



A Mouse for Better Life

(재)국가마우스표현형분석사업단에서는 소식을 통해 유전자변형마우스(GEM) 표현형 연구의 동향을 주기적으로 제공하고 연구자들의 이야기를 공유하려고 합니다. 공감가고 재미있는 콘텐츠로 구성된 소식을 만들고자 노력하겠습니다. 연구자 분들의 많은 기대와 성원 부탁드립니다.

Issue & People

길에서 흔하게 볼 수 있는 쥐, 일명 야생 마우스도 동물모델로 활용된다는 사실, 다들 알고 계셨나요?
야생 마우스 포획부터 실험까지 담당하는 한림대학교 김보영 연구원의 이야기를 들어보겠습니다



한림대학교
김보영_연구원

Q. 어떤 업무를 하고 계신가요?

야생 마우스를 포획하여 유전적 조성이 동일한 근교계를 육성하고, 청정화(SPF)를 진행 중에 있습니다. 또한, 포획한 야생 마우스의 특징을 분석하기 위해 형태, 유전적, 생리적, 생화학적 특성 분석 및 야생 마우스의 마이크로바이옴에 관한 연구를 진행하고 있습니다.

Q. 야생 마우스를 연구하게 된 계기가 있으신가요?

야생 마우스에 관한 연구는 1) 야생 마우스의 유전적 다양성 조사, 2) tumor susceptibility 유전자와 같이 근교계 마우스에는 존재하지 않으나 야생 마우스만이 가지는 유전적 특징 연구, 3) 근교계 마우스 기원과 아종 분류, 4) 인간의 이주 경로를 추정, 5) 지역에 다발하는 토착 질병 연구에 많이 활용되고 있습니다. 최근에는 전임상 실험결과를 임상에 적용하기 위해서는 전임상 실험에 사용하는 실험동물의 마이크로바이옴의 중요성이 대두되고 있습니다. 대표적인 논문으로는 Science (2019;365:6452)로 가임신 시킨 야생 마우스에 근교계 마우스(C57BL/6)의 수정란을 착상시켜 태어난 마우스를 “Wildlings”으로 칭하고, 이 마우스는 생체 내에서 자연 유래 미생물군총(microbiota)와 병원체(pathogens)를 가지면서 C57BL/6의 통제 가능한 유전체를 가지고 있음. Wildlings는 사람에서 볼 수 있는 면역체계를 가지고 있어 관련분야 전임상 실험에 매우 적합하다는 결과를 발표하였습니다. 국내에서 공급되는 대부분의 마우스는 상당한 액수의 로열티를 지불하고 있으나, 한국 야생

마우스를 근교계화 및 청정동물화 하는 것은 한국 유래의 생물자원을 바탕으로 이루어진 연구 결과이므로 특허 문제가 없어 관련 산업체에 기술이전이 가능합니다.

Q. 야생 마우스는 주로 어느 장소에서 언제 포획하시나요?

야생 마우스는 추운 겨울 환경을 대비해 가을에 추수를 하고 쌓아 두는 들깨단 혹은 짚단에 집을 짓고 생활을 합니다. 들깨단은 보온도 가능하지만 남아있는 들깨를 먹이로도 가능한 장점이 있습니다. 겨울이 지나고 봄이 되어 땅이 녹는 시기인 3월 말에서 4월 초순에 춘천 근교에 있는 들깨단에서 야생 마우스를 포획합니다. 트랩을 사용하여 야생 마우스를 포획하면 야생성이 강한 마우스는 스트레스로 사망을 하기 때문에 연구원들이 들깨단을 들어 올리면 야생 마우스가 달아날 때 다른 연구원들이 손으로 야생 마우스를 포획합니다.



포획한 야생 마우스

Q. 연구 과정에서 생긴 재미있는 에피소드가 있나요?

야생 마우스를 포획할 때 연구자의 안전을 위해 동물실에서 사용하는 일회용 방진복과 보호 장비를 착용하는데 이러한 행동을 수상하게 생각한 주민의 신고로 경찰이 출동 한적도 있습니다. 포획 장소로 주변에 살고 계신 어르신들께서 저희가 무엇을 하고 있는지 보러 오시고, 저희도 그런 어르신들께 포획한 야생 마우스를 보여드리기도 하며, 어떤 연구를 진행하는지 간단하게 설명드리기도 합니다. 그럴 때마다 어르신들께서는 야생 마우스가 더 많이 있는 장소를 알려주시기도 합니다. 무엇보다도 어르신들은 농가에 도움이 안 되는 야생 마우스들을 잡아가지워서 고맙다고 말씀하십니다.



