

121005-01

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

발간등록번호

11-1543000-004160-01

범용성
항바이러스
스
펩타이드
TSG27D
의 약효
증진 및
평가

범용성 항바이러스 펩타이드 TSG27D의 약효 증진 및 평가

2022.09.02.

2021

주관연구기관 / 대한뉴팜(주)
협동연구기관 / 농림축산검역본부

농림식품기술기획평가원
농림축산식품부

농림축산식품부
(전문기관)농림식품기술기획평가원

제출문

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “범용성 항바이러스 펩타이드 TSG27D의 약효 증진 및 평가”(개발
기간 : 2021. 04. ~ 2022. 03.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2022. 09. 02.

주관연구기관명 : 이 완 진
협동연구기관명 : 박 봉 균



주관연구책임자 : 권영도
협동연구책임자 : 양동균

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

< 요약 문 >

※ 요약문은 5쪽 이내로 작성합니다.

사업명		가축질병대응기술개발사업		총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성)			
내역사업명 (해당 시 작성)				연구개발과제번호		121005-1	
기술분류	국가과학기술 표준분류	LA0601	50%	LB0701	30%	LA0804	20%
	농림식품 과학기술분류	RB0201	50%	RB0203	30%	RB0103	20%
총괄연구개발명 (해당 시 작성)							
연구개발과제명		범용성 항바이러스 펩타이드 TSG27D의 반감기 및 효력 증진					
전체 연구개발기간		2021. 04. 01. - 2022. 03. 31.(12개월)					
총 연구개발비		총 340,000 천원 (정부지원연구개발비: 260,000 천원, 기관부담연구개발비 : 80,000 천원, 지방자치단체: 천원, 그 외 지원금: 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		지질막을 파괴하는 항바이러스 펩타이드인 AH 펩타이드에 지방산을 접합시킨 후 생쥐에서 펩타이드의 반감기가 증가하는지를 조사함 소 코로나, 소 바이러스성 설사병, 돼지생식기호흡기증후군, 돼지유행성설사병, 돼지열병 바이러스 등 5종의 바이러스에 대하여 in vitro 세포배양 수준에서 AH 펩타이드의 항바이러스 효력 및 세포독성을 비교함 일본뇌염 및 광견병바이러스 생쥐질환모델에서 AH 펩타이드의 항바이러스 효력을 조사함				
	전체 내용		1. 지방산 접합을 통한 반감기 증진 지방산의 카르복실기와 펩타이드의 아미노기 사이에 축합반응을 통해 지방산을 AH 펩타이드에 접합시킴. 이때 접합시키는 지방산의 탄소 수를 8 ~ 16 범위로 다양하게 하였음. AH 펩타이드인 3a-3/20과 탄소 16개 지방산을 접합시킨 펩타이드인 3a-3/20-C16 각각을 생쥐 꼬리정맥을 통해 주입한 후 시간에 따라 혈액을 채취하였음. 추출한 시료로부터 LC-MS/MS를 통해 펩타이드의 양을 측정함. 그 결과 3a-3/20의 반감기는 1.87 ~ 3.02 시간이었지만 3a-3/20-C16의 반감기는 11.6 ~ 17.0 시간으로 연장되었음 2. 5종의 바이러스에 대한 in vitro 세포배양 수준에서 항바이러스 활성 측정 돼지 유행성설사병 바이러스는 Vero 세포를, 돼지 생식기호흡기증후군 바이러스는 M145 세포를, 돼지 열병 바이러스는 PK15 세포를, 소 바이러스성 설사병 바이러스는 MDBK 세포를, 소 코로나 바이러스는 HRT-18 세포를 이용함. 각 세포를 96-well plate에 seeding한 후 AH 펩타이드를 특정 양의 바이러스와 섞은 후 37℃에서 1시간 배양함, 바이러스-펩타이드 혼합물을 각 세포 배양액에 첨가하고 37℃에서 1시간동안 감염시킴. 배양액을 세척한 후 5일간 배양한 후 플레이트를 고정하고 염색을 통해 플라크 수를 측정함. PRRSV의 경우 1b-4/21-C16 0.5 uM에서 바이러스 증식이 완전히 억제되었음. PEDV의 경우 1 uM에서 50배 이상 증식이 감소함. BVDV의 경우 0.5 uM에서 5배 이상 감소함. BCoV와 CSFV에서는 AH 펩타이드의 억제능을 확인하지 못함 3. 생쥐질환모델에서 항바이러스 활성 측정 생쥐의 근육에 병원성 JEV 균주 (Nakayama strain)의 0.3 ml (50 LD ₅₀ /0.3ml)을 접종함. 1일 후에 AH 펩타이드를 용량 별로 투여하고 생존과 체중 변화를 관찰함. 펩타이드 주입군에서 체중 감소가 회복되었고 5 mg/kg 용량에서 생존을 33%로 나타남.				
	1단계 (해당 시 작성)	목표					
	내용						

	n단계 (해당 시 작성)	목표	
		내용	

연구개발성과 항바이러스 펩타이드 AH 펩타이드의 길이 변경 및 지방산 접합을 통하여 항바이러스 활성을 증가시켰으며 생쥐에서의 반감기를 증가시킴

연구개발성과 활용계획 및 기대 효과

전염병 발생 초기에 긴급하게 사용할 수 있는 치료제로 비축
 AH 펩타이드는 피막을 가진 다양한 바이러스에 대해서 항바이러스 활성을 가지므로 특정 전염병이 발생하는 상황에 대비하여 AH 펩타이드를 비축할 수 있음. 비축된 AH 펩타이드를 바이러스에 감염된 개체에 사용하여 치료한다면 추가적인 전염을 막을 수 있으므로 전염병을 초기에 제어하는 것이 가능해짐.

전염병에 대한 예방제로 사용
 AH 펩타이드를 호흡기 주변에 분무 형태로 뿌린다면 대부분의 바이러스가 호흡기를 통해 전염이 되므로 바이러스에 의한 감염을 차단할 수 있을 것임. 전염병이 발생하였을 때 아직 감염되지 않는 개체에 대해서 AH 펩타이드를 사용한다면 바이러스의 전파를 막아 전염병을 조기에 종식시킬 수 있을 것임.

경제·산업적 측면
 치료제로 개발 성공하면 이에 따른 매출이 발생할 뿐만 아니라 생산 및 판매에 관련된 새로운 일자리가 창출됨. 해외로의 수출 및 기술수출을 통한 매출도 발생할 것으로 기대됨.

사회적 측면
 가축 바이러스성 질병에 의해 많은 농가가 막대한 피해를 보고 있으며, 정부의 피해보상으로 인해 국가재정의 지출이 발생하게 됨. 또한 가축 전염병이 발생하는 시기에는 가축의 이동 또한 제한되므로 여러 사회적인 피해가 발생하게 됨. 즉각적으로 대응할 수 있는 치료제가 개발된다면 이러한 사회적인 손실을 피할 수 있게 됨

연구개발성과의 비공개여부 및 사유

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	구입 기관	연구시설·장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	ZEUS 등록번호

국문핵심어 (5개 이내)	항바이러스 펩타이드	지질막 파열	지방산 접합	치료제	바이러스성 질환
영문핵심어 (5개 이내)	antiviral peptide	lipid membrane lysis	fatty acid conjugation	therapeutics	viral diseases

210mm×297mm[(백상지(80g/m²) 또는 중질지(80g/m²)]

< 목 차 >

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

별첨 자료 (참고 문헌 등)

