

발간등록번호

11-1543000-003202-01

맞춤형 송아지 생산을 위한 기반기술 개발 및 상용화 최종보고서

2020. 07. 17.

주관연구기관 / (주)티엔티리써치
협동연구기관 / 국립 한경대학교
협동연구기관 / 바이오키스

농림축산식품부

<제 출 문>

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “맞춤형 송아지 생산을 위한 기반기술 개발 및 상용화”(개발기간 : 2017. 08. 30 ~ 2019. 12. 31)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2020. 7. 27.

주관연구기관명 : (주)티엔티리써치 (대표자) (인)
협동연구기관명 : 국립한경대학교 (대표자) (인)
협동연구기관명 : 바이오키스 (대표자) (인)

주관연구책임자 : 김 현
협동연구책임자 : 민관식
협동연구책임자 : 박명흠

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

<보고서 요약서>

보고서 요약서

과제고유번호	3160843	해 당 단 계 연 구 기 간	2017. 08. 30~ 2019. 12. 31	단 계 구 분	(해당단계)/ (총 단 계)
연구 사업 명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	기술사업화지원사업			
연구 과제 명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세 부 과 제 명	맞춤형 송아지 생산을 위한 기반기술 개발 및 상용화			
연구 책임자	김 현	해당단계 참여연구원 수	총: 14 명 내부: 14 명 외부: 명	해당단계 연구개발비	정부: 천원 민간: 천원 계: 천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 14명 내부: 14명 외부: 명	총 연구 개발비	정부: 700,000천원 민간: 234,000천원 합계: 934,000천원
연구기관명 및 소속 부서 명	(주)티엔티리써치 / 국립환경대학교			참여기업명: 바이오키스	
국제공동연구	상대국명:			상대국 연구기관명:	
위탁 연구	연구기관명:			연구책임자:	

※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

연구개발성과의 보안등급 및 사유	「국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정」제24조의4에 따른 분류상 보안 과제에 해당하지 않음
----------------------	---

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	연구시설 ·장비	기술요약 정보	소프트 웨어	화합물	생명자원		신품중	
								생명 정보	생물 자원	정보	실물
등록·기탁 번호	1	1									

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

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

요약(연구개발성과를 중심으로 개조식으로 작성하되, 500자 이내로 작성합니다)

보고서 면수

<요약문>

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 맞춤형 송아지 생산을 위한 기반기술 개발 및 성 결정 키트제품의 상용화 <ul style="list-style-type: none"> - 성 결정 키트 시제품의 효율성 및 안정성 검토 * (사업 전)수태율: 60% 내·외 → (사업 후)수태율: 75% 이상 개선 * (사업 전)색싱율: 50% 내·외 → (사업 후)색싱율: 암-75%/수-80% 이상 개선 - 맞춤형 송아지 생산을 위한 시제품의 프로토콜 확립 - 성 결정 키트 제품의 현장 실증시험 시행 - 성 결정 키트 제품의 국내·외 유통 시스템 기반조성 및 상용화 				
<p>연구개발성과</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 맞춤형 송아지 생산을 위한 성 결정 키트 제품의 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 성 결정 키트 시제품의 효율성 및 안정성 최종확인 ○ 맞춤형 송아지 생산을 위한 기반기술 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 현지 축산농가 대상으로 키트제품을 활용한 실증시험 실시 - 실증농가의 실증시험 결과를 바탕으로 키트제품의 사용 프로토콜 확립 및 제작 ○ 성 결정 키트 제품의 국내 유통 시스템 기반 조성 <ul style="list-style-type: none"> - 국내 지역 거점 축산조합, 소 인공수정사 협회와의 네트워크 구축 - 지속가능한 국내 사업으로 전환(비번식기 농가관리 시스템 구축 포함) ○ 성 결정 키트 제품의 국외 유통 시스템 기반 조성 <ul style="list-style-type: none"> - 국가별, 현지 농가사육 형태별 차별화 전략 수립 - 수출대상국 현지 최적화된 축산기업과의 인적/물적 네트워크 구축 후, 사업 본격 진입 - 수출대상국의 축산 전문 국가연구기관, 대학기관 등의 연구 시험, 실증 사업 등의 다양한 루트를 통한 제품의 공급 				
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 국내시장 활용계획: 한우 번식우, 육우 농가와 젖소의 유우 및 국가주도의 씨수소후보, 종모우를 활용한 국가단위의 가축개량 사업에 활용가능함 ○ 기대효과: 국내 한우 및 낙농산업의 송아지 및 육성/비육우의 암·수 개체수의 원만한 수급조절이 가능해지고 이는 계획적인 축산 경영시스템의 구축으로 축산농가의 소득증대와 국가단위의 대규모 가축개량 사업의 물리적인 기간, 비용 등의 단축 절감이 가능함 ○ 국외시장 활용계획: 수출대상국의 현지 최적화된 대규모 사업화 농장(낙농 대규모 종합 단지, 국가경영농장, 해외투자기업농장 등)에 활용이 가능함 ○ 기대효과: 국내 축산의 해외 수출대상국의 틈새시장 진출을 통한 새로운 수출모델 구축, 신 일자리 창출 및 수출증대와 국내사료 문제등의 수입품 대체 효과가 기대됨 				
<p>국문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>소</p>	<p>성 결정</p>	<p>맞춤형</p>	<p>키트</p>	<p>축산업</p>
<p>영문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>Cattle</p>	<p>Sexing</p>	<p>Customized</p>	<p>Sexing Kit</p>	<p>Livestock</p>

<본문목차>

< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요	6
2. 연구수행 내용 및 결과	29
3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도	52
4. 연구결과의 활용 계획 등	63
붙임. 참고 문헌	64

<별첨> 주관연구기관의 자체평가의견서

제1장. 연구개발과제의 개요

제1절. 연구개발 목적

구 분	내용
최종목표	맞춤형 송아지 생산을 위한 기반기술 개발 및 성 결정 키트 제품의 상용화
세부목표	<ul style="list-style-type: none"> ○ 성 결정 키트 시제품의 효율성 및 안정성 검토 ○ 맞춤형 송아지 생산을 위한 시제품의 프로토콜 확립 ○ 성 결정 시제품의 현장 실증시험 시행 ○ 성 결정 키트 제품의 국내·외 유통 시스템 기반 조성 및 상용화

제2절. 연구개발의 필요성

1-1. 연구개발의 개요

가. 연구개발 대상 및 기술·제품의 개요

(1) 연구개발 개요 : 국내·외 축산 농가의 경제적이고 계획적인 축산경영이 가능한 맞춤형 송아지 생산을 위한 성 결정 키트 제품(이하: Sexing Kit)의 상용화



< 그림 1. 연구개발 개요 >

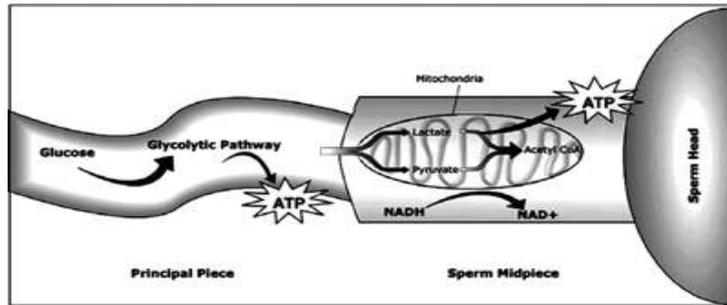
(2) 핵심 기술

(가) Sexing Kit는 소 인공수정(AI) 및 수정란이식(ET) 시 암·수 송아지의 선택이 가능하고 최종적으로 계획적인 축산경영을 가능하게 하는 신기술임
(농림축산식품부 신기술 인증, 2016년 07월 01일)

(3) 핵심 기술의 내용

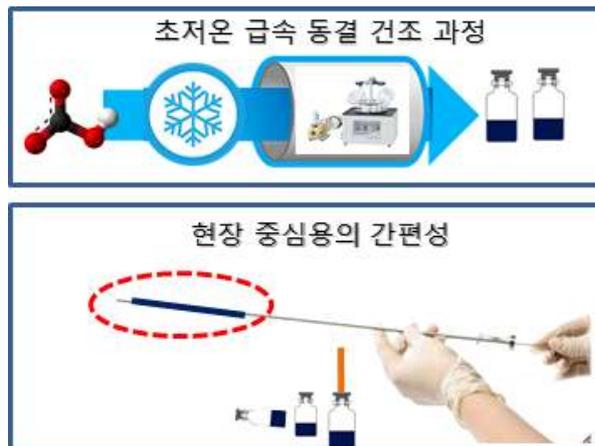
(가) 소 정자의 체내 대사과정 중 정자의 운동능력, 수정능획득(Capacitation) 및 성 결

정에 가장 필수적인 에너지원인 ATP, cAMP 등의 생산, 분해 및 재생 시스템에 있어 암컷 정자 와 수컷 정자의 차이점에 착안함



< 그림 2. 핵심 기술 원리 >

- (나) 기 시판 중에 있는 소 성 분리 제제의 근본적인 문제점인 최적의 인공수정 및 수정란이식 후, 낮은 수태율을 본사에서 연구개발한 Sexing Kit 타입은 정자미부의 운동성 강화물질 첨가 및 수정 시 수정능획득(Capacitation) 효율향상, 수정란의 정상적인 발육, 태반착상 및 초기배아 발달 등을 통한 수태율 향상에 있음
- (다) 일반 농가 현장용의 간편하고 경제적인 캡슐 타입으로 액상 조성물질을 초저온 급속 동결 건조 과정을 거쳐 분말 형태의 시제품(Development Prototype)으로 국·내 외 축산농가, 국내 각 지역 단위의 축산조합, 소 인공수정사 협회, 국내·외 축산 국가연구 기관을 등을 대상으로 사업화에 용이한 제품 타입으로 제작함



< 그림 3. 키트 제품의 성능 >

1-2. 연구개발 대상의 국내·외 현황

가. 국내 기술 수준 및 시장 현황

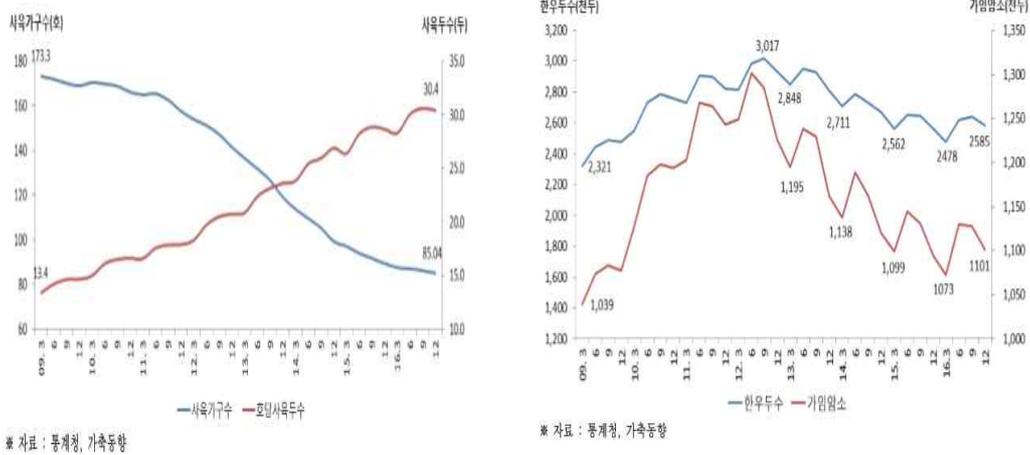
(1) 기술현황

- (가) 정자의 크기, 질량, 밀도에 근거한 원심분리, Bead, 칼럼정제법 등은 순도(Purity)가 낮고, 정자표면 특이단백질 등을 활용한 면역학적방법은 번식효율이 저하됨
- (나) 세포막과 관련된 특정 분자량을 갖는 단백질을 이용한 성 감별 방법으로 정자의 세포막 분획은 소 정액에서 얻은 침체막, 미토콘드리아 및 소포체를 포함하는 세포막 분획 기술을 이용한 성 감별 방법을 수행하고 있으나, 국내 기술은 해외 기술 대비 75% 수준임
- (다) 암·수 정자의 DNA함량, 밀도 차이를 이용한 유세포 분리기(Flowcytometer)법은 레이저와 고압전기자극 등으로 인한 정자의 운동성 및 생존성이 낮음
- (라) Y 정자 특이적으로 결합하는 항체 단백질을 이용한 (주)누리사이언스의 암소 생산용 정액 첨가제(홀맘(Whole Mom)) 제품이 발매되고 있으나 암송아지만 생산이 가능하므로 이는 한우 수급조절이라는 현안을 해결하기에는 역부족이라는 한계와 첨가된 항체 단백질 변성 등의 안정성의 문제점 등을 감안할 때 아직 상용화 수준까지는 미흡한 실정임
- (마) 고능력 젖소 밀소 대량생산을 위한 성 감별 정자를 이용한 젖소 OPU 유래 수정란 생산체계 확립에 관한 연구가 보고되었지만, 이는 OPU유래 암컷 수정란 생산 과정에 있어 Flow Cytometer를 이용하여 분리된 정액은 기존의 정액 보다 활력, 수정률, 초기배 발달율 등이 떨어지는 실정임
- (바) 제주흑우의 대량증식기술개발 및 산업화에도 응용이 됨
- (사) 국내 시판용 성 감별 정액 제제는 암·수 정자의 분리에 치중된 결과, 번식효율성이 매우 낮고 국내의 성 감별 정자를 이용한 인공수정(AI) 및 체외수정란이식(IVF)은 고비용 투자에 비해 수태율이 현저히 떨어지는 실정임
- (아) 현재 경제적이고 실용적이며 성 감별 효과가 높은 새로운 타입의 성 감별 키트가 일선 축산농가에서 요구되고 있는 현실임

(2) 국내 시장 현황

- (가) 현재 국내 한우, 젖소의 국내 성 감별 정자 시장의 규모는 연간 6,500억 원(2014년 기준)으로 추정됨 ※ 자료: 가축인공수정실적, 2013~2014년도
- (나) 국내의 성 감별 시장은 주로 해외 제품의 의존도가 높고, 그 비용 또한 높아(미국 성감별 정액 중 최고가 200 달러(미 달러)) 농가에 큰 부담이 됨
- (다) 비육우를 포함하는 한우의 사육규모별 사육동향은 2000 년 들어 20 두 미만의 소 규모 농가의 사육두수는 크게 감소한 반면, 50 두 이상 전업농가의 사육두수는 꾸준히 증가하여 규모화가 빠르게 진행되어 가고 있는 추세임
- (라) '16년 국내 가임암수 총 두수는 약 113만 두로 보고됨 번식·육우농가에서 실제 경제성이 있는 가임암소의 총 두수는 현재 75만 두임
- (마) 고능력 젖소 밀소 대량생산을 위한 성 감별 정자를 이용한 젖소 OPU 유래 수정란 생산체계 확립에 관한 연구가 보고되었지만, 이는 OPU유래 암컷 수정란 생산 과정에 있어 Flow Cytometer를 이용하여 분리된 정액은 기존의 정액 보다 활력, 수

정률, 초기배 발달율 등이 떨어지는 실정임



< 그림 4. 한우 사육두수 및 가임소 현황 >

(3) 국내 경쟁기관 현황

(가) 현재, (주)누리사이언스의 Y 정자 특이적으로 결합하는 항체 단백물질을 이용한 암소 생산용 정액 첨가제(홀맘(Whole Mom)) 제품이 발매되고 있으나 암송아지만 생산이 가능함으로 이는 한우 수급조절이라는 현안을 해결하기에는 역부족이라는 한계와 첨가된 항체 단백질 변성 등의 안전성의 문제점 등을 감안할 때 아직 사용화 수준까지는 미흡한 실정임

나. 국외 기술 수준 및 시장 현황

(1) 기술현황

(가) Mitochondrial PKA mediates sperm motility

: 바이카보네이트는 크랩스 회로에서의 CO₂의 생산은 미토콘드리아막 전위 생성과 ATP 합성으로 이어지는 SAC/PKA 활성화에 필수적 요소임을 보고함(Andersson 등, 2006)

(나) 성 감별 정액의 수정능 획득 및 수정란의 발달 능력이 낮다는 보고됨(Zhang 등, 2005; Katska 등, 2006)

(다) 적은 용량의 성감별 정액은 기존의 정액보다 임신율이 10~40% 감소한 연구 결과도 있음(Schenk 등, 2009, Seidel, 2007; DeJarnette 등, 2009)

(라) 수정란을 이용한 성 감별 방법은 세포유전학적 성염색체 분석 방법, 암·수 수정란의 대사활성 차이에 의한 특정 효소역가 측정법, 음성 특이항원(H-Y항원)을 이용법, 수정란의 발달속도 차이에 의한 방법, Y염색체 특이 반복 DNA 서열을 확인하는 방법이 있음

(마) 성 염색체 분석방법은 정확성은 높으나 초기배(embryo)로부터 중기상(metaphase) 상태를 얻기가 힘들어 성비 확인이 다소 떨어지며, 장시간을 요하는 단점을 지니고 있음

- (바) X-linked enzymes 이용법은 염색 과정이 수정란에 유해한 영향을 주며, 수정란 발달 속도에 의한 암·수 구분 방법은 수정란의 발달 단계에 따라 판정해야 하므로 정확한 진단이 어려움(Iwasaki and Nakahara, 1990; Munne *et al.*, 1994; Munne *et al.*, 1995)
- (사) Polymerase Chain Reaction (PCR)을 이용 한 Y-specific DNA의 검정은 수정란 세포로부터 적은 양의 샘플로 보다 용이하고 정확한 성감별을 실시할 수 있지만, 수정란을 생검하여 일부 세포를 추출해야 하므로 수정란의 생존성에 영향을 주게 됨
- (아) 생검 PCR 분석은 현재 bovine leucocyte adhesion deficiency(BLAD)와 수정란 성 판별이 동시에 이루어지고 있음(Hasler, 2003)
- (자) 성 감별된 정액을 사용한 체외유래 수정란(IVF)의 생산기술은 이미 상용화됨
- (차) 유세포 분리기(Flow cytometry) 개발 (Kamentsky 등, 1967) 이후, 미국 XY Inc., 와 Sexing Technologies 중심으로 성 감별된 정액을 생산하고 있음
 - ① X와 Y의 염색체 길이의 차이를 이용한 Sexing Technology사(XY LLC 사로부터 권리 이전)의 정자 성 감별 기술이 보편적으로 사용되고 있으나 분리과정(레이저와 고압의 전기자극, 전기판의 영향) 등으로 정자의 운동성과 생존성이 매우 낮고 이는 급격한 수태율 감소로 이어지게 되어 농가에 막대한 경제적인 손실을 초래함

(2) 국외 시장 현황

- (가) 현재 국외시장은 낙농개발도상국가 낙농산업을 포함하는 등 우유를 국민 영양과 식량 안보차원에서 매우 중요하게 다루고 있음(안정성)
- (나) 낙농개발도상국가의 인구증가, 빠른 경제성장 등으로 인한 축산물 소비시장 확대와 함께 낙농산업의 대규모화가 급속히 진행됨(성장성)
- (다) 성 선택 시장 규모는 전체 축산산업의 약 15%를 차지하며, 이중 약 13%가 씨맥스(XY Inc.,)와 섹싱 테크놀로지(Sexing Technologies)사가 독점을 하고 있음
- (라) 전 세계적으로 축산업에 활용하고 있는 가임암소 사육두수는 일본(200만두), 중국(4,000만두), 동아프리카연합(2,500만두) 등 타깃 국가의 총 가임암소 사육두수 6,700만두로 보고됨(2016년 농촌진흥청 국립축산과학원 연말 보고서, 2016년 가축 동향보고서, 통계청)
- (마) 현재 가임암소 두수 6,700만 두에 기술사업화지원사업 주관업체가 제시한 Sexing Kit 예상가격 50,000 원을 적용, 시장규모를 33,500억 원으로 추정함

연도별		2020	2021	2022	2023	2024	2025	2026	2027	2028	2029
가임암소사육두수 (천 두)	국내	750	750	750	750	750	750	750	750	750	750
	해외	67,000	67,000	67,000	67,000	67,000	67,000	67,000	67,000	67,000	67,000
	전체	67,750	67,750	67,750	67,750	67,750	67,750	67,750	67,750	67,750	67,750
판매단가 (천원)	국내	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	해외	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
예상시장규모 (억원)	국내	375	375	375	375	375	375	375	375	375	375
	해외	33,500	33,500	33,500	33,500	33,500	33,500	33,500	33,500	33,500	33,500
	전체	33,875	33,875	33,875	33,875	33,875	33,875	33,875	33,875	33,875	33,875

※ 산출근거 : 가임암소 전체 100% 두수에 Sexing Kit를 사용한다는 가정 하에 산출함
 - 국내시장: 가임암소 사육 총 두수 (113만두)중 실제 경제성이 있는 실가임암소 사육 총 두수는 약 75만두, 최근 10년 (2008~2017)간의 연 평균 값 적용
 - 해외시장: 가임암소 현황 - 일본(200만두), 중국(4,000만두), 동아프리카연합(2,500만두): 총 6,700만두

*자료: (Holstein association USA, Inc), (Sire Summaryies August 2016, 8)

*자료: (2016년 가축동향조사, 통계청)

< 표 1. 잠재 시장규모 추정(2020년~2029년) >

(3) 경쟁기관 현황

- (가) XY LLC, 유세포 분리기를 활용해 형광화학물질(Hoechst333342) 성 감별 방법이 특징이고 고비용 저수태율의 문제점을 가지고 있음(섹싱 테크놀로지(주))
- (나) NAGRC&DB (National Animal Genetic Resources Centre and Data Bank)의 주요 수익사업 현황

(4) 지식재산권 현황(국외 자료 포함 분석)

- (가) 분석 대상 특허 검색 DB 및 검색범위 : 분석 대상은 소 인공수정 및 성 결정 키트 관련 특허, 1994년 1월1일부터 2016년 12 월 31일까지 한국(KIPO), 일본(JPO), 미국(USPTO), 유럽(EPO), PCT(WIPO)에 출원된 특허를 대상을 분석을 수행함

검색DB	국가	검색범위	분석구간	검색대상 문서
WIPSON	한국(KR)	서지 요약 대표청구항	1987.01.01 ~2017.6.31	특허공개 및 공고/등록
	일본(JP)			특허공개 및 공고/등록
	미국(US)			특허공개 및 공고/등록
	유럽(EP)			특허공개 및 등록
	PCT			특허공개 및 등록

*출원일 기준으로 분석하며, 일반적으로 특허출원 후 18개월이 경과된 때에 출원 관련정보를 대중에게 공개하고 있으므로, 아직 미공개 상태의 데이터가 존재하는 2015~2016년 출원된 특허는 그 정량적 의미가 유효하지 않음

< 표 2. 특허 검색범위 >

(나) 분석 대상 기술 및 검색식 작성

- ① 핵심 키워드로 “인공수정, 임신진단”, “성결정, sexing, 키트”로 정하고, 각 키워드에 대해 관련 용어들을 한글과 영어로 도출하여 OR연산자로 결합하여 키워드를 확장하고, 이를 AND 연산자로 결합하여 검색식을 구성함
- ② 작성된 검색식에 대해 다음과 같이 유효데이터 건을 추출하여 “인공수정 및 성결정”기술 분야 전체에 대해 분석을 수행하였고, 이에 대해 기술분류를 구분하여 세부 기술별 심층분석을 진행함

DB국가/출원국	출원수	출원 비율
중국특허	8	13.56%
중국	7	11.86%
한국	1	1.69%
유럽특허	2	3.39%
한국	1	1.69%
미국	1	1.69%
일본특허	14	23.73%
일본	14	23.73%
한국특허	17	28.81%
한국	17	28.81%
PCT특허	4	6.78%
미국	4	6.78%
미국특허	14	23.73%
독일	1	1.69%
일본	1	1.69%
한국	2	3.39%
미국	10	16.95%
총합계	59	100.00%

< 표 3. 소 인공수정 및 성 결정 기술 분야 전체 국적별 출원 점유율 현황 >

- ① 인공수정 및 성 감별 기술 분야의 WIPO를 포함한 5개국 특허청 전체에 대한 출원인의 국적별 출원 점유율을 살펴보면, 한국 국적의 출원인이 27%로 가장 높게 나타나며, 다음으로 미국(23%), 일본(23%), 중국(11%) 순으로 나타남