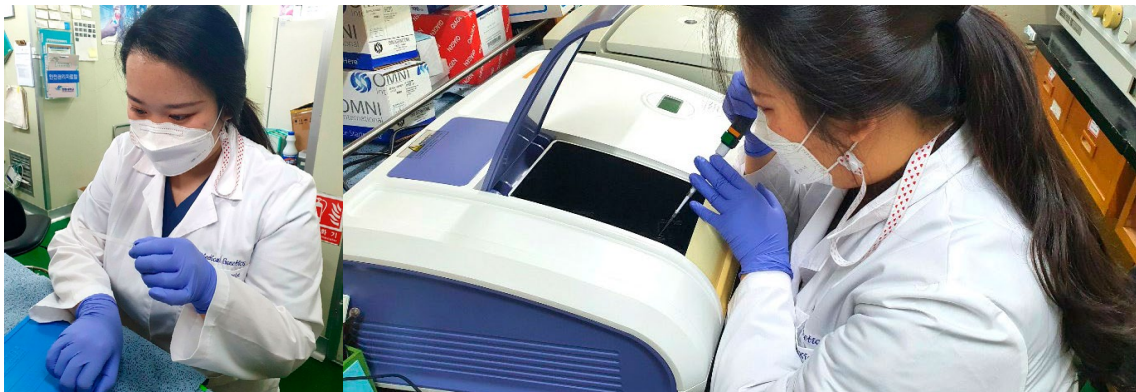
방진복과 보호장비를 착용한 한림대학교 의과대학 의학유전학교실 학생들

Q. 실험용 마우스, 야생 마우스를 연구에는 어떤 차이가 있나요?

동물실험에 주로 사용하는 마우스는 체중이 30~40g 정도로 온순하지만, 야생 마우스는 성체 체중이 15g 정도이며, 매우 민첩하여 케이지를 교환하거나 실험을 할 때 숙련이 필요합니다. 따라서 일반 실험동물을 이용하는 연구와는 전혀 다르게 세심한 관리가 필요합니다. 야생 마우스가 탈출할 수 없는 특수 케이지를 자체 제작하여 사용하며, 사료와 고구마를 제공하여 계통을 유지 하고 있습니다.

Q. 실무 수행하면서 느끼는 애로사항이 있으신가요?

야생 마우스를 포획하고 계통화 시키는 연구실이 국내에는 없습니다. 따라서 야생 마우스 관리나 연구에 필요한 기구는 실험실 내에서 자체 제작하여 사용하고 있습니다. 아무래도 이러한 부분에서 시행착오가 많이 생기기 때문에 실험이 오래 걸리는 애로사항이 있습니다.



Q. 연구 환경 개선을 위해 빨리 구축됐으면 좋겠다고 생각하시는 인프라가 무엇인가요?

야생 마우스는 사람과 함께 이동을 합니다. 그래서 특정 지역의 야생 마우스는 같은 지역에서 생활하는 사람의 질병을 동반하기도 합니다. 우리나라 모든 지역에서 야생 마우스의 분포와 특징을 파악하여 데이터를 축적하면 특정 지역에 발생하는 질병에 대해 대비를 할 수 있습니다. 따라서 야생 마우스 연구를 위한 인프라 구축과 전문가 양성이 필요합니다. 또한 야생 마우스를 이용한 실험동물 자원의 확보는 기존의 근교계를 실험에 사용할 때 부담해야하는 로열티를 지불하지 않아도 되는 장점이 있어 지속적인 연구 지원이 필요합니다.

생명과학 이슈

코로나바이러스감염증-19(COVID-19) 치료제 및
백신개발을 위한 마우스 실험



연세대학교 의과대학
남기택_교수

코로나바이러스감염증-19 (COVID-19)이란?

코로나바이러스감염증-19 (이하 COVID-19)는 2019년 12월, 중국 후베이성 우한에서 처음 발생하였으며, 현재는 전 세계적으로 확산된 호흡기 감염 질환입니다. 발생 초기에는 명확한 원인과 전파경로가 밝혀지지 않은 호흡기 전염병으로 알려졌으나, 2020년 1월 9일 세계보건기구 (이하 WHO)가 새로운 유형의 코로나바이러스 (SARS-CoV-2, 국제바이러스분류위원회 '20.02.11 명명)에 의한 감염으로 규명하였습니다. 중국, 아시아 전역을 넘어서 전 세계에 COVID-19 확진자가 속출함에 따라, WHO는 1968년 홍콩독감, 2009년 신종플루에 이어 사상 세번째로 세계적 대유행을 선포하였습니다 (2020.3.11).

