B	70.1 ± 19.1 ^B
	WM	117.8 ± 3.9 ^A	88.3 ± 4.5 ^B	95.7 ± 13.7 ^{AB}	88.8 ± 5.6 ^B
ALH (µm)	Control	7.7 ± 0.5 ^A	5.2 ± 1.2 ^{AB}	6.5 ± 0.5 ^A	2.0 ± 1.6 ^{a, B}
	WM	6.1 ± 0.6	4.8 ± 0.5	6.4 ± 0.6	6.4 ± 0.7 ^b
BCF (Hz)	Control	29.5 ± 1.6	29.8 ± 2.0	32.2 ± 2.5	33.3 ± 1.9
	WM	28.1 ± 1.0	30.1 ± 1.4	29.6 ± 2.0	26.0 ± 1.4
STR (%)	Control	68.6 ± 1.9	73.4 ± 2.5	67.0 ± 3.5	49.2 ± 16.2
	WM	71.8 ± 2.8	70.4 ± 5.2	71.6 ± 2.0	78.4 ± 2.5
LIN (%)	Control	44.2 ± 2.1 ^A	51.6 ± 5.2 ^A	42.6 ± 3.2 ^A	25.8 ± 9.1 ^{a, B}
	WM	51.4 ± 3.4	50.6 ± 4.9	50.6 ± 3.7	55.8 ± 2.3 ^b

^{a, b} Small letters indicate that significant difference in the same row (p < 0.05).

^{A, B, C} Large letters indicate that significant difference between treatment groups at same incubation time (p < 0.05).

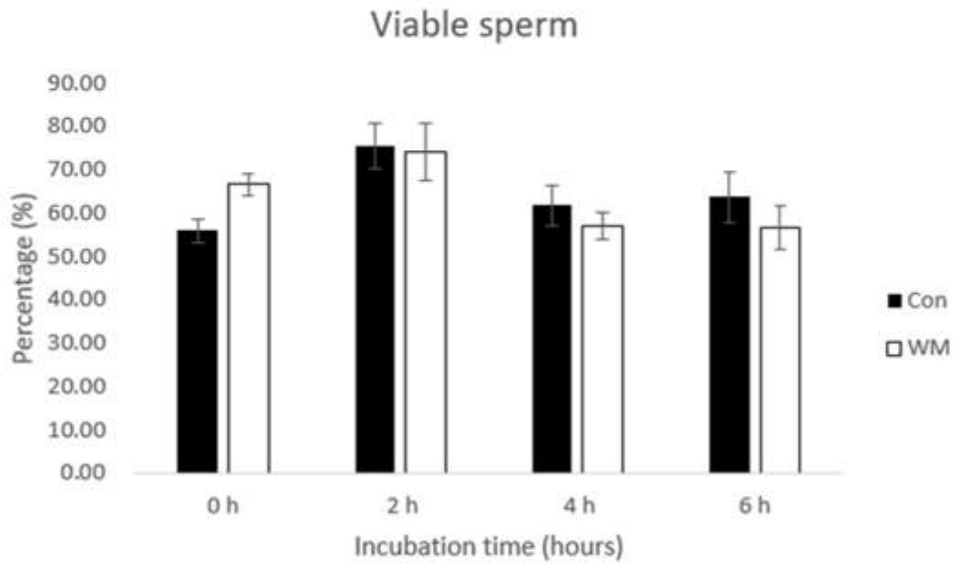
카. 정자의 생존율 및 침체막 온전성 검토

- 성 감별 키트가 정자의 생존율과 침체 반응에 미치는 영향을 비교 분석한 결과를 그림 10에 제시함.
- 정자의 생존율 평가는 암실에서 0.78µM SYBR과 0.0375mM PI를 1 × 10⁶ cells/ml의 동결 용해한 정자에 이중 염색하여 유세포 분석기를 이용하여 분석함.
- 침체 반응을 일으킨 정자는 어두운 실내에서 2.5µg/ml FITC-PNA와 0.0375mM PI를 1 × 10⁶ cells/ml의 동결 용해한 정자에 이중 염색하여 유세포 분석기를 통해 측정함.
- 각각 정자의 생존율과 침체막 온전성에서 대조군과 홀맘 처리군 사이의 유의적인 차이

