

REVIEW

가축 성별 조절 기술: 정자의 생물학적 차이와 미래 축산의 가능성

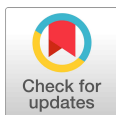
박유빈 · 정세정 · 서인한 · 김예지 · 이찬호 · 김성학*

전남대학교 농업생명과학대학 동물자원학부

Biological Differences in Sperm and the Future Potential of Animal Husbandry

Yu-Bin Park, Se-Jung Jung, In-Han Seo, Ye-Ji Kim, Chan-Ho Lee, Sung-Hak Kim*

Department of Animal Science, Chonnam National University, Gwangju, Korea



Received: November 10, 2025

Revised: December 11, 2025

Accepted: December 15, 2025

*Corresponding author :
Sung-Hak Kim
Department of Animal Science,
Chonnam National University, Gwangju,
Korea
Tel : +82-62-530-2115
E-mail : sunghakkim@jnu.ac.kr

Copyright © 2025 Institute of Agricultural Science & Technology, Chonnam National University.
This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ORCID

Yu-Bin Park
<https://orcid.org/0009-0009-3617-0531>
Se-Jung Jung
<https://orcid.org/0009-0005-1320-498X>
In-Han Seo
<https://orcid.org/0009-0007-4656-1873>
Ye-Ji Kim
<https://orcid.org/0009-0008-4295-1097>
Chan-Ho Lee
<https://orcid.org/0009-0004-8119-7606>
Sung-Hak Kim
<https://orcid.org/0000-0003-4882-8600>

Abstract

Hanwoo is a native Korean cattle breed known for its highly marbled 1++ grade beef, forming a premium market with prices exceeding 100,000 KRW per kg. In Hanwoo production systems, females are essential for herd expansion and genetic improvement, whereas males mainly contribute to revenue through beef production. Accordingly, X and Y sperm separation technology enables sex ratio control at fertilization to optimize the production of females for breeding and males for beef, improving overall efficiency and profitability. This review examines the biological differences between X and Y sperm and separation technologies that exploit these differences, along with recent research trends. X and Y sperm differ in membrane protein composition, metabolic activity, and epigenetic characteristics, providing a basis for selective separation strategies. Through label-free proteomics and liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) analysis, specific proteins such as CLRN3, ADAM2, and ATP11C in X sperm, and SCAMP1 in Y sperm, have been identified, proposed as targets for immunological separation or aptamer development. In addition, studies using the toll-like receptor 7/8 (TLR7/8) agonist R848 combined with the swim-up method have demonstrated selective regulation of X sperm motility. Whole-genome bisulfite sequencing (WGBS) has further identified 12,175 differentially methylated regions related to genes involved in energy metabolism and sperm function. Current sex selection technologies include flow cytometry, proteomics-based surface protein analysis, TLR7/8-mediated separation, aptamer-based enrichment, and WGBS-based methylation analysis. This review evaluates their principles and limitations and discusses future research directions applicable to Hanwoo and other livestock species such as pigs and sheep.

Keywords

X and Y sperm separation technology, sperm proteome, flow cytometry, toll-like receptor 7/8 (TLR7/8) agonist, aptamer, sustainable animal husbandry

서론

한우는 우리나라 축산업의 핵심 품종으로, 우수한 육질과 높은 시장 가치를 지닌 대표적인 토착 품종이다. 최근 한우 산업은 소비자의 품질 요구와 생산 효율 향상에 대한 기대가 높아지면서, 번식 효율을 극대화하고 생산 방향을 조절할 수 있는 성감별 기술(sex-sorting technology)의 중요성이 커지고 있다. 송아지의 성별은 번식용 암소 생산과 육우용 수소 생산 등 농가의 경영 목적에 따라 경제적 가치가 달라지기 때문에, 수정 단계에서 성비를 조절할 수 있다면 한우 산업 전반의 생산성과 수익성을 크게 향상시킬 수 있다. 실제로 낙농 산업에서는 암컷 송아지의 비율을 높여 번식 효율을

높이고, 육우 산업에서는 수컷 송아지 생산을 통해 고기 생산량을 증가시키는 전략적 접근이 시도되고 있다.

현재 상업적으로 가장 널리 사용되는 성감별 기술은 유세포 분석기(flow cytometry)를 이용한 방법으로, X 정자와 Y 정자의 DNA 함량 차이(약 3%-4%)를 기반으로 분리한다[1]. 이 방법은 정확도가 높지만, 고가의 장비와 복잡한 조작, 처리 속도의 한계, 그리고 정자 손상 가능성 등의 문제가 존재한다. 이러한 이유로 한우와 같은 고가축종에서는 경제성·효율성 측면에서 실용화의 제약이 따른다. 이에 따라 최근에는 유세포 분석법을 대체하거나 보완하기 위한 다양한 분자생물학적 성감별 기술이 연구되고 있다.