SARS-CoV-2 감염 경로는 비말, 접촉을 통해 전파된다고 알려져 있고 감염에 따른 주요 증상으로 발열, 기침, 호흡곤란 및 폐렴 경증에서 중증까지 다양한 호흡기감염 증상이 나타납니다. 국내에서는 2020년 1월 20일 COVID-19의 첫 감염사례가 발표되었으며, 2020년 11월 24일 기준, 누적 확진환자는 31,353명에 달하고, 사망환자는 496명에 이르며, 치명률 (사망자수/확진자수 x100)은 남성 1.82%, 여성 1.48%에 달합니다. (그림 1)

| 확진환자 | | | 격리해제 | | 격리중 | | 사망 | |
|--------|-------|------|--------|-------|-------|-------|-----|------|
| 누적 | 전일대비 | | 누적 | 전일대비 | 누적 | 전일대비 | 누적 | 전일대비 |
| 32,887 | 소계 | 국내발생 | 27,103 | + 153 | 5,268 | + 415 | 516 | + 1 |
| | + 569 | 525 | | | | | | |

그림 1. COVID-19 국내 누적 확진자 현황(11.27.00시 기준)

외국의 경우 유행률과 치명률이 국내에 비해 월등하게 높은 상황으로, 최근 미국의 경우 일 확진 환자가 10만명을 넘기는 등 확산세가 지속되고 있습니다.

COVID-19 치료제 및 백신 개발 동향

COVID-19에 특이적인 치료법이나 감염 억제를 위해 사용할 수 있는 특이적인 항바이러스 치료제나 백신은 아직 개발되지 않는 상태입니다. 화이자, 모더나 등 다국적 대형 제약사에서 백신 개발소식이 들려오고 있긴 하지만 보급 및 효과를 논하기에는 아직 무리가 있다고 여겨집니다.

RNA 바이러스인 코로나 바이러스 특성상, 항원 다양성이 크고 변이가 빈번하게 일어나므로 새로운 백신 및 타겟 치료제 개발이 쉽지 않은 것이 현실입니다. 또한 COVID-19는 확산이 빠른 특성을 가지고 있으므로, 전 세계적 COVID-19 치료제 관련 임상연구의 대표적인 특징은, 기존에 허가받은 치료제 또는 안정성이 담보되면서 효능이 충분히 입증되지 않은 신약후보물질을 다시 검토해 COVID-19 치료에 사용할 수 있는지에 대한 연구 (신약재창출, drug re-positioning) 방향으로 수행 중에 있습니다.

COVID-19 확진자 및 사망자의 세계적인 증가추세에 발맞추어 백신후보물질, 치료후보물질의 임상시험이 긴급승인되고 있긴 하나, COVID-19 전임상 연구를 통해 검증이 필요한 치료 및 백신의 효능, 약물 농도, 부작용사례 등이 매우 부족한 것이 사실입니다. 따라서, COVID-19 백신 및 치료후보물질의 임상시험뿐만 아니라, 유효성 및 안전성을 검증하기 위한 전임상 동물실험이 반드시 필요 합니다.

SARS-CoV-2 감염 동물 모델

COVID-19의 대유행으로 SARS-CoV-2 감염동물 모델이 빠르게 개발되고 있으며, 이 단계에서의 가장 큰 관건은 인간과 유사한 바이러스 반응 및 약물 반응을 보이는 동물모델을 만들어야 하는 것입니다. 이를 위하여, 우선 동물이 SARS-CoV-2에 감염되어야 하며, 감염 뒤 사람과 비슷한 감염 증상을 보여야 하는 것이 필수적입니다. 실험 동물 중 페렛과 고양이는 SARS-CoV-2 감염에 민감하다고 알려져 있으며, 반면 개, 돼지, 닭, 오리는 SARS-CoV-2 감염에 대한 민감도가 상대적으로 낮아 감염 및 전파력이 떨어지는 것으로 보고되고 있습니다.

SARS-CoV-2 바이러스는 사람의 심장과 콩팥, 위장점막 또는 폐에 많이 발현하는 엔지오텐신 전환효소 (human angiotensin converting enzyme 2 (hACE2), 이하 hACE2)와 결합하여 체내로 유입됩니다 (그림 2).