< 표 4. 소 인공수정 및 성 결정 기술 분야 전체 상위 다출원인 현황 >

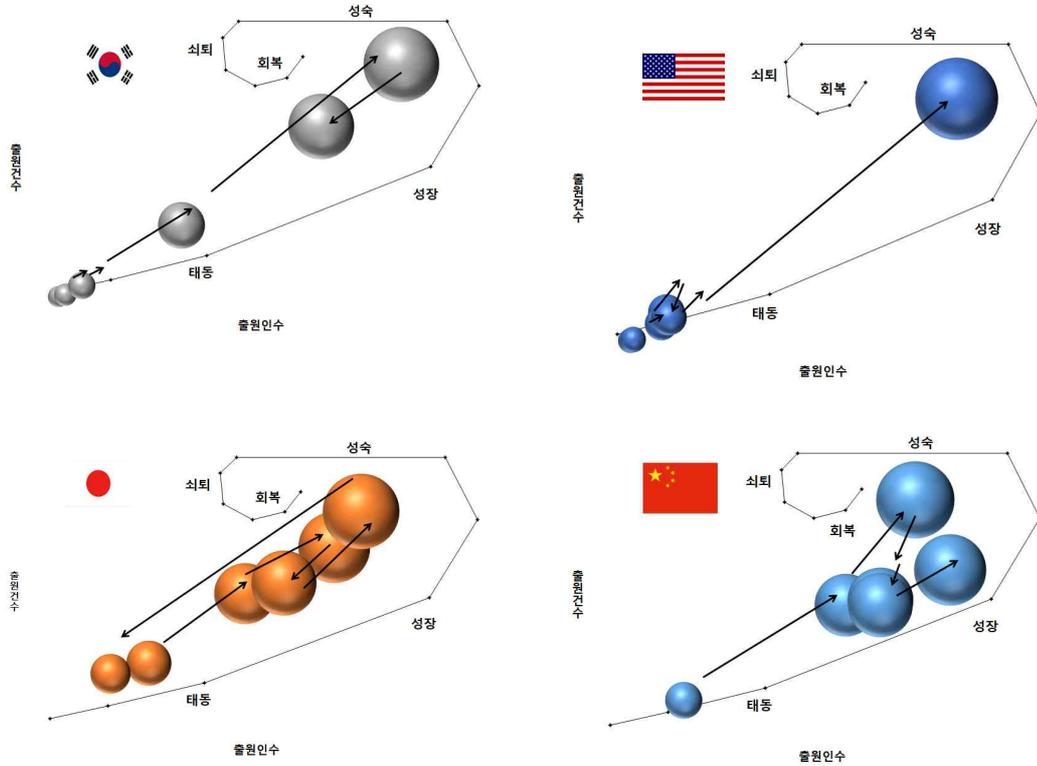
- ① 주요 출원인의 출원동향을 살펴보기 위해 상위 다출원인순을 추출하였으며, 녹십자 6건, WISCONSIN ALUMNI RESEARCH FOUNDATION가 5건, 농촌진흥청 4건, 누리사이언스, KOBE UNIV가 2건으로 조사되었음
- ② 상위 10개 출원인이 전부 한국 국적으로 한국 특허청 대상의 특허활동이 내국인 중심으로 이루어지고 있는 것으로 판단되고, 한국에서는 대학 및 공공기관이 활발한 출원활동을 하는 것으로 사료됨

(ㄹ) 기술발전 단계 파악(특허 포트폴리오 분석 결과)

- ① 각 성장 단계는 태동, 성장, 성숙, 쇠퇴, 회복으로 나누고, 각 단계에 대한 설명을 그림으로 제시함



< 표 5. 기술 발전단계별 파악 결과 >



< 표 6. 각국의 출현 특허에 대한 포토 플리오 >

(라) 소 번식기술 및 성 감별 기술 분야 주요 특허

연번	국가 코드	발명의 명칭	출원번호	출원일	출원인	출원국
1	KR	동물의 발정 진단용 항체 및 이의 용도(Antibody for estrus diagnosis in animal and use thereof)	10-2015-0158161	2015-11-11	주식회사 누리사이언스	KR
2	US	Methods and Compositions for Testing and Breeding Cattle for Improved Fertility and Embryonic Survival	15/345515	2016-11-08	WISCONSIN ALUMNI RESEARCH FOUNDATION	US
3	KR	정자의 성 감별용 항체 및 이의 용도(Antibody for sperm sexing and use thereof)	10-2016-0088170	2016-07-12	김동구 주식회사 누리사이언스	KR
4	JP	소의 수정란 이식 성공율의 판정 방법	2015-079492	2015-04-08	ZENKOKU NOGYO KYODO KUMIAI NATIONAL LIVESTOCK BREEDING CENTER	jp
5	US	GENETIC TESTING FOR IMPROVED CATTLE FERTILITY	15/138221	2016-04-26	WISCONSIN ALUMNI RESEARCH FOUNDATION	US
6	CN	Fluorescent quantitative PCR detection kit and detection method for early pregnancy of dairy cow	2014-10657206	2014-11-18	WUHAN RESEARCH INSTITUTE OF ANIMAL AND VETERINARY SCIENCE	CN
7	JP	진단을 위한 적혈구 동역학	2015-189343	2015-09-28	GENERAL HOSPITAL CORP	jp
8	CN	Method for diagnosing pregnant cow based on BRCA2 protein and mRNA as well as purpose thereof	2014-10294733	2014-06-26	WUHANRESEARCHINSTITUTE OF ANIMAL AND VETERINARY SCIENCE	CN
9	JP	소 유래 시료를 감정하는 방법 및 키트	2010-095158	2010-04-16	KOBE UNIV	jp

연번	국가 코드	발명의 명칭	출원번호	출원일	출원인	출원국
10	JP	혈액 세포에 발현하는 특이 분자를 지표로 한 동물의초조기 임신 진단법	2009-260619	2009-11-16	IWATE UNIV NATIONAL INSTITUTE OF AGROBIOLOGICAL SCIENCES	jp
11	JP	조기 임신 진단을 위한 조성물 및 방법	2010-538206	2008-12-12	MONSANTO TECHNOLOGY LLC CURATORS OF THE UNIV OF MISSOURI	jp
12	KR	한우의 수정능력 예측을 위한 한우 특이적 단백질 마커 및 이를 이용한 한우의 수정능력 예측 방법(Protein marker for predicting fertility of Hanwoo and predicting method thereof)	10-2013-0000124	2013-01-02	전북대학교산학협력단 대한민국(농촌진흥청장)	KR
13	KR	한우의 수정적기 측정용 조성물, 키트 및 이를 이용한 한우 수정적기의 측정방법(Composition, kit and method for determining optimal insemination time of Hanwoo)	10-2012-0049173	2012-05-09	대한민국(농촌진흥청장)	KR
14	KR	소 수정란의 성 감별용 마커 조성물(Marker composition for sex determination of Bovine Embryo)	10-2013-0000174	2013-01-02	삼육대학교산학협력단	KR
15	EP	Assays for detecting pregnancy-associated glycoproteins.	2009-730202	2009-04-10	The Curators Of The University Of Missouri	US
16	US	Use of a1G subunit of T-type calcium channel as diagnostic marker for pregnancy in cattle	13/290894	2011-11-07	The Industry & Academic Cooperation in Chungnam National University	KR
17	US	GENETIC TESTING FOR IMPROVED CATTLE FERTILITY	13/798176	2013-03-13	WISCONSIN ALUMNI RESEARCH FOUNDATION	US
18	CN	Milk cow pregnancy colloidal gold detection test strip	2013-10172711	2013-05-10	ShanghaiBiotreeCo.,Ltd.	CN
19	KR	T-형(타입) 칼슘 채널의 알파1G 서브유닛의 소 임신 진단 마커로서의 용도(Use of a1G subunit of T-type calcium channel as a diagnostic marker for pregnancy of cattle)	10-2011-0061779	2011-06-24	충남대학교산학협력단	KR
20	CN	Cow pregnancy check teaching model	2011-20553556	2011-12-27	NortheastAgriculturalUniversity	CN
21	CN	Progesterone semi-quantitative determining colloidal gold test paper and preparation method thereof	2011-10139686	2011-05-27	TianjinAgriculturalUniversity	CN
22	KR	소의 무인 승가검출기(Unmanned detector for mounting of cow)	10-2009-0085440	2009-09-10	대한민국(농촌진흥청장) 김춘수	KR
23	KR	소 수정란의 성 감별 방법(Method for gender determination of bovine embryos)	10-2009-0035113	2009-04-22	충북대학교산학협력단 주식회사 미래셀바이오 제주특별자치도 제주대학교산학협력단	KR
24	US	Methods and Compositions for Testing and Breeding Cattle for Improved Fertility and Embryonic Survival	12/637753	2009-12-15	WISCONSIN ALUMNI RESEARCH FOUNDATION (WARF)	US
25	PCT	METHODS AND COMPOSITIONS FOR TESTING AND BREEDING CATTLE FOR IMPROVED FERTILITY AND EMBRYONIC SURVIVAL	PCT-US2009-067948	2009-12-14	Wisconsin Alumni Research Foundation	US
26	KR	MIL-2 유전자 검출용 프라이머 및 이를 포함한 동물의발정주기, 임신 또는 유산 진단용 조성물(Primer for detecting MIL-2 gene and composition for diagnosing estrous cycle or pregnancy or abortion in animal comprising same)	10-2007-0116280	2007-11-14	건국대학교산학협력단	KR
27	US	Bovine pregnancy test	11/685585	2007-03-13	AspenBio Pharma, Inc.	US
28	US	Methods and Compositions for the Detection of Bovine Pregnancy	12/536189	2009-08-05		us
29	KR	소의 임신 진단용 키트 및 이를 이용한 임신 진단방법(KIT FOR DIAGNOSING PREGNANCY OF CATTLE AND METHOD FOR DIAGNOSING PREGNANCY USING THE SAME)	10-2009-0059682	2009-07-01	(주)휴넷	KR
30	JP	일염기 다형을 이용한 소의 개체 식별법과 친자 감별법	2008-068467	2008-03-17	KOBE UNIV	jp

연번	국가 코드	발명의 명칭	출원번호	출원일	출원인	출원국
31	US	Compositions and method for accurate early pregnancy diagnosis	10/496164	2002-11-20	Monsanto Technology LLC The Curators of the University of Missouri	US
32	KR	간이소변검사가 가능한 소변검사지 및 임신진단기 자판기(Vending machine for urine analysis stick)	20-2007-0008418	2007-05-22	강은순	KR
33	JP	임신 상태의 결정 방법	2003-505617	2002-06-10	아이다호 리서치 ファウンテーション	jp
34	US	Bovine pregnancy test	10/255162	2002-09-24	AspenBio Pharma, Inc.	US35
36	US	Methods and compositions for the detection of bovine pregnancy	11/542056	2006-10-02		us
37	KR	임신 진단 스트립 및 이를 이용한 임신 진단 방법(Strip for Diagnosing Pregnancy and Method for Diagnosing Pregnancy Using the Same)	10-2005-0066401	2005-07-21	주식회사 세움바이오텍	KR
38	KR	비임신 진단 키트 및 이를 이용한 동물의 비임신 진단 방법(Kit for Diagnosing Non-pregnancy, and Method for Diagnosing Non-pregnancy Using the Same)	10-2001-0017863	2001-04-04	주식회사 녹십자홀딩스 대한민국(농촌진흥청장)	KR
39	JP	소의 Hsp70 결손증의 유전자 진단법	2002-327856	2002-11-12	NATIONAL LIVESTOCK BREEDING CENTER CHIKUSAN GIJUTSU KYOKAI	jp
40	PCT	COMPOSITIONS AND METHODS FOR ACCURATE EARLY PREGNANCY DIAGNOSIS IN UNGULATES	PCT-US2004-011456	2004-04-14	MOSANTO TECHNOLOGY LLC	US
41	US	Method for gene diagnosis of bovine Hsp70 deficiency	10/609181	2003-06-26	Director of Livestock Improvement Association of Japan, Inc.	JP
42	CN	Enzyme immunoanalysis test kit for fast in-situ diagnosis of milk cow's early pregnancy and oestrus	2002-10013263	2002-01-23	GuoDazhi	CN
43	US	Methods and compositions for the detection of bovine pregnancy which utilize members of the 1-8 family of interferon inducible genes	10/299497	2002-11-18		US
44	KR	소의 오줌으로부터 획득한 임신특이 단백질(A pregnancy-associated protein from bovine urine)	10-1999-0012667	1999-04-10	주식회사 셀바이오제	KR
45	PCT	BOVINE PREGNANCY TEST	PCT-US2002-030459	2002-09-24	ASPENBIO, INC.	US
46	US	Diagnostic agent and method to determine pregnancy in ruminants	09/269410	1999-05-20	IHF Institut fur Hormon- und Fortpflanzungsfor schung GmbH	DE
47	JP	비임신 진단 키트 및 이것을 이용한 동물에 있어서 비임신 진단 방법	2001-387409	2001-12-20	GREEN CROSS KOREA REP KOREA	jp
48	US	Kit for diagnosing non-pregnancy, and method for diagnosing non-pregnancy using the same	09/885923	2001-06-22	Korea Greencross Corp.	KR
49	CN	Reagent box for diagnosing pregnancy and method of diagnosing pregnancy using said reagent box	2001-10040279	2001-12-11	KoreaGreenCrossCo rp.	KR
50	EP	Kit and method for diagnosing non-pregnancy	2002-290721	2002-03-21	KOREA GREEN CROSS CORPORATION Republic of Korea	KR
51	JP	소의 물리브렌 조효소 결손증의 유전자 진단법	2000-001680	2000-01-07	CHIKUSAN GIJUTSU KYOKAI IHARA HISAYA SUGIMOTO YOSHINORI WATANABE TOSHIO OITA PREFECTURE	jp
52	KR	임신진단키트(KIT FOR DIAGNOSING PREGNANCY)	10-1999-0034180	1999-08-18	대한민국(농촌진흥청장) 주식회사 녹십자홀딩스	KR
53	JP	암모니아 질소 및 질산 / 아초산 질소 및 전질소의 분석 방법	1999-189648	1999-07-02	HORIBA LTD	jp
54	PCT	BOVINE PREGNANCY TESTING	PCT-US2000-005616	2000-03-02	KEMS BIO - TEST LTD.	US
55	KR	소의 수정시기 측정장치(A DETERMINATOR FOR INSEMINATE TIME OF COW)	20-1999-0023443	1999-10-28	대한민국(농촌진흥청장)	KR
56	KR	젖소 수정 진단방법 및 진단키트(The milk cow correction method of diagnosis and diagnosis kit)	10-1992-0011148	1992-06-25	두산인재기술개발 원연구조합	KR
57	JP	젖소의 잠재성 유발염 진단 방법 및 잠재성 유발염 진단 장치	1992-123066	1992-05-15	KUBOTA CORP	jp

연번	국가 코드	발명의 명칭	출원번호	출원일	출원인	출원국
58	CN	Tester for early pregnancy of milk cow	1987-20009248	1987-06-16	Automation Research Inst. Academy of Hebei Prov.	CN

< 표 7. 정자 분리 및 성 감별 관련 주요 리스트 >

(마) 기타 현황

- ① 소 인공수정 및 Sexing Kit 분야는 특허출원이 지속적으로 증가하는 기술로 2000년대 후반 이후 현재까지 꾸준한 기술개발 증가세를 보이고 있으며, 한국 일본, 미국의 특허점유율이 높게 나타났고, 중국의 특허 추격이 이뤄지고 있는 것으로 나타남
- ② 한국, 미국의 경우에는 민간기업이 연구개발을 주도하고 있는 것으로 나타난 반면 일본, 중국의 경우 국가연구기관 및 대학 중심으로 연구가 진행되고 있는 것으로 조사됨
- ③ 소 인공수정 및 Sexing Kit 분야의 기술발전단계는 원 건수와 출원인수가 계속 증가하는 성장 단계의 양상을 보이고 있는바 향후 시장 확대 가능성이 클 것으로 예상되며, 연구개발이 활발하게 이루어질 것으로 기대됨

2. 연구개발의 중요성

가. 본 연구의 차별성 및 혁신성

- (1) 현재까지 개발된 정자 성 분리법은 정자의 크기, 질량, 밀도 등에 근거한 원심분리, Bead, 칼럼 정제법 등은 순도가 낮음
- (2) 기존의 시판용 성 감별 정액 제품은 암·수 정자의 분리에만 치중된 기계적, 기능적 특성을 갖는다는 점에서 번식 효율의 문제점이 있으나, 당사에서 개발한 Sexing Kit는 정자의 운동성, 수정능력, 색성률 및 수태율 향상으로 농가의 축산경영 최종 목표에 적합한 맞춤형 송아지 생산이 가능함
- (3) 최근 들어 암·수정자의 DNA함량, 밀도 차이를 이용한 유세포 분리기(Flowcytometer) 법은 레이저와 고압전기자극 등으로 인한 정자의 운동성 및 생존성이 낮음
- (4) 기존의 시판용 성 감별 정액 제품은 암·수 정자의 분리에만 치중된 기계적, 기능적 특성을 갖는다는 점에서 번식 효율의 문제점이 있으나, 당사에서 개발한 Sexing Kit는 정자의 운동성, 수정능력, 색성률 및 수태율 향상으로 농가의 축산경영 최종 목표에 적합한 맞춤형 송아지 생산이 가능함
- (5) 현재, 국내의 (주)누리사이언스의 암소 생산용 정액 첨가제(홀맘(Whole Mom)) 제품이 발매되고 있으나 암송아지만 생산이 가능함으로 이는 한우 수급조절이라는 현안을 해결하기에는 역부족이라는 한계와 첨가된 항체 단백질 변성 등의 안전성의 문제점 등을 감안할 때 본사 제품의 Sexing Kit 경우 농가 경영 실정에 맞게 암·수 맞춤형 송아지 생산이 가능해 한우 수급조절에 큰 영향을 끼칠 것으로 기대되고 또한 정자의 운동에너지원인 ATP, cAMP 등의 조절 메카니즘에 기인한 것을 감안할 때 어미소 와 F1 송아지의 안전성에도 문제가 없음이 가장 큰 장점임

가. 성 결정 키트의 기술적인 스펙

- (1) 맞춤형 송아지 생산을 위해 정자의 운동성, 색성의 정확성 및 수태율 향상을 위한 조성물질로 본 Sexing Kit 제품의 효율성을 한층 업그레이드 시킴(제품의 효율성)
- (2) 한우개량사업소의 규격화 된 소 동결정액스트로(0.5 mL)의 가용 정자숫자를 높이기 위해 기존의 액상상태의 제품을 초저온 급속동결건조 후, 파우더 상태로 성 결정 제제의 형태를 변형시킴(제품의 정량성)
- (3) 외국 성 감별 전문회사 씨멕스(XY Inc.)의 성 분리 정액가격보다 한국 일반 축산농가의 실정에 더 현실적임(경제성)

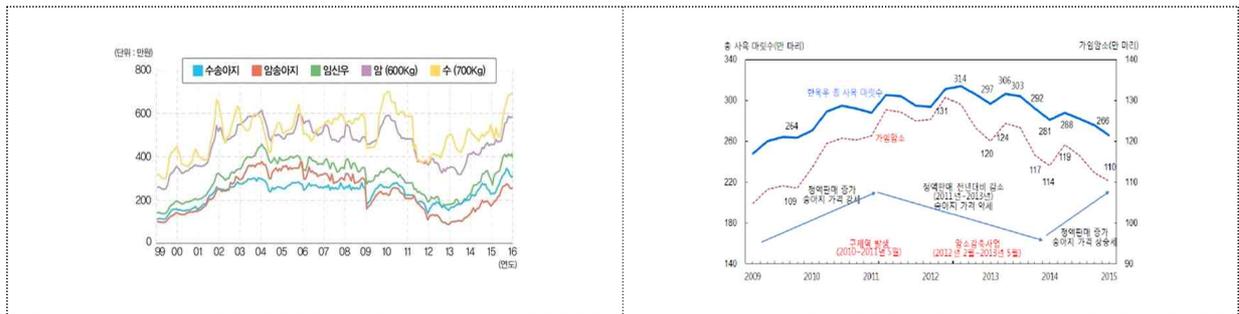
가. 외국 선도기업의 기술 및 시장의 독점

- (1) 외국 성 감별 전문 회사: 씨멕스(XY Inc.)는 색성테크놀로지(Sexing Technologies)기술을 통하여 정자세포막의 성유전자 특이적 분자를 이용한 성 감별 방법을 활용하고 있음
- (2) 외국에서는 성 감별된 정액을 사용한 체외유래 수정란(IVF)의 생산기술은 이미 상용화되어 있으나, 형광 화학물질(Hoechst33342) 사용의 경우, 수정란 유전자 안전성이 문제화됨
- (3) 분리과정(레이저와 고압의 전기자극, 전기판의 영향) 등으로 정자의 운동성과 생존성이 매우 낮고, 이는 급격한 수태율 감소로 이어지게 되어 농가에 막대한 경제적

인 손실을 초래할 수 있어 기술 개발을 통한 보완이 필요함

가. 경제 산업적인 측면

- (1) 한우산업의 생산액은 2015년 현재 4조 7천억 원으로 축산부문에서 한우산업이 차지하는 비중은 24.6%로 매우 큰 규모의 시장을 구성하고 있음
- (2) 현재 국내 한우, 젓소 대한 국내 성감별 정자 시장의 규모는 연간 6,500억 원 (2014년 기준)으로 추정됨 ※ 자료: 가축인공수정실적, 2013~2014년도
- (3) 국내의 성감별 시장은 주로 해외 제품의 의존도가 높고, 그 비용 또한 높아(미국 성감별 정액 중 최고가 200 달러 수준) 농가에 큰 부담이 됨
- (4) 당사의 Sexing Kit를 이용한 한우 암·수송아지의 선택생산은 시장의 가격차에 의한 소득증대 및 효율경영 보장함
 - ① 고능력 암소에 Sexing Kit를 이용하면 전체 번식우군을 고능력 번식우군으로 단 시간내에 전환 가능함
 - ② 번식우의 경우, 약 60~70%가 발정이 나타나며, 약 30%는 미약 발정을 일으킴. 발정 재귀 시 미약 발정우의 공태우를 방지함으로써 농가소득을 높일 수 있음
 - ③ 수태율을 60~80%로 향상시켰을 때, 인공 수정에 필요한 정액 20% 절감 가능함
 - ④ 공태기로 인한 경제적 손실을 감소시킴. 즉 번식 간격을 15.6개월에서 13개월로 줄이고, 인공수정 회수를 1.8회에서 1.4회로 단축시킴으로써 사육비 2,800억 원, 인공수정료 176억 원 절감 가능함
 - ⑤ 한우 암소의 선택생산으로 전체 한우두수의 감소 없이 우량등급의 비육암소를 출하할 수 있게 되어, 가격과 선호도가 높은 암소 비육우의 출하로 소득증대 가능함
 - ⑥ 세대교체용 암소를 차질 없이 생산할 수 있어 우수 후보축의 안정적 확보로 일관적인 낙농소득유지가 가능함
 - ⑦ 일정량의 원유생산에 필요한 고능력 후보축의 선택적 생산은 원유공급과잉에 의한 유가하락 등을 방지함
 - ⑧ 후보축의 생산차질로 목장내 착유우 1두가 1개월간 공백상태일 때, 한 달에 약 870,100원 정도의 경제적 손실이 발생함
: ※(전체 착유우 두당 월평균 유량 약 871L × 평균 원유수취가격 1,100원/L= 약 870,100원) 자료: 농협젓소개량사업소 (2015년)
 - ⑨ 당사의 Sexing Kit를 이용한 암·수송아지의 선택생산은 젓소의 개량효율을 극대화 하고, 농가의 효율적 경영 및 생산비 절감으로 농가소득 증대와 경쟁력 향상에 중요함



< 그림 5. 암·수 한우 가격 동향 및 Sexing Kit 이용가능 한 가임암소 동향 >

※ 자료: 축산물품질평가원(2015년)

가. 사회·문화적인 측면

- (1) 한우산업의 수급 불안정으로 인한 가격불안정 및 축산농가 소득불안정의 악순환이 반복됨(한우 생산기반의 불안정성)
 - 무너지고 있는 한우 생산기반이 제자리를 찾기 위해서는 한우가격 안정을 도모하는 것이 최우선 과제임
 - 한우가격의 등락사태가 반복되면서 축산 농가들이 번식 규모 확대에 적극적으로 나설 수 없는 것이 현실임
 - 한우산업은 한·미 FTA, 한·호 FTA 등으로 인해 치열한 경쟁구도에 직면하고 있으며, 불안정한 한우산업의 수급과 조사료의 높은 해외 의존도로 인하여 두당 생산비가 높고, 송아지 생산여건이 취약함
 - 악성 가축질병인 구제역이 2000년 이후 6회 이상 발병, 이에 따라 면역체계가 좋고, 우수한 송아지 계통을 선별하여 생산하는 새로운 방안이 제시됨

가. 정부지원의 필요성

- (1) 외국 선도기업의 기술 및 시장의 독점에 대비하여 독자적인 원천기술의 확보가 시급함
 - 성 선택된 정액을 사용한 인공수정(AI) 및 수정란이식(ET)의 생산기술은 아직 상용화 수준까지 미흡한 실정으로 향후 해외 기술에 대비하고, 수출을 위한 기술개발 및 사업화를 성공적으로 달성하기 위해서는 정부지원이 절실함
 - 특히, 대규모 사육두수의 중국을 포함해 낙농개발도상국가(말레이시아, 카자흐스탄) 등으로의 수출이 기대됨(새로운 시장 창출 가능성)
 - 따라서 한우산업의 수급안정화와 취약한 생산여건에 대한 높은 해외의존도를 전환하기 위하여 맞춤형 송아지 생산을 위한 소의 수정시기 진단과 Sexing Kit 기술 개발 및 상용화가 반드시 필요함

가. 선행연구 내용 및 결과

(1)기술 연구결과(*in vitro* Test)