1. 연구개발과제의 개요

당 과제에서 개발하려는 가축 바이러스질환 치료제 및 예방제는 C형 간염 바이러스의 NS5A 단백질로부터 유래한 amphipathic helix 펩타이드 (AH 펩타이드)로서 다양한 바이러스의 증식을 억제할 수 있는 물질임. 이 AH 펩타이드는 지질막을 파괴하는 작용을 하기 때문에 피막 (envelope)을 가지는 여러 바이러스에 대해 항바이러스 활성을 가지며, 이 AH 펩타이드에 의해 바이러스의 지질막이 파괴되면 바이러스는 숙주세포에 감염을 하지 못하게 됨. 즉, Covid-19와 같은 피막형 바이러스에 의한 전염병이 발생할 때 원인 바이러스에 대해 새로운 치료제를 개발할 필요가 없고, 이미 생산해놓은 AH 펩타이드를 바로 투여함으로써 즉각적으로 대응할 수 있다는 장점이 있음. 당 과제에서는 지방산 접합을 통해 지질막 파괴 AH 펩타이드의 항바이러스 효력과 반감기를 증진하고자 함

2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행 내용

1) 항바이러스 활성 평가 시스템 확립

○ Plaque assay 확립

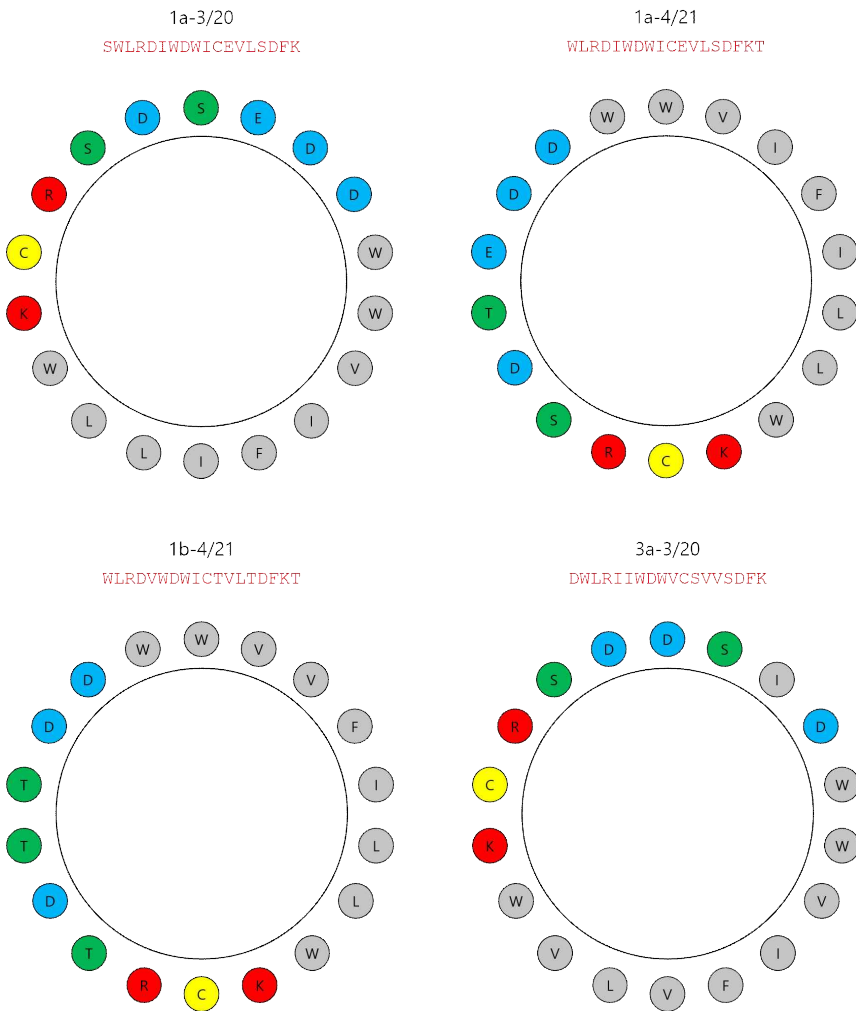
바이러스 입자수는 Plaque assay 방법을 이용하여 측정되었다. 바이러스 접종 전 6 well plate에 well 당 1×10^6 의 Vero 세포주를 파종한 후 1일 배양하여 준비하였다. 펩타이드를 농도 별로 희석하여 100PFU/well의 덩기 바이러스와 섞어준 뒤, 37° C에서 1시간 동안 반응시킨 후 Vero 세포주에 접종하였다. 1시간 후, 바이러스 접종액을 모두 제거하고 플라크 형성시험에 사용되는 영양배지 DMEM/F12와 한천(agar)을 배합하여 세포위에 도말(overlay) 하여 6~7일 동안 37° C에서 배양하였다. 배양 후, 4% formaldehyde를 1시간 세포에 처리하여 고정화하고 각 well을 0.3% crystal violet 용액으로 염색하였다. 1시간 염색 후, 0.3% crystal violet를 제거하고 관찰되는 플라크 개수를 plaque forming unit (PFU)으로 정량하여 펩타이드가 처리되지 않은 대조군과 비교·분석하여 펩타이드의 항바이러스 효능을 평가하였다.

○ RT-qPCR 분석법 확립

바이러스의 RNA 유전자를 RT-qPCR을 이용하여 측정하였다. 바이러스 접종 전 96 well plate에 well 당 1.5×10^4 의 Vero 세포주를 파종한 후 1일 동안 배양하여 준비하였다. 펩타이드를 농도 별로 희석하여 500PFU/well의 덩기 바이러스와 섞어준 뒤, 37° C에서 1시간 동안 반응시킨 후 Vero 세포주에 접종하였다. 1시간 후, 바이러스 접종액을 모두 제거하고 10% FBS가 포함 된 MEM 배지를 처리해준 후 37° C에서 2일 동안 배양하였다. 배양 후 상층액의 viral RNA를 QIAamp Viral RNA Kits를 이용하여 추출하였다. 추출한 viral RNA의 5 μ l를 one step RT-qPCR 반응 키트를 사용하여 RT-qPCR을 수행하였다. PCR은 Forward Primer; 5'-GAAAGACCAGAGATCCTGCTGTCT-3', Reverse Primer; 5'- ACCATTCCATTTTCTGGCGTT-3', Probe; 5'-FAM-AGCATCATTCCAGGCAC-3BHQ1 -3'을 사용하여 42°C, 30분; 95°C, 5분 최초 변성 반응; 95°C 30초, 60°C 1분 45회 반복으로 설정하여 진행하였다. RT-qPCR 수행 후, 펩타이드가 처리되지 않은 대조군을 이용하여 표준곡선을 그리고 시험군 각각의 Ct 값을 비교 분석하여 Inhibition%를 계산하여 통계 분석을 수행하였다.

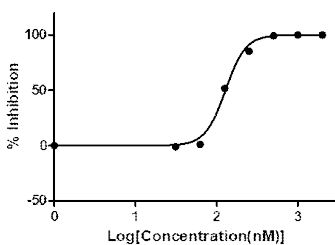
2) AH 펩타이드의 길이와 서열 변형을 통한 약효가 증진된 펩타이드의 발굴

HCV에는 1a, 1b, 2a, 3a, 4a, 5a, 6a 등의 다양한 유전자형이 존재함. AH 펩타이드는 NS5A 단백질의 N-말단에 존재하는 부위로서 amphipathic한 알파나선 구조를 이루는 특성을 지님. 스탠포드대학교에서 최초로 발굴한 원형은 1번 아미노산부터 27번 아미노산까지 27개의 아미노산을 가지는 펩타이드임. Alpha-helix 구조를 가지는 펩타이드의 wheel projection에 따르면 18개 아미노산이면 아미노산의 결사슬이 360°를 채우게 되므로 다양한 유전자형에서 유래하였으며 amphipathic한 특성을 지니는 18개 아미노산을 가지는 펩타이드를 합성하여 약효평가를 하였음