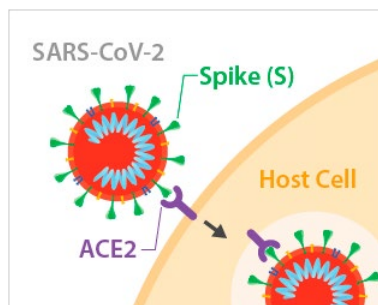


그림 2. SARS-CoV-2 바이러스 타겟 수용체

여러 가지 장점 때문에 실험동물로 가장 많이 연구되고 활용되는 마우스는 ACE2 단백질이 사람과 차이를 보이기 때문에 COVID-19 연구를 위하여 hACE2 단백질을 발현하는 마우스를 만들어야 합니다. K18 프로모터 특이적 hACE2를 발현하는 형질전환 마우스 모델 (K18-hACE2 Tg)이 2007년 개발되어 있으며, 해당 모델을 이용하여 SARS-CoV-2 감염에 관한 전임상 연구들이 진행 중입니다. hACE2 발현 마우스 모델은 SARS-CoV-2의 감염, 그에 따른 체중감소 및 폐 병변, 면역반응 등의 특성이 사람과 매우 유사하다는 점에서 전임상 연구에 적합합니다 (그림 3).

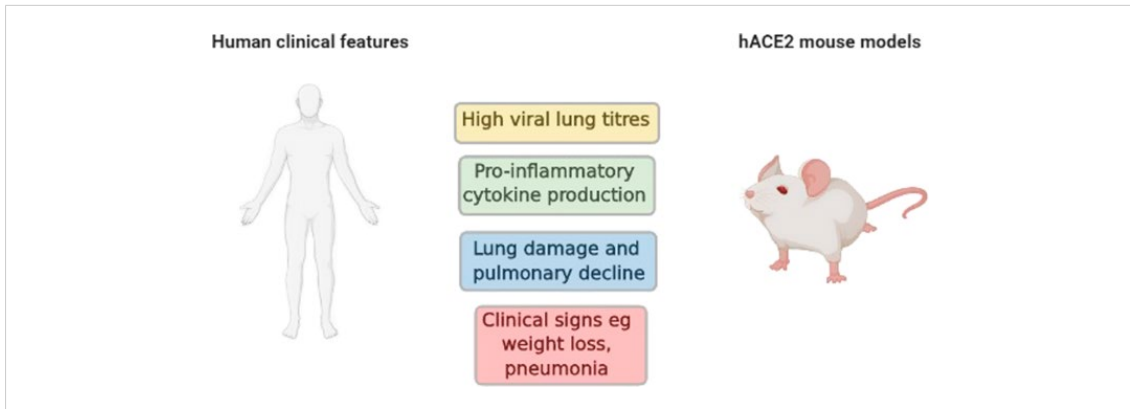


그림 3. 사람과 hACE2 마우스 모델의 SARS-CoV-2 감염 특성 비교

SARS-CoV-2 감염 전임상 실험 및 병리 분석

SARS-CoV-2 감염 시설 및 출입

SARS-CoV-2와 같은 고위험성, 감염성 미생물은 생물안전 3등급 연구시설 (BSL-3 laboratory)에서 실험이 이루어 집니다. BSL-3는 취급생물체 및 생물재해로부터 실험자 및 피실험자의 안정성 확보를 위한 시설입니다. 해당 시설은 사전에 허가를 받은 실험자에 한하여 출입이 가능하며, 실내 위험균의 외부 유출 방지를 위해 항상 공기흐름이 BSL-3쪽으로 향하게 차압이 걸려있습니다.

출입 시에는 규정에 맞는 복장 및 개인 호흡 장비를 갖추어야 합니다 (그림4).



그림 4. BSL-3 시설 출입 시 보호복 착용 절차

마우스 모델의 SARS-CoV-2 감염 및 모니터링

SARS-CoV-2 바이러스는 K18-hACE2 Tg 마우스 마취 후, 비강에 직접 접종하여 감염을 유도합니다 (그림5).

감염 후에는 1일 1회 이상 마우스의 상태, 행동분석, 식이섭취, 체중, 체온 계측 등을 통하여 마우스 상태를 점검, 모니터링 합니다. 감염 전 대비, 마우스 체온 25℃ 이하, 체중 25% 이상 감소가 보이면 마우스는 안락사하여 부검을 진행합니다. 이러한 급격한 변화가 없을 시에는 정해진 감염 후 실험 일정(Dpi)에 따라 마우스 부검을 진행하게 됩니다.

치료제 전임상 실험의 경우, SARS-CoV-2 감염 이후 약물 기전에 따라 치료제 투여시기가 결정됩니다. 백신의 전임상 실험은 백신투여를 통해 immunization을 유도한 이후 SARS-CoV-2 감염을 진행하고 치료제의 경우 감염 후 일정에 따라 약물을 임상경로로 감염마우스에 투여합니다.

