KMPC

News Letter 2호

A Mouse for Better Life

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

Issue & People

(재)국가마우스표현형사업단은 현재 14개의 기관의 28명의 연구 책임자와 수많은 실무자로 구성되어 있습니다. 소식지 <Issue&People>에서는 연구자들을 만나 그들의 진지한 연구 이야기와 숨은 뒷 얘기를 들어보겠습니다.

01

생명과학이슈

한국과학기술원 정원일 교수의 "Pro-inflammatory hepatic macrophages generate ROS through NADPH oxidase 2 via endocytosis of monomeric TLR4-MD2 complex"(Nature Communication, 2017) 논문을 통해 간과 대사의 연관성에 대해 이야기해보겠습니다.

02

사업단 소식

(재)국가마우스표현형분석사업단에서 개최하는 주요 행사, 중과제별 주요 성과를 전해드립니다. 또한 연구에 도움을 드릴 수 있는 사업단의 서비스에 대해 소개하고 있사오니 연구자 분들의 많은 이용 바랍니다.

03

· **MOP 개편… 서비스 신청부터 마우스 관리까지 One-stop으로**

Mouse One Portal(mouseinfo.kr)에서는 GEM연구의 모든 것을 One-stop으로 해결할 수 있습니다.

· **신규 제작 GEM 소개**

(재)국가마우스표현형분석사업단에서는 유전자변형마우스(GEM) 제작 및 분양 서비스를 제공하고 있습니다.

과학기술정보통신부 NRF 한국연구재단 National Research Foundation of Korea IMPC International Mouse Phenotyping Consortium KMPC 국가마우스표현형분석사업단 KOREA MOUSE PHENOTYPING CENTER MOP 마우스종합서비스포털 MOUSE ONE PORTAL

Issue & People

이번 소식지에서는 특별히 2명의 연구자의 이야기를 담았습니다. 그 주인공은 국가마우스표현형분석사업단의 세부과제 중 배아 표현형 분석을 담당하는 가천대학교 이영재 교수와 한국생명공학연구원(이하 KRIBB)에서 마우스 자원의 보존과 청정화를 담당하는 서영원 연구원입니다.

가천대학교 이영재 교수

Q

배아 표현형 분석이란?

A

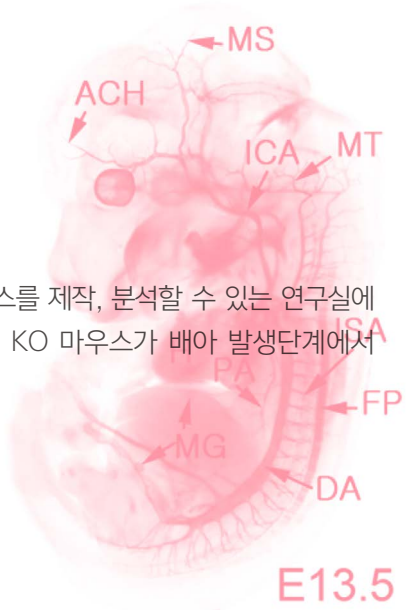
배아 표현형 분석은 크게 두 부분으로 나눌 수 있습니다. 하나는 International Mouse Phenotyping Consortium (IMPC)의 회원으로서 사업단에서 제작한 knockout (KO) 마우스 중 배아 발생 단계에서 죽는 KO 마우스 배아에 대한 기본 표현형 분석입니다. 기존에는 배아 표현형 분석이 일부에 집중되었지만 IMPC의 분석 파이프라인에 따른 배아 표현형 분석은 배아 발생단계의 4시기 (E9.5, E12.5, E14.5 혹은 E15.5, E18.5)를 대상으로 배아 전체에 대한 표현형 분석을 진행하고 있습니다. 추가적으로 E12.5 시기에 LacZ reporter를 이용한 대상 유전자의 발현 분석과 microCT를 이용한 분석도 이루어지고 있습니다.
두번째는 KO 마우스 배아의 2차 표현형 분석입니다. 기본 표현형 분석을 통해 얻어진 결과 중 흥미로운 표현형에 대해 심도 있는 분석을 진행하고 외부에서 의뢰한 배아 표현형 분석을 지원하고 있습니다.

Q

배아 표현형 분석 과정에서 느끼는 애로사항은?