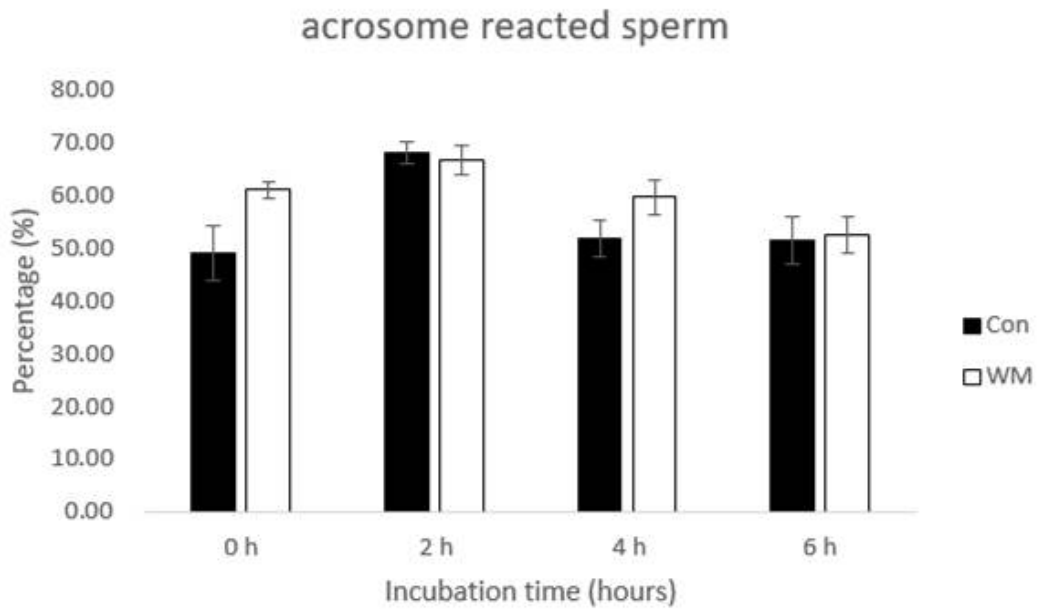
가 나타나지 않았음.

- Table 8과 그림 10을 통해 홀담의 처리는 정자의 특성에 악영향을 끼치지 않음을 알 수 있음.

(A)



(B)



[그림 10. 홀담 마그네틱 비즈 반응 후의 정자 생존성(A)과 acrosome 반응(B) 검증]

타. 체외 수정란의 발달에 미치는 성 분리된 정자의 영향

- 정자에 홀맘을 처리하여 X 염색체를 가지고 있는 것으로 추정되는 정자를 회수한 후 난자와의 수정에 사용하였을 때 수정란 발달에 미치는 영향을 Table 9에 나타냄.
- 대조군 (76.99 ± 2.23)과 홀맘 처리군 (78.97 ± 2.60)에서 유의적인 차이는 보이지 않았음.
- 이것은 정자의 수정률이 홀맘에 의해 저하되지 않음을 의미함.

[Table 9. 홀맘 비즈 처리 수정란의 배 발달 영향 분석]

Treatment	No. of oocytes	No. of cleaved oocytes
Control	226	174 (76.99 ± 2.23)
WM treated	211	165 (78.97 ± 2.60)

IVF : *In vitro* fertilization

Data is expressed as mean \pm SEM of ten independent replicates

파. 체외 수정란의 성비 효능 검증

- 성 분리된 정자를 이용하여 생산된 모든 체외 수정란(2 세포기 ~ 배반포기)의 성비를 판별한 내용임 (Table 10).
- 일반적으로 수정란 성비 검증은 배반포에서 이루어지나(Steele 등., 2020) 최근 아프리카 돼지열병 (ASF)에 의한 원활한 난소 수급에 어려움을 겪어 불가피하게 배반포를 포함한 모든 수정란을 성 판별 실험의 시료로써 사용하였음.
- 이러한 결과 대조군과 홀맘 처리군의 모든 수정란에서는 성비의 유의적인 차이가 나타나지 않았음.
- 배반포만을 이용한 성비 검증 결과 대조군은 8개의 배반포 중 3개(37.5%)에서 XX 염색체가 확인되었으며, 홀맘 처리군은 7개의 배반포 중 4개(57.1%)의 배반포가 암컷인 것으로 판정되었음.
- 시료의 수급이 어려움에도 불구하고 과제가 종료된 현재 시점(2021-06-18)에도 체외수정을 이용한 배반포를 지속적으로 생산 중에 있으므로 홀맘을 이용한 정자 성 분리 효능이 기대됨.