대표적인 예로, X 정자에서 특이적으로 발현하는 TLR7/8(toll-like receptor 7/8) 수용체에 작용하는 R848 작용제(agonist) 기반 분리법이 주목받고 있다. 이 방법은 X 정자의 미토콘드리아 기능을 억제해 ATP(adenosine triphosphate) 생산과 운동성을 선택적으로 감소시키는 원리를 이용하며, 복잡한 장비 없이도 비교적 간단히 X/Y 정자를 분리하게 할 수 있다는 장점이 있다. 또한 압타머(aptamer) 기술을 이용해 X 또는 Y 정자 표면 단백질에 특이적으로 결합하는 핵산 리간드를 개발함으로써, 정자의 생존성을 유지한 상태로 선택적 농축이 가능하다는 연구 결과도 보고되고 있다. 아울러 세포 표면 단백질체 분석(cell surface proteomics)과 전장유전체 메틸화 분석(whole-genome bisulfite sequencing, WGBS)을 통해 X/Y 정자 간의 분자적 차이를 규명하고 이를 성감별 표지자로 활용하려는 시도도 활발히 이루어지고 있다.

이러한 최신 기술들은 기존 유세포 분석 기반 성감별의 한계를 보완하고, 정자 손상을 최소화하면서 효율적이고 경제적인 비침습적 성감별법을 제시할 수 있는 가능성을 보여준다. 그러나 아직까지 한우에서 이러한 기술들이 상용화되기 위해서는 처리 효율, 정자 생존율, 수정 능력, 비용 문제 등의 과제가 남아 있다.

따라서 본 리뷰 논문에서는 한우 정자 성감별 기술의 발전 동향을 종합적으로 고찰하고, 기존의 유세포 분석법과 더불어 TLR7/8 작용제, 압타머, 프로테오믹스(proteomics), 후성유전학적 분석 등 최신 분자 기반 성감별 기술들의 원리, 장점, 한계 및 응용 가능성을 논하고자 한다. 이를 통해 향후 한우 산업에서 적용 가능한 효율적이고 표준화된 성감별 기술의 발전 방향을 제시하는 데 그 목적이 있다(Fig. 1).

본 론

1. X/Y 정자세포의 분자적 특성

1) 세포막 단백질의 차등 발현

X/Y 정자 간의 세포막 단백질 차이점을 알아보기 위해 고순도 정자를 이용한 Label-free 정량 프로테오믹스법과 LC-MS/MS(liquid chromatography-tandem mass spectrometry) 기반 분석이 수행되었다[2,3]. 이 분석을 통해 총 1,521개의 단백질 중 31개의 단백질이 유의미한 차등 발현을 보였다[2]. X 또는 Y 정자 그룹에서만 확인된 단백질은 특이적 발현 단백질로 간주되었으며, 특히 151개의 단백질은 X 정자에서, 88개의 단백질은 Y 정자에서 특이적으로 발현되었다[2]. 실제로 이 연구에서는 웨스턴 블롯(western blot)을 통해 CLRN3와 SCAMP1 단백질이 각각 X와 Y 정자의 세포 표면 특이적 항원 후보임을 실험적으로 검증하였다[2]. 또한, TLR7/8은 세포 내 병원체 관련 분자 패턴(pathogen-associated molecular pattern, PAMPs)을 감지하는 패턴 인식 수용체(pattern recognition receptor, PRRs)로 알려져 있으며, 엔도솜 막 단백질로 분류된다[4]. TLR7 및 TLR8을 인코딩하는 유전자는 포유류의 X 염색체에 위치하고 있다. 이 유전자는 X 염색체를 보유