A

우선은 성체 마우스가 아니라 embryo가 대상이기 때문에 배아를 얻기 위해 많은 개체를 교배해야 합니다. 또한 배아 표현형 분석으로 묶어서 이야기를 하지만 사실은 마우스의 모든 장기의 발달과정을 포함하고 있습니다. 처음 보는 표현형이 나올 경우 공부해야 할 것이 많지만 한편으로는 새로운 사실을 알아가는 재미가 있습니다.
또한 성체에서 기능이 많이 연구된 유전자라고 하더라도 배아에서는 전혀 기대하지 않았던 표현형이 나올 수 있습니다. 때문에 연구자는 넓은 시야로 결과를 바라봐야 합니다.



Q

배아 표현형 분석을 선택한 계기는?

A

처음에는 KO 마우스를 제작하고 표현형 분석을 하는데 흥미가 있어 KO 마우스를 제작, 분석할 수 있는 연구실에 포스트닥으로 갔습니다. KO 마우스를 만들고 분석하는 과정에서 대부분의 KO 마우스가 배아 발생단계에서 죽었습니다. 그래서 자연스럽게 배아 표현형 분석을 주로 하게 되었습니다.

Q

연구 과정에서 생긴 특별한 에피소드가 있다면?

A

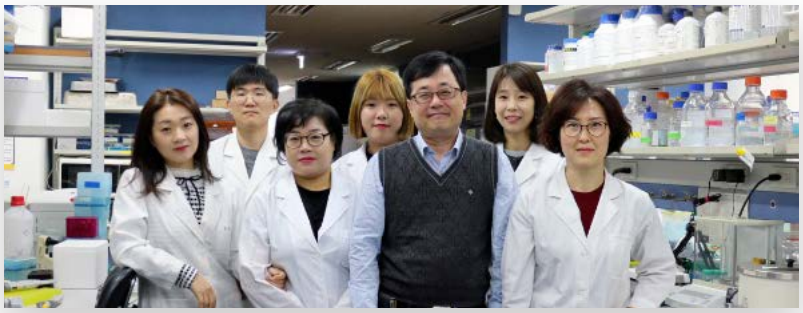
제가 미국에서 포스트닥을 할 때의 일입니다. 암과 관련된 것으로 추측되는 유전자의 KO 마우스를 제작하여 표현형을 분석했는데 관련이 없다는 결과가 나왔습니다. 그런데 당시 척추의 발달이 연구실의 주요 주제여서 '혹시?' 하는 마음에 KO 마우스 배아의 뼈를 염색해 보니 일부 척추가 갈라져 있고 정상보다 척추가 적다는 것을 발견했습니다.

Q

마우스 연구자로서 하고 싶은 말은?

A

제가 소속된 가천대를 비롯해서 많은 기관에서 마우스 사육 공간이 부족해 연구에 어려움을 겪고 있습니다. 이는 연구자가 개선할 수 없는 부분이기에 기관과 국가의 관심이 절실합니다.
특히 KO 마우스를 대상으로 연구하는 분들은 마우스 자원의 확보, 유지, 이동과 같은 기본적인 것부터 어려움을 느끼시리라 생각됩니다. 저를 포함해서 국가마우스표현형분석사업단이 마우스 연구자 분들께 작은 도움이나마 드릴 수 있도록 노력하겠습니다.



KRIBB 서영원 연구원

안녕하세요? 저는 KRIBB의 실험동물자원센터에서 연구용 마우스 자원의 동결보존, 마우스 수정란과 정자 관리, 감염된 실험동물의 청정화 등 마우스 자원의 효율적인 유지·관리를 담당하는 서영원입니다. 사업단에서 신규로 개발하거나 국내로 도입하는 GEM도 유지·관리하고 있습니다.

Q

마우스 자원 관리에서 느끼는 애로사항은?

A

사업단에서 신규로 제작하는 마우스뿐만 아니라 일반 연구자들이 보유하고 있는 마우스 자원도 우리 센터에서 보존하고 있습니다. 단시간에 적은 인력이 수백계통 마우스의 보존과 청정화를 진행하기 때문에 업무 과부하에 걸릴 때가 종종 있습니다. 같은 이유로 마우스 자원의 보존을 의뢰하는 연구자와 정보교환이 지체되는 경우도 있습니다.