[Table 10. 홀맘 마그네틱 비즈 처리 수정란의 성 판별 효능 검증]

Treatment	No. of embryos	Sex ratio	
		Female (%)	Male (%)
Control	62	35 (56.45)	27 (43.55)
WM	79	41 (51.90)	38 (48.10)

Data is expressed as mean \pm SEM of ten independent replicates.

- 본 연구의 수행과정에서 한우 및 젓소정액을 이용한 정자의 성분리 후 소의 품 A종 및 개체차에 의한 제외수정 효율 및 수정란의 생산과 성분리에 미치는 영향을 보다 세부적으로 분석할 필요가 있다고 판단됨.
- 본 연구의 완료 후 전문가와의 심층 점검 후 현장연구를 거쳐 농가에서 손쉽게 활용할 수 있도록 체내수정란과 OPU생산 수정란을 이용한 실증실험이 필요할 것으로 판단되어 이에 대한 연구를 수행 할 계획임.

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

< 정량적 연구개발성과표(예시) >

(단위 : 건, 천원)

성과지표명		연도	1단계 (YYYY~YYYY)	n단계 (YYYY~YYYY)	계	가중치 (%)
전담기관 등록·기탁 지표 ¹⁾	목표(단계별)					
		실적(누적)				
	실적(누적)					
연구개발과제 특성 반영 지표 ²⁾	목표(단계별)					
		실적(누적)				
	실적(누적)					
계						

* 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, 신물질 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, 투자 유치), 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(예시) >

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	성 조절용 단백질 결합 마그네 틱 비즈	개	80	대한민국	상	초	홀합 성 조절용 바이오 단백질 부착 마그네틱 비즈 개발	수정란 생산용 KIT 개발을 위한 체제로 활용
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
1	2020년 한국동물생명공학회 정기 학술대회	조소연, 김동구, 박춘근	2020년 8월 20일	KT대전인재개발원 제2연수관 중강당	대한민국
2	2021년 한국동물생명공학회 정기 학술대회	조소연, 황보용, 이유나, 김선영, 정희태, 김동구, 박춘근	2021년 6월 18일	대구컨벤션뷰로 (대구 북구 유통단지로 14길 17)	대한민국

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, 신품종, 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
1	√									

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)
1	WM-IVF Kit	2020.10	주)누리사이언스	좌동	수정란 생산용	2년		

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					

사업화 현황

번호	사업화 방식 ¹⁾	사업화 형태 ²⁾	지역 ³⁾	사업화명	내용	업체명	매출액		매출 발생 연도	기술 수명
							국내 (천원)	국외 (달러)		
1	자기실시	신제품개발	국내.국외	IVF 키트	수정란 생산용				2021	

- * 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)		
합계					

□ 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
			2020년	2021년	
1	농식품후속개발사업	주)누리사이언스	1	2	3
합계			1	2	3

□ 고용 효과

구분			고용 효과(명)
고용 효과	개발 전	연구인력	1
		생산인력	1
	개발 후	연구인력	3
		생산인력	1

□ 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

정책 활용 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				

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)

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

[그 밖의 성과](해당 시 작성합니다)

(4) 계획하지 않은 성과 및 관련 분야 기여사항(해당 시 작성합니다)

3-2. 목표 달성 수준

추진 목표	달성 내용	달성도(%)
○홀맘 성 조절용 단백질 결합 마그네틱 비즈 제제 개발	○Protein G 마그네틱에의 홀맘 성 조절용 단백질의 코팅 기술 확립 및 제제화 완료	○ 100 %
○마그네틱 비즈를 이용한 정자 분리 방법 개발	○자석을 이용한 마그네틱 정자 분리 방법 확립 및 분리 효능 검증	○ 100 %
○ 홀맘의 효능 검증	○ 홀맘 처리 후 정자의 효능 검증 및 정자의 운동성, 생존성 및 침체 반응 검증	○ 100 %
○ 성 분리 정액을 이용한 체외 수정란 생산과 발달 영향 분석	○ 홀맘을 처리하여 분리된 정자를 이용하여 난자와 체외수정 시 수정란 발달률 비교	○ 100 %
○ 체외 수정란의 성비 효능 검증	○ 소 특이적 및 옹성 특이적 primer를 통하여 각 수정란의 성비 검증	○ 100 %