- 한우 동결 정액(1,700~2,500만 마리 정자/1 Straw)을 이용, 물질 A & B가 수정전의

성 선택 정자 정상 검사(표 8) 그리고 체외수정 후의 수정란의 배 발달 단계별 양상(표 9, 그림 11)을 확인함

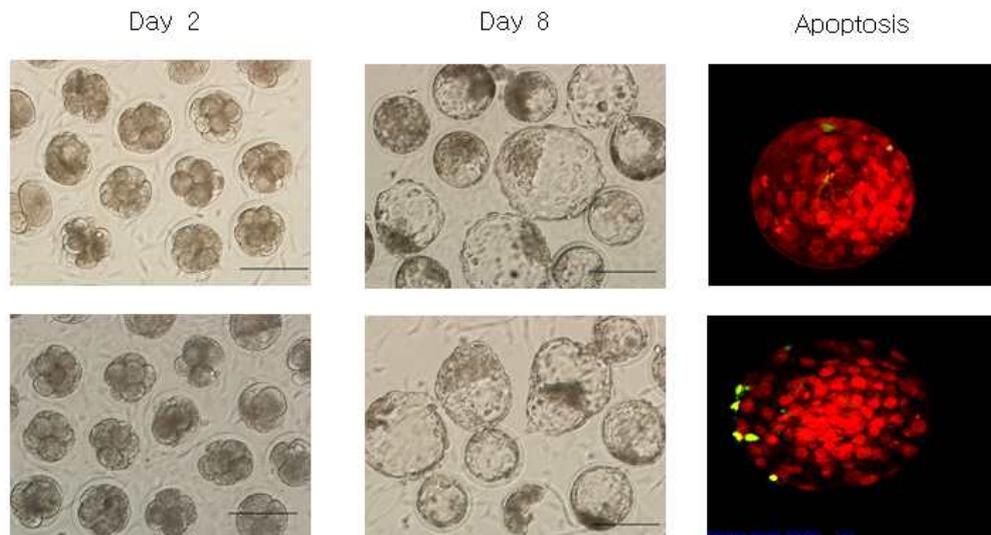
Parameter	Incubation time (min)			
	0	30	60	120
Motility (%)	Non : 62.3±0.6	68.2±1.4	76.7±0.2*	72.5±1.1*
	Pro : 69.7±0.3	85.1±0.2*	93.5±1.8*	101.3±1.3*
VSL (μm/s)	Non : 45.3±3.7	48.1±2.7	52.1±1.9*	56.2±0.6*
	Pro : 48.1±5.2	67.4±3.1*	69.9±1.3*	76.8±3.6*
VCL (μm/s)	Non : 107.2±5.7	118.9±0.2*	115.8±1.7*	124.5±4.2
	Pro : 101.4±8.3	95.1±2.4*	106.5±0.3*	113.7±1.2*
LIN (%)	Non : 53.4±2.9	56.5±0.4	59.1±2.7*	59.9±1.3*
	Pro : 59.8±1.3	75.1±0.4*	73.9±0.9*	69.6±2.6*
ALH (μm/s)	Non : 4.3±0.5	5.1±1.3*	5.6±1.8*	6.2±1.1*
	Pro : 4.6±2.7	8.8±3.4	8.5±2.9*	7.2±0.9*
VAP (μm/s)	Non : 21.1±2.4	25.2±3.1*	26.8±0.9*	22.1±2.3*
	Pro : 29.8±0.9	43.7±0.7*	57.8±2.5*	55.5±0.7*

*Motility(운동성)는 전체 정자 중 운동성이 있는 정자 비율, VSL: 직선속도, VCL: 곡선운동, LIN: 직진성, ALH: 측두거리, VAP: 직진 거리

< 표 8. 배양시간에 따른 성 결정 정자의 정상 특징 >

< 표 9. 체외수정란(IVF) 초기 배 발달에 미치는 효과 >

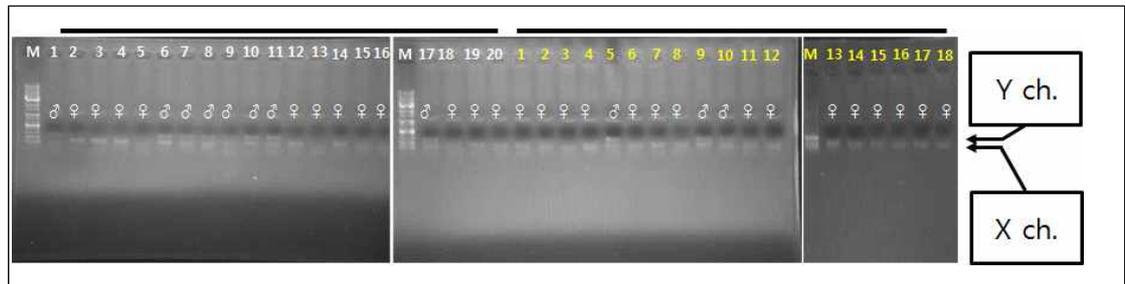
Treatment	No. of oocytes	No. of embryos developed to			Apoptotic cells
		2 cells	Morula	Blastocyst	
without substrate	136	102	22	20	12±3.2
A & B		(75.0%)	(14.7%)	(14.7%)	
with substrate	147	120	45	36	8.9±4.8
A & B		(81.6%)	(30.6%)	(24.5%)	



< 그림 6. 초기배자 생존율 확인 >

* 물질 A & B 첨가군(위쪽사진)과 미첨가군(아래사진)

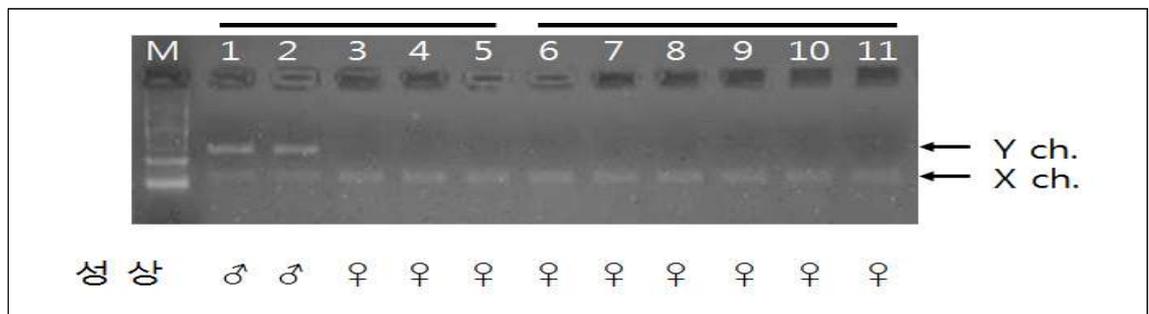
가. 소 성 결정을 확인



대조구 : 20개
 ♀ : 12개(60%), ♂ : 8개(40%)

암컷 처리 : 18개
 ♀ : 15개(83%), ♂ : 3개(16%)

< 그림 7. 수정란을 성 감별한 결과, 6:4(♂:♀)의 비율(대조군) >



< 그림 8. 물질 A로 처리한 결과 83.3% : 16.7% (♀:♂) >

제3절. 연구개발 범위

1. 연구개발의 목표 및 내용

가. 연구개발의 최종목표

구분	내용
최종목표	맞춤형 송아지 생산을 위한 기반기술 개발 및 성 결정 키트 제품의 상용화
세부목표	<ul style="list-style-type: none"> ○ 성 결정 키트 시제품의 효율성, 안전성 확인 ○ 성 결정 인자에 대한 분자생물학적 분석(유전체 분석) ○ 성 결정 키트 시제품의 프로토콜 제작 ○ 성 결정 키트 시제품의 현장 실증시험 ○ 성 결정 키트제품의 유통 시스템 기반 조성 ○ 성 결정 키트의 국내 상용화를 위한 기반 확립

나. 연차별 개발목표 및 내용

<p>(1) 1차년도 연구개발 목표</p> <p>(가) 주관연구기관((주)티엔티리씨치)</p> <ul style="list-style-type: none"> ① 국내 실증시험을 위한 시범농장 선정 기준 및 운영안 마련 ② 국내 상용화를 위한 전략 수립 ③ Sexing kit 제품의 프로토콜 제작 <p>(나) 협동연구기관(한경대학교)</p> <ul style="list-style-type: none"> ① Sexing Kit 제품의 효율화, 안정화, 표준화를 위한 테스트 베드 구축 ② 성 결정 시약 처리시간에 따른 소 정자의 활력 검증 <p>(다) 협동연구기관(바이오키스)</p> <ul style="list-style-type: none"> ① 국내 지역 거점 농협 및 소 인공수정사 협회와의 네트워크 확인(사전 조사) ② 국내 실증시험 농장 및 소 인공수정사 대상 수요조사 ③ 국내 국가단위의 축산연구기관, 축산협동조합 등 사전 조사 ④ Sexing Kit 제품의 홍보 마케팅 사전준비 작업 <p>(2) 연구개발 내용 및 범위</p> <p>(가) 주관연구기관((주)티엔티리씨치)</p> <ul style="list-style-type: none"> ① Sexing Kit 제품의 프로토콜 작성 <ul style="list-style-type: none"> * 인공수정 시 프로토콜 작성(맞춤형 프로토콜 작성) ② 국내 실증시험을 위한 시범농장 선정 기준 및 운영안 마련 <ul style="list-style-type: none"> * Sexing Kit 제품의 국내 실증시험 지역, 시험농장 선정(농장 규모, 사양형태),

소 인공수정사 등 사전 조사

* 후보 시험농장 방문 및 커뮤니티 구축

③ 국내·외 사업화를 위한 전략 수립

* 국가축산 연구기관 및 대학교 연구소와의 커뮤니티 구축

* Sexing 기술의 필요성에 대한 높은 인식과 각 현마다 지역 고유의 고급 특화된 화우의 시스템을 가지고 있는 일본 그리고 국가연구소 주도로 종축개량사업을 주도하는 말레이시아, 필리핀, 카자흐스탄 등 축산개발도상국가을 대상으로 현지 축산번식 관련 사업체, 연구기관 책임자급, 대규모 단위의 축산조합 등과의 커뮤니티 구축과 유통 채널 확보를 위한 사전 조사

(나) 협동연구기관(한경대학교)

① Sexing Kit 시제품의 표준화 검증(*in vitro* Test)

* 인공수정 시, 수정능 획득(Capacitation) 및 수태율 향상 물질 A & B의 실험실적 검증(정확성, 재현성 테스트)

(다) 협동연구기관(바이오키스)

① Sexing Kit 제품의 국내 현장 실증시험 사전 준비

* 국내 지역 거점 축산관련 협회 및 소 인공수정사 협회와의 커뮤니티 구축
* 실증시험 후보 농장 및 기초 자료 사전 조사

② Sexing Kit 제품의 국내 상용화를 위한 사전 준비

* 국내 농장 시장조사(우종별, 사육형태별, 경제규모별 등 축산농가의 수요조사)
* 국내 축산연구기관, 축산관련 조합·단체 등 잠재적인 수요지역, 농가, 연구기관, 조합리스트 사전 조사
* 국외 Sexing Kit 제품의 판매처 사전 조사(대규모 농장조합 및 현지 축산제품 관련 업체와의 네트워크 구축 사전작업)
* 국외 수출관련 검역, 통관, 유통에 대한 사전정보 조사

③ Sexing Kit 제품의 홍보 마케팅 사전준비 작업

* Sexing Kit 제품의 홍보 자료(브로셔, 배너 등) 제작
* Sexing Kit 제품의 마케팅, 세미나 자료 준비

(1) 2차년도 연구개발 목표

(가) 주관연구기관((주)티엔티리씨치)

- ① 국내 실증시험 시험 후, 농가 실정에 맞는 최종 프로토콜 제시
- ② 국내 현장 실증시험 후, 상용화 제품 완성
- ③ 국내 지역 거점 축산관련 협회 및 소 인공수정사 협회와 MOU 체결
- ④ 국가단위의 대규모 종축개량, 종모우 사업 등에 적극 참여
- ⑤ 국외 현지 축산업체와의 커뮤니티 구축 및 상용화 준비작업

(나) 협동연구기관(한경대학교)

① Sexing Kit의 효율성, 안전성 확인(*in vitro* Test)

* Sexing Kit의 체내 투입 시, 안전성 확인(수정란 발육 단계별 초기 배아의 치사율, 독성작용 등)

② 실증시험(*In vitro* Test) 결과의 문제점 해결을 위한 솔루션 제시 및 보고서 작성

③ 성 결정 시약 처리에 따른 소 정자의 mRNA 유전자 발현 패턴 분석(UP, DOWN 유전자 그룹으로 분리)

④ 성 결정 시약 처리시간에 따른 소 정자의 Microarray 분석 사전준비

(다) 협동연구기관(바이오키스)

① 국내 지역 거점 농협 및 소 인공수정사 협회와의 네트워크 구축

② 축산 컨소시엄 형태의 상용화 전략 추진

③ 주관연구기관과 적극 교류해 국외 현지 축산업체와의 커뮤니티 구축 및 상용화 준비작업 참여

④ 상용화 제품의 국내·외 홍보 확대(국내·외 축산제품 박람회, 축산 관련 학술대회, 연구회, 세미나 등)

(2) 연구개발 내용 및 범위

(가) 주관연구기관((주)티엔티리써치)

① Sexing Kit제품의 국내 현장 실증시험

* 국내 거점 지역별 실증시험대상 농가 기초 자료 작성

* 국내 지역 거점 축산협회 및 소 인공수정사 네트워크 사업화 팀과의 협업을 통한 실증연구 강화

② 국내 현장 실증시험 후, 상용화 제품 완성

③ 축산 농가의 경영형태별 맞춤형 Sexing Kit 제품의 프로토콜 제시

* 인공수정 시 프로토콜 제시(맞춤형 프로토콜)

④ 국내 축산 전문 유통업체인 바이오키스와 연계해 국외 수출대상국가의 현지 축산업체와의 커뮤니티 구축 및 상용화 사전 준비

* 1차년도에 국외 수출대상국가의 기본정보를 토대로 적극적인 수출사업화 추진 전략 수립

(나) 협동연구기관(한경대학교)

① Sexing Kit 시제품의 현장 실증시험 결과 보고서 작성

* 현장 실증시험(*in vivo* Test) 중 문제점 해결을 위한 솔루션 제공

② 성 결정 시약 처리시간에 따른 소 정자의 유전자 분석

③ 성 결정 시약 처리시간에 따른 소 정자의 Microarray 분석준비

(다) 협동연구기관(바이오키스)

① 국내 마케팅 및 홍보 국내·외 홍보 확대(국내·외 축산제품 박람회, 학술대회, 세

미나 등)

- * 국내 지역 거점 축산관련 협회 및 소 인공수정사 협회와의 네트워크를 중심으로 적극적인 마케팅 및 홍보 실시
- * 국내·외 축산제품 박람회, 전시회, 학술대회, 세미나 등 적극 참가 및 교류
- * 국가 축산연구기관, 축산관련 유관기관 그리고 대학교에 강의, 세미나 형태로 홍보

② 축산 컨소시엄 형태의 상용화 전략 추진

- * 1차년도에 국내 축산연구기관, 축산조합·단체 등 잠재적인 수요지역, 농가명, 연구기관, 축산조합 등과 같은 기본정보를 바탕으로 수요자 리스트 작성 및 고객 분류 작업

③ 주관연구기관과 적극 교류해 국외 현지 축산업체와의 커뮤니티 구축 및 상용화 준비작업 참여

④ 국외 수출사업화 추진

- * 1차년도에서 조사한 해외 현지 성 결정 키트 제품의 판매처, 대규모 농장조합, 사양형태 및 현지 축산업체와의 네트워크를 구축하고 사업화 사전 준비 작업

(1) 3차년도 연구개발 목표

(가) 주관연구기관((주)티엔티리씨치)

- ① 국내 지역 거점 축산협회 및 소 인공수정사 네트워크 상용화 구축 모델을 타 지역 확산
- ② Sexing Kit 제품의 국내 상용화 확대
- ③ 제품의 양산화 시스템 개발

(나) 협동연구기관(한경대학교)

- ① 실증시험농가의 성 선택키트 유래 F1 송아지의 분석
- ② 성 결정 시약 처리시간에 따른 소 정자의 Microarray 분석 및 해석

(다) 협동연구기관(바이오키스)

- ① 국내 축산농가 확산을 위한 마케팅 기획 및 전파 수립
- ② 국외 홍보 및 상용화 준비작업
- ③ Sexing Kit 제품의 수출인증 획득 지원

(2) 연구개발 내용 및 범위

(가) 주관연구기관((주)티엔티리씨치)

- ① 실증시험농가의 Sexing Kit 유래 F1 송아지 생산을 포함한 기초자료 확보
 - * F1 송아지의 활용방안 계획
- ② Sexing Kit 제품의 국내 상용화 확대
 - * 국내의 시도 지자체와 연계한 지원사업 추진
 - * 국내 한우특화 육성 지역을 토대로 지역 거점 축산협회 및 소 인공수정사 네트

- 워크팀을 구축해 시도 지자체와 연계한 지역사업 구축
- ③ 제품의 양산화 시스템 개발
- * 액상물질의 정량화를 신속히 생산할 수 있는 양산시스템 구축
 - * CMO(Contract Manufacturing Organization) 기업 발굴
- (나) 협동연구기관(한경대학교)
- ① 실증시험농가의 성 선택키트 유래 F1 송아지의 분석
- * F1 송아지의 기초생리학적인 검사
 - * F1 송아지의 암·수 번식생리학적인 검증
- ② 성 결정 시약 처리시간에 따른 소 정자의 Microarray 분석 및 해석
- * qRT-PCR로 재확인 및 단백질 분석
 - * Microarray 분석하여 2배 이상 up 또는 down 되는 유전자군을 분리
 - * 분리되어진 유전자들을 집중 활용하여 Sexing Kit 버전2 제품의 효율성을 높임
- (다) 협동연구기관(바이오키스)
- ① 국내 농가 확산을 위한 마케팅 기획 및 전파 수립
- * 실증시험 결과를 대대적으로 홍보
 - * 입소문 마케팅을 추진해 상세 효능위주의 홍보효과
 - * 농가별 네트워크 구축 등을 통한 제품에 대한 충성도 강화방안 프로그램 마련
 - * 국내 지역 거점 축산협회 및 소 인공수정사 네트워크 사업화 구축 모델을 타 지역 확산
- ② 국외 농가 확산을 위한 마케팅 기획 및 전파 수립
- * Sexing Kit 제품의 해외인증 획득 지원
 - * 해외 축산업체, 농장조합 등과 네트워크를 구축해 상용화 추진
 - * 국가유형별, 축산환경, 사양관리 환경 및 축산시스템 별 협력 네트워크 구축 모델 개발

다. 연구개발의 창의성·혁신성

구분	기준	개선	비고
색징율 향상	0.5~18.5 % 내외	25% 이상	
수태율 향상	색징율 중심 연구로 전무함	20% 이상	
정자의 생존율	55 ~ 60%	70% 이상	
성 분리 비용	성 감별 동결 정액 15~20 만원/1 스트로	5만원/1 스트로	
안전성	- 형광화학물질(Hoechst33342) - 항체 단백질의 변성	정자의 운동성 제어	
적용 범위	암소 중심	암·수 선택적인	

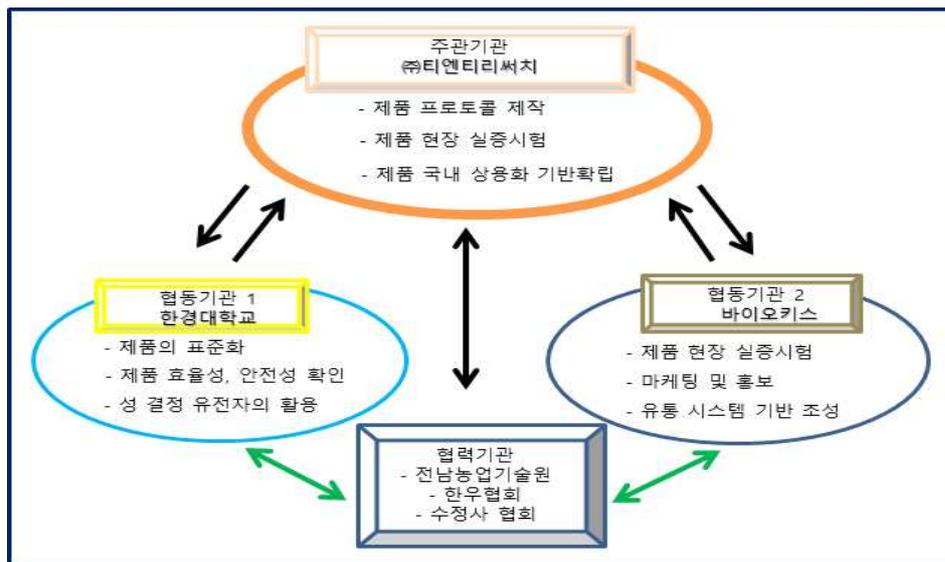
		생산이 가능	
분리방법	<ul style="list-style-type: none"> - 고가 장비 필수(유세포 분리기) - 항체단백질 첨가 	<ul style="list-style-type: none"> - 정자의 운동에너지원의 조절 	
사업화 방법	<p>소비자 주문 생산 후, 공급 형태</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 국내 지역 거점의 축산조합, 소 인공 수정사와의 네트워크 상용화모델 	

제2장. 연구수행 내용 및 결과

제1절. 연구개발 추진전략 및 방법

1. 참여 기관별 협력 체계 및 주요 역할

- 가. (주)티엔티리써치(주관기관) : 성 결정 키트 시제품의 실증시험 및 상용화 주도(판매 네트워크 확보): 상용화 모델 확립
- 나. 국립환경대학교(협동기관): 성 결정 키트 시제품의 효율성, 안정성 확인을 통한 실증시험 지원
- 다. 바이오키스(협동기관): 성 결정 키트 시제품의 실증시험 및 상용화 지원/기술가치 평가를 통한 VC 투자연계(바이오 산업 육성 분야)
- 라. 농협 젓소개량사업소(과제참여): 실증시험 기술부분 지원 및 상용화 진행에 필요한 인프라 구축 지원
- 마. 전남농업기술원(과제참여): 실증시험 기술부분 지원 및 상용화에 필요한 인적 인프라 구축 지원
- 바. 전국 한우협회(과제참여): 현장 실증시험 기술적 부분 지원 및 상용화에 필요한 인적 인프라 구축 지원



< 그림 9. 참여 기관별 협력 추진 체계 >

2. 연차별 주요 연구개발 추진 내용

연구개발 항목		1년차	2년차	3년차	
성 결정 키트시제품의 현장 실증시험		<ul style="list-style-type: none"> 실증 시험 후보농가 선정 및 준비 지역 축산조합 및 수정사와의 커뮤니티 구축 인공수정용 성 결정 키트 시제품의 효율성 및 안전성 검사 	<ul style="list-style-type: none"> 한우 및 젃소의 사양 형태별 실증시험 실시 타 지역 축산조합 및 수정사와의 커뮤니티 확산 	<ul style="list-style-type: none"> 실증시험 자료 정리 실증시험 결과 문제점 및 현장의 애로사항의 솔루션 제공 농가의 실정에 맞는 맞춤형 사용 프로토콜 최종 작성 	
사업화	국내	사전 준비 단계	<ul style="list-style-type: none"> 마케팅 및 홍보 전략계획 지역 거점 축산조합 및 소 인공수정사, 축산연구기관과의 네트워크 구축 홍보자료 준비(브로셔, 배너 등) 	<ul style="list-style-type: none"> 실증시험 농가 중심으로 홍보 실시 후, 타 지역으로 확산 축산박람회, 전시회 등 홍보활동 축산조합 및 소 인공수정사 대상 세미나 실시 	<ul style="list-style-type: none"> 실증시험 결과 대대적 홍보실시(입소문 마케팅 등): 상세 효능중심의 홍보효과
		사업화 단계	<ul style="list-style-type: none"> 지역 거점 중심의 농가 중심으로 실증시험 준비 	<ul style="list-style-type: none"> 지역 거점 중심의 농가 중심으로 실증시험을 통한 제품 공급 	<ul style="list-style-type: none"> 지역 거점 네트워크 팀 성공모델의 타지역 확산 전략 추진
	국외	사전 준비 단계	<ul style="list-style-type: none"> 수출국가의 축산산업 실태 및 사양관리 형태 등 기초 자료 조사 수출대상지역의 시장성 조사(유통, 통관절차 등) 국외 현지의 축산전문회사 사전 조사 홍보자료 준비(브로셔, 배너 등) 	<ul style="list-style-type: none"> 현지의 축산전문회사와의 네트워크 구축 대규모 농장조합과의 커뮤니티 구축 현지 최적화된 축산기업과의 협업 	<ul style="list-style-type: none"> 현지 축산전문회사, 대규모 농장조합과의 네트워크 모델을 구축 및 프로토콜 작성 수출대상국가의 확대 실증시험 결과를 대중매체를 통해 홍보
		사업화 단계	<ul style="list-style-type: none"> 수출상대국의 시장성, 축산관련 인프라, 문화적, 환경적인 사전 조사 작업 현지 축산전문유통업체와의 커뮤니티 구축 	<ul style="list-style-type: none"> 현지 최적화된 축산기업의 목장에 실증시험 준비 	<ul style="list-style-type: none"> 현지 최적화된 축산기업의 목장 실증시험 실시 수출대상국가의 확대 실증시험 결과를 대중매체를 통해 홍보