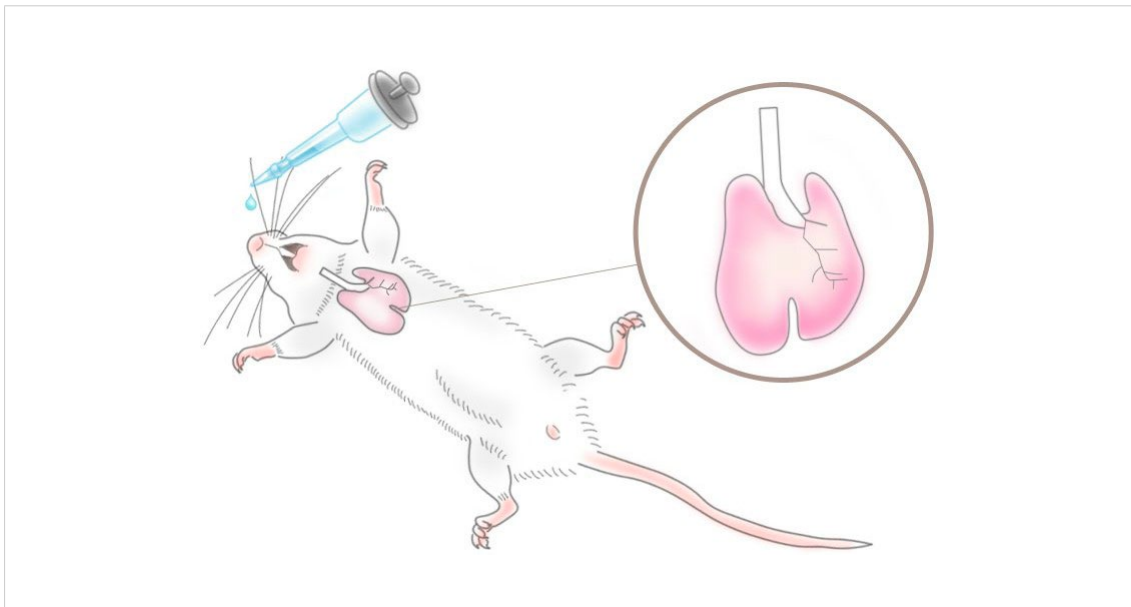


그림 5. SARS-CoV-2 바이러스의 마우스 비강 접종

마우스 모델의 부검 및 조직 표본 제작

마우스의 안락사가 시행되면 RNA 분석을 위한 샘플, SARS-CoV-2 바이러스 역가 측정을 위한 샘플 및 조직병리학적 분석을 위한 샘플 등 다양한 목적에 맞도록 장기의 적출 및 조직의 분배가 이루어 집니다.

조직병리학적 분석을 위해서는 부검 즉시 고정액 처리 및 외부 노출 최소화를 위한 신속고정방법으로 shaking 을 수행 해야하며, 사용되는 고정액은 SARS-CoV-2 바이러스의 불활화를 위하여 10% 중성 포르말린을 사용합니다.

24시간 이상 고정 후, 명확한 조직병리 분석을 위하여 주변 조직을 덜어내고 원하는 조직단면만을 얻기 위한 조직 삭정 (trimming)을 수행합니다. 조직삭정은 장기 특성과 무게 등을 고려하여 카세트에 담아 포매 (embedding)를 진행합니다. 포매에는 파라핀이 사용되며 이를 이용한 조직보관 방법은 장기간 보관이 용이하고, 온도 및 습도에 큰 영향을 받지 않는다는 장점이 있습니다. 제작된 파라핀블록은 얇게 박절하여 슬라이드에 올린 뒤, Hematoxylin & Eosin으로 염색하고 이를 통해 조직의 구조를 관찰하고 분석합니다 (그림6).