4. 목표 미달 시 원인분석(해당 시 작성합니다)

1) 목표 미달 원인(사유) 자체분석 내용

2) 자체 보완활동

3) 연구개발 과정의 성실성

5. 연구개발성과의 관련 분야에 대한 기여 정도

- 1) 목적 성의 수정란 생산을 위해 일반 동결정액을 사용해 수정란을 생산하고 있으나 높은 비율로 수컷 수정란 생산성이 높아 우량 암 소 생산 농가에는 문제로 여겨지고 있음.
- 2) 홀맘 성 조절용 단백질만을 이용해 수정란 생산용 성 감별 정액으로 사용 시 각 수정란 생산 업체마다 또한 정자 전처리 방법의 차이에 따라 수정란 성분리 효율에 차이가 발생하는 문제점이 관찰되었음.
- 3) 홀맘 단백질만으로 정자 분리시 응집된 Y 정자와 비 응집 X정자를 필터나 침전등으로 분리 해 사용하였을 경우 일정한 수정란 성비 효율을 얻기가 어려운 단점이 있음.
- 4) 마그네틱을 이용해 목적으로 하는 X정자 또는 Y 정자를 분리하는 기술은 기존의 응집반응만으로서 정자를 분리하는 방법에 비해서 일정한 효율의 정자 분리가 가능함.
- 5) 수정란 생산 센터 및 담당자의 정자분리 숙련도에 따른 성 분리 효율의 차이점을 마그네틱을 이용해 정자분리 방법으로 일정한 고효율의 정자 분리를 가능하게 하는 장점을 지니고 있음.
- 6) 홀맘 성 조절용 단백질이 결합된 마그네틱 비즈 제제 개발 및 IVF용 키트 개발은 안정적인 목적 정자 분리용으로서의 활용을 통하여 일정한 정자 분리 정제를 통한 목적 성의 수정란 생산용 제품으로서의 활용이 기대됨.
- 7) 한우와 같은 고 능력 암소 개량 및 단기간의 우량 암소 대량 생산을 위한 수정란 대량 생산용에의 적용을 통한 비육농가 생산성을 높이는 효과
- 8) OPU에 의해 확보된 우량 암소 난자에의 제품 적용을 통하여 암소 생산성을 증대 시키며 이를 통한 한우 농가 및 젖소 농가의 유전 능력 고양 효과
- 9) 전 세계 적인 우량 동결 일반 정액에의 제품 적용을 통하여 우수 유전 능력을 지닌 유전자원의 보관 및 혈통유지에 활용을 통한 지속적인 유전자원 생산성 유지
- 10) 우량 수정란 보관 사업 및 정자 보관을 통한 멸종 위기종의 정자 및 수정란 유전자원 보관 사업에의 활용성 기대
- 11) 제주를 비롯한 흑우, 칠포등 특이 재래 가축의 유전자원 보관에의 활용 및 유지에 기여

6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획

- 1) 마그네틱 비즈 활용 제품화를 통하여 수정란 생산 국내 업체에의 제품 홍보활동을 통해 실제 수정란 성 조절 키트의 제품에 대한 인식을 높이며 이를 통한 제품 판매 효과
- 2) 글로벌 수정란 생산 업체에의 제품 홍보를 통한 제품 글로벌 판매를 통한 부가가치 창출
- 3) 소를 비롯한 말과 염소등 우량 수정란 이식 가축 번식을 시행하는 품종에의 활용
- 4) 원 정액에의 제품 적용을 통한 성 감별된 정액 대량 생산용으로서의 활용도 기대
- 5) 액상 정액을 이용한 성 감별 정액 생산용으로서 활용
- 6) 수정란 생산용 제품화를 통한 글로벌 제품판매 및 소득 창출