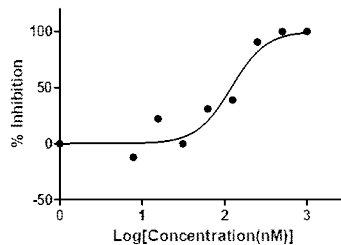
1b-1/27

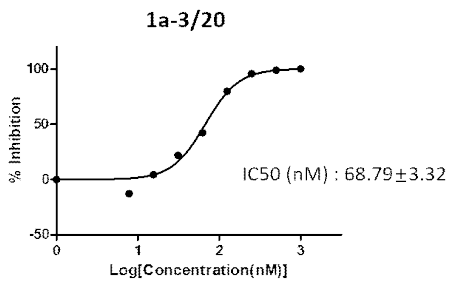
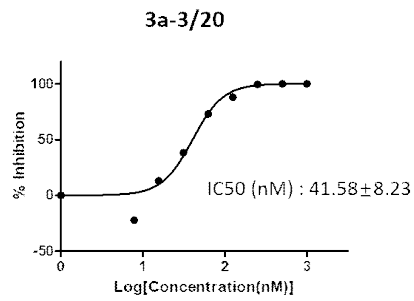
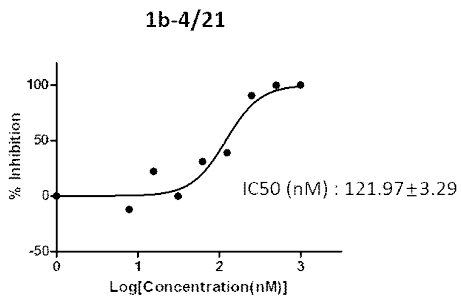
IC50 (nM) : 128.2



1b-4/21

IC50 (nM) : 121.97 ± 3.29





펩타이드 이름	아미노산 서열	IC50 (nM)
1b-1/27	SGSWLRDVWDWICTVLTDFKTWLQSKL	128
1a-3/20	SWLRDIWDWICEVLSDFK	69
1a-4/21	WLRDIWDWICEVLSDFKT	90
1b-4/21	WLRDVWDWICTVLTDFKT	122
3a-3/20	DWLRDIWDWVCSVVSDFK	42

3) 지방산 접합을 통한 약효 증진

지질막 파괴 활성을 높이기 위하여 펩타이드에 탄소 길이 8 ~ 16 사이의 여러 지방산을 접합하였고 항바이러스 활성이 증가함을 확인함

펩타이드 이름	접합한 지방산	지방산의 탄소 수	IC50 (nM)
1b-4/21	없음		122
1b-4/21-C8	octanoic	8	124
1b-4/21-C10	decanoic	10	92
1b-4/21-C12	lauric	12	87
1b-4/21-C14	myristic	14	32
1b-4/21-C16	palmitic	16	34
3a-3/20	없음		42
3a-3/20-C8	octanoic	8	45
3a-3/20-C10	decanoic	10	31
3a-3/20-C12	lauric	12	26
3a-3/20-C14	myristic	14	11
3a-3/20-C16	palmitic	16	11

<펩타이드 명명>

펩타이드 이름 (대한뉴팜)	펩타이드 이름 (검역본부)	적용 동물 바이러스
1b-1/27	TSG27D	Rabies virus
1b-4/21	TSG18D TSG18D0 TSG18D0C	Rabies virus JEV PRRS CSFV PEDV BVDV BCV
1b-4/21-C12	TSG18D12C	JEV
1b-4/21-C16	TSG18D16C	PRRS CSFV PEDV BVDV

4) 광견병 바이러스에 대한 TSG27D 및 TSG18D의 바이러스 억제능

○ 광견병바이러스의 증식 및 함량시험

- TSG의 광견병 바이러스 억제능을 확인하기 위하여 광견병바이러스(ERAGS-GFP)를 Vero 세포에 접종하여 증식하였다. 일반적인 광견병 바이러스는 세포에서 세포변성 효과를 나타내지 않으나, 본 시험에 사용한 바이러스는 역전사기법을 이용하여 제작한 재조합 바이러스로 형광단백질을 발현하고 있다. 따라서 세포에 바이러스를 접종하여 2일 이후에는 형광현미경에서 바이러스 증식을 확인할 수 있다. 이와 같은 방법으로 Vero 세포에서 증식한 바이러스는 10진 희석하고, 형광현미경에서 바이러스 함량을 측정하였다. 광견병 바이러스 함량은 $10^{8.0}$ TCID₅₀/ml로 확인하였다.
- 그림 1에서 보는 것과 같이 광견병 바이러스를 형광현미경에서 확인할 수 있다.

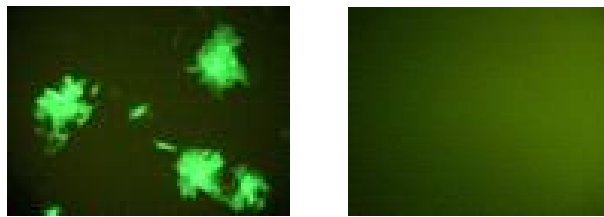


그림 1. 형광현미경에서 광견병바이러스의 확인 및 정상세포

○ 광견병바이러스에 대한 TSG27D 및 TSG18D의 억제능

- 광견병바이러스에 대한 TSG27D 및 TSG18D의 바이러스 억제능을 확인하기 위하여 높은 함량의 광견병바이러스는 10 uM에서 0.312 uM로 희석한 TSG27D 및 TSG18D와 동량 혼합하였다. 중등도 함량의 광견병바이러스는 20 uM에서 2.5 uM로 희석한 TSG27D 및 TSG18D와 동량 혼합하였다. 혼합 용액을 37°C에서 1시간 동안 배양하였고, 이 용액을 각각 10진 희석하여 96 well microplate에 분주한 후 100 ul 당 2×10^4 개에 해당하는 Vero 세포를 micro plate에 추가하고 5일 동안 배양하였다. 바이러스의 증식은 형광현미경에서 확인하고, 함량은 Reed & Muhen법에 따라서 결정하였다. 그림 2와 3에서 보는 것과 같이 높은 함량과 중등도 함량의 광견병 바이러스를 20 uM에서 0.312 uM까지 희석한 TSG27D 및 TSG18D에 혼합에서 광견병 바이러스 증식능을 확인한 결과 유의미한 억제능을 확인할 수 없었다.