3. 연구개발 추진체계

연구개발과제		총 참여 연구원
과제명	맞춤형 송아지 생산을 위한 기반기술 개발 및 산업화	주관연구책임자 (김현)외 총 13명

기관별 참여 현황		
구분	연구기관수	참여연구원수
대기업		
중견기업		
중소기업	2	10
대학	1	4
국공립(연)		
출연(연)		
기타		

주관연구기관명 (주)티엔티리써치	협동연구기관명 국립한경대학교	바이오키스
성 결정 키트의 국내·외 상용화추진	성 결정시약 처리에 의한 소 정자의 mRNA 발현분석	수출전략마케팅구축
연구책임자명 (김현)외 8명	연구책임자명 (민관식)외 3명	연구책임자명 (박명흡)
담당기술개발내용	담당기술개발내용	담당기술개발내용
- 시제품의 상용화 제품 개발 - 성 결정 키트 제품의 상용화	- 제품 표준화를 위한 테스트 베드 구축 - 성 결정 효율 향상 유전자 활용	- 해외 수출을 위한 현지 네트워크 확인 - 농가별 번식시스템 관리

4. 연구개발 추진일정

1차년도															
일련 번호	연구내용	월별 추진 일정												연구 개발비 (단위: 천원)	책임자 (소속 기관)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
1	현장 실증시험 후보농장 사전 조사													72,000	(주)티엔티 리써치 (김현)
2	사업화 준비 작업 (홍보 자료)													72,000	(주)티엔티 리써치 (김현)
3	지역축산조합 및 소 인공수정사 네트워크 구축													72,000	(주)티엔티 리써치 (김현)
4	농장 및 지역 인공수정사 대상 수요조사 실시													24,000	바이오키스 (박명흡)
5	수출대상국가의 시장성 조사													24,000	바이오키스 (박명흡)
6	시제품의 표준화를 위한 테스트 베드 구축													24,000	한경대학교 (민관식)
7	시제품 유효성, 안전성 검증													24,000	한경대학교 (민관식)
2차년도															
1	현장 실증시험 총 관리													72,000	(주)티엔티 리써치 (김현)
2	지역축산조합 및 소 인공수정사 네트워크 가동													72,000	(주)티엔티 리써치 (김현)
3	현장 실증시험을 통한 제품공급													24,000	바이오키스 (박명흡)
4	해외 현지 축산 전문업체와 커뮤니티구축													24,000	바이오키스 (박명흡)
5	성 결정 중요인자에 대한 유전체 분석													24,000	한경대학교 (민관식)
3차년도															
1	현장 실증시험 자료 정리 및 프로토콜 작성													72,000	(주)티엔티 리써치 (김현)
2	지역 축산조합/소인공수정사 네트워크 모델을 타지역에 확산													72,000	(주)티엔티 리써치 (김현)
3	타지역에 제품공급 확대													24,000	바이오키스 (박명흡)
4	해외 현지 최적화된 축산전문회사 네트워크 구축													24,000	바이오키스 (박명흡)
5	제품의 안전성 및 성결정 중요인자의 활용													24,000	한경대학교 (민관식)

제2절. 연구결과 - 1

1. 1차년도 연구개발 목표 및 결과: 1차년도(2017. 08. 30 ~ 2017. 12. 31 연구기간)

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용 (이론적·실험적 접근방법)	연구결과
1차 년도 (2017)	맞춤형 송아지 생산을 위한 기반기술 개발 (주관:(주)티엔터리 씨치)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 시제품 프로토콜제작 ○ 실증시험 사전 준비작업 (시험농장 선정기준, 운영안 마련) ○ 국내 상용화를 위한 전략 수립 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 맞춤형 프로토콜 작성 ○ 실증농장 후보농장 조사 ○ 실증 선정기준 수립 ○ 실증 농장 운영안 수립 ○ 국내 지역거점 축산관련 조합과의 커뮤니티 구축 ○ 국외 대규모 축협조합 및 국가연구소 사전조사 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 맞춤형 프로토콜 초안 작성 ○ 후보 실증농장 방문(실태확인) ○ 실증농장 기초자료 확보(농장 규모, 사양형태 등) ○ 후보실증농장과 커뮤니티 구축 ○ 전북 정읍 단풍미인한우협회, 경북 경주 서라벌 목우회, 경북 영주, 상주 한우협회 ○ 지자체 축산연구소: 경북 영주 농업기술센터, 경북 상주 농업기술센터, 전남농업기술원 축산연구소와의 커뮤니티 구축
	성 결정 시약 처리에 의한 소 정자의 mRNA 발현분석 (협동: 한경대학교)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 시제품의 표준화 검증(<i>In vitro</i> Test) ○ 성 결정 시약 처리에 따른 소 정자 성상 분석 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 시제품의 효율화, 안정화, 표준화를 위한 테스트베드 구축 ○ 축종별(한우, 젃소) 동결 정자의 운동성 분석(수컷 정자의 능력검증) 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 테스트베드 구축(사전준비) ○ 성 결정 키트 처리에 의한 한우정자의 운동성 향상 확인 ○ 젃소 정자는 처리 후, 15, 30분 경과 후, 운동성이 저하됨 ○ 성 결정 키트 처리 후, 암·수 처리구 간의 유의적인 차이는 없음
	맞춤형 송아지 생산용 키트 기술 상용화 (협동: 바이오키스)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 국내 실증시험 준비 ○ 국내·외 상용화 준비 ○ 홍보 마케팅 준비 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 국내 판로개척 후보 농장, 지역거점 축산관련 협동조합 사전조사 ○ 지역거점 축산 관련 협회 및 인공수정사 협회와의 커뮤니티 구축작업 ○ 실증시험 후보농장 기초자료 조사작업 ○ 제품의 판매처 사전조사 ○ 홍보 마케팅 사전준비 ○ (브로셔, 배너 등)제작 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 전북 정읍 단풍미인, 경북 경주 서라벌협회 등 ○ 경북영주, 상주 농업기술센터, 전남농업기술원 축산연구소 ○ 농장 기초자료확보 ○ 경북 한우품평회 참석(구미시) ○ 한국 젃소품평회 참석(안성시) ○ 젃소품평회 준비 및 참석(브로셔, 배너, 플랜카드 등 활용) ○ 국외 대규모 조합(말레이시아 앙카사(ANKASA)) 세미나 ○ 국외 국가연구조직(필리핀 물소센터(PCC)) 세미나

2. 1차년도 연구범위 및 연구수행 방법

연구 범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
○ 실증농장 선정	○ 실증농장 후보농장 사전 기초조사 ○ 실증농장 운영안 및 선정기준 마련 ○ 각 지자체 축산연구기관, 축협, 인공 수정사 협회와의 커뮤니티 구축	○ 바이오키스의 후보농장 사전조사 ○ 국가 유관기관 및 축산협동조합, 인공수정사와의 커뮤니티 구축 ○ 맞춤형 실증농장 운영전략 수립
○ 국내·외 상용화	○ 제품의 홍보 마케팅 준비작업(브로셔, 배너 등 관련 제품 제작) ○ 국내 홍보 및 세미나 적극 참여 홍보 ○ 국외 홍보 및 세미나 사전 준비	○ 브로셔, 배너, 제품설명서 및 제품 우수성 홍보용 세미나 자료 등 관련 제품 제작 ○ 한우/젓소포럼회, 국내학회 참석(수정관리식, 번식, 한국 동물자원과학회 등) ○ 필리핀 물소연구소(PCC) 및 말레이시아 축산협동조합 연합조직 앙카사(ANGKASA) 연구진, 농장주, 축산관계자 등과의 세미나 개최
○ 시제품 테스트 베드 구축작업(표준화 검증)	○ 시제품의 조성 물질의 테스트 ○ 정자 성상 검사(정자 운동성, 활력 테스트)	○ 액체질소에 보관된 동결 정액을 용해 후, 사용 ○ 축우 품종별(한우, 젓소)의 동결 정액에 시제품의 조성물질 처리 후, 시간대별(0,15,30분)간격으로 정자 성상검사를 실시(CASA 시스템 활용)

3. 1차년도 세부연구목표 및 결과

가. 1차년도 세부연구수행 결과: 주관연구기관((주)티엔티리써치)

(1) 성 결정 시제품을 활용한 국내 실증농장 운영

(가) 실증농장 후보농장 사전조사

- ① 실증농장의 효율적인 운영을 위한 시스템 구축: 마케팅 전문업체인 협동기관 바이오키스와 전국 지역거점 농협, 축협, 낙협 등의 축산조합과의 인적/물적 네트워크 구축작업
- ② 실증농장 후보농장의 기초자료 수집 및 분석작업

(2) 실증농장 후보농장 사전 조사 작업

(가) 전북 정읍, 익산시내 중심의 단풍미인 한우협회 소속 농가조사(한우번식 사육5농가)

조합명	번호	목장명	목장주	농장 전경	소재지	총 사육두수
정읍 단풍미인 (한우)	1	대지농산	남00		전북 정읍시	152
	2	죽림	진00		전북 정읍시	169
	3	이반	이00		전북 정읍시	147
	4	제남	김00		전북 익산시	189
	5	동원	김00		전북 익산시	177

							
--	--	--	--	--	---	--	--

< 표 10. 전북 시범농장 후보농장 정보(농장명, 소재지 등) >

(나) 경북 경주시 서라벌 목우회(젖소 사육 10 농가)소속 농가

조합명	번호	목장명	목장주	농장 전경	소재지	총 사육두수
경주 서라벌 목우회 (젖소)	1	성일	김00		경북 경주시	190
	2	삼성	손00		경북 경주시	189
	3	구정	정00		경북 경주시	215
	4	참빛	이00		경북 경주시	189
	5	경일	오00		경북 경주시	250
	6	산성	양00		경북 경주시	189
	7	땅	이00		경북 경주시	179
	8	관우	이00		경북 경주시	206
	9	태경	이00		경북 경주시	208
	10	상출	송00		경북 경주시	177

< 표 11. 경북 시범농장 후보농장 정보(농장명, 소재지 등) >

(대) 전국 시범농장 및 각 지역 거점후보농장 사전조사 작업

번호	도	시	농장명	농장주	소재지	총 사육두수
1	경기도	포천시	순금	김○○	경기도 포천시	50
2		평택시	신정	박○○	경기도 평택시	59
3			조은	김○○	경기도 평택시	68
4		연천군	두현	정○○	경기도 연천군	96
5			일류	정○○	경기도 연천군	63
6			춘양	김○○	경기도 연천군	110
7			역군	원○○	경기도 연천군	120
8		화성시	헌진	이○○	경기도 화성시	168
9		남양주시	홍욱	허○○	경기도 남양주시	98
10		이천시	성일	이○○	경기도 이천시	97
11			정광	김○○	경기도 이천시	126
12		남양주시	홍욱	정○○	경기도 남양주시	105
13		이천시	장수	김○○	경기도 이천시	109
14		연천군	웃음꽃	김○○	경기도 연천군	101
15			웃음꽃	김○○	경기도 연천군	99
16		안성시	완곡	이○○	경기도 안성시	98
17			꽃이	이○○	경기도 안성시	92
18		용인시	꽃이	김○○	경기도 용인시	56
19		연천군	수연성	김○○	경기도 연천군	96
20			호병	이○○	경기도 연천군	39
21			조성진	진○○	경기도 연천군	99
22			진오	권○○	경기도 연천군	106
23		연천군	오주	권○○	경기도 연천군	104
24			세영	장○○	경기도 연천군	111
25		화성시	홍구	권○○	경기도 화성시	123
26			우직	김○○	경기도 화성시	156
27		안성시	태진	이○○	경기도 안성시	125
28		이천시	모과	김○○	경기도 이천시	127
29		안성시	새열린	유○○	경기도 안성시	109
30		연천군	덕고	최○○	경기도 연천군	108
31		안성시	언용	홍○○	경기도 안성시	106
32		연천군	얼룩	권○○	경기도 연천군	136
33		화성시	광산	이○○	경기도 화성시	99
34		안성시	기학	조○○	경기도 안성시	97
35		이천시	이○두	이○○	경기도 이천시	95
36		안성시	윤학	최○○	경기도 안성시	106
37		용인시	청계	조○○	경기도 용인시	98
38		안성시	칭송	홍○○	경기도 안성시	106
39		화성시	송림	홍○○	경기도 화성시	97
40		양평군	대응	김○○	경기도 양평군	111
41		화성시	수도	신○○	경기도 화성시	105
42			선진	나○○	경기도 화성시	98
43		안성시	형규	김○○	경기도 안성시	97
44		화성시	선제	문○○	경기도 화성시	88
45		파주시	신안주	강○○	경기도 파주시	83
46		여주시	진혁	임○○	경기도 여주시	106
47		포천시	산딸기	이○○	경기도 포천시	189
48			말회	이○○	경기도 포천시	205
49			형정	유○○	경기도 포천시	222
50		화성시	장안	한○○	경기도 화성시	97

51	충남		경신	이○○	충남 당진시	105
52			희경	양○○	충남 당진시	109
53		당진시	매연	원○○	충남 당진시	111
54			두현	신○○	충남 당진시	128
55			근화	김○○	충남 당진시	129
56		천안시	용문	김○○	충남 천안시	135
57			동선	이○○	충남 천안시	256
58		예산군	태성	임○○	충남 예산군	245
59		당진시	희경	양○○	충남 당진시	211
60		천안시	보기	박○○	충남 천안시	99
61			한심	노○○	충남 천안시	65
62		서천군	-	박○○	충남 서천군	62
63		서산시	유화	손○○	충남 서산시	67
64			벽돌	김○○	충남 아산시	109
65		아산시	푸른	김○○	충남 아산시	107
66			명금	김○○	충남 서산시	44
67		보령시	유정	임○○	충남 보령시	99
68	충북	음성군	한아름	김○○	충북 음성군	101
69			한아름	박○○	충북 음성군	100
70		상주시	화개	허○○	경북 상주시	99
71			우북동	최○○	경북 상주시	108
72	경북	김천시	백○현	백○○	경북 김천시	115
73			성현	감○○	경북 김천시	120
74	경남	함양군	삼민	손○○	경남 함양군	127
75		철원군	능섭	이○○	강원도 철원군	134
76	강원도		재덕	이○○	강원도 철원군	106
77		원주시	영석	오○○	강원도 원주시	99
78	전남	영암군	정다운	강○○	전남 영암군	108
79	전남	나주시	청솔	정○○	전남 나주시	222
80	세종	세종시	영대	이○○	세종시	201

< 표 12. 시범농장 각 지역 거점후보농장 정보(사전조사 작업) >

(라) 전국의 각 지역 거점 후보농장 정보(사전 조사 작업내용)

지역	경기도	충남	충북	경북	경남	강원도	전남	합계
참여 농가수	50	18	2	4	1	3	2	80
백분율	62.5%	22.5%	2.5%	5.0%	1.3%	3.8%	2.5%	

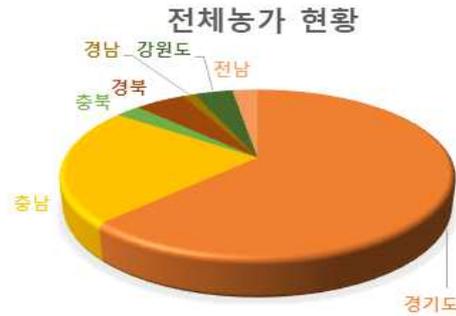
< 표 13. 시범농장 각 지역 거점후보농장 정보(사전조사 작업) >

(2) 실증농장 운영안 및 선정기준안 마련

(가) 실증농장 선정기준에 근거한 실증농장 선별

(나) 제품의 성능 및 효과를 검증할 실증농장 운영안 및 선정기준안 마련

(다) 실증농장 선정기준에 근거한 축산 번식생리, 사양 및 질병 전문가들의 검토 등 엄격하게 실증농장 선정(주관기관 실시)



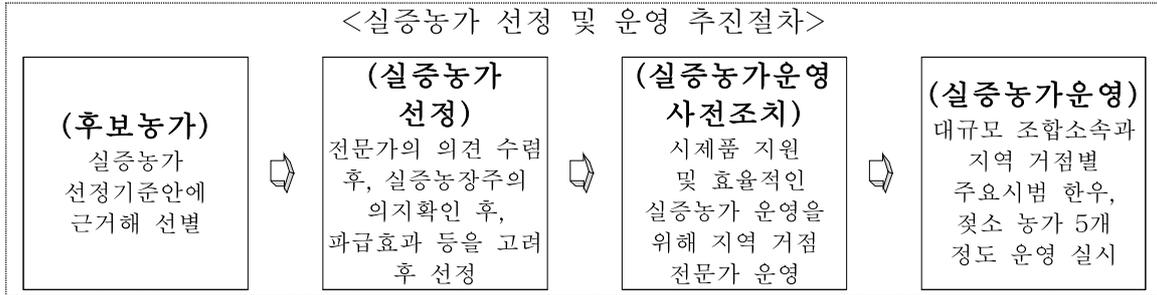
< 그림 10. 시범농장 선정을 위한 전국 후보농장 조사 비율 >

구분	조사 항목	평가점수			비고
		상	중	하	
한우	번식우	송아지 산자 생산율(%)이 양호한가?			
		번식프로그램을 실천하는 농가인가?			
		사양기술 수준이 높은가?			
		시범사업 시행시 혹은 시행 후, 파급효과가 높은 농가인가?			
		Sexing 기술에 대한 열의가 높은가?			
		발정체크, 사양관리 체계가 시스템화 되어 있는가?			
		정기적으로 수의사에 의한 농가 소독, 전염병 집중 등을 실시가 양호한가?			
	비육우	양질의 한우생산이 가능한 농가인가?			
		구제역, 번식질환, 전염병 등에 감염이 된적이 있는가?			
		지역 거점의 브랜드 한우 소속농가인가?			
젖소	유우	유량 생산 수준 및 착유우 사육환경이 양호한가?			
		유우의 번식주기, 호르몬 처치에 의한 발정동기화 등이 양호한 농가인가?			
	육우	개체별 급이기, 급수기 등 사양관리 시스템이 양호한가?			
공통	구제역, 광우병 등 악성 질병의 농가 감염여부				
	본 과제의 시범농가 사업의 취지를 잘 파악하고 있는가?				
	성 선택에 의한 축산업의 파급효과 등에 관심이 많은가?				

< 표 14. 실증농장 선정 기준조사표 양식 >

(3) 실증농가 선정 및 운영 추진절차

- (가) 실증농장 운영지원(5개 내·외의 실증농장 선정)
- (나) 성 선택 키트 제품의 공급 및 부대기술 지원: 협동기관(바이오키스)
- (다) 실증농장 운영 및 성 선택 키트를 이용한 F1 송아지 생산 착수
- (라) 성 선택 키트 사용 후, F1 송아지 생산을 위한 숙련된 전국 지역거점의 전문가(소인공수정사, 수의사)를 이용한 인공수정(AI) 실시



< 표 15. 실증농가 운영절차 요약 >

나. 1차년도 세부연구수행 결과: 협동연구기관(국립환경대학교)

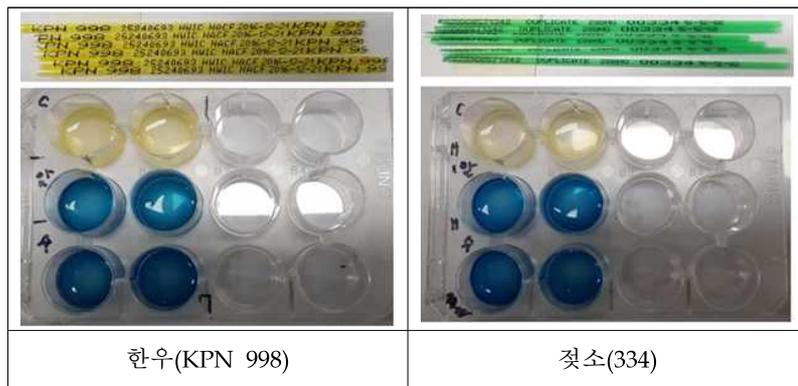
(1) 성 결정 시제품을 활용 국내 실증농장 표준화 조사(시제품의 테스트베드)

(가) 정액 성장 검사

① 공시재료: 한우, 젓소의 동결 정액

: 농협으로부터 구입한 한우 정액(KPN 998)과 젓소 (334) 정액으로부터 성 결정 시약 처리 후, 0, 15분 및 30분에 반응 결과 사진을 그림 6에 나타냄.

이런 결과를 정리한 결과 표 7에서 보는바와 같이 한우 처리군에서는 큰 차이가 없었지만, 젓소 정액 처리군에서는 15분에 60-70%, 30분에 30%이하로 정자의 운동성이 낮아지는 경향을 확인했음

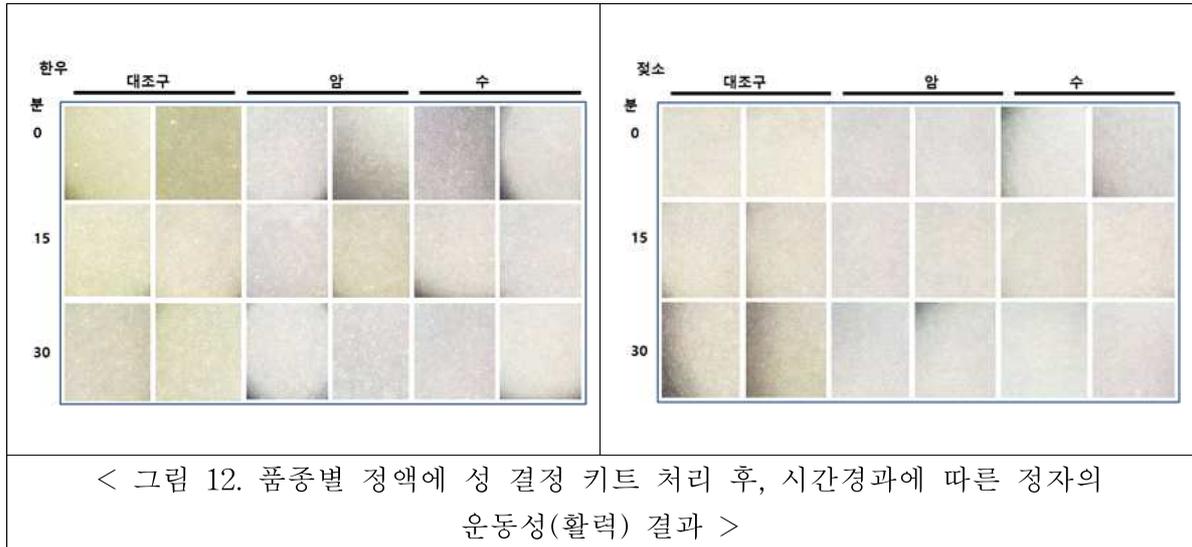


< 그림 11. 품종별 동결정액에 성 결정키트 처리 후, 희석과정의 결과 >

처리		처리시간 및 활력 (%)		
		0 분	15 분	30 분
한우	대조구	80	75-80	75-80
		80	75-80	75-80
	암	75-80	70-75	70-75
		80	75-80	70-75
	수	80	75-80	70-75
		80	75-80	70-75

젖소	대조구	75-80	60-70	30
		80	60-70	40
	암	80	60-70	20-30
		75-80	60-70	20-30
	수	75-80	50-60	30
		75-80	50-60	20-40

< 표 16. 성 결정키트 처리 후, 시간경과에 따른 정자활력의 변화 >



다. 1차년도 세부연구수행 결과: 협동연구기관(바이오키스)

(1) 성 결정 시제품을 활용 국내 실증농장 사전 준비작업

(가) 실증농가

- ① 실증농장 후보농장 사전조사 작업(농장규모, 사육두수, 사양관리형태, 수태율, 임신율 등)
- ② 실증농장 후보농장과의 인적 네트워크 구축작업
- ③ 실증농장 운영 및 성 선택 키트를 활용한 F1 송아지 생산 착수
- ④ 성 선택 키트 사용, F1 송아지 생산을 위한 숙련된 전국 지역거점의 인공수정사를 이용한 인공수정(AI) 실시
- ⑤ 협동기관 바이오키스 중심으로 전국 지역 거점의 전문가팀(현지 수의사, 인공수정사 등 4명으로 구성)의 시제품을 활용한 실증시험 계획(효율성, 전문성 제고)

(나) 국내 상용화 준비 작업

- ① 판로개척: 전국 지역 거점 축산관련기관(농협, 축협 등)과의 커뮤니티 구축작업(유통망 구축작업)
- ② 마케팅/홍보 자료 준비(배너, 포스터, 등)
- ③ 교육지도(현장 컨설팅)
- ④ 홍보/전시(전시회, 박람회, 학회, 세미나) 참가



< 그림 13. 2017년 한국 젖소품평회 참여(경기도 안성 팜랜드) >

(다) 국외 상용화 준비 작업

- ① 낙농개발도상국(필리핀)의 성 결정키트 제품의 성공적인 수출을 위한 네트워크 구축을 위한 사전 조사 및 준비작업: 필리핀 국가주도의 필리핀 토종소인 물소의 유량생산 및 번식능력 효율향상을 위해 우수한 한국산 성 결정 키트 제품 등을 포함하는 한국축산 인프라의 필요성이 대두. 국가 축산전문연구기관(Philippine Carabao Center(PCC)연구자, 전문가 및 필리핀 물소농가축주 등과의 커뮤니티 구축작업(현장방문, 간담회 및 세미나 적극 활용)