< 연구개발성과 활용계획표(예시) >

구분(정량 및 정성적 성과 항목)		연구개발 종료 후 5년 이내 매년 목표치	
국외논문	SCIE		
	비SCIE		
	계		
국내논문	SCIE		
	비SCIE	1	
	계	1	
특허출원	국내	1	
	국외		
	계	1	
특허등록	국내		
	국외		
	계		
인력양성	학사		
	석사		
	박사		
	계		
사업화	상품출시	1	
	기술이전		
	공정개발		
제품개발	시제품개발	1	
비임상시험 실시			
임상시험 실시 (IND 승인)	의약품	1상	
		2상	
3상			
	의료기기		
진료지침개발			
신의료기술개발			
성과홍보		1	
포상 및 수상실적			
정성적 성과 주요 내용			

연구개발보고서 초록

과 제 명	(국문) 소 성 조절 단백질 부착 마그네틱비즈를 이용한 정자 분리 기술 개발과 수정란 생산 키트 개발				
	(영문) Development of bovine IVF kit using bovine sexing protein conjugated magnetic nanoparticles				
주관연구기관	주) 누리사이언스		주 관 연 구	(소속) 주) 누리사이언스	
참 여 기 업			책 임 자	(성명) 김 동구	
총연구개발비 (187,000천원)	계	187,000	총 연 구 기 간	2020.04.20. ~ 2021.04.19.(1년 0월)	
	정부출연 연구개발비	150,000	총 참 여 연 구 원 수	총 인 원	7
	기업부담금	37,000		내부인원	7
	연구기관부담금	0		외부인원	0

○ 연구개발 목표 및 성과

수정란 생산을 통한 고 능력 암소 대량 생산 기술은 한우를 비롯한 젖소 농가의 소득 창출을 위한 가장 이상적인 번식 기술임. 세계 최초로 개발된 소 성 조절 제제인 홀맘 단백질을 이용해 시험관 소 수정란 생산시 목적 성을 지닌 수정란을 고 효율로 생산하기 위해 마그네틱나노비즈를 활용해 성 감별용 수정란 생산 키트 개발을 진행하였음. 홀맘 단백질을 ProteinG 마그네틱 나노비즈에 결합 시킨 새로운 나노물질 개발에 성공하여 수정란 생산을 위한 성 조절용 키트 상품을 제작하였음.

○ 연구내용 및 결과

1. 홀맘 성 조절용 항체 단백질의 마그네틱 나노물질에의 결합 기술 확립 연구는 카르복실기에 비하여 프로테인 G 부착 마그네틱 나노물질에의 성 조절용 항체 단백질의 결합력이 강하며 홀맘의 정자 결합 능력에도 영향을 미치지 않다는 사실이 판명되었음.
2. 홀맘결합마그네틱 나노입자의 정자 운동성 및 정자 생존성에 미치는 영향 분석을 실시한 결과, 정자의 생존성에는 영향이 없었으며 정자 운동성은 반응 후, 4시간부터 정자 운동성의 증가가 관찰되었음.
3. 프로테인 G마그네틱과 결합시킨 정자 분리 제제를 이용해 소 동결정액을 이용해 정자 분리 효율을 검증한 결과, X 정자는 90%이상의 높은 순도의 정자 분리가 관찰되었으며 Y정자는 85%이상의 정자가 분리되었음이 관찰되었음.
4. 마그네틱 분리 정자를 이용한 시험관 수정란 배발달과정의 영향을 분석한 결과, 정상적인 배아발달이 관찰되었음.

○ 연구성과 활용실적 및 계획

본 연구결과를 통하여 수정란 성 조절용 제품화를 통하여 우량 형질 유래 수정란 대량 생산 및 이식 사업을 통해 단기간에 걸친 고 우량 소 생산이 가능하며 우수 유전능력의 암소 개량에의 활용이 기대됨. 수정란 성 조절용 키트제품을 활용해 수정란 생산 회사에의 제품 판매를 통한 수익 창출과 함께 글로벌 수정란 생산 업체 공급을 통한 부가가치 창출을 추진할 예정임.

자체평가의견서

1. 과제현황

		과제번호	120034-1		
사업구분	농식품연구성과 후속지원 사업				
연구분야				과제구분	단위
사업명	농식품연구성과 후속지원 사업				주관
총괄과제	기재하지 않음			총괄책임자	기재하지 않음
과제명	소성 조절 단백질 부착 마그네틱비즈를 이용한 정자 분리 기술 개발과 수정란 생산키트 개발			과제유형	(기초,응용,개발)
연구개발기관	주)누리사이언스			연구책임자	김 동구
연구기간 연구개발비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차년도	2020. 04. 20. - 2021. 4. 19.	150,000	37,000	187,000
	2차년도				
	3차년도				
	4차년도				
	5차년도				
	계		150,000	37,000	187,000
참여기업					
상대국	상대국연구개발기관				

※ 총 연구기간이 5차년도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망

2. 평가일 : 2021.06.21

3. 평가자(연구책임자) :

소속	직위	성명
주) 누리사이언스	대표이사	김 동구

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.