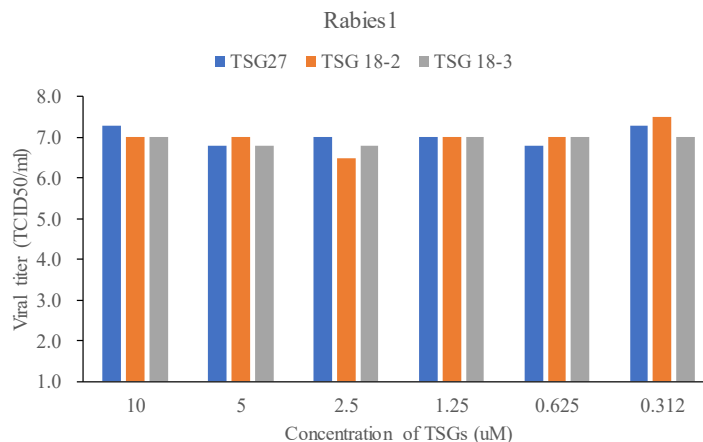


그림 2. 높은 함량의 광견병바이러스를 이용한 TSG27D 및 TSG18D의 억제능 시험

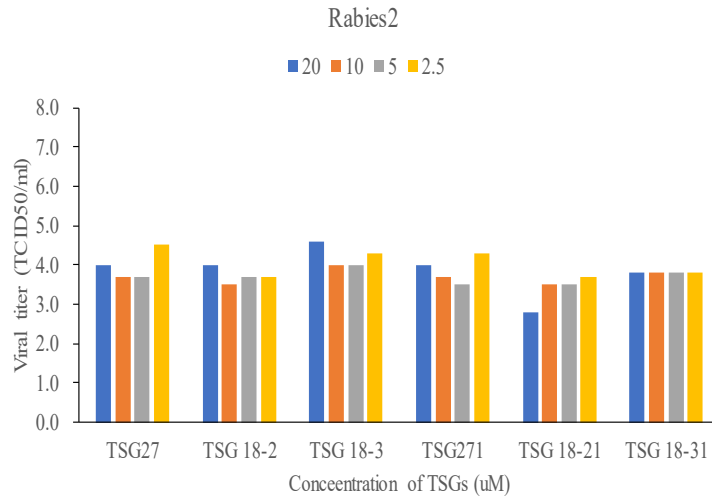


그림 3. 중등도 함량의 광견병바이러스를 이용한 TSGD27 및 TSG18D의 억제능 시험

5) 일본뇌염 바이러스에 대한 TSG18D의 바이러스 억제능

○ 일본뇌염바이러스의 증식 및 함량시험

- TSG18D에 대한 일본뇌염 (JEV) 바이러스의 억제능을 확인하기 위하여 JEV KV1899 주를 Vero 세포에 접종하여 증식하였다. KV1899 주는 1999년 돼지에서 분리한 일본 뇌염 바이러스이다. 이 JEV는 Vero 세포에서 세포변성효과를 나타내기 때문에 Vero 세포에 JEV를 접종하여 5일 이후에는 현미경에서 바이러스 증식을 확인할 수 있다. 이와 같은 방법으로 Vero 세포에서 증식한 바이러스를 10진 희석하고, 100 ul 씩 분주한 후 Vero 세포를 첨가하여 배양한 후에 바이러스 함량을 측정하였다. JEV 함량은 $10^{6.0}$ TCID₅₀/ml로 확인하였다.
- 그림 4에서 보는 것과 같이 JEV의 세포변성효과를 확인할 수 있다.

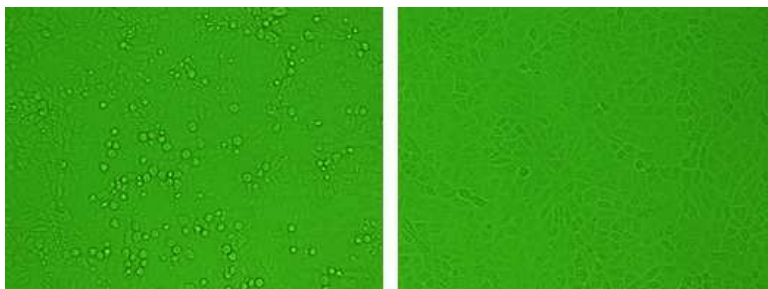


그림 4. Vero 세포에서 JEV의 세포변성 효과 및 정상세포

○ JEV에 대한 TSG18D12C의 억제능

- TSG18D12C에 대한 JEV의 바이러스 억제능을 확인하기 위하여 $10^{4.0}$ TCID₅₀/ml의 JEV는 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.312, 및 0.15 uM로 희석한 TSG18D12C와 동량 혼합하였다. 혼합 용액을 37°C에서 1시간 동안 배양하였고, 이 용액을 각각 10진 희석하여 96 well micro plate에 분주한 후 100 ul 당 2×10^4 개에 해당하는 Vero 세포를 micro plate에 추가하고 5일 동안 배양하였다. 바이러스의 세포변성효과는 현미경에서 확인하고, 함량은 Reed & Muench법에 따라서 결정하였다. 그림 5에서 보는 것과 같이 5 uM에서는 JEV가 100% 증식이 억제되는 것을 확인하였다. IC50은 0.3 uM로 확인되었다.

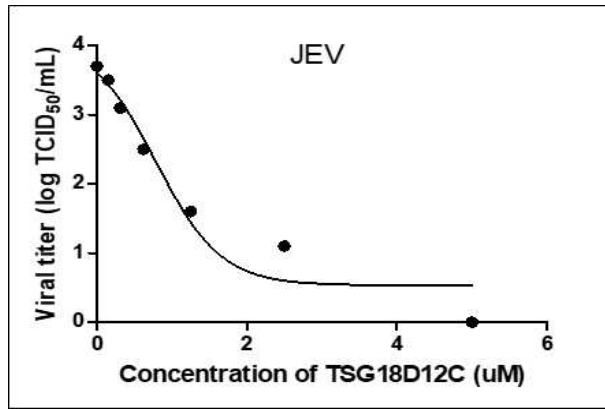


그림 5. TSG18D12C의 JEV에 대한 억제능 시험

6) 돼지 생식기호흡기 증후군 바이러스에 대한 TSG18D의 바이러스 억제능

○ 돼지 생식기 호흡기 증후군 바이러스의 증식 및 함량시험

- TSG18D에 대한 돼지 생식기 호흡기 증후군 바이러스 (PRRSV)의 억제능을 확인하기 위하여 PRRSV LMY주를 Mark 145 세포에 접종하여 증식하였다. LMY주는 국내에서 분리한 대표적인 PRRSV이다. PRRSV는 Mark 145 세포에서 세포변성효과를 나타내기 때문에 Mark 145 세포에 PRRSV를 접종하여 5일 이후에는 현미경에서 바이러스 증식을 확인할 수 있다. 이와 같은 방법으로 Mark 145 세포에서 증식한 바이러스를 10진 희석하고, 100 ul 씩 분주한 후 Mark 145 세포를 첨가하여 배양한 후에 바이러스 함량을 측정하였다. PRRSV 함량은 $10^{6.0}$ TCID₅₀/ml로 확인하였다.
- 그림 6에서 보는 것과 같이 PRRSV의 세포변성효과를 확인할 수 있다.

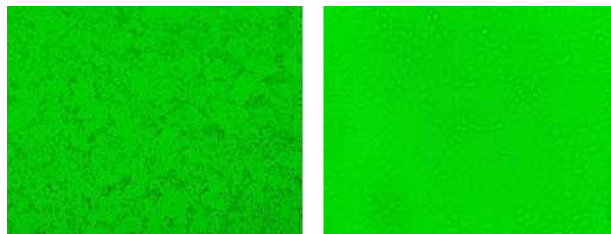


그림 6. Mark 145 세포에서 PRRSV의 세포변성 효과 및 정상세포

○ PRRSV에 대한 TSG18D0 및 TSG18D16C의 억제능

- TSG18D0 및 TSG18D16C에 대한 PRRSV의 바이러스 억제능을 확인하기 위하여 4가지의 농도 즉 $10^{5.0}$, $10^{3.0}$, $10^{2.0}$ 및 $10^{1.5}$ TCID₅₀/ml의 PRRSV는 2 uM, 1 uM 및 0.5 uM로 희석한 TSG18D0 및 TSG18D16C와 동량 혼합하였다. 혼합 용액을 37°C에서 1시간 동안 배양하였고, 이 용액을 각각 10진 희석하여 96 well micro plate에 분주한 후 100 ul 당 2×10^4 개에 해당하는 Mark 145 세포를 micro plate에 추가하고 5일 동안 배양하였다. 바이러스의 세포변성효과는 현미경에서 확인하고, 함량은 Reed & Muench법에 따라서 결정하였다. 그림 7에서 보는 것과 같이 $10^{5.0}$, $10^{3.0}$ TCID₅₀/ml 함량의 PRRSV를 2 uM에서 0.5 uM까지 희석한 TSG18D0 및 TSG18D16C에 혼합 용액에서 PRRSV 증식능을 확인한 결과 유의미한 억제능을 확인할 수 없었다. 그러나 $10^{2.0}$, $10^{1.5}$ TCID₅₀/ml함량의 PRRSV를 2 uM에서 0.5 uM까지 희석한 TSG18D0 및 TSG18D16C에 혼합용액에서 PRRSV 증식능을 확인한 결과 TSG18D16C의 2 uM에서 0.5 uM 농도에서 PRRSV 억제능을 확인할 수 있

었다.