< 그림 14. 필리핀 물소 연구소(PCC) 방문 및 네트워크구축 사전작업 >

A: 필리핀 우유처리 가공센터, B: PCC 세미나 및 간담회, C: PCC 연구원 및 관계자들, D: PCC 방문, E: 필리핀물소 현황, F: 착유기 및 착유실 현황

- ② 말레이시아(Malaysia)의 대규모 단위의 축산협동조합의 총 연합조직인 앙카사(ANGKASA) 및 말레이시아 농림부 주도로 수태율 향상 및 번식효율 개선 등을 위해 한국산 성 결정 키트제품과 한국 축산 인프라가 지속적으로 요구되고 있는 상황에서 농협조직 총괄체인 앙카사의 주요임원 및 말레이시아 농림부 관계자 등과의

커뮤니티 구축((주)티엔티리써치)



< 그림 15. 말레이시아 ANGKASA 및 농림부 관계자와의 미팅 >

- ③ 중앙아시아의 대표적인 낙농국가인 우즈베키스탄(Uzbekistan), 키르기즈스탄(Kyrgyzstan) 등과 함께 우유 수요량이 15% 이상으로 매년 증가하고 있는 파키스탄(Pakistan) 등의 낙농개발 도상국가를 대상으로 우수한 한국산 한국산 키트제품 등을 수출하기 위한 커뮤니티 구축 사전 조사 작업
- (라) 국내 일반 농가 및 축산 관련 기관 대상 교육지도 2 건
 - ① 경북 경주시 서라벌 목우회 초청 색싱 키트 활용 세미나 개최(2017년 09월 12일)
 - ② 전북 정읍시 단풍미인협회 소속 농가 초청 세미나 개최(2017년 10월 17일)



< 그림 16. 국내 교육지도 경북 서라벌목우회, 단풍미인 한우협회 >

- (마) 국외 교육지도 활동 2건
 - ① 필리핀 PCC 연구센터 세미나 개최(2017년 09월 01일): PCC 연구사(관) 및 축산기업관계자
 - ② 말레이시아 앙카사(ANGKASA) 세미나 개최 (2017년 10월 17일)



< 그림 17. 국외 교육지도 (말레이시아(ANGKASA) 앙카사, 필리핀(PCC)) >



< 그림 18. 국내 전문가 자문위원회 개최 (‘17.12.11 정읍단풍미인 협동조합) >

제2절. 연구결과 - 2

1. 2차년도 연구개발 목표 및 결과: 2차년도(2018. 01. 01 ~ 2018. 12. 31 연구기간)

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용 (이론적·실험적 접근방법)	연구결과
2차 년도 (2018)	맞춤형 송아지 생산을 위한 기반기술 개발 (주관:(주)티엔티리씨치)	○ 시제품 프로토콜 제작	○ 축종별 맞춤형 프로토콜 작성(수태율 확인 후, 색성 결과 모니터링)	○ 축종별 맞춤형 프로토콜 초안 작성 ○ 실증시험에 근거한 소 수태율 및 색성을 자료 수집 및 분석
		○ 현장 실증시험	○ 실증시험농가 선정 ○ 실증시험운영 ○ 실증시험결과 모니터링 ○ 추가 실증시험 농가확대	○ 후보 실증농장 방문 (실태확인) ○ 실증농장 기초자료 확보(농장 규모, 사양 형태 등) ○ 후보실증농장과의 커뮤니티 구축
		○ 국내·외 상용화 사전 준비작업	○ 국내 축산조합 및 각 지역 거점소 인공수정사와의 커뮤니티 구축 ○ 국외 대규모 축산협동조합, 축산/수의 대학연구소 및 정부기관의 축산관련 부처와의 커뮤니티 구축 (축산전문 연구기관과의 MOU 체결 포함)	○ 충남서천, 경북 봉화 한우농가(대규모 한우사육농가: 실증시험) ○ 지자체 축산연구소: 경북 영주, 경북 상주, 전남해남농업기술센터, 전남 농업기술원 축산연구소와의 커뮤니티 구축 ○ 국외 국가연구조직(필리핀 물소센터(PCC)) MOU체결, 말레이시아 농촌진흥청, 축산연구소 세미나, 파키스탄 농림식품부 방문 ○ 파키스탄 네슬레본사 방문 및 현장목장 시찰(사전준비)
성 결정시약 처리에 의한 소 정자의 mRNA 발현 분석 (협동:한경대학교)	○ 시제품의 표준화 검증(<i>In vitro</i> Test) ○ 성 결정 시약 처리에 따른 소 정자의 분자학적인 검증 ○ 유전자 발현 패턴 분석을 통한 UP 및 down 유전자군의 분리확인	○ 시제품의 현장 효율성 향상 및 인공수정 후, 분만 및 출산 후의 과정에서 안정화, 표준화를 위한 기초시험 ○ 축종별(한우, 젃소) 동결 정자의 분자생물학적인 분석(수컷 정자의 mRNA 유전자 발현양상 확인): qRT-PCR 분석방법	○ 테스트베드 구축(사전준비) ○ 성 결정키트 처리 후, 약 50개의 한우 동결정액 스트로에서 tRNA를 분리 정제함 ○ qRT-PCR 분석결과 대부분의 유전자군에서는 수컷 성 결정키트 처리시약군에서 mRNA 발현량이 증가함	
맞춤형 송아지 생산용 키트 기술 상용화 (협동:바이오키스)	○ 국내 축산협회 및 소인공수정사협회와의 네트워크 구축작업 ○ 국내·외 상용화 준비 ○ 상용화 제품의 국내·외 홍보 마케팅 확대 (국내·외 축산제품 박람회, 국내축산 품평회 등)	○ 국내 판로개척 후보 농장, 지역거점 축산관련 협동조합 및 인공수정사 협회와의 커뮤니티 구축 확대 ○ 실증시험 후보농장 기초자료 조사작업 ○ 홍보 마케팅 사전준비(브로셔로서, 배너 등)제작	○ 국내유관 축산연구기관과 업무협회 및 상용화 제품 확대 ○ 농장기초자료수집 ○ 전국한우 및 젃소 품평회 참석(안성시) ○ 한우·젃소품평회 준비 및 참석(브로셔, 배너, 플랜카드 등 활용) ○ 국외 대규모 조합(말레이시아 앙카사(ANKASA)) 중앙본부 방문: 대규모 홍보	

2. 2차년도 연구범위 및 연구수행 방법

연구범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
○ 성 결정 키트시제품의 현장 실증시험	○ 국내 축산 농가별 사양형태에 따른 한우, 젓소농가의 실증시험 실시 ○ 지역 거점의 농가를 중심으로 인근의 타 지역의 축산조합 및 인공수정사와의 커뮤니티 확산	○ 국내 번식/사양/질병 등의 전문가팀의 농장 방문 및 실태 조사를 통한 집중관리 대상 농장 후보 선택 ○ 5개의 시범농장 운영(한우3/젓소2) ○ 지역 거점 소 인공수정사를 활용해 F1 송아지 생산을 위해 인공수정(AI) 실시
○ 국내 사업화 실시	○ 실증시험 농가 중심으로 성 결정 제품의 홍보 실시 후, 타 지역으로 확산전략 ○ 지역 거점의 축산조합, 축산 관계자 및 인공수정사 대상 성 결정제품의 활용 및 기술 세미나 실시 ○ 국내 축산박람회, 전시회 등의 홍보활동	○ 충남서천,경북봉화(대규모 한우사육농가: 실증시험) ○ 지자체 축산연구소: 경북 영주, 상주, 전남해남농업기술센터, 전남 농업기술원 축산연구소와의 커뮤니티 구축 ○ 한우개량사업소 수정란센터 관리대상 한우(실증시험) ○ 국립축산과학원 가축개량평가과와 업무협회 및 상용화 제품 확대 ○ 전국한우 및 젓소품평회 참석(안성시) ○ 한우.젓소 품평회 준비 및 참석(브로셔, 배너, 플랜카드 등 활용)
○ 국외 사업화 실시	○ 수출대상국가의 현지 축산전문 회사와의 인적 네트워크 구축작업 ○ 현지 대규모 농장조합과의 커뮤니티 구축 ○ 현지의 수출·입에 최적화된 축산전문 회사와의 협업 등 ○ 현지 최적화된 축산기업의 목장에 실증시험 준비작업	○ 국외 대규모 조합(말레이시아 앙카사(ANKASA)) 중앙본부 방문: 대규모 홍보 ○ 국외 국가연구조직(필리핀 물소센터(PCC)) MOU체결, 말레이시아 농촌진흥청, 축산연구소 세미나, 파키스탄 농림식품부 방문 ○ 파키스탄 네슬레본사 방문 및 현장목장 시찰(사전준비)

3. 2차년도 세부연구목표 및 결과

가. 2차년도 세부연구수행 결과(주관기관: ㈜티엔티리써치)

(1) 성 결정 키트를 활용한 핵심 5개의 핵심 실증농가 선정 및 인공수정 현황

Type-farm	No.	Farm Name	Heads	AI/Date.	Notes
한우사육농가	1	충남 서천 00 한우 목장	158	18.4~6	
	2	경북 봉화 00 육종농가	139	18.3~6	
	3	전북 정읍 00 한우 농장	120	18.3~6	
젖소사육농가	4	경북 경주 00 목장	198	18.4~6	1두 자연발정확인
	5	충남 서천 00 목장	102	18.4~6	
NO. Total Farm	5	충남, 경북, 전북 3 권역	717		

< 표 17. 성 결정키트 5개의 핵심 실증농가 현황 >

(2) 성 결정 키트를 활용한 실증농가 선정 및 인공수정 상황

Type-farm	No.	Farm Name	Heads	AI/Date.	Notes
한우사육농가	1	전북 정읍시 00농산	15	18.3~6	
	2	전북 익산시 00 한우사육농가	20	18.3~6	
	3	전북 익산시 00 한우사육농가	12	18.3~6	
	4	경북 고령 00 한우육종농가	45	18.11.10	
	5	전남 나주시 00 농원	22	18.4~6	
	6	전남 영암군 00 농장	28	18.11.10	
	7	제주 00 흑우농장	62	18.3~6	
	8	제주 00 한우농가	31	18.3~6	
	9	경북 영주 00 농가	56	18.4~6	
	10	경북 상주 00 농가	54	18.3~6	
젖소사육농가	11	경북 00 젖소농가	21	18.11.10	
	12	경북 00 젖소농가	15	18.4~6	
	13	경북 00 젖소농장	14	18.3~6	
	14	경북 00 젖소농가	12	18.11.10	
	15	충남 00 농가	12	18.3~6	

	16	경기도 00 농가	12	18.4~6	
	17	경북 00 농가	24	18.4~6	
	18	충남 00 농가	25	18.3~6	
NO. Total Farm	18		480		

< 표 18. 성 결정키트 18개의 실증농가 현황 >

(가) 시범농장 운영지원(5개 핵심 시범농장 선정)

- ① 암·수 송아지 생산용 성 결정 키트 공급 및 관련 제품에 대한 사용에 대한 지원:
성 결정 키트 사용법 설명회 및 기술 교육 실시 등
- ② 발정 확인 후, 인공수정시 성 결정 키트 사용한 두수 확인 및 송아지 생산까지의 모니터링 실시

(나) 수출대상 후보국가의 축산환경, 수출통관 시스템, 축산 사육규모, 축산마케팅 및 인프라 등을 사전조사 작업

- ① 낙농개발도상국(필리핀)의 한국산 젖소유전자원 및 관련 제품의 성공적인 수출을 위한 네트워크 구축을 위한 사전 조사 및 준비작업: 필리핀 국가주도의 필리핀 토종소인 물소의 유량생산 및 번식능력 효율향상을 위해 우수한 한국산 성 결정 키트제품 등을 포함하는 한국축산 인프라의 필요성이 대두. 국가 축산전문연구기관(Philippine Carabao Center(PCC)연구자, 전문가 및 필리핀 물소농가축주 등과의 커뮤니티 구축작업(현장방문, 간담회 및 세미나 적극활용)



그림 19. 필리핀물소센터와 과제 주관기관과의 MOU 체결



그림 20. 필리핀물소센터 성 결정키트 사용 시연회

② 말레이시아 앙카사중앙협회(농협협동조합) 및 농림부 축산담당 고위직 공무원의 주 관기관 방문 및 한국의 사업화지원사업의 설명, 성 결정키트 제품의 홍보



그림 21. 말레이시아 ANGKASA 및 농림부 관계자와의 미팅

가. 2차년도 세부연구수행 결과(협동기관: 국립한경대학교)

(1) 성 결정 키트 시약 처리시간에 따른 소 정자의 유전자 분석

(가) 시약 처리 후, 소 정자의 유전자 분석 재료 및 방법

① 처리시간에 따른 소 정자로부터 mRNA 분리

② 시약처리후 정액으로부터 정자 분리하기 위하여 2,000 x g에서 5분간 원심후 상층을 버리고

pellet에 somatic cell lysis buffer (0.15 M ammonium chloride, 10 mM potassium bicarbonate, 0.1 mM EDTA)를 첨가하여 30초간 정치한 후, 16,000 x g에서 1 분간 원심한 후 PBS로 한번 washing한 다음 mRNA를 Qiagen's RNase-free DNase와 RNeasy MinElute Cleanup 키트를 사용하여 추출함

③ 1차적으로 정자에 많이 발현하는 5개 유전자를 중심으로 qRT-PCR을 실시함

[Sperm clusterin (Clu); GTPase; IMAP family member 4 (Gimap4); prostaglandin D2 synthesis (Ptgds); Transmembrane protein with EGF like and two follistatin like domains 1 (Tmeff1)]

(나) 성 결정 키트 처리 후, 소 정자의 유전자 분석 결과

① 한우와 젃소의 정액을 이용 성 결정시약 30분간 처리과정을 나타낸 그림. 이러한 결과로부터 최종적으로 정자를 회수하여 total RNA를 분리하였으며, 아래의 table에서 제시 되어진 정액 특이 프라이머를 활용하여 mRNA의 발현양을 분석한 결과를 아래의 그래프에 제시함

② 이러한 결과는 사용되어진 6개의 유전자는 특이적으로 male 결정시약을 처리한 곳에서 상대적으로 많이 발생하는 것으로 나타났다. 따라서 이러한 6개의 유전자가 정자에서 옹성을 결정한다고 사료됨

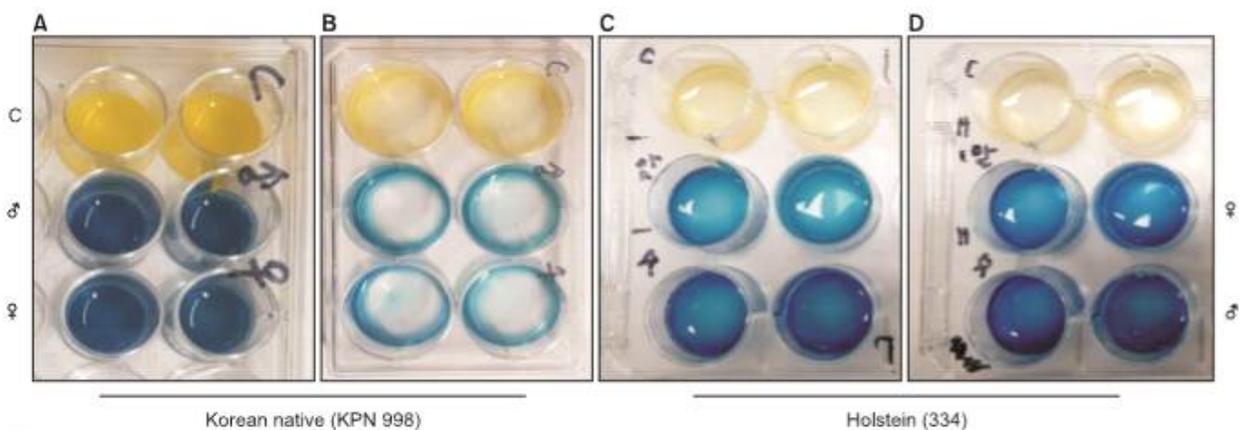


Fig. 1. Reaction of semen with male and female reagents in Korean native Cattle and Holstein. (A) and (B) are shown the Korean Native Cattle. (C) and (D) are shown the Holstein. These images were taken 30 minutes after the corresponding reagents were added. C: control.

Table 1. Specific primers used to amplify genes of Korean native cows

Gene	Sequence (5'→3')	Length (bp)
bClus		
Forward	tca gca ggc tgt acg acc agc tg	317
Reverse	tc cgg cgg tat tgc tgc agt gct	
bGIMAP4		
Forward	ctc tca agg aga tta ccc gct gca	412
Reverse	gc tct gta ata ttc ttg taa cac	
bTMEFF1		
Forward	atg atg gac tac agt atc gac cag	314
Reverse	ggt tat gca cat gac aat tgc tac	
bABI2		
Forward	gta oca aat gat tac gta cct agc	254
Reverse	at tca tgc tgt aga act gaa cag	
bRAC1		
Forward	tgt oct acc ogc aga cag atg tat	261
Reverse	agc gcc gag cac tcc agg tat	
bGAPDH		
Forward	acc act gtc cac gcc atc act	452
Reverse	tcc acc acc ctg ttg ctg ta	

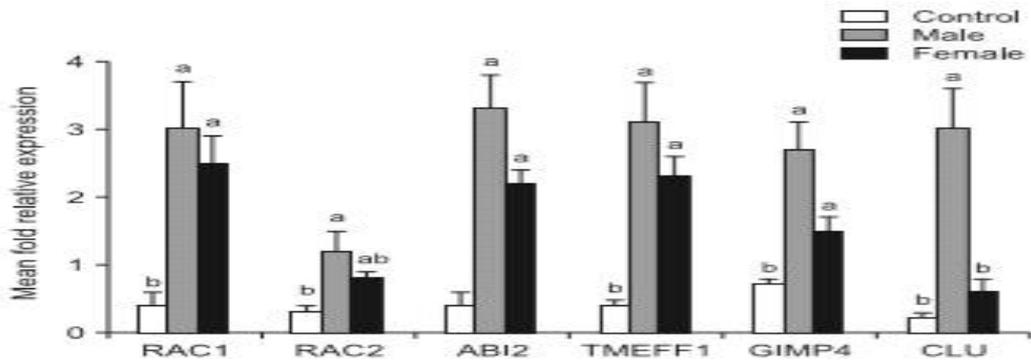


Fig. 2. Expression level of mRNA transcription following treatment with the corresponding sex determination reagent for 30 minutes. Data are expressed as the mean ratio relative to the vehicle control \pm SEM.

③ 성 결정키트 처리에 의한 소 정자의 유전자 분석 결과는 2018년 11월 1~2에 서울대학교에서 개최한 제18회 international symposium on developmental biotechnology에 포스트 발표

가. 2차년도 세부연구수행 결과(협동기관: 바이오키스)

(1) 성 결정 키트의 국외 수출을 위한 사전 준비작업

(가) 필리핀 물소센터(Philippine Carabao Center: PCC) 방문

① 필리핀 물소센터 및 부속 생식세포 연구기관 방문 및 업무협회

② 필리핀 물소센터 사육농가 현장 방문

③ 수출대상국가인 필리핀 현지농가 및 축산관계자 성 결정키트 사용설명회 개최



(나) 세계 축산물품 및 동물약품 대규모 전시회 참관:

- ① 2018년 2월 4~6일 아랍에미리트 두바이
- ② 2018년 8월 1~3일 말레이시아 쿠칭 BCKK센터



- ③ 중앙아시아의 대표적인 낙농국가인 우즈베키스탄(Uzbekistan), 키르기스탄(Kyrgyzstan) 등과 함께 우유수요량이 15% 이상으로 매년 증가하고 있는 파키스탄(Pakistan) 등의 낙농개발 도상국가를 대상으로 우수한 한국산 성 결정 키트 제품 등을 수출하기 위한 커뮤니티 구축 사전 조사 작업

제3절. 연구결과 - 3

1. 3차년도 연구개발 목표 및 결과 : 3차년도(2019. 01. 01 ~ 2019. 12. 31 연구기간)

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용 (이론적·실험적 접근방법)	연구결과
3차 년도 (2019)	맞춤형 송아지 생산을 위한 기반기술 개발 (주관:(주)티엔티리써치)	○ 국내 실증시험 결과 활용	○ 실증사업 결과물(F1 송아지 생산을 포함하는 기초자료 확보 및 분석) ○ 성 결정키트 유래 F1 송아지의 활용방안 마련	○ 실증시험에 근거한 소 수태율 및 색성을 자료 수집 및 분석 후, 축종별 맞춤형 프로토콜 작성
		○ 성 결정 키트 제품의 국내 상용화 확대	○ 국내 축산전문기관 및 지자체와 연계한 국가지원사업 참여 ○ 국내 브랜드 한우 육성지역 기반한 사업화	실증시험 결과를 바탕으로 축산조합, 축산관련 국가연구기관에 대대적 홍보작업추진
		○ 성 결정 키트 제품 양산화 시스템 개발	○ 액상 내용물의 정량화를 대량생산할 수 있는 양산시스템 구축 ○ CMO(Contract Manufacturing Organization) 기업발굴	○ 충남서천, 경북 봉화 등(대규모 한우농가: 실증시험) ○ 지자체 축산연구소: 경북 영주, 상주, 전남해남농업기술센터, 전남 농업기술원 축산연구소와의 커뮤니티 구축 ○ 국외 대규모 조합(말레이시아 앙카사(ANKASA)) 중앙본부 방문: 대규모 홍보 ○ 국외 국가연구조직(필리핀 물소센터(PCC)) MOU체결, 말레이시아 농촌진흥청, 축산연구소 세미나, 파키스탄 농림식품부 방문 ○ 파키스탄 네슬레 본사 방문 및 현장목장 시찰(사전준비)
성 결정시약 처리에 의한 소 정자의 mRNA 발현 분석 (협동:한경대학교)	○ 성 결정키트 유래 F1 송아지의 기초분석 ○ 성 결정키트 처리 시간에 따른 소 정자의 Microarray 분석 및 해석	○ qRT-PCR 방법으로 재확인 및 단백질 분석 ○ Microarray 분석 및 mRNA-seq 하여 2배 이상 up 또는 down 되는 유전자군을 분리	○ 테스트베드 구축(사전준비) ○ 성 결정키트 처리 후, 약 50개의 한우 동결정액 스트로에서 tRNA를 분리 정제함 ○ qRT-PCR 분석결과 대부분의 유전자군, 수컷 성결정키트 처리시약군에서 mRNA 발현량이 증가함	
맞춤형 송아지 생산용 키트 기술 상용화 (협동:바이오키스)	○ 국내·외 축산농가 확산을 위한 마케팅 기획	○ 축산농가별 네트워크 구축 등을 통한 제품에 대한 충성도 강화 프로그램 마련 및 실증결과 홍보 ○ 국내 지역 거점 축산협회 및 소인공수정사 네트워크 사업화 구축 모델을 타지역 확산 전략 ○ 국외 축산관련업체, 대규모 농장조합 등과의 네트워크 구축 후, 전면적인 상용화 추진 ○ 수출대상 국가별 축산환경, 사양관리 및 축산 관리 시스템별 협력 네트워크 구축 모델 기술개발	○ 국가 유관기관과 업무협회 및 상용화 제품 확대 ○ 농장 실증자료수집 ○ 전국한우/젓소포럼회 참석 및 홍보준비(안성시)	

2. 3차년도 연구범위 및 연구수행 방법

연구 범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
○ 성 결정 키트 시제품의 현장 실증시험	○ 실증시험 자료 정리 및 분석 작업 ○ 실증시험 결과 문제점 및 현장의 애로사항의 솔루션 제공 ○ 농가의 실정에 맞는 맞춤형 사용 프로토콜 최종 작성	○ 한우/젖소 성 결정키트 사용 프로토콜 확립 ○ 실증농가 및 인근 농장과의 커뮤니티 구축
○ 성 결정 키트 시제품의 국내 사업화	○ 실증시험의 결과를 대대적으로 홍보 실시 ○ 국내 축산조합 및 지자체 국가기관의 연구과제에 적극적으로 동참 ○ 지역거점 축산네트워크 성공모델의 인근 타 지역 축산현장으로 확산 전략 추진	○ 충남서천, 경북봉화 등(대규모 한우사육농가: 실증시험) ○ 지자체 축산연구소: 경북영주, 상주, 전남해남 농업기술센터, 전남 농업기술원 축산연구소와의 커뮤니티 구축
○ 성 결정 키트 시제품의 국외 사업화	○ 수출대상국가의 현지 축산전문회사, 대규모 농장조합 등과의 네트워크 구축 ○ 국내 실증시험모델 소개 및 성과를 홍보 ○ 현지 최적화된 축산기업 부속 농장 등에 실증시험 실시	○ 우간다 현지 수입업체인 MAP 등(축산연관 산업계)와의 전략적인 네트워크 구축 ○ 말레이시아 현지 수입업체인 ANGKASA와 네트워킹 강화 ○ 수출대상국가(말레이시아, 파키스탄, 인도네시아 등)와의 축산관련 커뮤니티 강화

3. 3차년도 세부연구목표 및 결과

가. 3차년도 세부연구수행 결과(주관기관: ㈜티엔티리썬치)