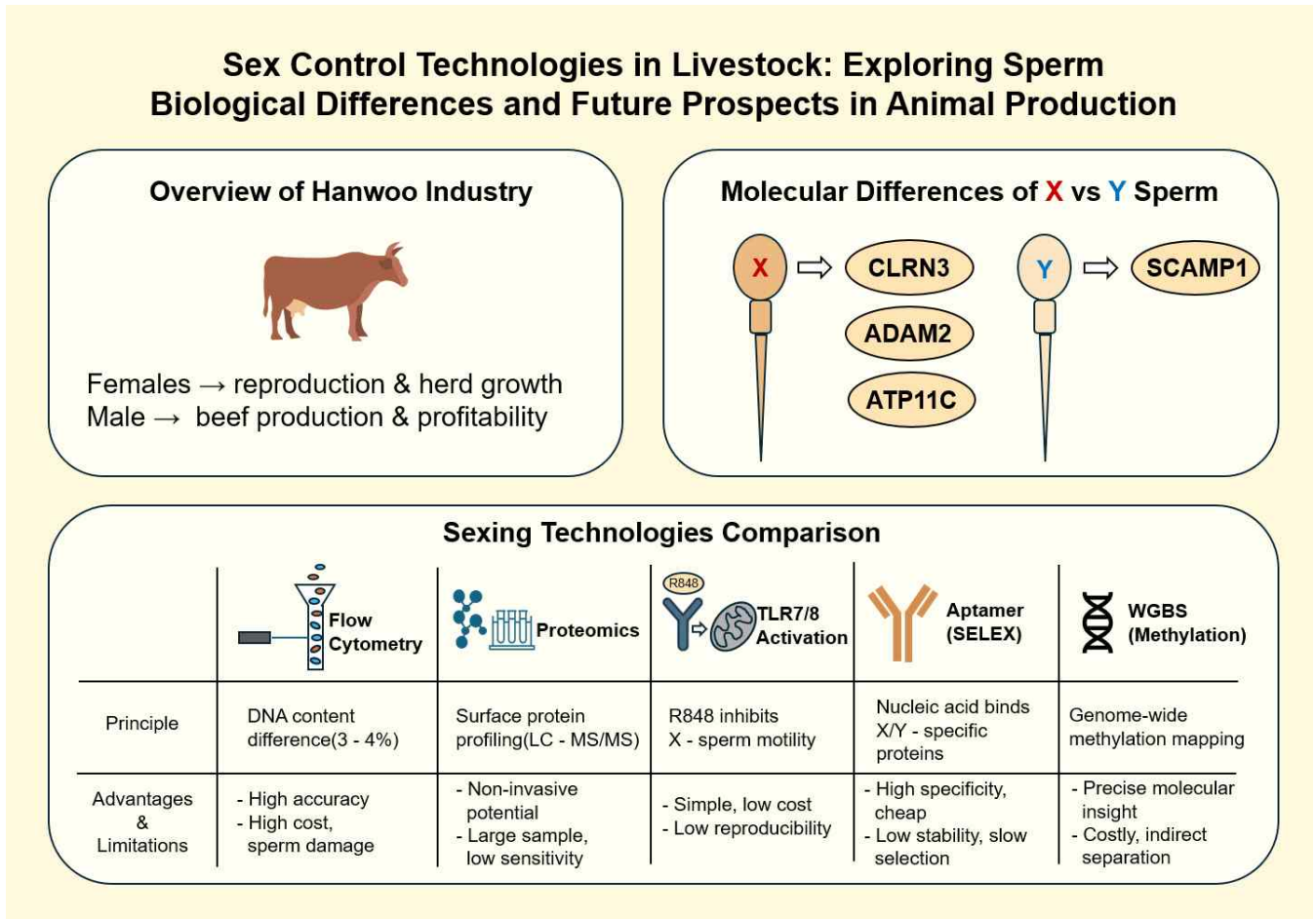


Fig. 1. A comprehensive review of X/Y sperm separation technologies.

하는 X 정자에서 특이적으로 발현되며, Y 정자에서는 발현되지 않거나 그 발현 정도가 매우 낮다. 이러한 분석 결과는 X 정자와 Y 정자가 세포막 단백질 구성에서 뚜렷한 분자적 차이를 가지며, 특히 X 정자에서 특이적으로 발현되는 TLR7/8이 성 감별 기술의 유력한 분자 표지로 작용할 수 있음을 시사한다.

2) 특정 약물 반응에 의한 운동성 변화

X 정자와 Y 정자의 기능적 차이, 특히 운동성의 차이는 X 염색체에 인코딩된 면역 조절 수용체인 TLR7/8의 특이적 발현과 그 작용체인 R848의 처리를 통해 유발되며, 이는 정자의 ATP 소비 경로에 영향을 미친다. 버팔로 정자 집단의 약 50%에서 TLR7/8 수용체가 발견되었으며, TLR7은 정자의 첨체 캡 및 꼬리 부위에, TLR8은 후첨체 및 중편부에 위치하는 것으로 나타났다[5]. R848은 TLR7/8의 특정 이중 작용제로서, 이 수용체가 발현된 X 정자의 운동성을 선택적으로 감소시키는데, 이는 TLR7/8 활성화가 GSK-3 α/β (glycogen synthase kinase 3- α/β)의 인산화를 촉진하여 정자의 속도를 떨어뜨리기 때문이다[5,6]. 기능적으로 R848에 의한 운동성 감소는 TLR8 활성화가 미토콘드리아 활동을 억제하고, TLR7 활성화가 세포질 해당 작용을 억제함으로써 X 정자가 ATP 소비 및 에너지 대사에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다.