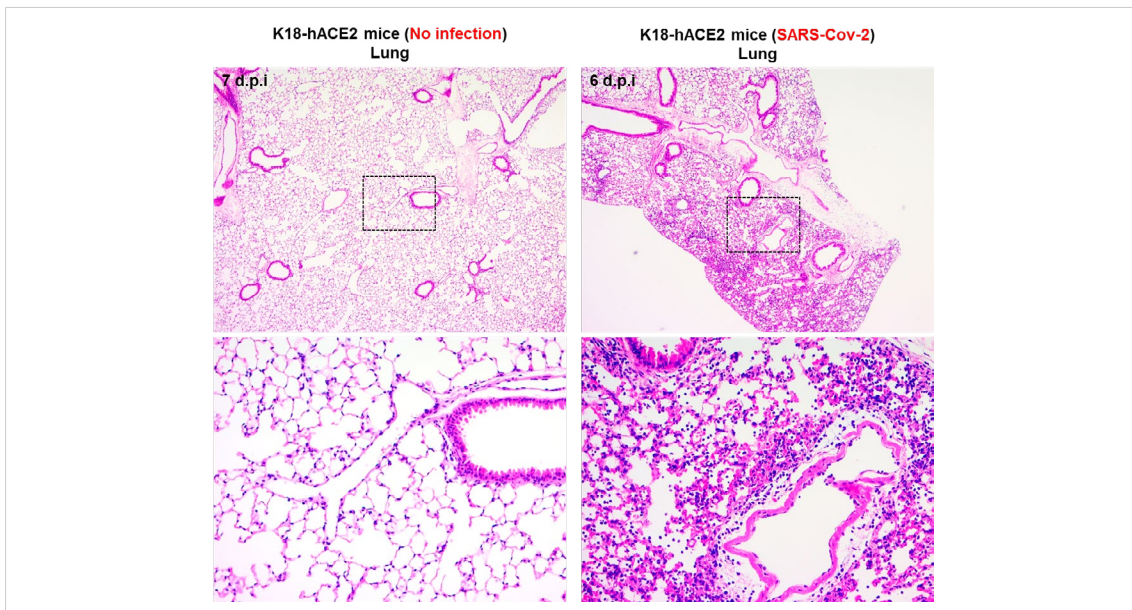


그림 6. SARS-CoV-2 감염 전후 K18-hACE2 Tg 폐 조직병리 비교

조직병리는 폐장을 포함하여 관련된 장기를 조직병리전문가에 의해 판독되면 폐의 경우 염증의 성격 분포 등을 판독하고 기관지 및 폐포의 범위까지 판단하여 각 파라미터에 맞추어 스코어링(점수화)하여 정량적으로 평가하여 폐 병변을 확인합니다. K18-hACE2 Tg 모델은 SARS-coV-2 바이러스에 감수성을 가지고 있으며, 감염 시 나타나는 폐 병변을 확인할 수 있으므로 COVID-19 치료제 및 백신 개발 전임상 모델로 활용이 가능할 것으로 기대합니다.

사업단 소식

(재)국가마우스표현형분석사업단에서 개최하는 주요 행사와 성과를 전해드립니다.

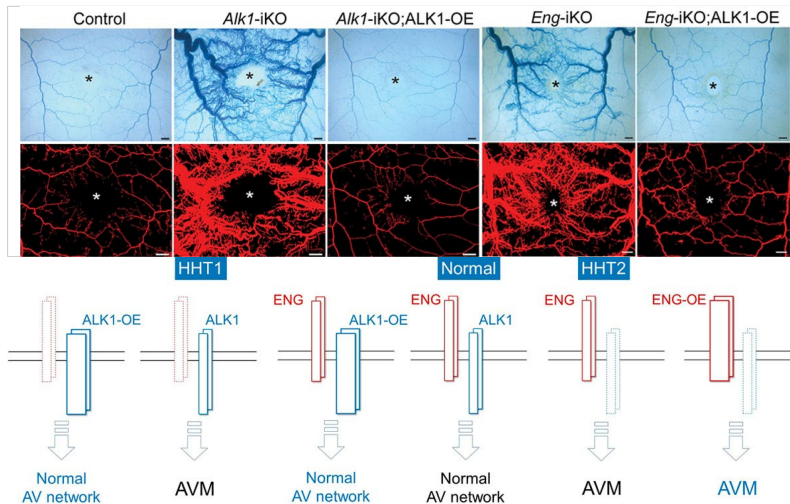
또한 연구에 도움을 드릴 수 있는 사업단의 서비스에 대해 소개하고 있사오니

연구자 분들의 많은 이용 바랍니다.

01. 대표성과

유전성출혈성모세혈관확장증 발병기전 규명 및 새로운 치료법 제시

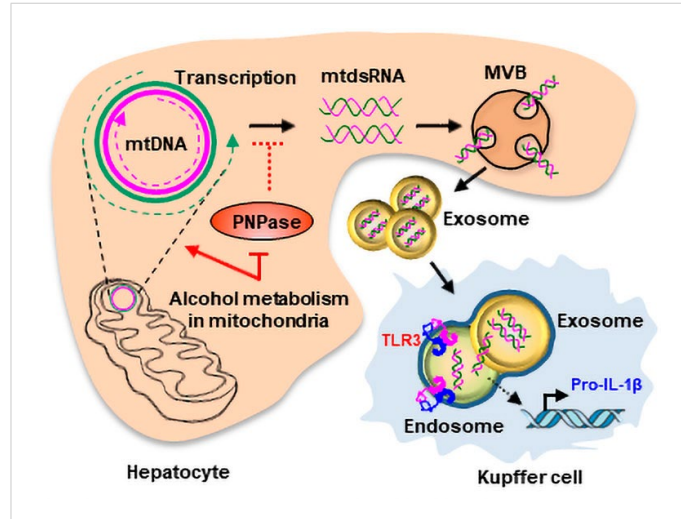
주로 TGF- β 신호전달계의 수용체인 ALK1 혹은 ENG 유전자의 돌연변이에 의해 발생하는 혈관질환인 유전성출혈성모세혈관확장증은 두 경우 모두 혈관내피세포에서 ALK1의 과발현을 통해 특별한 부작용 없이 발병을 억제시킬 수 있음을 마우스 모델을 이용하여 증명하였음. 이를 통해 유전성출혈성모세혈관확장증과 관련하여 ALK1이 ENG의 하위에 존재하는 linear pathway를 이루는 것을 밝히고, 나아가 이 질환의 치료를 위해 ALK1의 과발현 혹은 활성 증가라는 새로운 치료법을 제시함.