확약	
----	---

I. 연구개발실적

1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : 우수, 보통, 미흡, 극히불량)

단기간 우수한 유전형질의 암소를 대량 생산 및 번식하는 기술로서 우량 암소 난소에서 채취한 우수 난자 채취와 시험관 체외수정을 통해 생산된 수정란 이식 방법임. 그러나 체외수정란 생산의 가장 큰 문제점중에 하나인 수컷 수정란 생산성이 높아 실제 필요로 하는 암컷 수정란 생산을 위한 기술 개발이 절실히 요구됨. 홀맘 성 조절용 단백질은 소의 Y 정자만 특이적으로 결합하는 특성을 지닌 성 조절용 단백질로서 본 단백질을 활용해 고 효율의 암컷 수정란을 생산할 수 있는 기술과 제품은 수정란 이식을 통한 우량 암소 대량 생산 농가에는 절실한 기술임. 안정적인 성 조절 수정란 생산을 위해서 홀맘단백질과 마그테닉을 이용해 고 효율의 정자 분리 효율 방법은 매우 유용한 방법으로 사료되며 본 연구결과의 실용화는 축산 농가에 소득창출과 가축 개량을 위해 매우 필요한 기술이라 사료됨.

2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : 우수, 보통, 미흡, 극히불량)

기존의 일반 냉동정액을 이용한 수정란 시험관 생산에서 수컷 수정란 생산성이 높기 때문에 고 비용을 지불하는 농가에는 큰 부담으로 작용되고 있음. 본 성 조절된 수정란 생산이 가능한 키트 제품 개발은 실제 수정란 생산업체 및 관계기관에의 활용을 통하여 높은 효율의 목적 성 수정란 생산이 가능케함으로써 축산 농가에 막대한 경제적 이익 창출과 가축질병 발병으로 인한 국가 축산업 위기극복을 위한 최상의 대안으로서 활용가능할것임. 또한 암소 한우의 단기간 유전능력 개량화가 가능하기 때문에 국가 축산업 발전에도 기여할것으로 사료됨.

3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : 우수, 보통, 미흡, 극히불량)

미국의 기계적인 정자 분리기술을 활용해 생산된 성 감별 냉동정액은 한정된 유전형질의 정소 및 국한된 정액 생산성으로 인하여 활용성이 극히 제한된 실정임. 또한 한우와 같은 국가 고유의 가축자원에서의 활용이 불가능한 단점이 있음. 홀맘 단백질을 활용한 성 조절용 수정란 생산 기술은 정소를 비롯해 한우와 다양한 국가 고유의 소 품종에서의 적용이 가능하기 때문에 전 세계 모든 소를 대상으로 적용가능한 장점이 있으며 이를 통한 세계 축산업 발전에도 기여할 것으로 사료됨.

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : 우수, 보통, 미흡, 극히불량)

혈암 단백질의 마그네틱 결합을 통한 나노결합 성 조절용 제제 개발은 실제 성 조절제제인 항체 단백질의 Y 정자 결합기와의 간섭을 최대한 회피하는 방법 개발이 매우 중요함. 카르복실기 비즈를 이용한 단백질 결합시 이러한 항원-항체 결합가가 낮아지는 특성이 관찰되었음. 또한 최근의 코로나19발생과 ASF등의 발병으로 인하여 충분한 시험관 수정란 생산을 위한 난자 확보에 많은 어려움이 있었으며 이로 인하여 충분한 제품 효능 검증 연구 수행이 불가능하였음.

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : 우수, 보통, 미흡, 극히불량)

본 연구과제 수행을 통하여 2건의 국내 동물번식학회에의 포스트 결과 발표를 진행하였음. 또한 본 연구과제 수행을 통하여 개발된 비즈 결합 혈암 성 조절용 IVF 키트 제품 개발에 관련된 방법 특허 및 제품 효능 검증은 향후 코로나19 진정 후, 난자 확보를 통한 충분한 시험관 효능 검증 연구를 통해서 출원을 진행할 예정임.