3) DNA 메틸화

후성유전학적 관점에서 X와 Y 정자 간의 분자적 이질성을 탐구하기 위해 Shangguan et al.는 WGBS 기법을 활용하여 홀스타인의 X와 Y 정자에서 12,175개의 차등 메틸화 영역(differentially methylated regions, DMRs)과 2,041개의 메틸화 관련 유전자(differentially methylated genes, DMGs)를 식별하였다[7]. 이 연구에서 유세포 분석기로 90% 이상의 순도로 분리된 X, Y 정자를 사용했으며, 전반적인 메틸화 패턴은 일관성을 보였으나, 국소적인 비교 분석을 통해 DMRs가 2,041개의 차등 메틸화 유전자에 매핑되었으며, 이 유전자들은 기능적으로 에너지 대사 및 막 전압 조절과 같은 정자 기능에 필수적인 과정과 관련된 것으로 나타났다. 특히, X 정자에서 과메틸화(hypermethylated)된 SPA17과 CHCHD3 유전자가 확인되었다[7]. SPA17(정자-난자 상호작용 및 운동성 관련)의 메틸화는 31.11%의 메틸화 차이 및 단백질 발현 수준 0.71의 비율과 연관되었으며, CHCHD3(미토콘드리아 기능 및 ATP 생산 핵심)의 과메틸화는 29.00%의 메틸화 차이 및 단백질 발현 수준 0.54의 비율과 연관되어 있었다. 이는 DNA 메틸화가 유전자 발현을 억제하는 방식으로 작용하여 X와 Y 정자 간의 기능적 차이, 특히 정자 운동성 및 생존 기간의 차이를 유발하는 데 중요한 후성유전학적 역할을 수행함을 시사한다.

2. X, Y 정자 분리 기술 및 탐색 고도화(정자 성감별 기술)

1) 프로테오믹스 기반 표면 단백질 탐색

세포 표면 단백질체 분석(cell surface proteomics) 기술은 세포 표면 단백질을 분석해 신호전달, 면역 반응, 세포 간 상호작용을 이해하고 약물 표적을 찾는 데 활용된다[8,9]. 그러나 세포 표면 단백질은 발현량이 낮고 소수성이 강해 분석이 어렵다. 이를 해결하기 위해 질량분석(MS) 기반 프로테오믹스와 공학적 표지 기술이 함께 사용된다. MS 기반 방법은 비오티나, APEX, CSC 기법 등을 통해 많은 단백질을 동시에 검출하고 정량화할 수 있어 넓은 범위의 분석에 강점을 가진다[8,9]. 반면 BioID, TurboID 같은 공학적 도구는 세포 내 특정 단백질 주변의 상호작용을 정밀하게 관찰해 고해상도 분석에 적합하다. MS 기반 기술은 시료가 많이 필요하고 저발현 단백질 분석이 어려우며, 공학적 기술은 유전자 조작이 필요하다는 한계가 있다. 결국 두 접근을 결합하면 세포 표면 단백질을 정량적이면서도 맥락적으로 이해할 수 있으며, 질병 기전 연구와 신약 표적 발굴에 중요한 기반을 제공할 수 있다.

2) TLR7/8(toll-like receptor 7/8) 작용제 기반 분리

TLR7/8 작용제는 선천면역 수용체를 활성화해 세포 기능을 조절하는 물질로[6], 생식과 면역 분야에서 다양하게 활용되고 있다. 소의 정자 분리에 적용된 연구에서는 R848 처리로 X 정자의 미토콘드리아 기능이 억제되어 운동성이 감소하고, Y 정자만 활발히 움직여 두 집단을 물리적으로 분리할 수 있었다[5,10]. 이 방법은 기존 유세포 분석 기반 성감별보다 단순하고 비용이 적지만, 처리 조건에 따라 정자의 생존율과 수정 능력이 떨어질 수 있다. 한편, 면역학에서는 TLR7/8 작용제를 나노겔에 결합해 항원제시세포로 전달함으로써 강력한 면역반응과 종양 억제 효과를 유도한다[11]. 이 방식은 항원 특이적이며 전신 부작용이 적다는 장점이 있으나, 약물 안정성과 비특이적 면역 활성화 문제는 여전히 해결 과제로 남아 있다. 결국 TLR7/8 작용제는 세포 반응을 조절해 원하는 생리적 결과를 얻을 수 있는 유용한 기술이지만, 효율성과 안전성의 균형이 향후 발전의 핵심 과제라 할 수 있다.