*논문 Circ Res(IF: 14.467)에 게재

알코올성 지방간염 발생 시 미토콘드리아 RNA역할 규명

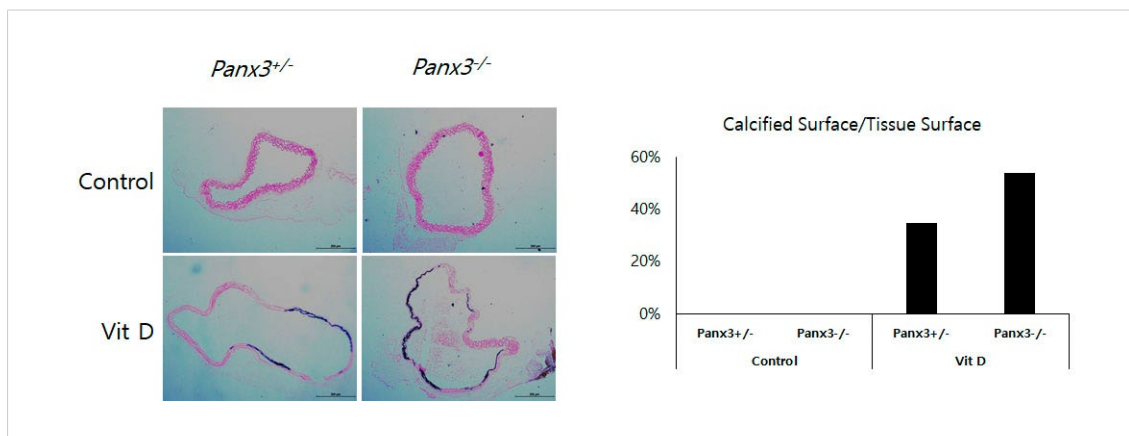
알코올성 지방간염 새로운 기전을 규명하고 미토콘드리아 dsRNA 존재를 규명함. 알코올성 간질환의 경우 그간 발생기전이 명확하지 않아 금주 외에 치료법이 없었는데 이 연구 결과로 신약 개발이 기대됨.



*논문 Hepatology (IF: 14.679)에 게재됨

Pannexin3 조절제를 유효성분으로 함유하는 석회화 예방 또는 치료용 조성물

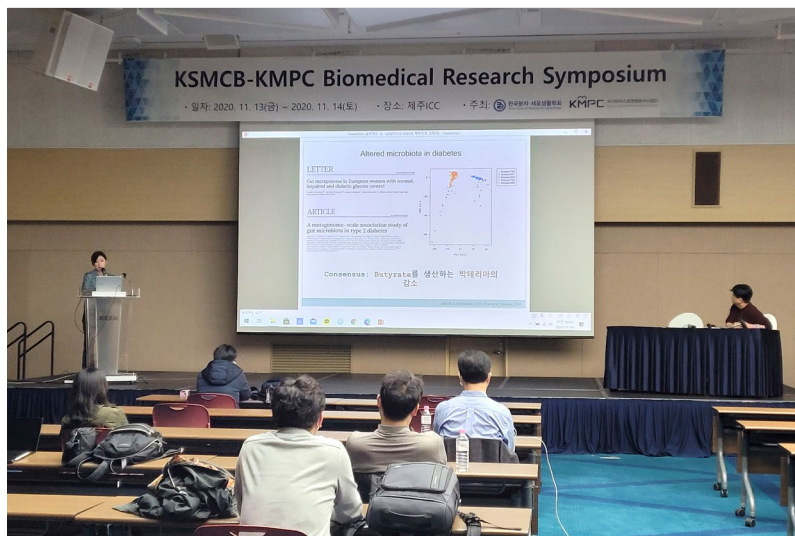
Pannexin3는 기질 소포 단백질로 뼈의 항상성 유지에 중요한 작용을 함. Pannexin3가 이소성 석회화에 주는 영향을 관찰하기 위하여 고용량 비타민 D를 이용한 석회화 모델을 사용하여 연구한 결과 Pannexin3가 결실된 마우스에서 혈관 석회화가 증가함을 발견. 이로써 pannexin3의 발현을 조절하여 혈관석회화를 치료하는 가능성을 제시.