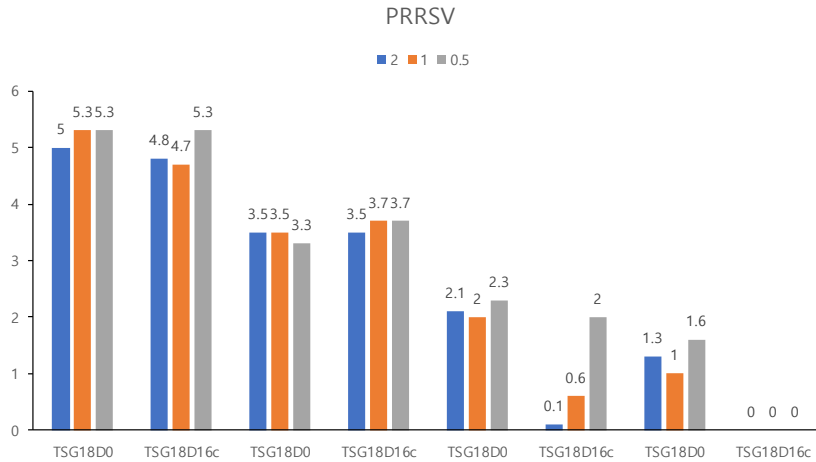


그림 7. TSG18D0 및 TSG18D16C의 PRRSV에 대한 억제능 시험

7) 돼지 열병 바이러스에 대한 TSG18D의 바이러스 억제능

○ 돼지 열병 바이러스의 증식 및 함량시험

- TSG18D에 대한 돼지 열병바이러스 (classic swine fever virus: CSFV)의 억제능을 확인하기 위하여 CSFV LOM주를 cloned porcine kidney (CPK) 세포에 접종하여 증식하였다. LOM주는 대표적인 CSFV로 국내에서 백신주로 사용하고 있다. CSFV는 CPK 세포에서 세포변성효과를 나타내지 않기 때문에 CPK 세포에 CSFV를 접종하여 5일 동안 배양한 이후에 다시 바이러스 함량을 측정한다. 따라서 CPK 세포에서 증식한 CSFV 바이러스를 10진 희석하고, 100 ul 씩 분주한 후 CPK 세포를 첨가하여 배양한 후에 냉 아세톤으로 고정하고, CSFV에 특이적인 항체를 1차로 반응시키고, 형광물질이 결합되어 있는 2차 항체를 반응한 이후에 형광현미경으로 관찰하여 바이러스 함량을 측정하였다. CSFV 함량은 $10^{4.0}$ FAID₅₀/ml로 확인하였다.
- 그림 8에서 보는 것과 같이 CSFV는 세포변성효과를 일으키지 않으며, 형광 염색한 세포의 세포질에서 약한 특이적인 세포질내 형광 반응을 확인할 수 있다.

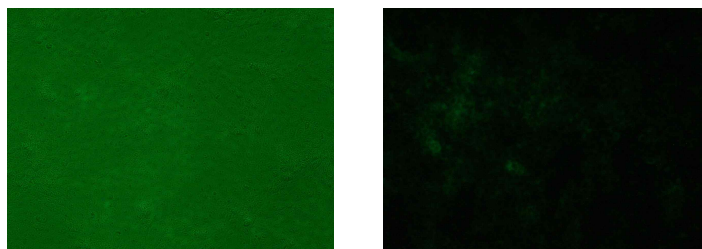


그림 8. Cloned porcine kidney 세포에서 돼지 열병 바이러스의 증식능 확인

○ CSFV에 대한 TSG18D0 및 TSG18D16C의 억제능

- TSG18D0 및 TSG18D16C에 대한 CSFV의 바이러스 억제능을 확인하기 위하여 $10^{4.0}$ TCID₅₀/ml의 CSFV는 2 uM, 1 uM 및 0.5 uM로 희석한 TSG18D0 및 TSG18D16C와 동량 혼합하였다. 혼합 용액을 37°C에서 1시간 동안 배양하였고, 이 용액을 각각 10진 희석하여 96 well micro plate에 분주한 후 100 ul 당 2×10^4 개에 해당하는 CPK 세포를 micro plate에 추가하고 5일 동안 배양하였다. 배양한 플레이트의 세포는 냉 아세톤으로 고정하고 CSFV 특이항체로 염색하여 형광현미경에서 형광을

확인하고, 함량은 Reed & Muench법에 따라서 결정하였다. 그림 9에서 보는 것과 같이 $10^{4.0}$ TCID₅₀/ml함량의 CSFV를 2 uM에서 0.5 uM까지 희석한 TSG18D0 및 TSG18D16C에 혼합용액에서 CSFV 증식능을 확인한 결과 유의미한 억제능을 확인할 수 없었다.

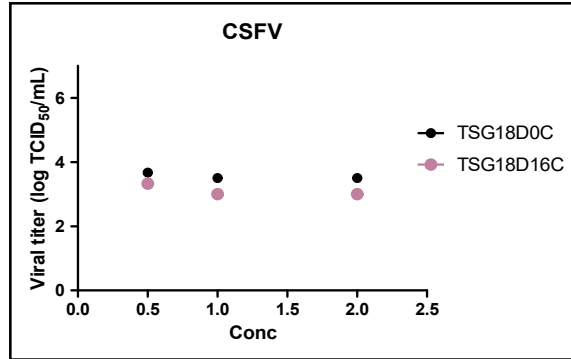


그림 9. TSG18D0 및 TSG18D16C의 돼지 열병바이러스에 대한 억제능 시험

8) 돼지 유행성설사병 바이러스에 대한 TSG18D의 바이러스 억제능

○ 돼지 유행성설사병 (PEDV) 바이러스의 증식 및 함량시험

- TSG18D에 대한 PEDV의 억제능을 확인하기 위하여 PEDV (국내 분리주 QIAP1401) 주를 준비된 Vero 세포에 접종하고, trypsin이 0.5 ug/ml이 되도록 배지에 첨가하여 PEDV를 증식하였다. QIAP1401 주는 2014년 자돈의 소장에서 분리한 돼지 유행성설사병 바이러스이다. PEDV는 Vero 세포에서 세포변성효과를 나타내지만 trypsin이 첨가되지 않으면 바이러스 증식이 되지 않는다. 따라서 Vero 세포에 PEDV를 접종하여 trypsin을 첨가하여 2일 이후에는 현미경에서 바이러스 증식을 확인할 수 있다. 이와 같은 방법으로 Vero 세포에서 증식한 바이러스를 10진 희석하고, Vero 세포가 증식된 96 micro plate에 100 ul 씩 분주한 후 trypsin을 0.5 ug/ml가 되도록 세포를 첨가하여 배양한 후에 바이러스 함량을 측정하였다. PEDV 함량은 $10^{6.0}$ TCID₅₀/ml로 확인하였다.
- 그림 10에서 보는 것과 같이 PEDV의 세포변성효과를 확인할 수 있다.