3) 압타머 기반 선택적 농축

압타머는 단백질, 이온, 세포 등 특정 표적 분자에 높은 친화도와 특이성으로 결합하도록 설계된

짧은 단일가닥 핵산(DNA 또는 RNA)이다. 약 25-80개의 염기로 구성된 압타머는 표적과 결합할 때 3차원 구조를 형성해 항체처럼 작용하지만, 화학적으로 합성할 수 있어 생산이 간단하고 비용이 저렴하다[12]. 일반적으로 무작위 핵산 라이브러리에서 SELEX(systematic evolution of ligands by exponential enrichment; 체계적 진화적 리간드 발굴) 과정을 통해 선별되며, 이후 안정성과 기능을 높이기 위한 화학적 변형(post-SELEX)이 이루어진다[13,14]. 압타머의 장점은 대량 합성이 가능해 배치 간 품질 편차가 적고, 면역 반응을 거의 일으키지 않아 반복 투여가 필요한 치료제에 적합하다는 점이다. 또한 단백질뿐 아니라 이온이나 소분자에도 결합할 수 있어 응용 범위가 매우 넓다. 그러나 체내에서는 핵산 분해 효소(nuclease)에 의해 쉽게 분해되어 생체 내 안정성이 낮은 한계가 있으며, SELEX 과정이 시간 소모적이고 일부 표적에서는 효율적인 선별이 어렵다는 문제가 있다. 이를 개선하기 위해 최근에는 non-SELEX 방식이나 고속 스크리닝 기술이 개발되고 있으며, 표적 결합의 분자 역학적 메커니즘을 규명해 더 정밀한 설계가 가능하도록 하는 연구가 진행 중이다[15]. 결국 압타머는 항체를 대체할 수 있는 차세대 분자 인식 기술로, 진단과 치료, 바이오센서 개발 등에서 높은 잠재력을 지니지만, 안정성과 선별 효율 향상이 실용화를 위한 핵심 과제로 남아 있다.

4) WGBS(whole-genome bisulfite sequencing) 기반 에피제네틱(epigenetic) 분석

WGBS는 정자 전체 유전체의 메틸화 상태를 정밀하게 분석하는 기술로[7], 정자 간의 미세한 DNA 메틸화 차이를 구체적으로 확인할 수 있다. 최근 연구들에 따르면 정자의 DNA 메틸화 패턴은 품종, 계절, 온도 등 환경 요인에 따라 달라지며, 이런 차이가 정자의 운동성이나 DNA 안정성, 배아 발달과 관련된 유전자와도 연관되어 있다[16]. 예를 들어, Hossain et al.은 소 정자를 대상으로 한 연구에서 계절 변화에 따라 DNA 메틸화 패턴이 달라지고, 이것이 정자의 품질에 영향을 줄 수 있음을 보고했다[16]. 또한 Fouéré et al.은 정자의 DNA 메틸화가 단순히 환경적인 요인뿐 아니라 유전적인 조절(meQTL)에도 영향을 받는다는 사실을 밝혀냈다[17]. 이러한 연구 결과들은 WGBS가 정자 기능과 생식 능력을 이해하고, 성감별 연구에서 사용할 수 있는 분자적 표지를 찾는 데 중요한 기초 자료가 된다는 점을 보여준다[7,16,17]. 다만 WGBS는 분석 비용이 높고, 데이터를 해석하거나 많은 샘플을 확보하기 어렵다는 한계가 있다. 따라서 실제 적용을 위해서는 WGBS로 후보 표지를 찾은 뒤, 표적 메틸화 PCR(polymerase chain reaction)과 같은 저비용 분석 방법으로 검증하는 단계적 접근이 필요하다[7,17].