Q

마우스 분양, 보존, 청정화 과정에서 수행하시면서 가장 주의하는 점은?

A

우리가 취급하는 마우스는 단순한 마우스가 아니라 국가 연구비를 사용하거나 과학 연구 수행에 이용되는 귀중한 자원입니다. 우리가 공급하는 마우스 자원이 연구결과의 신뢰도에 큰 영향을 미치기 때문에 품질 좋고 믿을 수 있는 자원이 될 수 있도록 최선의 노력을 기울이고 있습니다.

그림. KRIBB에서 수행하는 마우스 자원 관리, 청정화

Q

최근 마우스 자원 관리에서 중요한 이슈는?

A

국제적으로 마우스의 이동이 활발해지면서 발생하는 문제가 많아지고 있습니다. 마우스가 이동하면서 질병이 퍼지는 경우가 있는데 이는 마우스를 도입한 연구자 자신의 연구뿐만 아니라 마우스 시설을 공용하는 타 연구자의 연구에까지 악영향을 끼칩니다. 이를 해결하기 위해 동결수정란 또는 동결정자를 도입하고 있습니다. 동결정자·수정란을 청정 SPF 대리모에 이식하여 원하는 동물을 확보하는 것은 질병차단에는 효과적이지만 전 세계적으로 통일된 동결/해동 프로토콜이 없어 사용된 프로토콜마다 동결정자·수정란으로부터 마우스를 얻는 효율이 상이하여 또 다른 문제를 야기하고 있습니다.
그리고 동물이 이동할 때 각 기관마다 미생물 모니터링 항목이 다르기 때문에 SPF동물이라 하더라도 바로 반입을 못하고 청정화를 해야 하는 번거로움이 있습니다. 청정화의 재시행은 시간과 비용 측면에서 비효율적입니다.

Q

국내 마우스 자원 관리 측면에서 보완해야할 점이 있다면?

A

GEM 생산 기술이 발전하고 마우스를 이용한 연구가 증가함에 따라 우리 센터에서 다루는 마우스 자원의 양이 급증하고 있습니다. 마우스 자원 관리를 위해 이용하는 기술은 뒤지지 않지만 자원 증가에 따른 인력과 장비가 확보되지 않아 아쉬움이 남습니다. 인력과 장비의 추가지원이 적절하게 이루어지면 세계적인 마우스 자원 관리 기관에 필적하는 수준이 될 거라고 생각합니다.

Q

KMPC에 바라는 점은?

A

사업단은 외부 기관과 소통할 일이 많으므로 평소 사업단 내부에서 서로의 업무내용을 공유하고 업무 담당자가 바뀔 때마다 인수인계가 잘 이루어지도록 부탁드립니다.

생명과학 이슈

안녕하세요? 사업단에서 간의 대사 표현형 분석을 맡고 있는 한국과학기술원 정원일 교수입니다. 간단히 설명 드리면 특정 유전자가 결손된 마우스에 다양한 식이(정상식이, 고지방식이, 알코올 식이 등) 급여와 약물을 투여한 후, 마우스 간의 변화(지방, 염증, 섬유화, 암발생 등)를 분석하며, 특히 다양한 실질 및 간질세포들을 각각 분리하여 그 표현형 변화를 분석하는 세포분석이 특징적인 기술입니다. 이번에 발표한 "Pro-inflammatory hepatic macrophages generate ROS through NADPH oxidase 2 via endocytosis of monomeric TLR4-MD2 complex"(Nature Communication, 2017) 논문을 통해 간과 대사의 연관성에 대해 이야기해보겠습니다.

연구배경

지방간(hepatic steatosis, fatty liver)은, 알코올성 혹은 비알코올성 지방간으로 크게 나누어지는데, 비알코올성 지방간은 우리나라뿐만 아니라 전 세계적으로 유병률이 급상승하고 있으며 당뇨병(제2형), 비만(obesity) 및 대사질환(metabolic disorder)과 밀접한 관계를 가지고 있어 중요한 질환으로 분류되고 있습니다. 그러나 비알코올성 지방간의 기전과 그 치료법이 현재는 없는 실정이기에 비알코올성 지방간의 발병 기전, 치료 및 예방 타깃 발굴이 대단히 중요한 의미를 가진다고 볼 수 있고, 비알코올성 지방간과 공존하는 산화 스트레스(oxidative stress) 및 염증반응(inflammatory response)에 대해서는 많은 연구자들이 이미 주목하고 있어, 본 연구팀은 이들의 연관관계에 집중하고, 대사 면역학적 관점(Immuno Metabolic Aspects)으로 연구를 수행하였습니다.