(1) 성 결정 키트를 활용한 실증시험 농가의 송아지 생산 현황

- ① 실증시험 송아지 생산 및 진행 현황('17.9~'19.12)
- ② 실증대상 농가 암소의 발정 유·무 체크 그리고 번식 질환 등과 같은 건강상태 등을 철저히 체크해서 선별된 암컷에 성 결정키트를 이용한 인공수정(AI)을 자가농가 및 지역거점 소속 인공수정사가 시술을 진행
- ③ 젖소농장 2곳, 한우사육농장 3곳으로 구성된 핵심실증농장과 18개의 실증농가에서 사육·관리되는 암컷젖소(총 76두) 및 암컷한우(총 120두)를 대상으로 인공수정 실시

[단위: 두수]

구분	총 인공수정		임신	분만	수태율[%]	암송아지	색신율 [%]	취합율[%]
	확인	미확인						
경북	519	80	318	314	63.00	225	71.50	87
충남	425	64	240	239	57.50	177	74.50	87
전북	131	27	72	71	56.50	54	76.00	83
소계	1,075	171	630	624	58.84	456	74.00	87.5
합계	1,246							

< 표 19. 실증농가의 젖소 암송아지 산자생산 및 색신율 >

[단위: 두수]

구분	총 인공수정		임신	분만	수태율 (%)	수송아지	색식율 (%)	취합율 (%)
	확인	미확인						
경북	215	65	120	120	56.00	97	81.00	77.20
충남	160	38	91	91	57.50	68	75.50	81.15
제주	140	45	81	80	58.50	67	83.50	76.50
경남	60	20	35	35	59.00	28	80.00	75.00
소계	575	168	327	326	57.50	260	80.50	77.47
합계	743							

< 표 20. 실증농가의 한우 수송아지 산자생산 및 색식율 >

[단위: 두수]

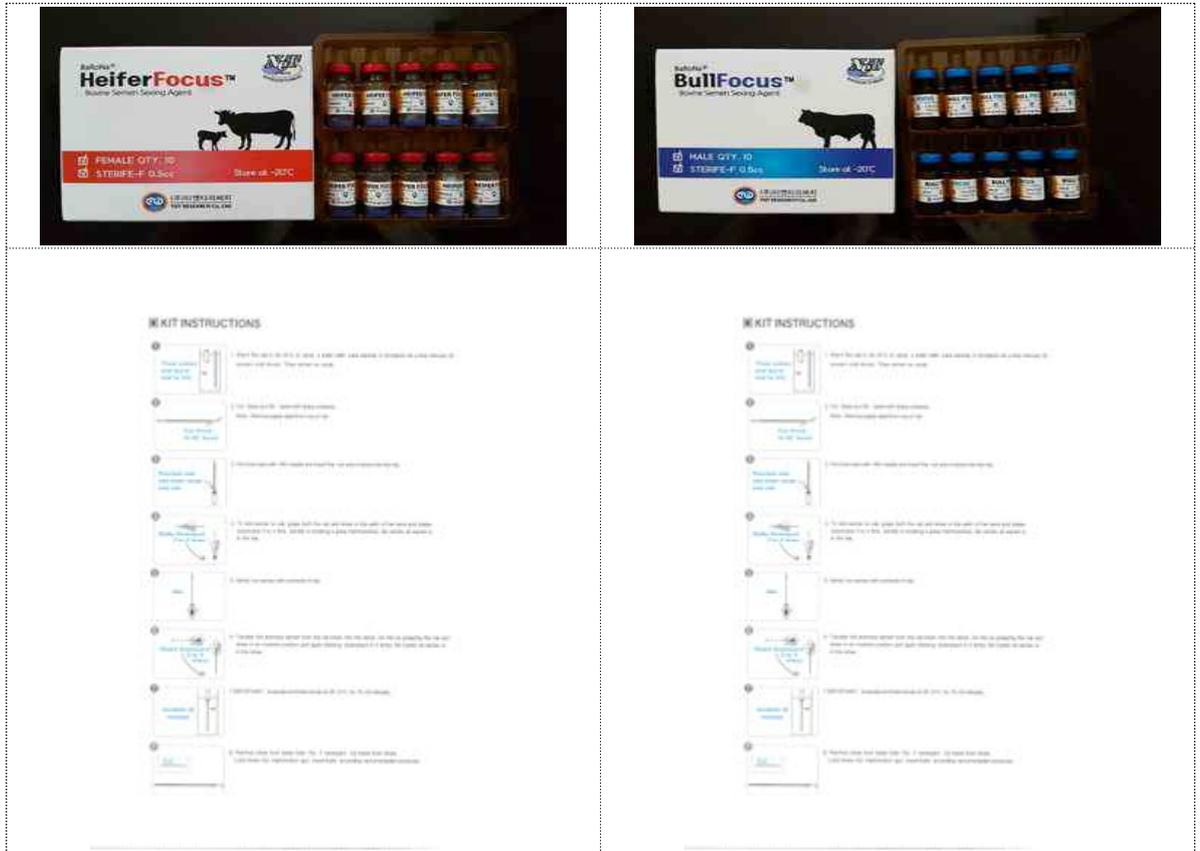
구분	총 인공수정		임신	분만	수태율 (%)	암송아지	색식율 (%)	취합율 (%)
	확인	미확인						
경북	772	106	431	429	58.50	315	73.75	88
충남	641	179	354	351	56.75	255	72.25	79
전북	339	173	198	197	60.50	150	76.50	67
제주	131	49	78	78	62.75	59	77.75	73
전남	51	57	29	29	58.75	22	77.50	53
경남	68	21	38	38	58.50	28	74.50	77
소계	2,002	585	1,128	1,122	59.30	829	75.00	72.84
합계	2,587							

< 표 21. 실증농가의 한우 암송아지 산자생산 및 색식율 >

(3) 성 결정 키트 제품의 사용 프로토콜 확립

(가) 맞춤형 암·수 송아지 생산용 성 결정 키트제품 프로토콜 확립 및 보급

- ① 암컷 송아지 생산용 프로토콜: 1 점
- ② 수컷 송아지 생산용 프로토콜: 1 점



< 그림 24. 성 결정키트 사용 프로토콜 >

가. 3차년도 세부연구수행 결과(협동기관: 국립한경대학교)

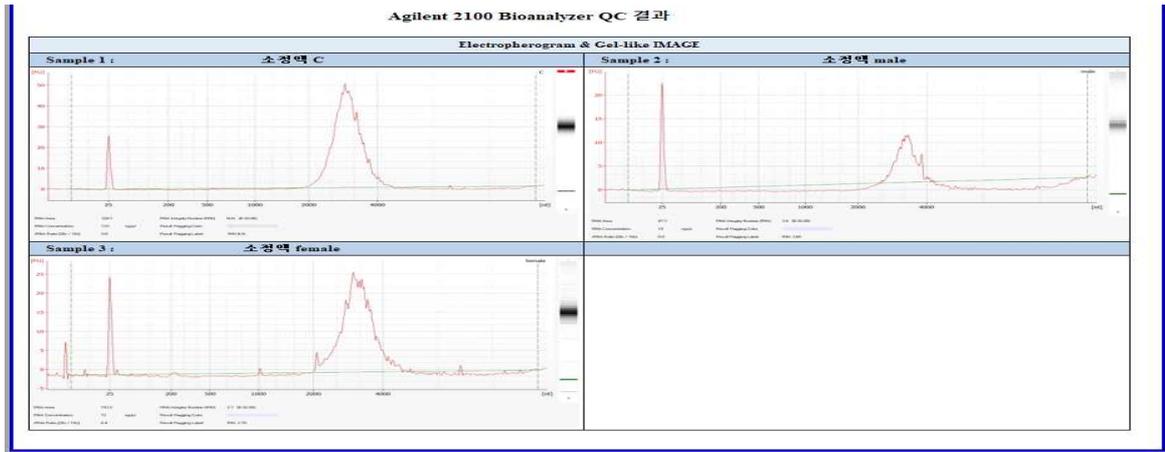
(1) 성 결정키트 처리시간에 따른 소 정자의 Microarray 분석준비

(가) 1차년도와 2차년도의 연구결과에 따라서 성결정 시약 처리 시간을 결정한 후 이 시간에 따라 처리한 후, 정자를 활용하여 Microarray 분석 준비용 total RNA 분리 결과

① 1차적으로 QIAGEN에서 판매하고 있는 total RNA 분리시약 사용한 결과 대조구와 male, female에 대하여 정량분석결과 양적으로는 실험실에서 측정된 결과와 유사하여 microArray에 이용할 수 있을 것으로 판단하여 DNA Linker로 샘플을 보내 QC 세부분석에 이용함

샘플 입고 정보						RNA prep. 및 QC 정보								QC 상세 정보	
Tno	입고 ID	Tube ID	형태	입고일자	입고량 (ea)	RNA QC Date	Nanodrop Conc.(ng/μl)	260/280	260/230	QC 후 vol. (μl)	total (μg)	RIN	rRNA ratio	QC 결과	QC 비교사항
1	소정액 C	소정액 C	Total RNA	2019-09-26		2019-09-30	37.9	1.85	0.51	118	4.47	N/A	0.0	부적합	
2	소정액 male	소정액 male	Total RNA	2019-09-26		2019-09-30	25.3	1.8	0.74	125	3.16	2.6	0.0	부적합	
3	소정액 female	소정액 female	Total RNA	2019-09-26		2019-09-30	26.6	1.8	0.33	130	3.46	2.7	0.4	부적합	

< 표 22. RNA sample prep. 및 QC 세부 내용 >



< 표 23. Agilent 2100 Bioanalyzer QC 세부 결과 >

② 그 결과 위의 그림에서 peak의 상태가 기존 total RNA와 전혀 다른 패턴을 나타내어 QC 결과 부적합 판정을 받음

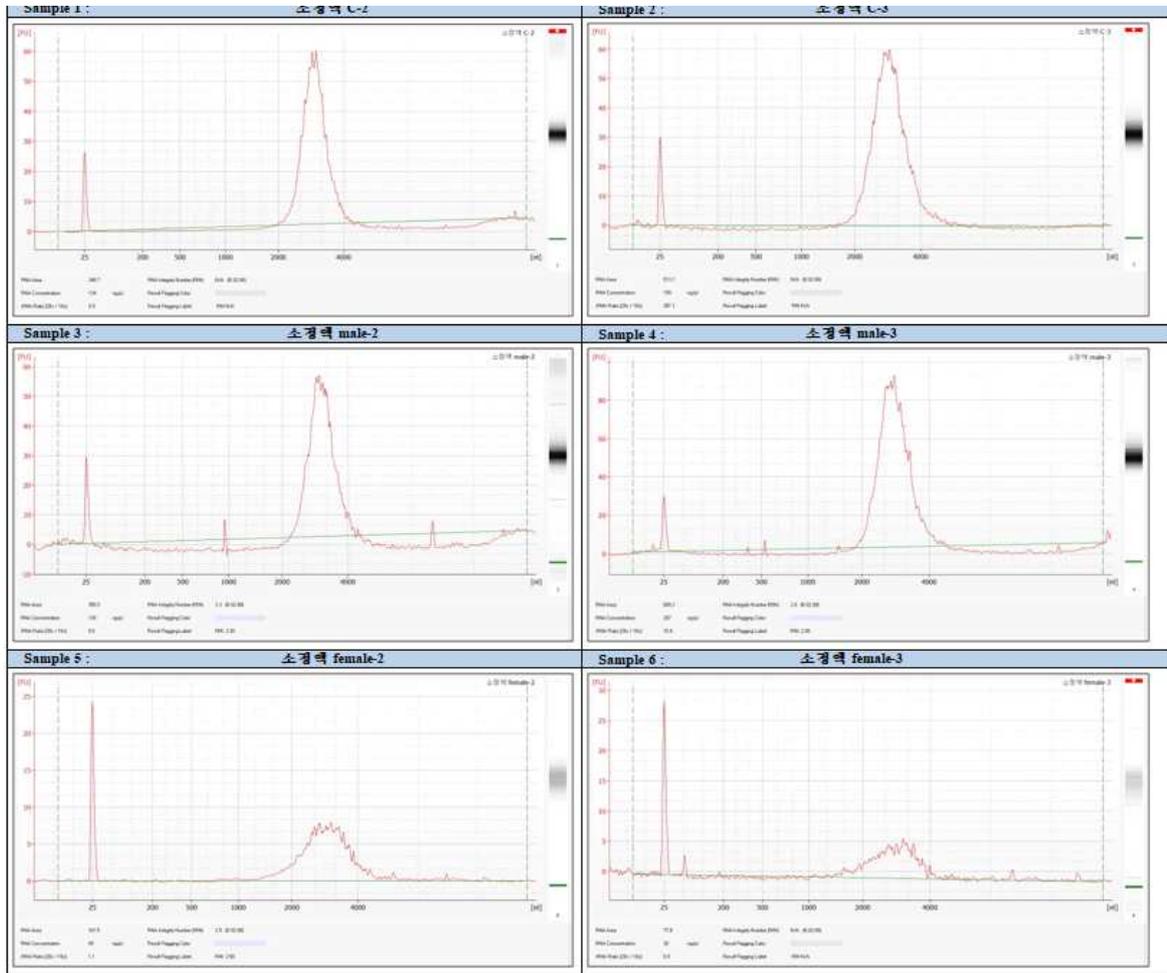
(나) RNA 분리 및 RNA 샘플의 QC 세부분석 결과 2차 테스트

RNA Sample prep. 및 QC 세부 내용

샘플 입고 정보					RNA prep. 및 QC 정보								QC 상세 정보	
Tno	입고 ID	형태	입고일자	입고량(ea)	RNA QC Date	Nanodrop Conc.(ng/μl)	260/280	260/230	QC 후 vol. (μl)	total (μg)	RIN	rRNA ratio	QC 결과	QC 비교사항
1	소정액 C-2	RNA	2019.09.30	1	2019.10.04	138.4	1.83	1.55	25	3.5	N/A	0.0	부적합	out of RIN, rRNA ratio
2	소정액 C-3	RNA	2019.09.30	1	2019.10.04	48.5	1.84	0.45	41	2.0	N/A	387.1	부적합	out of RIN, rRNA ratio
3	소정액 male-2	RNA	2019.09.30	1	2019.10.04	87.2	1.83	1.58	27	2.4	3.3	0.0	부적합	out of RIN, rRNA ratio
4	소정액 male-3	RNA	2019.09.30	1	2019.10.04	87.9	1.84	0.75	41	3.6	2.8	16.8	부적합	out of RIN, rRNA ratio
5	소정액 female-2	RNA	2019.09.30	1	2019.10.04	8.3	2.03	0.9	26	0.2	2.5	1.1	부적합	out of RIN, rRNA ratio, amount
6	소정액 female-3	RNA	2019.09.30	1	2019.10.04	4.9	2.12	0.38	47	0.2	N/A	0.9	부적합	out of RIN, rRNA ratio, amount

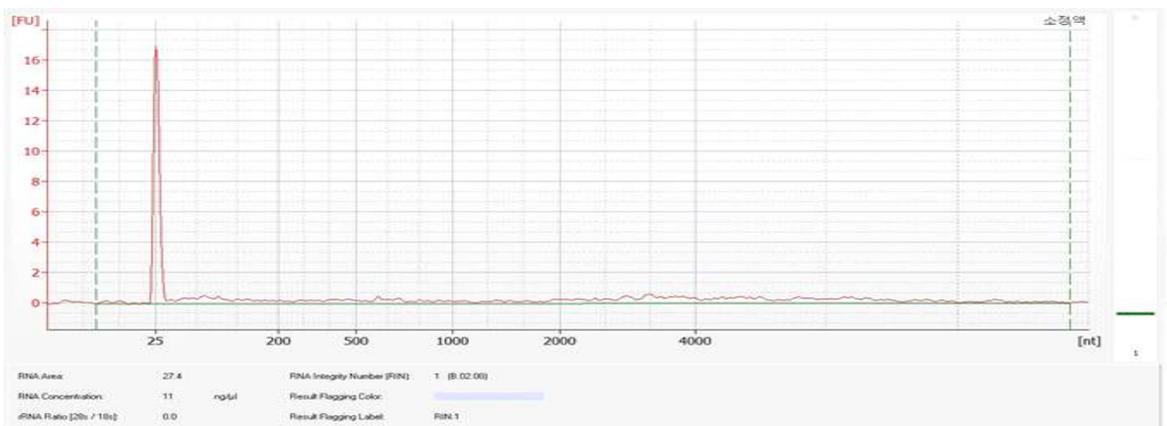
*동쪽결상RIN값 부정확하게 측정되거나 이유없

< 표 24. RNA sample prep. 및 QC 세부 내용 >



< 표 25. Agilent 2100 Bioanalyzer QC 세부 결과 >

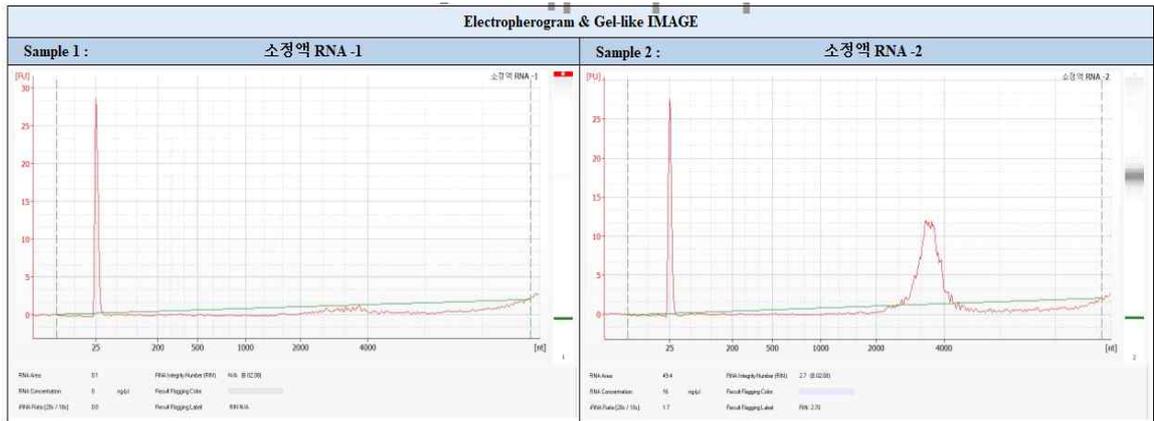
- ① 2차 분석결과에서도 정상적인 RNA peak 나타나지 않아, 더 이상 진행을 하지 못함
- (ㄹ) RNA 분리 및 RNA 샘플의 QC 세부분석 결과 3차
 - ① 3차에서는 RNA 분석 방법을 변경하여 Norgen사의 Total RNA purification plus micro kit 를 사용함. 이 방법의 결과도 1차와 2차와 같이 25nt의 작은 RNA만 관찰됨



< 표 26. Agilent 2100 Bioanalyzer QC 세부 결과 >

(라) RNA 분리 및 RNA 샘플의 QC 세부분석결과 4차

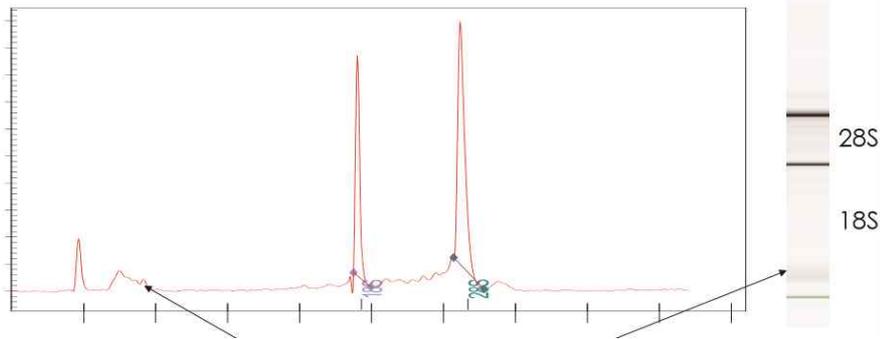
- ① 3차 분리방법을 변경하여 4차의 분리결과도 마찬가지로 양호한 total RNA를 확보하지 못함



< 표 27. Agilent 2100 Bioanalyzer QC 세부 결과 >

- ② 그 결과, 정상적인 RNA 분리에 대한 QC 분석결과에는 아래의 그림에서 제시한 바와 같이 18S, 28S의 뚜렷한 peak가 나타나는 것을 확인할 수 있었지만, 소 정액으로 부터의 RNA 분리 후 분석결과, 18S, 28S에 대한 peak가 나타나지 않는 것으로 확인됨

Intact Total RNA

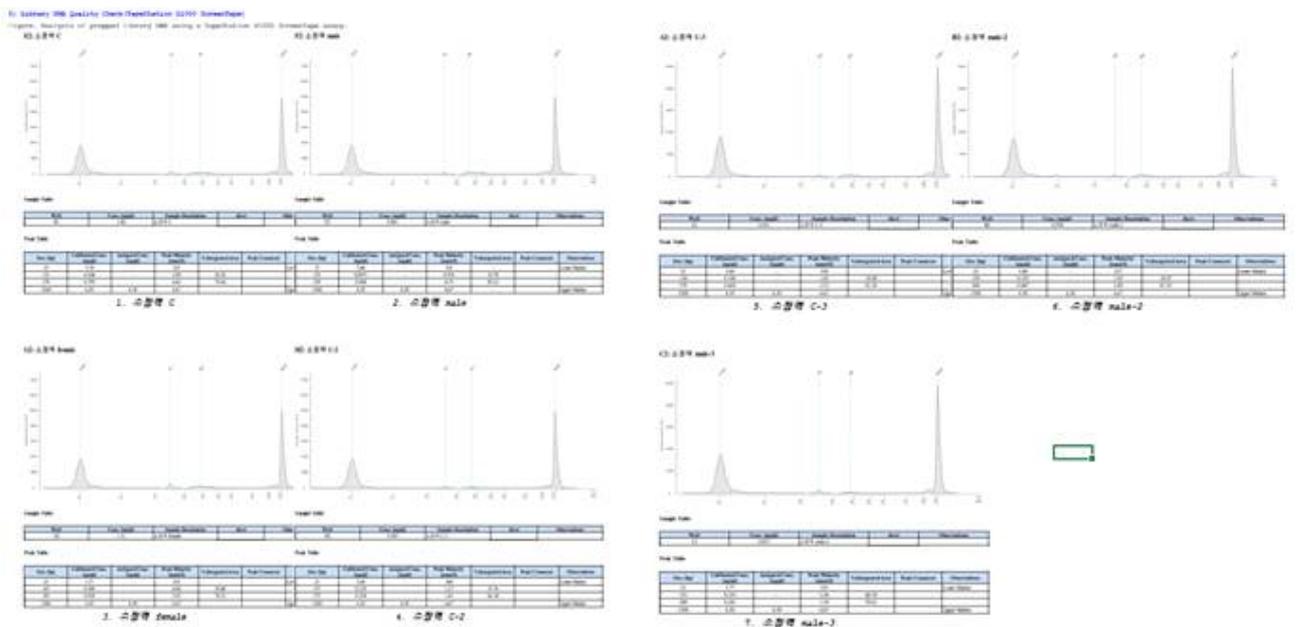


< 그림25. 정상적인 total RNA 분리 후 QC 분석결과 >

(바) 2차 분리한 샘플을 가지고 microArray 실시한 결과

- ① 2차에 분리한 RNA 샘플 중에서 가장 좋다고 판단되어진 것을 가지고 RNA의 microArray의 실험을 실시 하였다. 그 결과 정상적으로 RNA 양을 1ug/샘플당 사용하여 실시함
- ② 결과적으로 아래의 그래프에서 제시되어진 바와 같이 PCR로 증폭하였으나 작은 크기의 RNA 만 증폭되어져 본 실험에 이용할수 없음

Sample Info.										Prep. result				
Sample No.	Process No.	의뢰인	의뢰일자	Sample ID	Sample Type	Nanodrop Conc. (ng/ul)	260/280	260/230	Quantity (total) ug	Prep.시 사용량	RNA Adapter Index	Size(bp)	Molarity (nmol/l)	비고
1	1	한경대학교 민관식 교수님	2019.09.26	소정액 C	Total RNA	37.90	1.85	0.51	4.5	1ug	UD0013	278	4.4	
2	2	한경대학교 민관식 교수님	2019.09.26	소정액 male	Total RNA	25.30	1.80	0.74	3.2	1ug	UD0014	258	4.6	
3	3	한경대학교 민관식 교수님	2019.09.26	소정액 female	Total RNA	26.60	1.80	0.33	3.5	1ug	UD0015	283	5.1	
4	4	한경대학교 민관식 교수님	2019.09.30	소정액 C-2	RNA	138.40	1.83	1.55	3.5	1ug	UD0016	273	1.4	
5	5	한경대학교 민관식 교수님	2019.09.30	소정액 C-3	RNA	48.50	1.84	0.45	2.0	1ug	UD0017	278	2.5	
6	6	한경대학교 민관식 교수님	2019.09.30	소정액 male-2	RNA	87.20	1.83	1.58	2.4	1ug	UD0018	268	2.8	
7	7	한경대학교 민관식 교수님	2019.09.30	소정액 male-3	RNA	87.90	1.84	0.75	3.6	1ug	UD0019	284	1.3	