5) 유세포 분석법

유세포 분석법은 세포를 액체 흐름 속에 한 줄로 배열시켜 레이저를 통과시키고, 산란광과 형광 신호를 분석해 세포의 크기·복잡성·단백질 발현·핵산 함량을 측정하는 기술이다[1]. 전방 산란광(forward scatter, FSC)은 세포 크기를, 측방 산란광(side scatter, SSC)은 내부 구조를 반영하며, 형광 표지를 이용하면 표면 단백질이나 핵산까지 동시 검출이 가능하다[1]. 정자 성감별에서는 이 기술의 핵심 원리인 DNA 함량 차이(약 3.8%)를 활용한다. X 정자는 Y 정자보다 DNA가 더 많기 때문에, DNA를 형광 염색하게 되면 더 강한 형광 신호를 방출하게 된다[1]. 이를 통해, 레이저로 각 정자의 형광 세기를 측정해 전하를 부여하면, 전기적 분리(fluorescence-activated cell sorting, FACS)를 통해 X·Y 정자를 각각 분리할 수 있다. 이 방법은 약 90% 이상의 정확도로 현재 상업적으로 가장 널리 사용된다. 하지만 형광체의 스펙트럼 중첩과 염색 과정에서 발생하는 정자 손상, 그리고 고가 장비와 낮은 처리 속도는 주요 한계점으로 꼽힌다[1,18]. 최근에는 스펙트럼형 유세포 분석기와 질량 유세포 분석(mass cytometry)[18] 같은 차세대 기술이 개발되어 정밀도는 향상되고 있으나[9,18], 세포 손상 문제는 여전히 개선 과제로 남아 있다[1]. 결국 유세포 분석법은 X/Y 정자를 직접 구분할 수 있는 유일한 기술로 높은 정확도와 신뢰성을 가지지만, 실용화를 위해서는 정자 생존율 향상과 비용 절감이 필요하다.

3. 성감별 기술의 응용 및 한계

1) 가축 번식에서의 실용적 응용

성감별 기술은 낙농과 육우 산업 모두에서 매우 중요한 역할을 한다. 낙농에서는 암소 비율이 높을수록 우유 생산이 효율적이며, 육우 산업에서는 수소 비율이 높을수록 고급육 생산에 유리하기 때문이다. 최근에는 정자의 염색체나 분자적 차이를 이용해 보다 정확하고 효율적으로 성별을 구분하려는 기술이 빠르게 발전하고 있다. 특히 압타머를 이용한 방법은 주목받는 최신 기술 중 하나이다. Singh et al.은 소 정자에서 X 염색체에 특이적으로 결합하는 압타머를 개발하여, 약 70% 수준의 X 정자 농축 효율을 얻었다. 이 기술은 기존의 유세포분석보다 장비가 간단하고 비용이 낮아, 실제 농장에서 적용 가능성이 높다고 평가된다[12,14,19,20]. 또 다른 접근으로는 TLR7/8 작용제(R848)를 활용한 정자 운동성 조절이 있다. Meel et al.은 버펄로 정자에 R848을 처리하면 X 정자의 움직임이 약해지고, 물리적인 분리법(swim-up)과 함께 사용했을 때 암컷 배아의 비율이 약 58%-64%까지 증가한다고 보고했다[5]. 이 과정은 Wen et al.이 밝힌 것처럼, R848이 X 정자의 에너지 대사 경로를 억제하기 때문으로 추정된다[6]. 한편, WGBS(전장 메틸화 분석)를 이용한 연구에서는 X·Y 정자 사이의 DNA 메틸화 차이가 확인되었다. Shanguan et al.은 홀스타인 황소 정자에서 상염색체 수준에서도 성별 간 메틸화 차이가 존재함을 밝혀, 향후 성감별용 분자표지 개발의 가능성을 제시하였다[7]. 이처럼 분자표적 기술(압타머, 면역표지 등)과 물리적 분리법(swim-up 등)을 함께 활용하는 방식은, 기존 기술보다 효율(최대 70%)과 접근성(비용 절감, 장비 간소화)을 동시에 높이는 방향으로 발전하고 있다[6,12,14,19,20]. 향후 이러한 연구들은 실제 번식 현장에서 성비 조절의 정밀도와 경제성을 개선하는 데 큰 도움을 줄 것으로 기대된다[5-7,19].