간 내 침윤성 대식구에 의한 ROS발생 확인

언급한 바와 같이 비알코올성 지방간의 발생 시 산화스트레스와 염증반응에 대해서 많은 연구자들이 연구해오고 있었고, 특히 다양한 면역세포에의 반응에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있습니다. 본 연구팀은 간에 상주하는 대식세포인 쿠퍼세포(resident Kupffer cell, CD11b+F4/80high)과 혈관으로부터 침윤하는 대식세포(Infiltrated macrophage, CD11b+F4/80low)로 세분화하여 그 표현형의 차이를 분석하였습니다. 이 과정에서, 침윤 대식세포(CD11b+F4/80low)가 지방산(palmitate) 처치 시 Toll-like receptor 4 (TLR4)와 NADPH oxidase 2 (NOX2) 유래 활성산소(ROS)를 생성하는 것을 발견하였습니다. (그림 1)

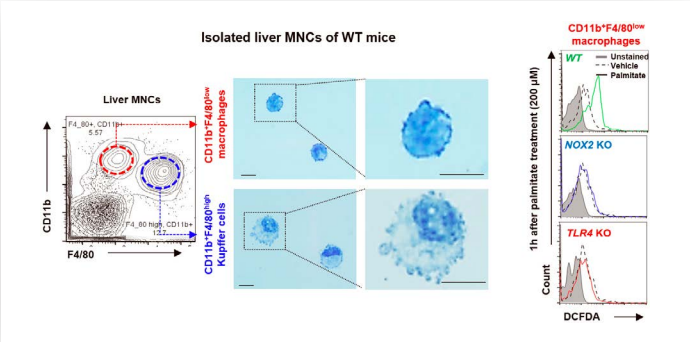


그림 1. 지방산 처치시 대식구에서 TLR4 및 NOX2 의존적 활성산소(ROS) 생성규명

포화지방산에 의한 TLR4-NOX2 내포작용(endocytosis) 매개 ROS 발생 확인

또한, 포화지방산(팔미트산, palmitate) 처치 시 대식구 세포막에 존재하는 TLR4와 NOX2의 세포내 이입(endocytosis)과 이들의 co-localization 관찰되었습니다. 흥미롭게도 palmitate 처리 후 TLR4와 NOX2는 특이적으로 Dynamin을 통해 내포작용(endocytosis)이 유도됨을 확인하였고, 이를 통해 ROS의 생성도 발생함을 규명하였습니다. (그림 2)

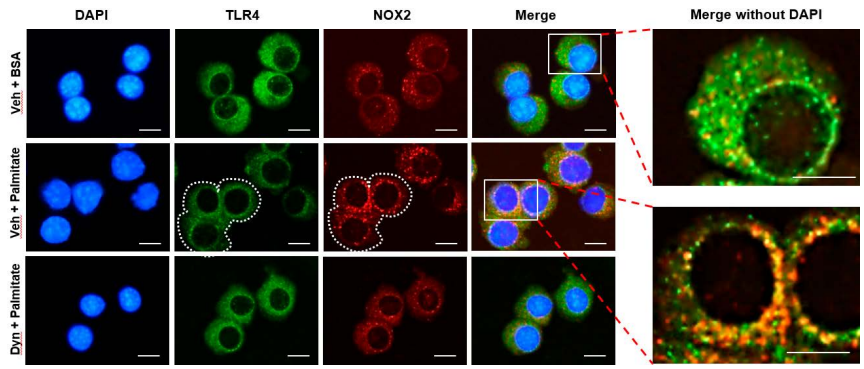


그림 2. Palmitate에 의한 TLR4/NOX2의 endocytosis

Monomeric TLR4-MD2 complex와 결합하는 포화지방산 규명

흥미롭게도 포화지방산과 TLR4-MD2 복합체의 직접 결합에 대한 연구가 보고되었으나 어떻게 TLR4와 결합하는지 규명된 바 없어 본 연구에서는 흥미롭게도 LPS에 의해 유도되는 일반적인 TLR4의 이량체형성(dimerization) 및 하위 Myd88/Trif를 통한 염증신호 전달기전과 달리, 포화지방산인 palmitate는 monomeric TLR4-MD2와 결합체를 형성하고 NOX2와 동시에 내포작용을 거쳐 ROS를 생성한다는 사실을 젤여과 크로마토그래피(Gel Filtration Chromatography) 실험기법에 의해 새롭게 밝혔습니다. (그림 3)