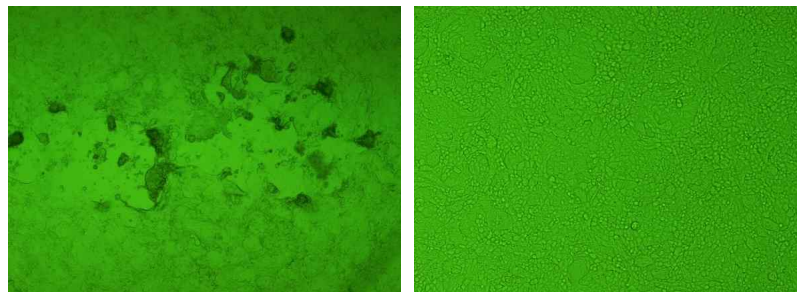


그림 10. Vero 세포에서 PED의 세포변성 효과 및 정상세포

○ PEDV에 대한 TSG18D0 및 TSG18D16C의 억제능

- TSG18D0 및 TSG18D16C에 대한 PEDV의 바이러스 억제능을 확인하기 위하여 $10^{2.8}$ TCID₅₀/ml의 PEDV는 2 uM, 1 uM 및 0.5 uM로 희석한 TSG18D0 및 TSG18D16C와 동량 혼합하였다. 혼합 용액을 37°C에서 1시간 동안 배양하였고, 이

용액을 각각 10진 희석하여 Vero 세포가 증식된 96 well micro plate에 분주한 후 trypsin을 0.5 ug/ml가 되도록 추가하고 5일 동안 배양하였다. PEDV 함량은 Reed & Muench법에 따라서 결정하였다. 그림 11에서 보는 것과 같이 $10^{2.8}$ TCID₅₀/ml 함량의 PEDV를 2 uM에서 0.5 uM까지 희석한 TSG18D0 및 TSG18D16C에 혼합용액에서 PEDV 증식능을 확인한 결과 TSG18D0는 바이러스 증식을 억제하지 못하였지만 2 uM과 1 uM의 TSG18D16C에서는 $10^{1.1}$ TCID₅₀/ml의 함량을 나타내 약간의 바이러스 억제능을 확인할 수 있었다.

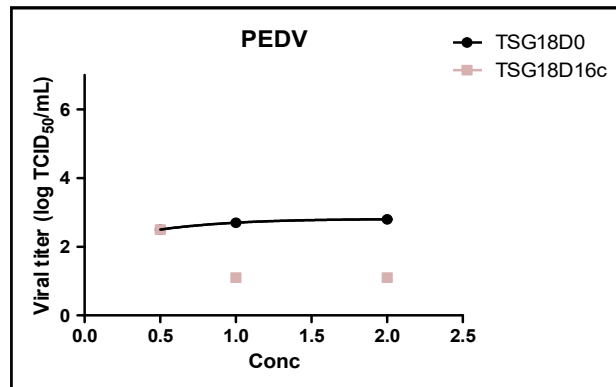


그림 11. TSG18D0 및 TSG18D16C의 PEDV의 억제능 시험

9) 소 바이러스성 설사병 바이러스에 대한 TSG18D의 바이러스 억제능

○ 소 바이러스성 설사병 (BVDV) 바이러스의 증식 및 함량시험

- TSG18D에 대한 BVDV의 억제능을 확인하기 위하여 BVDV NADL주를 MDBK 세포에 접종하여 증식하였다. NADL주는 대표적인 BVDV주로 사용되고 있다. BVDV는 MDBK 세포에서 세포변성효과를 나타내기 때문에 MDBK 세포에 BVDV를 접종하여 5일 이후에 현미경에서 바이러스 증식을 확인할 수 있다. 이와 같은 방법으로 MDBK 세포에서 증식한 바이러스를 10진 희석하고, 100 ul 씩 분주한 후 MDBK 세포를 첨가하여 배양한 후에 바이러스 함량을 측정하였다. BVDV 함량은 $10^{6.0}$ TCID₅₀/ml로 확인하였다.
- 그림 12에서 보는 것과 같이 BVDV의 세포변성효과를 확인할 수 있다.

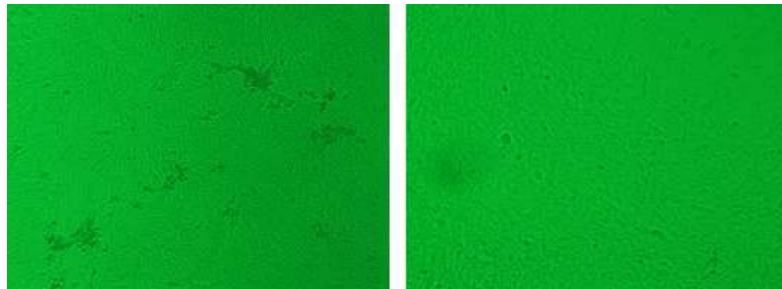


그림 12. MDBK 세포에서 BVDV의 세포변성 효과 및 정상세포

○ BVDV에 대한 TSG18D0 및 TSG18D16C의 억제능

- TSG18D0 및 TSG18D16C에 대한 BVDV의 바이러스 억제능을 확인하기 위하여 $10^{3.5}$ TCID₅₀/ml의 BVDV는 2 uM, 1 uM 및 0.5 uM로 희석한 TSG18D0 및

TSG18D16C와 동량 혼합하였다. 혼합 용액을 37°C에서 1시간 동안 배양하였고, 이 용액을 각각 10진 희석하여 96 well micro plate에 분주한 후 100 ul 당 2×10^4 개에 해당하는 MDBK 세포를 micro plate에 추가하고 5일 동안 배양하였다. 바이러스의 세포변성효과는 현미경에서 확인하고, 함량은 Reed & Muench법에 따라서 결정하였다. 그림 13에서 보는 것과 같이 $10^{3.5}$ TCID₅₀/ml 함량의 BVDV를 2 uM에서 0.5 uM까지 희석한 TSG18D0 및 TSG18D16C에 혼합용액에서 BVDV 증식능을 확인한 결과 TSG18D16C에서 약간의 바이러스 억제능을 확인할 수 있었다.

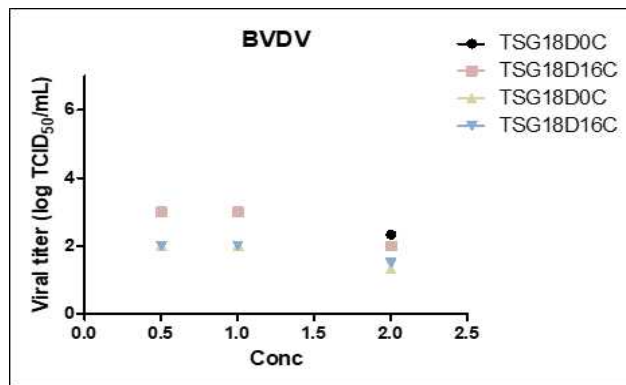


그림 13. TSG18D0 및 TSG18D16C의 BVDV에 대한 억제능 시험

10) 소 코로나 바이러스에 대한 TSG18D의 바이러스 억제능

○ 소 코로나 (BCV) 바이러스의 증식 및 함량시험

- TSG18D에 대한 BCV의 억제능을 확인하기 위하여 BCV (국내 분리주 BCV0505)주를 준비된 HRT-18 세포에 접종하고, trypsin이 0.5 ug/ml이 되도록 배지에 첨가하여 BCV를 증식하였다. BCV0505주는 2005년 소 분변에서 분리한 소 코로나바이러스이다. BCV는 HRT-18 세포에서 세포변성효과를 나타내지만 trypsin이 첨가되지 않으면 바이러스는 증식하지 않는다. 따라서 HRT-18 세포에 BCV를 접종하여 trypsin을 첨가하여 3일 이후에는 현미경에서 바이러스 증식을 확인할 수 있다. 이와 같은 방법으로 HRT-18 세포에서 증식한 바이러스를 10진 희석하고, HRT-18 세포가 증식된 96 micro plate에 100 ul 씩 분주한 후 trypsin을 0.5 ug/ml가 되도록 세포를 첨가하여 배양한 후에 바이러스 함량을 측정하였다. BCV 함량은 $10^{6.0}$ TCID₅₀/ml로 확인하였다.
- 그림 14에서 보는 것과 같이 BCV의 세포변성효과를 확인할 수 있다.