< 표 28. Agilent 2100 Bioanalyzer QC 세부 결과 >

③ RNA 분리한 후 Nanodrop으로 정량분석결과는 260/280의 결과가 1.83, 1.84, 1.83, 1.84, 1.76, 1.83 등으로 아주 양호하다고 판단되었지만, QC 분석에서는 결과적으로 microarray에 이용할 수 없는 결과를 확인함. 따라서 정액으로부터 정확한 microArray 용에 이용할 RNA의 분리 방법이 새롭게 개발되어야 할 것으로 판단됨. 따라서 정액으로부터의 microArray용으로서의 total RNA 분석방법은 현재로서는 어려움이 있음. 또한 아직까지 이에 대한 논문으로 보고되어진 것도 없는 것으로 파악됨

㉞ 성 결정키트 처리에 의한 소 정자의 유전자 분석 결과는 2019년 12월호 JARB 한국생명공학회 잡지에 논문 게재됨

No	학회논문 (국내)	저자	출판일시	학회지	국명
1	Identification of seprm mRNA biomarkers associated with sex-determination in korean native cows	Min KS Byambaragchaa M Kim H Park MH	19: 12	JARB 한국동물생명 공학회	대한민국

가. 3차년도 세부연구수행 결과(협동기관: 바이오키스)

(1) 성 결정 키트의 국외 수출을 위한 사전 준비작업

(가) 말레이시아 앙카사(ANGKASA)조합본부 방문 및 수출대상 축산부대품 설명회

① 말레이시아(Malaysia)의 대규모 단위의 축산협동조합의 총연합조직인 앙카사(ANGKASA) 및 말레이시아 농림부 주도로 유량생산량 향상 및 사육효율 개선 등을 위해 필수불가결한 암송아지 및 암컷의 많은 산자수 생산이 지속적으로 요구되는 상황에서 농협조직 총괄체인 앙카사의 주요임원 및 말레이시아 농림부 관계자 등과의 커뮤니티 구축((주)티엔티리씨치, 바이오키스): 앙카사 본부 방문/코마르디 소속 대규모 젖소사육농가 단지 세미나 개최/번식기술(성 결정키트 사용) 교육실시



< 그림 26. 말레이시아 앙카사 중앙본부 방문 및 한국산 축산물품 설명회 >



< 그림 27. 말레이시아 양카사 산하조직 코마르디 종합목장 방문 및 사진점검 >

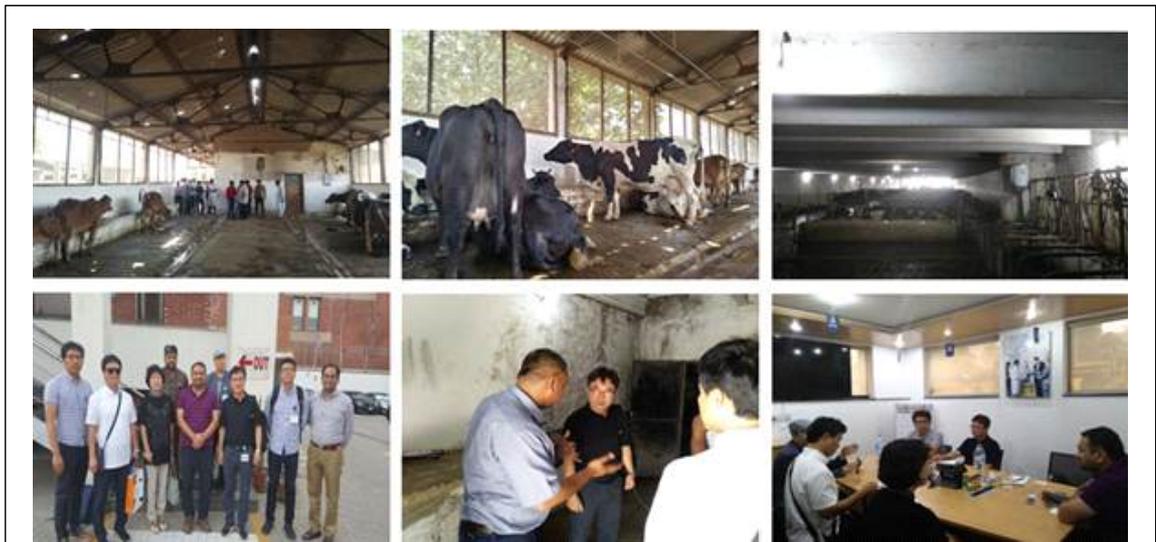


< 그림 28. 말레이시아 농촌진흥청 및 축산연구소 방문 및 사진점검 >

- (내) 파키스탄: 축산국가기관, 거대민간 축산기업 방문 및 성 결정키트 홍보작업
- ① 파키스탄 중앙정부의 국영 농촌진흥청, 축산연구소 및 축산 발전기구(대규모 젖소 농장 방문)
 - ② 파키스탄의 거대민간 축산기업 부속 농장조합들 방문 및 커뮤니티 구축작업(네슬레 소속 대규모 젖소 농가단지)



< 그림 29. 파키스탄 농촌진흥청, 낙농연구소, 낙농발전센터 방문 >



< 그림 30. 파키스탄 네슬레기업 본부 및 젓소목장 방문 >

(타) 우간다 축산 고위직 관료 및 현지 국립대 축산, 수의대학 학장단 (주)티엔티리씨치 방문

- ① 한국의 사업화지원사업 및 국내 현장 실증시험 소개
- ② 성 결정 키트제품의 필요성 및 홍보작업(사용설명 등)
- ③ 동아프리카 회원국 중 하나인 우간다에 성 결정 키트가 진출할 수 있는 교두보 마련을 위한 인적 네트워크 구축작업



< 그림 31. 우간다 축산고위직 및 국립대 학장단 한국방문 >

제3장 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

제1절. 목표

1. 연구개발목표의 달성도

가. 1차년도 연구개발 목표 및 달성내용 : (2017. 08. 30 ~ 2017. 12. 31 연구기간)

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용 (이론적, 실험적 접근방법)	연구개발 목표 달성내용
1차 년도 (2017)	맞춤형 송아지 생산을 위한 기반기술 개발 (주관: (주)티엔티리썬치)	○ 시제품 프로토타입 제작	○ 맞춤형 프로토콜 작성	○ 맞춤형 암/수 프로토콜 초안 작성(2점)
		○ 실증시험 사전 준비 작업	○ 실증농장 후보농장 조사 ○ 실증 선정기준 수립 ○ 실증 농장 운영안 수립	○ 후보 실증농장 방문(실태확인) ○ 실증농장 기초자료 확보(농장규모, 사양 형태 등) ○ 후보실증농장과 커뮤니티 구축
	○ 국내 상용화를 위한 전략 수립	○ 국내 지역거점 축산관련 조합과의 커뮤니티 구축 ○ 국외 대규모 축협조합 및 국가연구소 사전조사	○ 한우협회(5건), 농업기술센터(5건), 축산연구소(5건) ○ 수출대상국가(5)	
성 결정 시약 처리에 의한 소 정자의 mRNA 발현분석 (협동: 한경대학교)	○ 시제품의 표준화 검증 ○ 성 결정 시약 처리에 따른 소 정자 성상 분석	○ 시제품의 효율화, 안정화, 표준화를 위한 테스트베드 구축 ○ 축종별(한우, 젃소) 동결 정자성상 검사	○ 테스트베드 구축(사전준비) ○ 성 결정 키트 처리에 의한 한우/젃소 정자의 운동성 향상 확인 ○ 젃소 정자는 처리 후, 15, 30분 경과 후, 운동성이 저하됨 ○ 성 결정 키트 처리 후, 암·수처리구 간의 유의적인 차이는 없음	
맞춤형 송아지 생산용 키트 기술 상용화 (협동: 바이오키스)	○ 국내 실증 시험 준비 ○ 국내·외 상용화 준비 ○ 홍보 마케팅 준비	○ 국내 판로개척 후보 농장, 지역거점 축산관련 협동조합 사전조사 ○ 지역거점 축산 관련 협회 및 인공 수정사 협회와의 커뮤니티 구축작업 ○ 홍보 마케팅 사전준비(브로셔, 배너 등)제작	○ 지역거점 협동조합(10) ○ 축산협회(10) ○ 경북 한우품평회 참석(구미시) ○ 한국 젃소품평회 참석(안성시) ○ 젃소품평회 준비 및 참석(브로셔, 배너, 플랜카드 등 활용) ○ 국외 대규모 조합(말레이시아 앙카사(ANKASA)) 세미나 ○ 국외 국가연구조직(필리핀 물소센터(PCC)) 세미나	

나. 1차년도 연구개발 성과 및 평가방법

- 정성적 연구개발 성과 및 평가방법

연구개발 성과	달성도 (%)	연구개발 평가방법	비고
논문게재	100	- 연 1건	
시제품의 실증시험 시행	100	- 실증시험(소 인공수정 +성 결정키트 1 키트) 건수	
제품화	100	- 제품화 건수	
교육지도	100	- 교육지도 시행 건수	
판로개척	100	- 건수	
학회, 박람회, 전시회 참가	100	- 건수	
매출액	100	- 매출액 원	
수출액	100	- 수출액 미달러	

○ 정량적 연구개발 성과

(단위 : 건수)

성과목표	사업화지표										연구기반지표								
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화 (건, 억)					기술 인증	학술성과			교육 지도	인력 양성	정책 활용·홍보		기타 (타 연구 활용 등)
	특허 출원	특허 등록	품종 등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용 창출	투자 유치		논문	SCI	비SCI			학술 발표	정책 활용	
											SCI				비SCI	학술 발표			
1차년도	목표						0.1								2				
	실적						0.07								2				
달성율(%)							70								100				

다. 1차년도 연구개발 성과목표에 대한 자체평가

성과목표	자 체 평
실증평가 사전 선정작업	- 실증평가 후보평가 선정 기준안 마련 - 실증 후보평가 사전 조사작업 - 실증평가 운영안 수립

<p>맞춤형 암/수 송아지 생산 성 결정키트 프로토콜 초안작성</p>	<p>- 1차년도 목표는 설정되어 있지 않았으나, US 30,440.00 달러 수출('16.11)</p>
<p>시제품의 표준화 검증</p>	<p>- 현재 개발한 프로그램은 우간다 현지실정과 많이 차이가 나서 실효성이 낮음. 이에 보다 우간다 현지 젓소사육농가 맞춤형의 프로그램을 다시 제작할 필요성이 대두</p>
<p>국내·외상용화를 위한 전략수립</p>	<p>- 국외 상용화의 경우, 일부 농가를 제외하고는 표준번식 프로그램을 적용하기엔 아주 미흡한 단계인 농가가 대부분임 - 국내 지역거점의 축산조합 및 소 인공수정사 협회 등과의 유기적인 네트워크 구축작업</p>
<p>교육지도: 3 건</p>	<p>- (주)티엔티리써의 색상키트 원리 및 사용방법의 설명회 (세미나)를 국외 대규모 조합(말레이시아 앙카사(ANKASA)) 및 국내 (경북경주 천년한우조합, 전라북도 한우사양 농가)에서 총 3건을 성공적으로 수행</p>

라. 2차년도 연구개발 목표 및 달성내용: (2018. 01. 01 ~ 2018. 12. 31 연구기간)

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용 (이론적·실험적 접근방법)	연구개발 목표 달성내용
2차 년도 (2018)	맞춤형 송아지 생산을 위한 기반기술 개발 (주관:(주)티엔티리써치)	○ 시제품 프로토타입제작	○ 축종별 맞춤형 프로토콜 작성(수태율 확인 후, 섹싱 결과 모니터링)	○ 맞춤형 암/수 프로토콜 초안 작성(2점)
		○ 현장 실증 시험실시	○ 실증시험농가 선정 ○ 실증시험운영 ○ 실증시험결과 모니터링	○ 핵심농가 실증시험농가 5개 ○ 실증시험 운영안 적용 ○ 실증시험 결과 모니터링(인공수정 두수, 수태율)
		○ 국 내 · 외 상용화 준비작업	○ 국내 축산조합 및 각 지역 거점소 인공수정사와의 커뮤니티 구축 ○ 국외 대규모 축산협동조합, 축산/수의 대학연구소 및 정부기관의 축산관련 부처와의 커뮤니티 구축(축산전문 연구기관과의 MOU 체결 포함)	○ 한우협회(5건), 농업기술센터(5건), 축산연구소(5건) ○ 수출대상국가(5)
성 결정 시약 처리에 의한 소 정자의 mRNA 발현분석 (협동: 한경대학교)	○ 유전자 발현 패턴 분석을 통한 UP 및 down 유전자군의 분리확인	○ 축종별(한우, 젃소) 동결 정자의 분자생물학적인분석(수컷 정자의 mRNA 유전자 발현양상 확인): qRT-PCR 분석방법	○ 테스트베드 구축(사전준비) ○ 성 결정키트 처리 후, 약 50개의 한우 동결정액 스트로에서 tRNA를 분리 정제함 ○ qRT-PCR 분석결과 대부분의 유전자군에서는 수컷 성결정키트 처리시약군에서 mRNA 발현량이 증가함	
맞춤형 송아지 생산용 키트 기술 상용화 (협동: 바이오키스)	○ 국 내 · 외 상용화 준비 ○ 상용화 제품의 국 내·외 홍보 마케팅 확대	○ 국내 판로개척 후보 농장, 지역거점 축산관련 협동조합 및 인공수정사 협회와의 커뮤니티 구축 확대 ○ 실증시험 후보농장 기초자료 조사작업 ○ 홍보 마케팅 사전준비(브로셔로서, 베너 등)제작	○ 지역거점 협동조합(10) ○ 축산협회(10) ○ 젃소품평회 준비 및 참석(브로셔, 베너, 플랜카드 등 활용) ○ 국외 대규모 조합(말레이시아 앙카사(ANKASA)) 세미나 ○ 국외 국가연구조직(필리핀 물소센터(PCC)) 세미나	

○ 정량적 연구개발 성과

(단위 : 건수)

성과목표	사업화지표										연구기반지표							
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화 (건, 억원)					기술 인증	학술성과		교육 지도	인력 양성	정책 활용-홍보		기타 (타 연구 활용 등)
	특허 출원	특허 등록	품종 등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용 창출	투자유치		논문						
												SCI	비SCI			학술발표	정책 활용	
2차년도	목표					1	03		1					1	4		1	
	실적					1	0.4	0.03	1					1	4		3	
달성율(%)						100	134		100					100	100		300	

마. 2차년도 연구개발 성과 및 평가방법

○ 정성적 연구개발 성과 및 평가방법

연구개발 성과	달성도 (%)	연구개발 평가방법	비고
축종별 실증시험	100	- 축종별 실증시험우의 기초자료(수태율) - 미경산우, 경산우별 산자생산 현황 파악	
국내 상용화 작업	100	- 홍보 마케팅 자료 건수 - 실증시험농장(고객확보) 건수 - 판로개척 건수 - 교육지도(현장지도, 컨설팅) 건수 - 홍보/전시(전시회, 박람회)/학회, 세미나 참가 건수 - 인력양성(연구인력 활용/양성) 건수	
국외 상용화 작업	100	- 국외판로개척을 위한 커뮤니티 구축 건수 - 국외 홍보/전시(해외축산박람회, 세미나, 학회)참가 건수 - 국제화 협력 건수 - 해외 현지 교육지도(현장 컨설팅, 대규모 세미나) 건수 - 해외 현지 실증시험 농가 건수	
시제품의 테스트베드 구축(표준화 검증)	100	- 정자의 운동성(%) - 정자의 생존율(%) - 수태율 향상(%)	

바. 2차년도 연구개발 성과목표에 대한 자체평가

성과목표	자 체 평 가
○ 시범농장 운영 및 인공수정을 통한 F1 송아지 생산 착수	○ 국내 한우 55농가 및 30호의 젖소농가를 실증시험 농가로 지정 후, '18.3.1~과제 종결까지 전문 소 인공수정사를 활용한 인공수정 후, 송아지 산자 생산 ○ 축산 악성 질병 중 하나인 돼지열병이 전국적으로 확산하는 가운데, 지역 거점 조합을 중심으로 철저한 방역, 예방 프로그램을 준수하면서 안정적이고 유기적인 실증농가 운영을 통해 인공수정 작업을 실시함
○ 국내 상용화 작업	○ 2차년도 목표는 설정되어 있지 않았으나, 3,289,120 원 수출(말레이시아 양카사 대규모 축산조합)
○ 국외 상용화 작업	○ 현지 농장 사육우와 송아지의 개체 자료를 확보하기 위해 관리카드 및 농장관리 프로그램 보급 실시 ○ 현지 축산 전문가 및 민간 수출·입 전문회사와의 네트워크 구축 및 활용화
○ 성 결정 키트의 표준화 검증	○ 현지 젖소의 번식장애/사양/질병관리의 문제점을 파악, 대안을 도출 ○ 번식/질병과 사양관리 매뉴얼 콘텐츠 확보 ○ 번식장애 원인에 관한 분석을 실시하여 학술논문 및 학술대회 발표
○ 학술성과 (학술발표): 1 건	○ 학술발표는 1건 달성(1,2차년도 합산)
○ 교육지도: 6 건	○ 번식효율성 향상 및 집약적인 낙농관리 등을 위한 교육실시 ○ 국내 1) 경북 경주시 서라벌목우회 소속 농장주, 대동물 수의사, 인공수정사 및 축산관계자를 대상으로 세미나 실시('18.9.12) 2) 말레이시아 협동조합 연합 조직(ANGKASA) 한국 방문시, 한국유전자원의 우수성 및 번식효율성 향상에 관한 세미나 개최('18.10.17) ○ 국외 1) 필리핀 물소연구센터(PCC) 연구센터 연구사(관) 및 축산업체 대상 한국의 우수한 번식효율 제고기술 세미나 개최('18.9.1)
○ 기타 활동: 1 건	○ 자문위원회 개최: 2차년도 과제 성과도출을 위해 학계, 산업계, 연구기관의 전문가와 함께 자문위원회 개최('18.3.23)

사. 3차년도 연구개발 목표 및 달성내용: (2019. 01. 01 ~ 2019. 12. 31 연구기간)

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용 (이론적,실�험적 접근방법)	연구결과
3차 년도 (2019)	맞춤형 송아지 생산을 위한 기반기술 개발 (주관:(주)티엔터리씨치)	○ 국내 실증시험 결과 활용	○ 실증사업 결과물(F1 송아지 생산을 포함하는 기초자료 확보 및 분석) ○ 성 결정키트 유래 F1 송아지의 활용방안 마련	○ 축종별 맞춤형 프로토콜 작성 ○ 암·수 송아지 산자수 확인 작업
		○ 성 결정 키트 제품의 국내 상용화 확대	○ 국내 축산전문기관 및 지자체와 연계한 국가지원사업 참여 ○ 국내 브랜드 한우 육성지역 기반한 사업화	○ 국내 축산전문기관 및 지자체와 연계한 국가지원사업 참여 건수 ○ 국내 브랜드 한우 육성지역 기반한 사업화 건수
		○ 성 결정 키트 제품 양산화 시스템 개발	○ 액상 내용물의 정량화를 대량생산할 수 있는 양산시스템 구축	○ C M O (C o n t r a c t M a n u f a c t u r i n g O r g a n i z a t i o n) 기업발굴
	성 결정시약 처리에 의한 소 정자의 mRNA 발현 분석 (협동:한경대학교)	○ 성 결정키트 유래 F1 송아지의 기초분석 ○ 성 결정키트 처리 시간에 따른 소 정자의 Microarray 분석 및 해석	○ qRT-PCR 방법으로 재확인 및 단백질 분석 ○ Microarray 분석 및 mRNA-seq 하여 2배 이상 up 또는 down 되는 유전자군을 분리	○ qRT-PCR 분석결과 대부분의 유전자군, 수컷 성결정키트 처리시약군에서 mRNA 발현량이 증가함
맞춤형 송아지 생산용 키트 기술 상용화 (협동:바이오키스)	○ 국내·외 축산농가 확산을 위한 마케팅 기획	○ 축산농가별 네트워크 구축 등을 통한 제품에 대한 충성도 강화 프로그램 마련 및 실증결과 홍보 ○ 국내 지역 거점 축산협회 및 소인공수정사 네트워크 사업화 구축 모델을 타지역 확산 전략 ○ 국외 축산관련업체, 대규모 농장조합 등과의 네트워크 구축 후, 전면적인 상용화 추진 ○ 수출대상 국가별 축산환경, 사양관리 및 축산 관리 시스템별 협력 네트워크 구축 모델 기술개발	○ 국가 유관기관과 업무협회 및 상용화 제품 확대 ○ 국외 상용화를 위한 현지 축산전문 연구기관 및 대규모 축산조합과의 커뮤니티를 통한 지속적인 수출활로 개척을 위한 초기 진입단계의 초석마련	

○ 정량적 연구개발 성과

(단위 : 건수)

성과목표	사업화지표										연구기반지표							
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화 (건, 억원)					기술 인증	학술성과		교육 지도	인력 양성	정책 활용-홍보		기타 (타 연구 활용 등)
	특허출원	특허등록	품종등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용 창출	투자유치		논문						
												SCI	비SCI			학술발표	정책 활용	
3차년도	목표	1				1	06					1	1	1	4	1		1
	실적	2	2				0.57	0.03					1	1	4	1		1
	달성율(%)	200	200			100	95					100	100	100	100		100	

아. 3차년도 연구개발 성과 및 평가방법

성과목표	자체평가
○ 암송아지 생산용 성결정 키트제품의 수출	○ 축산관련제품인 300두 분의 암컷 송아지 생산용의 성 결정키트 (Sexing kit)의 말레이시아 농촌진흥청 축산연구소에 수출('19. 3월 26일): US \$2,942.00
○ 수출대상국가에서 맞춤형 성결정 키트제품의 유통 및 마케팅 기획	○ 우간다 현지 Agency (주)MAP과 현지 수입업체인 Vet Center Uganda Limited, Eagle Vet Uganda Ltd 및 대규모 우유업체인 (JESA)의 다양한 채널을 통한 한국산 젖소정액 및 부대품의 유통 채널 확보 ○ 수출된 한국산 성 결정키트제품의 유통 시스템 확립 - 우간다 마케레레 대학 중앙연구소에 암송아지 집중생산 프로그램 운영 예정
○ 시범농장 운영 및 맞춤형 성결정키트제품을 이용한 인공수정을 통한 F1 송아지 생산	○ 각 지역 전문 인공수정사 등의 전문가팀을 활용해 인공수정(AI)에 의한 F1 송아지 개체 생산 ○ 암송아지 생산 키트를 활용한 젖소 암송아지 생산결과: 총 인공수정 개체수 1,075두/F1 암송아지 개체수 456두/수태율(59.0%)/색싱율(74.0%) ○ 암송아지 생산 키트를 활용한 한우 암송아지 생산결과: 총 인공수정 개체수 2,002두/F1 암송아지 개체수 829두/수태율(59.30%)/색싱율(75.0%) ○ 수송아지 생산 키트를 활용한 한우 수송아지 생산결과: 총 인공수정 개체수 575두/F1 수송아지 개체수 260두/수태율(57.50%)/색싱율(80.0%)
○ 성 결정키트 유래 F1 송아지의 기초분석	○ qRT-PCR 분석결과 대부분의 유전자군, 수컷 성결정키트 처리시약군에서 mRNA 발현량이 증가함
○ 지식재산권 (특허등록): 1 건	○ 축산부대품(암송아지 생산용 Sexing kit) : 특허등록 1건

○ 학술성과 (학술발표): 1 건 (논문게재): 1 건	○ 학술발표는 1건 달성(한국동물번식학회 1건) ○ 2019년도 돼지열병발생으로 한국동물번식학회 등 축산학회 및 교류회등이 일시 정지(stanstill)조치로 인해 대회 중지됨 ○ 논문게재 1건 달성('19년도 International Journal of Livestock Production, in press)
○ 교육지도: 10 건	○ 번식효율성 향상 및 효과적인 성 결정키트 사용 등을 위한 현장 실무 교육실시 ○ 국내 1) 전남 해남군 녹색한우 조합 소속 농장주, 대동물 수의사, 인공수정사 및 축산관계자를 대상으로 세미나 실시('19.7.12) 2) 우간다 마케레레대학 학장단 및 정부축산관계자의 방한 시 한국 유전자원의 우수성 및 번식효율 향상제고를 위한 번식신기술 세미나 개최('19.5.17) ○ 국외 1) 말레이시아 앙카사(ANGKASA)조합 산하 코프리스 대규모 종합농장('19.3.27) 2) 파키스탄 네슬레 본사 젖소담당자 및 관계자 대상 한국산 젖소정액 및 축산기술의 우수성에 관한 세미나 개최 ('19.1.10)
○ 홍보전시: 1 건	○ 국외: 파키스탄 축산 및 낙농발전 투자진흥원 신문게재('19.1.11) ○ 2019년도 가축악성 전염성 질병 발병(돼지열병) 2018,19년도 한우, 젖소 품평회 및 2019년도 대구 세계국제 축산박람회 대회등의 일정이 모두 취소가 됨

2. 목표 달성여부

구분	내용	달성도(%)	비고
최종목표	맞춤형 송아지 생산을 위한 기반기술 개발 및 성 결정 키트 제품의 상용화	○ 100	
세부목표	○ 성 결정 키트 시제품의 효율성 및 안정성 검토	○ 100	
	○ 맞춤형 송아지 생산을 위한 시제품의 프로토콜 확립	○ 100	
	○ 성 결정 시제품의 현장 실증시험 시행	○ 100	
	○ 성 결정 키트 제품의 국내.외 유통 시스템 기반 조성 및 상용화	○ 100	