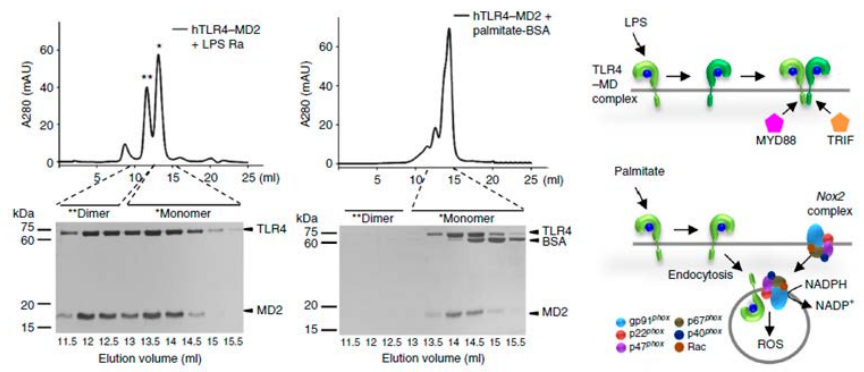


그림 3. Palmitate에 의한 monomeric TLR4-MD2 복합체의 결합의 증명 및 모식도

기대효과

본 연구는 대식구의 ROS생성이 간세포의 지방축적과 인슐린 저항성을 유도한다는 가설을 가지고 시작하였고, 결과적으로 NOX2의 결손은 간세포 내 지방축적(hepatic steatosis)을 감소시키고 인슐린저항성(GTT)을 향상시키는 것을 확인했습니다 (그림 4). 이러한 기전으로는 비알코올성 지방간 발생 시 침윤하는 대식세포(infiltrated macrophage)가 주로 ROS를 생성하며, 이는 과량의 포화지방산이 대식세포의 monomeric 톨 유사 수용체 (TLR4-MD2)와 직접 결합하여 세포내로 이입되며, 동시에 NADPH oxidase 2 (NOX2)를 자극하여 활성산소를 발생시키고 최종적으로 간세포 내 인슐린저항성 및 지방축적을 유도하는 기전을 규명하였습니다 (그림 4). 이는 그람 음성균 유래 리포다당체 (LPS) 매개 TLR4의 잘 알려진 염증반응(cannonical pathway)과 달리, 포화지방산에 의해서는 톨 수용체가 이량체를 형성하지 않는 차별화된 과정을 새로이 밝힌 것으로, 간 내 지방의 축적 시 대식세포의 염증 유발기전을 새롭게 규명함에 의의가 있습니다. 이 결과는 비알코올성 지방간, 지방간염 그리고 인슐린저항성의 치료 및 예방타깃으로 활용될 수 있으며, 이를 통해서 만성 간질환으로의 진행예방에 기여할 수 있을 것으로 기대됩니다.

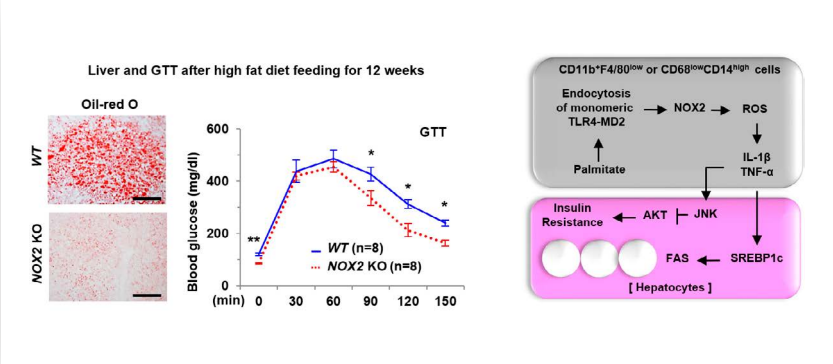


그림 4. 포화지방산에 의한 마우스의 CD11b+F4/80low 대식세포(사람의 CD68lowCD14high 대식세포)의 활성산소(ROS) 발생기전과, 그에 따른 비알코올성 지방간 및 인슐린저항성 발병 및 진행기전을 규명함.