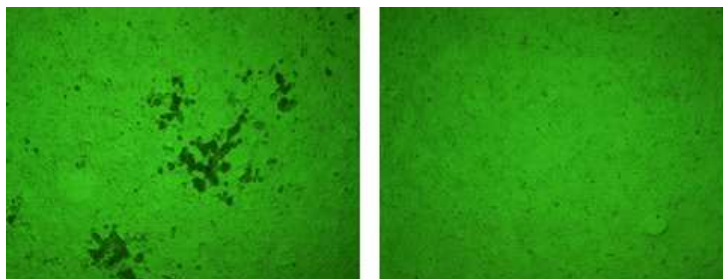


그림 14. HRT-18 세포에서 BCV의 세포변성 효과 및 정상세포

11) 일본뇌염바이러스 동물모델에서 TSG18D12C의 치료효능

○ 강병원성 바이러스의 준비

- 마우스에서 TSG18D의 일본뇌염바이러스 억제능을 실험하기 위하여 3주령 마우스에 강병원성을 나타내는 일본뇌염바이러스가 필요하다. 따라서 일본뇌염 불활화백신의 효능시험에 공격용 바이러스로 사용하는 일본뇌염 바이러스 주는 Nakayama 주이다. 이 바이러스를 확보하기 위하여 4일령 포유 마우스에 Nakayama virus를 뇌 내로 0.03 ml 접종하고 4일 이후에 신경 증상을 나타내는 마우스를 수확하였다. 수확한 마우스에서 10%의 뇌 유제액을 제조하고 3주령 마우스에 LD₅₀를 확인하기 위하여 Nakayama 뇌 유제액을 10⁰부터 10⁴까지 희석하고 3주령 마우스의 복강에 0.3 ml씩 접종하였다. 접종한 마우스는 14 동안 관찰하여 폐사 여부를 확인하여 LD₅₀를 계산하였다. 강병원성 일본뇌염바이러스는 25 LD₅₀/0.3 ml를 나타내었다.

○ 마우스에서 일본뇌염바이러스에 대한 TSG18D12C의 치료효능

- 3주령 마우스 24두를 준비하고 4개의 군으로 분류하였다. 1군은 TSG18D12C 5 mg/kg 접종군, 2군은 TSG18D12C 2 mg/kg 접종군, 3군은 강병원성 일본뇌염 공격대조군, 및 4군은 무처리 대조군으로 준비하였다. 1, 2, 3군의 마우스에 10 LD₅₀에 해당하는 Nakayama 바이러스를 복강으로 0.3 ml 접종하였다. 1일 후에 1군에는 5 mg/kg의 TSG18D12C를 복강으로 접종하였으며, 2군에는 2 mg/kg의 TSG18D12C를 복강으로 접종하였다. 공격접종 2일 후에 동일한 방법으로 1군과 2군의 마우스에 접종하고 14일간 매일 체중을 측정하고 폐사 여부를 확인하였다.
- 그림 15에서 보는 것과 같이 공격 대조군의 마우스는 12일째 100% 폐사하였고, 2 mg/kg의 TSG18D12C를 접종한 마우스는 16%(1/6)의 생존률을 5 mg/kg의 TSG18D12C를 접종한 마우스는 32%(2/6)의 생존률을 각각 나타내어 실험실내에서 일본뇌염 바이러스의 억제능을 확인한 것과 함께 마우스 실험에서도 바이러스 억제능을 나타내었다.

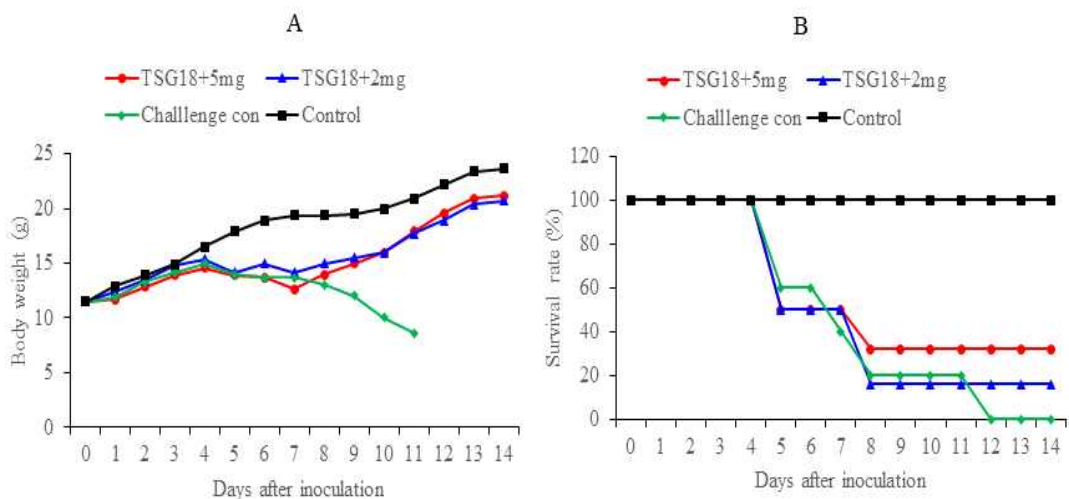


그림 15. 마우스에서 일본뇌염바이러스에 대한 TSG18D12C의 효능시험

12) TSG18D12C의 세포독성 시험

- TSG18D12C의 세포독성을 확인하기 위하여 TSG18D12C를 40, 20, 10, 5, 2.5, 1.25, 0.62, 0.31 μM 이 되도록 DMEM 배지에 추가하여 만들고, 준비된 Vero 세포에 배지로 사용하여 5일간 세포독성 여부를 현미경으로 관찰하였다. 표 1에서 보는 것과 같이 40 μM 이하의 농도에서 세포 독성을 확인하지 못하였다.

표 1. Vero 세포에서 TSG18D12C의 세포독성

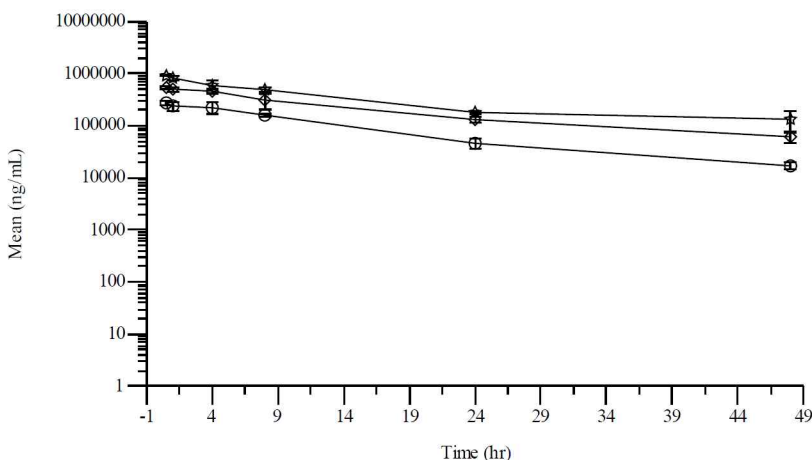
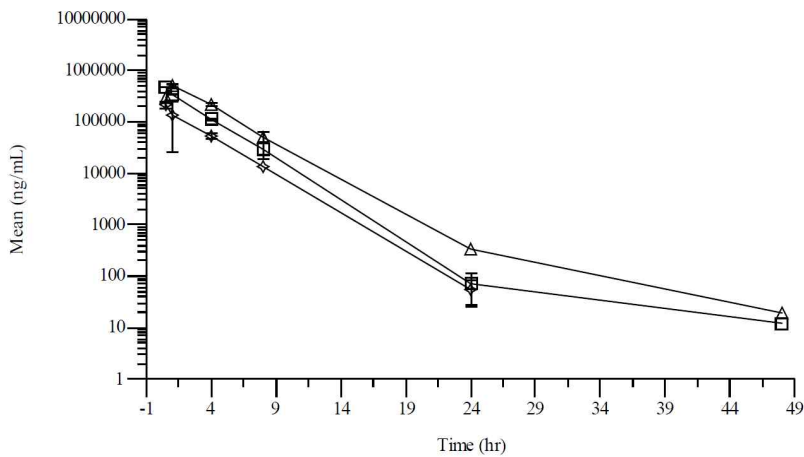
	Concentration of TSG18D12C (μM)							
	40	20	10	5	2.5	1.25	0.625	0.312
Cell toxicity	-*	-	-	-	-	-	-	-