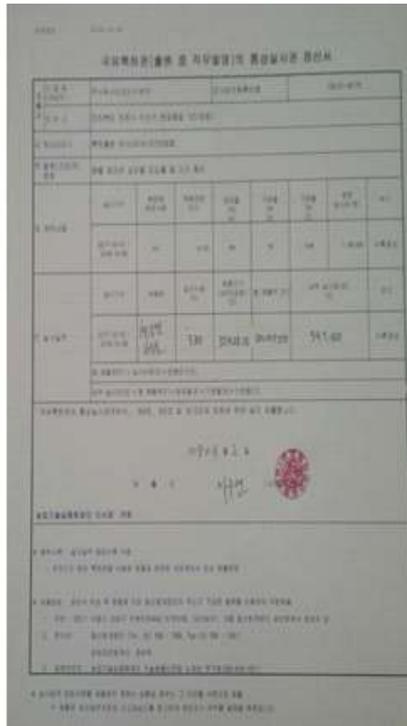
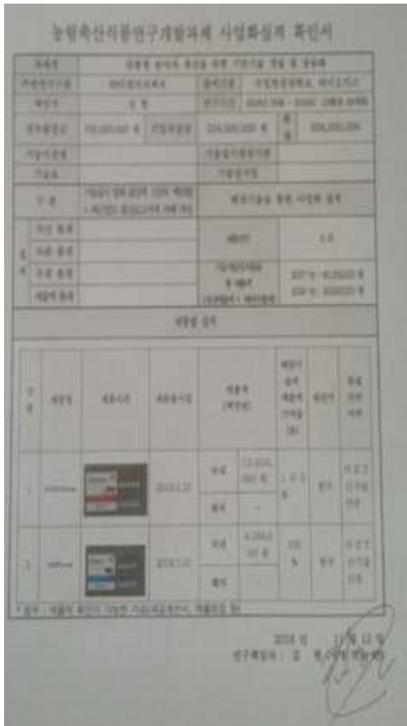
3. 사업화 성과 및 계획

가. 사업화 성과(매출실적)

항목	성과 금액		성과 기간('17.8.1~'19.12.31)
사업화 성과	국내 매출액	- 2017년 : 6,875,000 원 - 2018년 : 40,168,000 원 - 2019년 : 57,368,000 원	104,411,000 원
	국외 수출액	- 2018년 : 3,289,120 원 - 2019년 : 3,264,940 원	6,553,610 원

나. 매출 및 수출 증빙 자료 (성과 기간('17.8.1~'19.12.31))

1. 사업화실적 확인서, 2. 매출 증빙자료, 3. 수출신고필증



다. 사업화 계획

항 목	세부 항목	성 과				
사업화 계획	사업화 소요기간(년)	과제 종결 후, 5년간				
	과제 종결 후, 연차	(2020) 1년	(2021) 2년	(2022) 3년	(2023) 4년	(2024) 5년
	(단위: 억원)	5	8.3	14	22	25

4. 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책(후속연구의 필요성 등) 차후대책

미달성 성과지표	차후 대책(후속연구의 필요성)
SCI 논문	과제 종결 후, 후속조치 기간동안 데이터 보완 및 추가시험을 통한 학술성과 목표 달성 예정임

제4장 연구결과의 활용 계획 등

제1절. 연구개발 결과의 활용방안

- 국내시장 활용계획: 한우 번식우, 육우 농가와 젖소의 유우 및 국가주도의 씨수소후보, 중모우 프로젝트 등에 활용함
- 기대효과: 한우 및 낙농산업의 송아지 및 성우 암·수의 원만한 수급조절이 가능해 선택적이고 계획적인 축산 경영시스템의 구축으로 축산농가의 소득증대와 가축개량사업의 시간 단축 가능함
- 국외시장 활용계획: 해외 현지 최적화된 사업화농장(낙농대규모단지)에 활용함
- 기대효과: 축산의 해외 틈새시장 진출을 통한 일자리 창출, 수출증대 및 수입대체 효과가 기대됨

제2절. 기대 성과 및 파급 효과

○ 기술적 측면

1. 성 결정 키트(Sexing kit)의 효율성(수태율, 색싱율)향상
2. 암·수 맞춤형 Sexing Kit 제품의 상용화
3. 국내 현장 농가 실증시험 데이터 확보 및 유통 체계 구축으로 상용화 기반 구축
4. 국내 지역 거점 축산조합 및 소 인공수정사와의 네트워크 팀 모델 확립

○ 경제적·산업적 측면

1. 생산비 절감효과(국내시장) 및 생산성 향상에 기여
 - 한우산업의 경우, 번식간격을 15.6개월에서 13개월 줄이고, 소 인공수정 회수를 1.8회에서 1.4회 단축시킴으로 사육비가 연간 3,000억원, 소 인공수정료 200억원의 비용을 절감 효과 기대됨
2. 낙농산업의 경우, 착유우 1두가 1개월간 공백상태일때, 한 달간 약 900,000원 경제적인 손실 발생(착유우 두당 월평균 유량 약 87L x 평균원유수취가격 1,100원/L = 900,000원) 효과 기대됨
3. 수출증대 및 수입대체의 효과 발생
 - 해외시장의 가임암소 규모는 약 6,700만두 [매출금액=(가임암소의 두수) x 성 결정키트 1개(단가: 50,000 원)]의 수출이 기대됨
4. 축산 틈새시장 진출 전략: 제품의 저비용 고효율성
5. 지속적이며 안정적인 맞춤형 송아지 생산 키트의 매출 확대로 축산산업에 있어 중요한 역할이 기대됨

붙임. 참고문헌

1. method and apparatus to reduce the number of sperm used in artificial insemination of cattle, 미국 특허청, 2013
2. fiber and probiotics for reducing intestinal symptoms related to stress, 미국특허청, 2013
3. Reproductive Performance of Holstein Dairy Cows Grazing in Dry-summer Subtropical Climate conditions: Effect of Heat Stress and Heat Shock on Meiotic competence and In vitro Fertilization, AJAS, 2015
4. Genomic selection for tolerance to heat stress in Australian dairy cattle, JDS, 2016
5. FAO, 가축동향, 2013, 2014

<별첨작성 양식>

[별첨 1]

연구개발보고서 초록

과 제 명		(국문) 맞춤형 송아지 생산을 위한 기반기술 개발 및 상용화 (영문) Research on basic technology and commercialization for customized calf production			
주관연구기관	(주)티엔티리써치	주 관 연 구	(소속) (주)티엔티리써치		
참 여 기 업	바이오키스	책 임 자	(성명) 김 현		
총연구개발비 (934,000 천원)	계	934,000	총 연구 기간	2017.08.30~2019.12.31(2년 4월)	
	정부출연 연구개발비	700,000	총 참 여 연 구 원 수	총 인원	14
	기업부담금	234,000		내부인원	14
	연구기관부담금			외부인원	
○ 연구개발 목표 및 성과					
구분	내용				
최종목표	맞춤형 송아지 생산을 위한 기반기술 개발 및 성 결정 키트 제품의 상용화				
연구개발 세부목표	<ul style="list-style-type: none"> ○ 성 결정 키트 시제품의 효율성, 안정성 확인 ○ 성 결정 인자에 대한 분자생물학적 분석 ○ 성 결정 키트제품의 실증시험 후, 시제품의 프로토콜 제작 ○ 성 결정 키트제품의 유통 시스템 기반조성(국내 상용화를 위한 기반확립) 				
연구개발성과	<ul style="list-style-type: none"> ○ 성 결정 키트 시제품의 효율성과 안정성 확인 후, 제품화 ○ 현장 실증시험 결과를 토대로 맞춤형 성 결정 키트제품의 프로토콜 완성 ○ 성 결정 키트제품의 국내 상용화 초기진입단계 				
○ 연구내용 및 결과					
	개발 내용	사업화 내용			
1차년도	성 결정 키트 시제품의 프로토콜 제작 실증시험 농가 선정(사전조사, 운영안 및 선정 기준 마련) 국내외 상용화 준비 시제품의 효율화, 안정화, 표준화를 위한 테스트베드 구축	암/수 맞춤형 성 결정 키트 시제품의 프로토콜 초안 제작 현장 농가방문 및 실태 조사를 통한 시범농장 선정기준 검증 및 운영안 확립 국내외 홍보 및 마케팅 준비작업(브로셔, 배너 등) 시제품 처리 후, 한우 및 젖소 정액의 성상 검사 등			
2차년도	현장 실증시험 실시 성 결정 키트 제품의 국내 상용화 진입 준비 성 결정 키트 제품의 국외 상용화 진출 준비 시제품의 효율성, 안정성, 표준화를 위한 기초시험	현장 실증시험 운영 및 결과 모니터링 축산조합, 각지자체 및 축산연구기관과의 네트워크구축작업 수출대상국 축산기관 및 대규모 농가단체와의 인적 네트워크 테스트베드 구축 후, 유전자/분자세포 수준의 <i>in vitro</i> test			
3차년도	실증시험 운영 및 성 결정 키트제품 이용을 통한 F1 송아지 생산 착수 맞춤형 성 결정 키트제품의 매뉴얼 작성 성 결정 키트 제품의 국내 상용화 확대 맞춤형 성 결정 키트제품의 우수성 및 수출확대 전략 수립 성 결정 키트제품의 양산화 시스템 개발 성 결정키트 처리 시간에 따른 소 정자 Microarray 분석	F1 송아지 생산 및 암/수 성결정키트 매뉴얼 완성 국내 축산전문기관, 축산조합 및 수정사협회 등과의 인적/물 적 네트워크 구축 말레이시아(양카사 조직), 파키스탄(네슬레 본사), 필리핀 (PCC) 및 인도네시아(서자바주 농진청) 방문 및 인적 네트워 크 구축 액상화, 대량생산 시스템구축 준비, CMO기업발굴 Microarray 분석 통한 up/down 유전자군 분리 등			
○ 연구성과 활용실적 및 계획					
연구성과	<ul style="list-style-type: none"> ○ 특허출원 2건, 수출계약 90,978.00 미달러, 제품화 2건 창출 ○ 학술발표 2건, 교육지도 4건, 인력양성 1건 ○ 현장 맞춤형 성 결정키트 매뉴얼 2종(암송아지 생산용 1종/수송아지 생산용 1종) 				
활용계획 및 기대효과	<ul style="list-style-type: none"> ○ 국내 축산농가의 생산비 절감 효과 및 생산성 향상에 기여 가능함 ○ 지속적이며 안정적, 계획적인 한국형 축산시스템의 새로운 모델로 자리 매김 가능성 ○ 국내외 축산 틈새시장 진출 가능성 대두(제품의 저비용, 고효율성) ○ 수출증대 및 수입대체의 효과 발생 				

[별첨 2]

자체평가의견서

1. 과제현황

		과제번호	817038-3		
사업구분	사업화지원사업				
연구분야	축산			과제구분	단위
사업명	사업화지원사업				주관
총괄과제	맞춤형 송아지 생산을 위한 기반기술 개발 및 상용화			총괄책임자	김 현
과제명	맞춤형 송아지 생산을 위한 기반기술 개발 및 상용화			과제유형	(기초,응용, 개발)
연구기관	(주)티엔티리써치			연구책임자	김 현
연구기간 연구비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차연도	2017.8.30.~12.31	120,000	40,000	160,000
	2차연도	2018.1.1.~12.31.	290,000	97,000	387,000
	3차연도	2019.1.1.~12.31.	290,000	97,000	387,000
	계		700,000	234,000	934,000
참여기업	바이오키스				
상대국		상대국연구기관			

※ 총 연구기간이 5차연도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망

2. 평가일 : 2019년 12월 31일

3. 평가자(연구책임자) :

소속	직위	성명
(주)티엔티리써치	연구위원	김 현

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	
-----------	--

1. 연구개발실적

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

1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : (√ 아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

우수성/창의성	<ul style="list-style-type: none"> ○ 맞춤형 성결정 기술을 통한 생산성 향상 유도(색상을: 암컷 송아지 생산용: 50%에서 70% 향상, 수컷 송아지 생산용: 50%에서 80% 향상) ○ 국내 축산농가의 생산비 절감 효과 및 계획축산을 통한 생산성 향상에 기여 가능함 ○ 한국산 축산유전자원(정액, 수정란)과의 접목을 통한 수출대상국의 생산성 향상 효과
---------	--

2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : (√ 아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

파급효과	<ul style="list-style-type: none"> ○ 축종에 따른 계획적이고 현실적인 국내 축산농가의 경영시스템의 대 전환의 가능성 ○ 축산농가의 집약적, 계획적, 생산 중심의 효과적인 새로운 개념의 축산경영 시스템 ○ 말레이시아를 거점으로 인근의 축산개발도상국가로의 맞춤형 성 결정키트 제품의 수출확산 가능성
------	---

3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : (√ 아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

활용가능성	<ul style="list-style-type: none"> ○ 암·수 맞춤형 성 결정키트제품의 상용화를 통한 수태율 및 색상의 효율성 향상 ○ 국내 현장농가의 실증시험 데이터 확보 및 유통체계 구축으로 국내 상용화 기반구축 ○ 국내 실증시험 결과의 해석, 분석 등을 통한 맞춤형 성 결정 키트제품의 수출대상국 진입의 기초자료로 활용
-------	--

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : (√ 아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

수행노력의 성실도	<ul style="list-style-type: none"> ○ 현장 실증시험 시, 객관성, 엄격성, 투명성 확보를 위해서 국가축산전문기관, 지역 축산조합소속, 대학교 연구소 인력과의 전문가회의 및 커뮤니티 구축을 통한 사업의 진행 ○ 구제역, 돼지열병 등과 같은 위험한 축산질병 발생 등에도 축산전문기관, 지역 축산조합 및 현지 농장주와의 지속적이고 끈기 있는 스킨십을 통해 성공적인 농가실증 사업완수 ○ 축산인프라가 열악한 축산개발도상국가 대상으로 한국전문가 집단과의 팀의 형태로 적극적인 현지 축산기관, 조합, 대규모 농가 단지 방문을 통한 성 결정키트제품의 수출활로 개척
-----------	---

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : (√ 아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

연구개발성과	<ul style="list-style-type: none"> ○ 현지 시험기간 중의 번식효율성과 관련된 결과물을 토대로 내서성 연구의 기초자료 확보가 가능함 ○ 지속적인 안정적인 국내 축산산업을 위한 새로운 시스템으로 자리매김의 가능성 제시 ○ 계획적인 축산경영 프로그램을 통한 암·수 수급조절을 통한 한국축산의 안정성 확보의 가능성 제시
--------	---

II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중(%)	달성도(%)	자체평가
성 결정 키트 제품의 현장 실증시험 시행	50	50	국내 축산인프라를 활용해 현장 실증시험
성 결정 키트 제품의 국내 유통 시스템 기반조성	20	20	각 지역 축산조합, 축산연구소 및 소 인공 수정사 협회와의 인적/물적 네트워크 구축해 국내 유통시스템 기반조성을 달성함
성 결정 키트 제품의 국외 유통 시스템 기반조성	20	20	현지 맞춤형 성 결정키트 수출을 위한 현지 축산조합 및 국가유관기관의 유기적인 네트워크 시스템 확립함
성 결정 키트 시제품의 표준화 검토	10	10	성결정 키트의 효율성, 안정성 등의 암/수 생산용 키트제품의 표준화 확립함
합계	100점	100점	

III. 종합의견

1. 연구개발결과에 대한 종합의견

기술적 측면	<ul style="list-style-type: none"> ○ 국내 축산농가 실증시험 데이터 확보 및 유통체계 구축으로 Sexing kit 상용화 기반 확립 ○ 축산인프라가 열악한 축산개발도상국가 대상으로 한국전문가 집단과의 팀의 형태로 적극적인 현지 축산기관, 조합, 대규모 농가 단지 방문을 통한 성 결정 키트제품의 수출활로 개척
경제적 측면	<ul style="list-style-type: none"> ○ 국내 축산업에 있어 생산비 절감(조사료 수입절감) 및 생산성 향상에 기여 가능성 ○ 번식 생산성 향상 등으로 한우산업 및 낙농산업의 생산투자 비용 절감효과
산업적 측면	<ul style="list-style-type: none"> ○ 축산 틈새시장 진출전략(제품의 저비용 고효율성), 안정적인 계획 축산경영의 새로운 대안 제시 ○ 지속적이고 안정적인 맞춤형 성 결정키트 수출확대로 축산이 수출산업으로 자리매김

2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

<p>- 본 연구과제는 일반 공산품의 생산, 유통, 소비라는 시스템과는 다른 살아있는 생물체로부터 생산물, 부산물 등을 유통, 소비 및 재생이라는 과정을 통해 이익을 창출하는 축산 사업에 필요한 아이টে임을 판매하는 사업이다. 특히, 대동물인 소는 1회 산자 생산 및 회복기간이 약 12개월로 다른 일반 품목 및 공산품에 비해 로테이션 기간이 길고, 번식생리, 질병(구제역) 등으로 최종 생산물의 생산이 불안정하다. 본 사업의 가장 중요한 핵심 키워드 중 하나인 현장 실증시험의 경우, 2017년 2018년 각각 구제역 발병 및 돼지열병이라는 악성 가축질병 등으로 인해 현장의 농장 출입에 제한조치(STANSTILL) 등으로 당초 세운 목표대로 자유롭게 시험사업 농장에 출입해 소 영양상태 확인부터 성 결정 키트를 활용한 인공수정 등의 시험사업을 수행하는데 물리적인 시간 및 공간적인 제약등으로 다소 궤도 수정도 불가피한 점도 고려되어진다. 실증샘플의 부족 분 및 2019년 임신상태로 과제 종료 전, 암·수 송아지 산자 확인 등은 과제 종결 후, 후속 연구기간 동안 업그레이드가 가능할 것으로 예상되어진다.</p> <p>- 맞춤형 암·수 송아지 생산용의 성 결정키트 제품을 국내 및 국외에 상용화 하기 위해 실증시험을 통한 정확하고 안정적인 사용 프로토콜 제작과 유통시스템의 구축 등을 목표로 2년 4개월간 진행되었다. 기존의 암·수 성 분리 키트 및 제품 등을 사용 경험한 농가 및 지역 축산조합 등은 성 결정이라는 아이টে임에 대한 불신이 팽배한 상황이다. 이러한 환경 속에서 최종적으로는 높은 암·수 성분리 비율이 중요하지만, 일선의 축산현장에서는 안정적인 수태율을 요구하는 상황이다. 전국 각 지역 거점의 시험농장대상 소 인공수정사들의 역량과 경험치의 차이, 사양관리 시스템의 차이 등을 고려할 때 직·간접적으로 성 결정키트 제품과 수태율 및 섹싱율과의 상관관계 등을 본 연구사업의 데이터를 가지고 축산생산성과 관련있는 인자들을 가지고 보다 입체적으로 분석 및 해석 할 필요성도 사료되어진다. 이는 후속 연구기간에 확보 진행이 가능할 것으로 예상된다.</p> <p>- 본 연구 기간동안 동남아(말레이시아)에서 수출수요가 발생했는데 이는 현지 반응을 판단해 보았을 때, 한국산 젖소 정책과 패키지 형태로 융합한 새로운 비즈니스 아이টে임 및 모델로서의 가능성을 시사한다. 성 결정키트의 공급을 필요로 하는 축산개발도상국가들 보다 폭넓은 수요처 확보는 국가프로젝트, 민간 프로젝트 및 농어촌 공사의 ODA사업등의 일환으로 시행하는 시범사업과 더불어 컨소시엄 형태속에서 지속적이고 안정적인 수출공급이 이루어 질 가능성도 시사되어진다.</p>
--

3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

활용가능성	<ul style="list-style-type: none">○ 한국 축산농가의 실정에 맞는 농가맞춤형 성 결정 키트의 활용으로 농가수입 향상○ 축산농가 맞춤형의 성 결정키트 기술의 기반구축으로 암·수 수급조절이 가능한 지속적이고 안정적인 한국축산의 새로운 모델로 자리매김○ 수출된 성 결정키트를 활용한 수출대상국의 단기간 가축개량 및 축산 생산력의 증대 등을 통한 미래 수출의 전략적 동력의 가능성
-------	---

IV. 보안성 검토

○ 본 연구 보고서에는 주관기업과 협력 기업의 영업비밀이 포함되어 있어 보안성이 필요하다고 판단됨

※ 보안성이 필요하다고 판단되는 경우 작성함.

1. 연구책임자의 의견

기술의 핵심적인 내용은 기재 되고 있지 않지만, 신사업 아이템으로서의 가치가 있으므로 사내 대외비로 지정되어 관리됨

2. 연구기관 자체의 검토결과

상동

[별첨 3]

연구성과 활용계획서

1. 연구과제 개요

사업추진형태	<input checked="" type="checkbox"/> 자유응모과제 <input type="checkbox"/> 지정공모과제		분 야	축산
연구과제명	맞춤형 송아지 생산을 위한 기반기술 개발 및 상용화			
주관연구기관	(주)티엔티리써치		주관연구책임자	김 현
연구개발비	정부출연 연구개발비	기업부담금	연구기관부담금	총연구개발비
	700,000(천원)	234,000(천원)		934,000(천원)
연구개발기간	2017.8.30. ~ 2019.12.31. (28개월)			
주요활용유형	<input type="checkbox"/> 산업체이전 <input type="checkbox"/> 교육 및 지도 <input type="checkbox"/> 정책자료 <input checked="" type="checkbox"/> 기타(사업화 계획수립) <input type="checkbox"/> 미활용 (사유:)			

2. 연구목표 대비 결과

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
① 성 결정키트 시제품의 효율성 및 안정성 검토를 통한 표준화	100 (%)
② 실증농가 시험을 통한 맞춤형 성 결정키트의 프로토콜 확립	100 (%)
③ 성 결정키트 제품의 국내.외 유통시스템 기반조성 및 상용화	100 (%)
④ 젖소 유전자원 이력추적 및 능력검정 체계 구축을 위한 기반조성	100 (%)

* 결과에 대한 의견 첨부 가능

3. 연구목표 대비 성과

성과 목표	사업화지표										연구기반지표								
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학술성과			교육 지도	인력 양성	정책 활용홍보		기타 (타 연구 활용)
												논문	학술 발표	정책 활용			홍보 전시		
	특허 출원	특허 등록	품종 등록	건 수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용 창출	투자 유치	SC I	비 SC I	논문 평균 IF	정 책 활 용	홍 보 전 시				

																				등)
단위	건	건	건	건	백만 원	건	억 원	억 원	명	백만 원	건	건	건		건		명	건	건	
가중치	10					10	55	10	10			1	1		1	1	1		5	
최종목표	1					2	75	10	2			1	1		2	10	1		2	
연간내 달성실적	2					2	1.07	0.06	2			-	1		1	10	-		2	
달성율(%)	200					100	107		100			0	100		50	100	0		100	

4. 핵심기술

구분	핵심기술명
①	맞춤형 성 결정 키트제품(암송아지 및 숫송아지 생산용의 제품 구성: 제품의 표준화)
②	국내 성 결정키트 제품의 국내 맞춤형 유통 시스템 기반 조성 기술
③	국외 성 결정키트 제품의 수출대상국가 니즈에 맞는 유통 시스템 기반 조성 기술
④	실증시험을 통한 암/수 맞춤형 성 결정키트의 사용 프로토콜

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		✓						✓		
④의 기술		✓						✓		

* 각 해당란에 v 표시

6. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
①의 기술	국내 축산농가의 경영형태에 맞는 맞춤형 암.수 성 결정키트 제품의 활용을 통한 축산 생산성 증가를 통한 농가 소득증대 기여
②의 기술	국내 실증시험 결과를 토대로 각 지역의 축산조합, 축산기관 등과의 유기적인 네트워크를 구축해 축산농가의 소득증대를 수반한 국내 축산내수 시장의 활성화에 기여
③의 기술	현지사정에 적합한 각종 매뉴얼의 제작과 공급 및 훈련으로 해당국 낙농가의 소득증대에 기여하고 궁극적으로 한국산 성 결정키트 제품의 수출액 증가가 가능함
④의 기술	국내 실증시험의 검증을 통한 성 결정키트제품의 결과의 안정화 및 지속적인 소득증가의 결과를 중심으로 새로운 형태의 축산모델을 제시함

7. 연구종료 후 성과창출 계획

성과목표	사업화지표										연구기반지표								
	지식 재산권			기술실시 (이전)		사업화					기술인증	학술성과			교육지도	인력양성	정책 활용·홍보		기타 (타연구활용등)
	특허출원	특허등록	품종등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용창출	투자유치		논문		학술발표			정책활용	홍보전시	
											SCI	비SCI	논문평균IF						
단위	건	건	건	건	백만원	건	억원	억원	명	백만원	건	건	건	건	명				
가중치	10					10	55	10	10		1	1	1	1	1			5	
최종목표	1					2	75	10	2		1	1	2	10	1			2	
연구기간내 달성실적	1					2	1.07	0.06	2			1	1	10	1			2	
연구종료 후 성과창출 계획							74.3	9.7			1		1		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		실용화예상시기 ³⁾	
기술이전시 선행조건 ⁴⁾			

1) 핵심기술이 2개 이상일 경우에는 각 핵심기술별로 위의 표를 별도로 작성

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

주 의

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