앞으로도 저희 '간 대사표현형 연구팀'은 간에서 발생하는 다양한 질환(지방간, 지방간염, 간섬유화, 간암 등) 표현형 분석에 앞장서서 선도적인 역할을 수행할 것입니다. 또한 그 결과를 사업단을 통해 연구자들과 공유하며 국내 연구 환경 개선을 위해 노력하겠습니다. 감사합니다.

사업단 소식

(재)국가마우스표현형분석사업단에서 개최하는 주요 행사, 주요 성과를 전해드립니다. 또한 연구에 도움을 드릴 수 있는 사업단의 서비스에 대해 소개하고 있사오니 연구자 분들의 많은 이용 바랍니다.

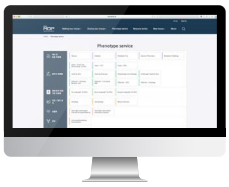
01

MOP 개편… 서비스 신청부터 마우스 관리까지 One-stop으로

Phenotype Service

표현형 분석 서비스 신청

- ▶ MOP 사이트에서 표현형 분석 서비스 신청
- ▶ 신청한 서비스 목록 조회

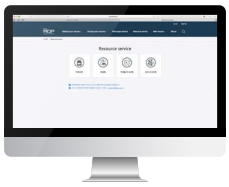


절차가 간소화되고
업무의 의뢰자 – MOP관리자 – 표현형 분석 담당자 간
의사소통이 원활해졌어요!

Resource Service

마우스 자원 서비스 신청

- ▶ 자원보존, 청정화, 유전 모니터링, 미생물 모니터링 서비스 신청
- ▶ 신청한 서비스 목록 조회

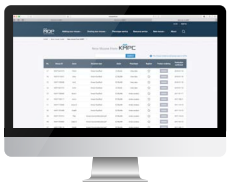


보다 다양한 서비스를
MOP에서 신청할 수 있어요!

New Mouse

국내·외 마우스 관리

- ▶ (New Mouse from KMPC) 제작이 완료되어 분양 가능한 GEM 정보 조회
- ▶ (New Mouse from IMPC) IMPC에서 신규 제작하거나 업데이트되는 국외 GEM 정보 조회



국내·외 GEM 자원 정보를
한눈에 보고 분양 등
연구에 필요한 정보를
확인할 수 있어요!

Mouse One Portal(mouseinfo.kr)에서는 GEM연구의 모든 것을 One-stop으로 해결할 수 있습니다. mouseinfo.kr

신규 제작 GEM 소개

(재)국가마우스표현형분석사업단에서는 유전자변형마우스(GEM) 제작 및 분양 서비스를 제공하고 있습니다. 연구자 여러분의 많은 이용 바랍니다. 제작된 GEM 중 연구자 분들께 가장 문의가 많은 인기 GEM 10개를 소개해드립니다.

01. Arhgap6 (cKO)

Rho GTPase activating protein 6 (MGI: 1196332)

Plasma membrane에서 actin polymerization 조절 역할 / MLS, CNS 환자에서 결손이 보고됨

유전자형: IKMC tm1a

02. Slc25a18 (cKO)

Mitochondrial glutamate carrier 2 (MGI: 1919053)

Inner mitochondrial membran의 glutamate transport에 관여

유전자형: IKMC tm1a

03. Cyb5b (cKO)

Cytochrome b5 type B (MGI: 1913677)

Membrane bound oxygenase의 electron carrier 역할

유전자형: IKMC tm1a

04. Mreg (cKO)

Melanoregulin (MGI: 2151839)

Hair pigment incorporation에 관여

유전자형: IKMC tm1a

05. Tars2 (cKO)

Threonyl-tRNA synthetase 2, mitochondiral (MGI: 1919057)

유전자형: IKMC tm1a

06. Hdac7 (cKO)

Histone deacetylase 7 (MGI: 1891835)