*, 정상세포

- 애초에 다양한 소와 돼지 유래 세포주에서 세포독성시험을 하기로 하였으나 Vero 세포주에서만 수행하였음. 이는 PRRSV, PEDV, BVDV, BCV, CSFV에 대한 항바이러스 활성이 치료제로 개발하기에는 부족하였기 때문임

13) 3a-3/20 및 3a-3/20-C16의 반감기 측정

마우스에서 3a-3/20의 반감기는 주입 용량에 따라 1.87 ~ 3.02 시간이었으나, 지방산을 접합한 3a-3/20-C16의 경우 반감기가 11.6 ~ 17.0 시간으로 연장되었음



국내 및 국제 학술회의 발표

번호	회의 명칭	발표자	발표 일시	장소	국명
1	2021년 추계국제학술대회	양동군 외 5인	2021.10.28.-30	군산시 새만금컨벤션센터	대한민국
2	2022년 춘계학술대회	양동군 외 3인	2022.4.28	정주시 오송 세종호텔	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
1	일본뇌염바이러스	KVCC/VR2200048	한국수의생명자원은행 KVCC	2022

[기술적 성과]

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

번호	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국명	출원				등록			기여율	활용 여부
			출원인	출원일	출원 번호	등록 번호	등록인	등록일	등록 번호		
1	특허	대한민국	대한뉴팜 (주)	2022.01 .27	10-202 2-0012 323						

○ 지식재산권 활용 유형

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

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

저작권(소프트웨어, 서적 등)

번호	저작권명	창작일	저작자명	등록일	등록 번호	저작권자명	기여율

신기술 지정

번호	명칭	출원일	고시일	보호 기간	지정 번호

기술 및 제품 인증

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

210mm×297mm[(백상지(80g/m²) 또는 중질지(80g/m²)

(22쪽 중 8쪽)

표준화

○ 국내표준

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

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

○ 국제표준

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

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

[경제적 성과]

시제품 제작

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

기술 실시(이전)

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

- * 내부 자금, 신용 대출, 담보 대출, 투자 유치, 기타 등

사업화 투자실적

번호	추가 연구개발 투자	설비 투자	기타 투자	합계	투자 자금 성격*
----	------------	-------	-------	----	-----------

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) 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					

210mm×297mm[(백상지(80g/m²) 또는 중질지(80g/m²)
(22쪽 중 9쪽)

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
			yyyy년	yyyy년	
합계					

고용 효과

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

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

210mm×297mm[(백상지(80g/m²) 또는 중질지(80g/m²)]

(22쪽 중 10쪽)

기술 무역

(단위: 천원)

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

[사회적 성과]

□ 법령 반영

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

□ 정책활용 내용

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

□ 설계 기준/설명서(시방서)/지침/안내서에 반영

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

□ 전문 연구 인력 양성

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

□ 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

210mm×297mm[(백상지(80g/m²) 또는 중질지(80g/m²)

(22쪽 중 11쪽)

[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)

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

[그 밖의 성과](해당 시 작성합니다)

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

<참고 1> 연구성과 실적 증빙자료 예시

성과유형	첨부자료 예시
연구논문	논문 사본(저자, 초록, 사사표기)을 확인할 수 있는 부분 포함, 연구개발과제별 중복 첨부 불가)
지식재산권	산업재산권 등록증(또는 출원서) 사본(발명인, 발명의 명칭, 연구개발과제 출처 포함)
제품개발(시제품)	제품개발사진 등 시제품 개발 관련 증빙자료
기술이전	기술이전 계약서, 기술실시 계약서, 기술료 입금 내역서 등
사업화 (상품출시, 공정개발)	사업화된 제품사진, 매출액 증빙서류(세금계산서, 납품계약서 등 매출 확인가능 내부 회계자료) 등
품목허가	미국 식품의약국(FDA) / 식품의약품안전처(MFDS) 허가서
임상시험실시	임상시험계획(IND) 승인서

<참고 2> 국가연구개발혁신법 시행령 제33조제4항 및 별표 4에 따른 연구개발성과의 등록·기탁 대상과 범위

구분	대상	등록 및 기탁 범위
등록	논문	국내외 학술단체에서 발간하는 학술(대회)지에 수록된 학술 논문(전자원문 포함)
	특허	국내외에 출원 또는 등록된 특허정보
	보고서원문	연구개발 연차보고서, 단계보고서 및 최종보고서의 원문
	연구시설·장비	국가연구개발사업을 통하여 취득한 3천만 원 이상(부가가치세, 부대비용 포함) 연구시설·장비 또는 공동활용이 가능한 모든 연구시설·장비
	기술요약정보	연차보고, 단계보고 및 최종보고가 완료된 연구개발성과의 기술을 요약한 정보
	생명자원 중 생명정보	서열·발현정보 등 유전체정보, 서열·구조·상호작용 등 단백질체정보, 유전자(DNA)칩·단백질칩 등 발현체 정보 및 그 밖의 생명정보
	소프트웨어	창작된 소프트웨어 및 등록에 필요한 관련 정보
	표준	「국가표준기본법」 제3조에 따른 국가표준, 국제표준으로 채택된 공식 표준정보[소관 기술위원회를 포함한 공식 국제표준화기구(ISO, IEC, ITU)가 공인한 단체 또는 사실표준화기구에서 채택한 표준정보를 포함한다]
기탁	생명자원 중 생물자원	세균, 곰팡이, 바이러스 등 미생물자원, 인간 또는 동물의 세포·수정란 등 동물자원, 식물세포·종자 등 식물자원, DNA, RNA, 플라스미드 등 유전체자원 및 그 밖의 생물자원
	화합물	합성 또는 천연물에서 추출한 유기화합물 및 관련 정보
	신품종	생물자원 중 국내외에 출원 또는 등록된 농업용 신품종 및 관련 정보

210mm×297mm[(백상지(80g/m²) 또는 중질지(80g/m²)

(22쪽 중 12쪽)

2) 목표 달성 수준

추진 목표	달성 내용	달성도(%)
○ 효능 증진	○ IC50 값이 128 nM에서 11 nM로 감소하여 큰 폭의 효능 증진을 달성하였음	○ 100%
○ 반감기 연장	○ 생쥐에서 반감기는 1.87 ~ 3.02 시간에서 11.6 ~ 17.0 시간으로 연장됨	○ 100%
○ 세포 독성	○ 다양한 소와 돼지 유래 세포주에서 세포독성 시험을 하기로 하였으나 Vero 세포주에서만 수행하였음	○ 20%

4. 목표 미달 시 원인분석(해당 시 작성합니다)

1) 목표 미달 원인(사유) 자체분석 내용

덴기바이러스에는 IC50 값이 약 11nM로 높은 항바이러스 활성을 보였으나, PRRSV, PEDV, BVDV, BCV, CSFV에서는 치료제로 개발하기에는 부족한 활성을 보였기 때문에 세포 독성 시험을 하지 않음

2) 자체 보완활동

동물바이러스에 대한 효능을 증진하기 위해 펩타이드를 개량하는 연구를 지속적으로 진행하고 자 함

3) 연구개발 과정의 성실성

210mm×297mm[(백상지(80g/m²) 또는 중질지(80g/m²)

(22쪽 중 13쪽)

5. 연구개발성과의 관련 분야에 대한 기여 정도

6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획

< 연구개발성과 활용계획표(예시) >

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

< 별첨 자료 >

중앙행정기관 요구사항	별첨 자료
1.	1) 자체평가의견서
	2) 연구성과 활용계획서
2.	1)
	2)

주 의

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