2) 기술별 한계 및 개선 방향

현재의 성감별 기술은 아직 여러 현실적인 문제를 안고 있다. 첫째, 비용과 장비 문제가 크다. WGBS나 유세포분석은 장비와 비용 부담이 크기 때문에, 실제 산업 현장에서는 표적 PCR이나 EM-seq 같은 저비용 검사로 전환하는 노력이 필요하다[1,7,8]. 둘째, 정자의 손상 문제가 있다. 염색이나 고속 분류, 화학적 처리 과정에서 정자의 생존률이 낮아질 수 있기 때문에, 비접촉 방식(예: 압타머-비드 이용)이나 처리 조건의 세밀한 조절이 중요하다[1,20,21]. 셋째, 종이나 품종에 따라 결과가 다를 수 있다는 점이다. 예를 들어 Zhang et al.은 TLR7/8 작용제(R848)를 이용한 성감별에서 긍정적인 결과를 보고했지만[10], Zhao et al.은 같은 방법에서 일관된 효과를 보지 못했다고 발표했다[4]. 이는 종·품종·정액 상태에 따라 결과가 달라질 수 있음을 의미한다. 넷째, 메틸레이션의 변동성도 중요한 한계다[16,17,21]. 메틸화 정도는 나이, 환경, 처리 조건 등에 따라 달라질 수 있으므로, 장기적으로 안정적인 표지를 찾는 추가 연구가 필요하다[7,16,17]. 마지막으로, 실용화를 위해서는 통합된 파이프라인 구축이 요구된다. 연구 단계에서 표지를 찾고, 이를 바탕으로 간단한 현장용 검사법을 만들며, 실제 농가 단위에서 수정률과 경제성을 검증하는 단계적 과정이 마련되어야 한다[1,7,17,19].

결국 WGBS 기반 후성유전학 분석은 정자의 분자적 차이를 밝히고 성감별 기술의 기초를 제공하는 매우 유용한 방법이지만[7,16,17], 상업적 활용을 위해서는 비용 절감, 정자 생존성 확보, 다양한 품종에서의 재현성 검증이 필요하다[1,4,7,17,18,21]. 압타머 기반 기술과 TLR7/8 작용제 같은 새로운 접근들은 가능성을 보여주었지만, 안정성·보편성·경제성 면에서 추가 검증이 필요한 연구 단계에 머물러 있다[4,5,6,10,19,20].

결론

본 연구는 가축 번식에서 성비 조절의 효율성을 높이기 위한 정자 성감별 기술의 분자적 기반과 최근 연구 동향을 종합적으로 검토하였다. X 정자와 Y 정자는 DNA 함량뿐 아니라 막 단백질 구성, 에너지 대사 경로, 후성유전적 메틸화 양상 등 다층적 수준에서 차이를 보이며, CLRN3, SCAMP1, ATP11C, SPA17 등의 단백질과 TLR7/8 수용체, 메틸화 관련 유전자가 핵심 분자 표지로 확인되었다. 이러한 생물학적 이질성은 정자의 기능적 차이를 설명함과 동시에, 성감별 기술 개발의 분자적 근거를 제공한다.

현재 상용화된 유세포 분석법은 높은 정확도를 지니지만, 장비 비용과 정자 손상 등의 한계를 가진다. 이에 비해 프로테오믹스, TLR7/8 작용제, 압타머, WGBS 기반 기술은 비침습적 대안으로 주목받고 있으나, 재현성 부족과 실용화 한계가 존재한다. 따라서 향후 연구는 저비용·비접촉형 기술 개발, 표준화된 분리 프로토콜 확립, 정자 생존성 및 멀티오믹스 기반 표지 검증에 초점을 두어야 하며, 특히 TLR7/8과 압타머 융합 기술은 성감별 효율 향상에 가장 유망한 접근으로 평가된다.

요약하면, 정자 성감별 기술은 단순한 성비 조절을 넘어 맞춤형 번식 전략과 경제적 생산성 향상을 가능케 하는 핵심 기술로 자리매김하고 있다. 분자 수준의 정밀한 이해와 기술적 혁신의 융합은 향후 지속 가능한 축산 시스템 구축과 고부가가치 가축 생산에 결정적으로 기여할 것으로 기대된다.

Conflict of Interest

The authors no potential conflict of interest.

감사의 글

본 논문은 전남대학교 산학협력단의 지원을 받아 수행된 연구임(과제번호: 2025-0843-01).