II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
혈암 성 조절용 단백질 결합 마그네틱 비즈 물질 개발	30	100	Protein G 마그네틱 비즈를 이용한 혈암 고 효율 결합 조건 확립 및 제제 개발 완료
비즈 활용 정자 분리 방법 확립	10	100	자석을 활용해 90%이상의 고 순도 X 정자 분리 방법 확립 및 기술 개발 완료
시험관 수정란 생산을 이용한 제품 효능 검증	20	100	혈암 단백질 마그네틱 물질을 이용하여 정자의 성 분리를 실시 후 정자 회수율, 운동성 및 생존성의 정자의 특성 검증 실시 완료
성 감별 정액을 이용해 생산된 수정란 발달 영향 분석	20	100	마그네틱 물질을 이용해 분리된 정자를 이용하여 수정란 생산 및 발달을 유도하여 영향 분석 완료
수정란의 성비 효능 검증	20	100	체외 수정란의 유전자를 이용하여 소 특이적 또는 웅성 특이적 primer를 이용한 각 수정란의 성비 검증 완료
합계	100	100	

III. 종합의견

1. 연구개발결과에 대한 종합의견

수정란 생산을 통한 우량 소 번식 기술은 암소개량을 위한 최적의 방법임. 일반 정액을 이용한 수정란 생산시 발생하는 수컷 수정란의 생산이 암컷에 비해서 높아 실제 농가에는 부담으로 작용됨. 본 홀맘 성 조절용 단백질 활용 마그네틱 비즈 정자 분리 기술 및 제품개발은 암컷 수정란 생산성 향상을 위해서는 매우 중요한 기술이며 절실히 요청되는 실용화 기술임. 본 연구개발 기술의 핵심기술인 홀맘 단백질의 마그네틱 비즈 결합 기술은 Protein G 마그네틱을 활용함으로써 가장 안정적인 제제 개발에 성공하였고 정자와의 정상적인 항원-항체 결합이 이루어졌음. 또한 정자 분리 효율이 90%이상 목적 X 정자 분리가 가능하였음. 본 제제를 활용한 IVF 키트의 산업적 활용을 통하여 암소 대량 생산 및 개량에의 활용을 통한 농가 소득 창출 및 국가와 전 세계 젖소 및 비육우 육성 발전에 많은 기여가 가능할 것으로 기대됨.

2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

국내는 코로나 19 발병과 함께 북한으로 부터의 아프리카 돼지 열병의 전파로 인하여 강원도 지역의 축산 농가에는 막대한 피해가 발생되었으며 고 강도의 방역지침에 따른 이동 제한으로 본 연구의 효능 검증에 필요한 충분한 소 난자 확보에 매우 어려움이 있었음. 본 연구 목표인 제품 개발용 홀맘 단백질의 마그네틱 결합 제제 개발 및 제품화에는 성공적인 연구결과를 얻었으나 협동연구팀인 강원대학교의 시험관 수정란 생산을 통한 효능 검증은 충분한 재료 확보가 되지 않아 제품의 효능 평가에는 만족할만한 연구 수행이 불가능하였음. 지속적인 연구 수행을 통하여 제품의 시험관 효능 검증에 관련된 연구를 수행해 나아갈 예정임.

3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

전 세계 코로나19 발생 및 전파에 따라 국제 축산 박람회 참석등의 적극적인 제품 홍보가 불가능하나 추가적인 연구개발을 통한 충분한 제품 효능 평가를 통해 얻어지는 연구결과를 토대로 국제 전문 학술지에의 논문 투고를 통하여 본 기술 및 제품의 홍보 활동을 진행할 예정임. 또한 수정란 생산 업체에의 인터넷을 통한 제품 및 기술 홍보를 통한 글로벌 제품 판매를 추진할 예정임.

IV. 보안성 검토

o

※ 보안성이 필요하다고 판단되는 경우 작성함.