유전자형: IKMC tm1a

07. Anxa13 (KO)

Annexin13 (MGI: 1917037)

Calcium-dependent phospholipid-binding protein family / 기능은 알려진 게 없음

유전자형: em1

08. Crot (KO)

Carnitine O-octanoyltransferase (MGI: 1921364)

Lipid metabolism과 fatty acid beta-oxidation에서 역할

유전자형: em1

09. NFkB-Luc Reporter

NFkB 신호전달계가 활성화되면 Luciferase 발현이 증가되는 Reporter 마우스

유전자 구조: NF-kB Response Element-TA promoter -Luciferase

10. Cidea-Luc2-tdTomato Reporter

Cidea는 Thermogenesis와 lipolysis에 역할을 하는 유전자

유전자 구조: Cidea-P2A-Luc2-T2A-tdTomato (Luciferase/ tdTomato, dual reporter system)

KMPC GEM 제작, 분양 문의

http://mouseinfo.kr ☎ 02-885-8396 E-mail: mouseinfo@snu.ac.kr

동계 실습 운영… 학부생에게 논문 탐구로 심도 있는 교육 진행

국가마우스표현형분석사업단에서는 동계방학에 학부생을 대상으로 실습 프로그램을 운영했다. 매 여름방학마다 4주간 실습 위주로 운영했던 프로그램을 2주간의 실습과 4주간의 이론 탐구로 개편했다.

다른 기관의 학부생 관련 프로그램은 실험 실습이 위주인 것과 달리 이번 KMPC의 실습은 연구의 주제를 정하고 실험을 설계하고 진행하여 결과를 분석하는 과정까지 연구의 전체를 본인이 설계, 실행하여 논리적 사고를 구축하는 과정을 다루었다. 실습에 참여한 서울대학교 오승용 학생은 “필요한 논문 자료를 직접 찾고 재구성하면서 대학원에 진학하면 어떤 공부를 할 것인지 맛볼 수 있었다”고 “진로를 고민하는 제게 큰 도움이 되었다”고 말했다.

또한 연세대학교 에비슨의생명센터를 견학하고 실험동물학회 동계 학술대회에 참가하는 등 체험 활동도 확대했다. 실습생들은 역대급 강추위 속에서도 연구진들의 토론을 진지한 태도로 관람하여 관계자로부터 호평을 받았다. 차의과대학교 차종민 학생은 “다른 곳에서 경험할 수 없었던 연구의 진짜 모습을 엿본 좋은 기회”라며 “수의학·생명공학을 전공하는 학부생에게 추천하고 싶다”고 말했다.

동계실습 수료식

연세대학교 에비슨의생명센터 견학

KMPC, 사업단 실무자 회의 개최… 과제 상시 관리 독려

지난 1월 16일 서울역 대회의실에서 2단계 2차년도 실무자 회의를 개최했다. 사업단 세부과제 실무자 50여명이 참석한 가운데, 고혁완 교수의 사업단 소개로 포문을 열었다. 2단계 2차년도를 맞이한 사업단은 지금까지 구축한 인프라 서비스를 점검하고 성과 취합에 대한 안내의 시간을 가졌다.

이날 회의에서는 ▲마우스 제작 및 분석 현황 ▲마우스 표현형 분석 서비스 ▲마우스 자원 서비스 ▲MOP ▲2단계 2차년도 성과자료 작성 및 증빙 관련 유의사항 안내 ▲질의응답 순서로 진행됐다.

실무자들은 인프라 성과 중 '마우스 자원 및 표현형 분석 플랫폼 활용'에 대해 궁금증이 많았다. 국가마우스표현형분석사업단에서는 다른 사업단과 달리 인프라 성과가 중요한 평가 항목이다. 2단계부터는 사업단에서 제공한 GEM이나 GEM 표현형 분석 결과를 활용하여 나온 논문, 특허, 학회 포스터 발표, 자문 수행은 사사, 자문확인서 등 증빙을 제출하면 인프라 성과로 인정하고 있다.

성제경 단장은 "실무자들이 평가에 닥쳐서 성과를 내고 취합하기보다는 평소에도 사명감을 가지고 성과를 내고 관리하기를 바란다"며 올해 7월로 예정된 자체평가를 빈틈없이 준비할 것을 당부했다.