References

1. Drescher H, Weiskirchen S, Weiskirchen R. Flow cytometry: a blessing and a curse. *Biomedicines*. 2021;9:1613.
2. Shen D, Zhou C, Cao M, Cai W, Yin H, Jiang L, et al. Differential membrane protein profile in bovine X- and Y-sperm. *J Proteome Res*. 2021;20:3031-3042.
3. Pinto-Pinho P, Quelhas J, Impens F, Dufour S, Van Haver D, Lopes G, et al. The surface proteome of bovine unsexed and sexed spermatozoa. *Animals*. 2025;15:484.
4. Zhao R, Liu J, Bakhtari A, Shen J, Fayad-Costa A, Wang B, et al. Evidence against the role of toll-like receptors 7 and 8 in sex selection in mice, cattle, and humans. *iScience*. 2025;28:113164.
5. Meel M, Gaur M, Punetha M, Dahiya P, Mangal M, Bala R, et al. Use of R848, a TLR 7/8 agonist to separate X and Y spermatozoa in buffalo: effects on cleavage rates, blastocyst production, and the ratio of male to female embryos. *Theriogenology*. 2025;247:117576.
6. Wen F, Liu W, Li Y, Zou Q, Xian M, Han S, et al. TLR7/8 agonist (R848) inhibit bovine X sperm motility via PI3K/GSK3 α/β and PI3K/NF κ B pathways. *Int J Biol*

- Macromol. 2023;232:123485.
7. Shangguan A, Ding F, Ding R, Sun W, Li X, Bao X, et al. Whole-genome bisulfite sequencing of X and Y sperm in Holstein bulls reveals differences in autosomal methylation status. *BMC Genomics*. 2025;26:282.
 8. Leung KK, Schaefer K, Lin Z, Yao Z, Wells JA. Engineered proteins and chemical tools to probe the cell surface proteome. *Chem Rev*. 2025;125:4069–4110.
 9. Xu X, Yin K, Xu S, Wang Z, Wu R. Mass spectrometry-based methods for investigating the dynamics and organization of the surfaceome: exploring potential clinical implications. *Expert Rev Proteomics*. 2024;21:99–113.
 10. Zhang X, Guo S, Hu Z, Zhu D, Liang HR, Wen F, et al. TLR7/8 agonist R848 regulates X sperm energy metabolism in dairy cows via inhibiting glycolysis and fatty acid β -oxidation by LKB1/AMPK pathway. *FASEB J*. 2025;39:e70788.
 11. Stickdorn J, Stein L, Arnold-Schild D, Hahlbrock J, Medina-Montano C, Bartneck J, et al. Systemically administered TLR7/8 agonist and antigen-conjugated nanogels govern immune responses against tumors. *ACS Nano*. 2022;16:4426–4443.
 12. Ni S, Zhuo Z, Pan Y, Yu Y, Li F, Liu J, et al. Recent progress in aptamer discoveries and modifications for therapeutic applications. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2021;13:9500–9519.
 13. Tuerk C, Gold L. Systematic evolution of ligands by exponential enrichment: RNA ligands to bacteriophage T4 DNA polymerase. *Science*. 1990;249:505–510.
 14. Guo KT, Ziemer G, Paul A, Wendel HP. CELL-SELEX: novel perspectives of aptamer-based therapeutics. *Int J Mol Sci*. 2008;9:668–678.
 15. Fang Z, Feng X, Tang F, Jiang H, Han S, Tao R, et al. Aptamer screening: current methods and future trend towards non-SELEX approach. *Biosensors*. 2024;14:350.
 16. Hossain MN, Gao Y, Hatfield MJ, de Avila JM, McClure MC, Du M. Cold exposure impacts DNA methylation patterns in cattle sperm. *Front Genet*. 2024;15:1346150.
 17. Fouéré C, Costes V, Hozé C, Raja Ravi Shankar A, Besnard F, Costa Monteiro Moreira G, et al. Genetic regulation of sperm DNA methylation in cattle through meQTL mapping. *BMC Genomics*. 2025;26:771.
 18. Leipold MD, Newell EW, Maecker HT. Multiparameter phenotyping of human PBMCs using mass cytometry. In: Shaw A, editor. *Immunosenescence. Methods in molecular biology*. New York, NY: Humana Press; 2015. p. 81–95.
 19. Singh SK, Kumar R, Vats P, Gangwar DK, Mathur M, Rani R, et al. Aptamer-based selective enrichment of X and Y sperm: a new frontier in livestock breeding. *Int J Biol Macromol*. 2025;329:147816.
 20. Singh SK, Kumar R, Mathur M, Kamboj H, Kaushik JK, Mohanty AK, et al. Exploring aptamers for targeted enrichment of X sperm in bovine: unraveling selective potential. *Anim Biotechnol*. 2024;35:2323592.
 21. Bai L, Zhao Y, Zhou Y, Song Y, Xiao H, Zhao G, et al. Advances in immunological sorting of X and Y chromosome-bearing sperm: from proteome to sex-specific proteins. *Front Vet Sci*. 2025;12:1523491.