1. 연구책임자의 의견

2. 연구개발기관 자체의 검토결과

연구성과 활용계획서

1. 연구과제 개요

사업추진형태	<input checked="" type="checkbox"/> 자유응모과제 <input type="checkbox"/> 지정공모과제		분 야	
연구과제명	소 성 조 절 단 백 질 부 착 마 그 네 틱 비 즈 를 이 용 한 정 자 분 리 기 술 개 발 과 수 정 란 생 산 키 트 개 발			
주관연구개발기관	주) 누리사이언스		주관연구책임자	김 동 구
연구개발비	정부지원 연구개발비	기관부담연구개발비	기타	총연구개발비
	150,000,000	37,000,000	0	187,000,000
연구개발기간	2020. 04. 20. - 2021. 4. 19.			
주요활용유형	<input type="checkbox"/> 산업체이전 <input type="checkbox"/> 교육 및 지도 <input type="checkbox"/> 정책자료 <input checked="" type="checkbox"/> 기타(자가 제 품 화) <input type="checkbox"/> 미활용 (사유:)			

2. 연구목표 대비 결과

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
① 흘람 성 조절용 항체 단백질 결합 마그네틱 물질 개발	- Protein G 마그네틱 비즈를 이용해 소 성 조절용 단백질 결합 마그네틱 비즈의 최적 결합 조건을 확립하였음.
② 흘람 결합 마그네틱을 이용한 정자 분리 기술 확립	- Protein G 마그네틱을 이용한 X 정자(92%)와 Y 정자(86%) 분리 기술 확립
③ 흘람 마그네틱 IVF 제품 개발 및 효능 평가	- 흘람 마그네틱 결합 IVF 성 조절용 제품의 상용화 성공

* 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	인 력 양 성	정책 활 용 홍 보		기 타 (타 연 구 활 용 예) (명)
	특 허 출 원	특 허 등 록	품 종 등 록	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 S C I	비 S C I			논 문 평 균 I F	학 술 발 표	
단위	건	건	건	건	건	백만원	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건	명	건	건		
가중치									40						40				
최종							1		1	100				2	1				

목표																			
당해	목표					1		1	0					0	1				
년도	실적					1		3	150					2	0				
달성률	(%)					100		300	150					200	0				

4. 핵심기술

구분	핵심기술명
①	홀맘 단백질을 이용한 마그네틱 비즈에의 결합 기술
②	홀맘 단백질 결합 마그네틱 비즈를 이용한 정자 분리 기술
③	홀맘 결합 마그네틱 비즈 제품화

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	v						v			
②의 기술	v						v			
③의 기술	v						v			
·										
·										

* 각 해당란에 v 표시

6. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
①의 기술	Protein G를 이용한 홀맘 단백질의 결합기술을 이용함으로써 정자에의 비 특이적 결합을 억제함과 동시에 안정적인 마그네틱 비즈 결합 수정란 생산용 키트 제품 개발에의 활용이 기대됨
②의 기술	소의 동결정액 또는 액상정액을 이용하여 수정란의 성 조절을 위하여 정자 분리를 위한 홀맘 단백질이 결합된 마그네틱 비즈 제제를 활용한 X 정자 또는 Y 정자의 고 효율 분리용으로 활용이 가능함. 이를 통한 목적 성을 지닌 수정란의 대량 생산 및 고 효율 수정란 생산에의 활용이 기대됨. 또한 원정액 및 액상 정액에의 활용도 가능하며 이를 통한 수정란 성 조절용 제제로서의 활용도 기대됨.
③의 기술	홀맘 단백질 결합 IVF 키트 제품은 전 세계 유일의 제품으로서 동결정액을 이용한 효과적이며 안정적인 목적 정자 분리용 제품으로서 활용이 가능함. 이를 통한 동결정액을 이용한 목적 성의 수정란 생산용으로 활용이 기대됨.

7. 연구종료 후 성과창출 계획

(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 활용액) (명)	
	특 허 출 원	특 허 등 록	품 종 등 록	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 S C I	비 S C I			논 문 평 균 I F	학 술 발 표		정 책 활 용
단위	건	건	건	건	건	백 만 원	건	백 만 원	백 만 원	명	백 만 원	건	건	건	건	명	건	건		
가중치																				
최종목표								1		20		1	1	2	5			1		
연구기간내 달성실적								1		3				2	0			0		
연구종료후 성과창출 계획								0		17		1	1		5			1		

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		실용화에상시기 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) 실용화에상시기 : 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 농식품연구성과 후속지원사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 농식품연구성과 후속 지원사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀 유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 됩니다.