*특허: Pannexin3 조절제를 유효성분으로 함유하는 석회화 예방 또는 치료용 조성물(출원번호 10-2020-0036947), Pannexin3 조절제를 유효성분으로 함유하는 근육 재생용 조성물(출원번호 10-2020-0036948)

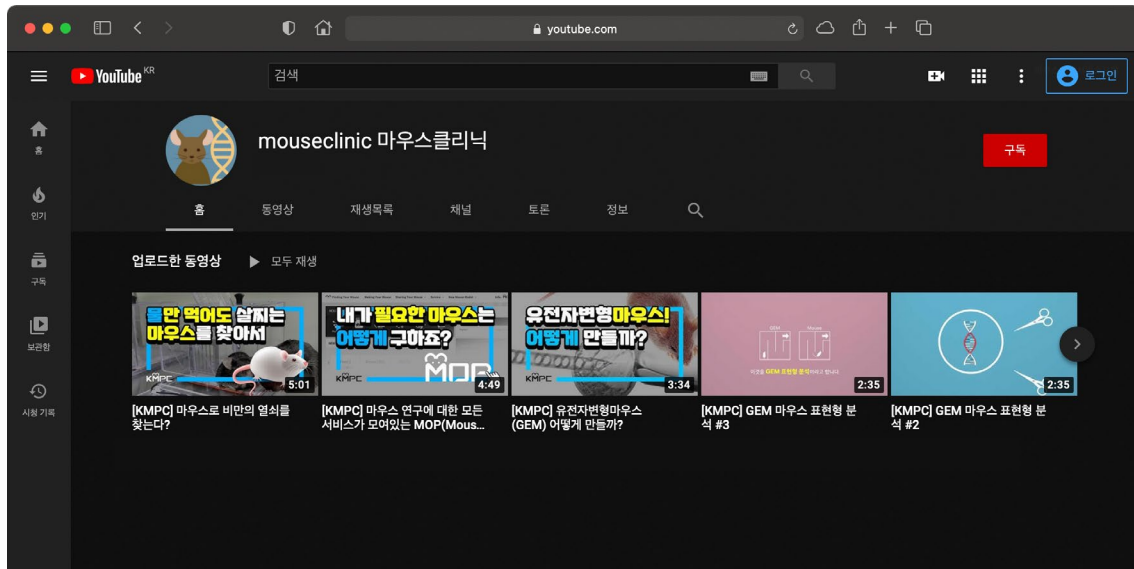
02. 사업단 소식

KSMCB-KMPC Biomedical Research Symposium



국가마우스표현형분석사업단은 바이오·의학 분야 연구자들과 학술연구 협력 강화를 위해 분자세포생물학회 (KSMCB)와 Biomedical Research Symposium을 공동주최했다. 제주국제컨벤션센터에서 11월 13일부터 14일까지 이틀간 진행된 학술행사는 30여명의 연구자가 모여 COVID-19, 동물모델, 감각기, 대사성 질환, 장내 미생물 등 바이오·의학의 다양한 주제에 대해 연구발표를 진행했다. 연자로 참여한 연세대학교 황성순 교수는 “올해 코로나19 때문에 교류할 자리가 줄어서 아쉬웠는데 이렇게 연구자 간 소통할 수 있는 자리가 마련되어 기쁘다”고 소감을 밝혔다.

공식 유튜브 채널 mouseclinic개설



mouseclinic

국가마우스표현형사업단에서는 지난 10월 공식 유튜브 채널 “mouseclinic”을 개설하여 운영중이다. 일반인들에게 생소한 ‘표현형 분석’이라는 개념을 설명하는 홍보영상 업로드를 시작으로 연구자들을 위한 MOP 서비스 안내, GEM 제작 과정 등을 업로드했다. 성제경 단장은 “사업단의 주요 과제를 설명하는 영상을 추가로 업로드할 것”이라며 “다른 채널과 콜라보하는 등 구독자수를 늘릴 수 있는 방안을 모색중”이라고 포부를 밝혔다.

03. 신규 제작 GEM 소개

(재)국가마우스표현형분석사업단에서는 유전자변형마우스(GEM) 제작 및 분양 서비스를 제공하고 있습니다. 연구자 여러분의 많은 이용 바랍니다. 제작된 GEM 중 연구자들의 관심과 문의가 많은 인기 GEM 10개를 소개해 드립니다.