



A Mouse for Better Life

(재)국가마우스표현형분석사업단에서는 소식지를 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	생명과학이슈	사업단 소식
<p>(재)국가마우스표현형분석사업단은 현재 30명의 연구 책임자와 수많은 실무자로 구성되어 있습니다. <Issue&People>에서는 연구자들을 만나 그들의 이야기를 들어보겠습니다.</p> <p>01</p>	<p>소식지 4호에서는 마우스 미생물 모니터링 기술과 모델동물개발을 연구하고 있는 가천대학교 오승현 교수와 신약개발과정 중의 스크리닝 및 효능 평가에서 널리 사용되는 Xenograft 모델의 확립과 사용에 대해 이야기하겠습니다.</p> <p>02</p>	<p>(재)국가마우스표현형분석사업단에서 개최하는 주요 행사, 중과제별 주요 성과를 전해드립니다. 또한 연구에 도움을 드릴 수 있는 사업단의 서비스에 대해 소개하고 있오니 연구자 분들의 많은 이용 바랍니다.</p> <p>03</p>

신규 제작 GEM 소개

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





Issue & People

이번 소식지에서는 사업단 과제에서 감각기(시각, 청각, 후각) 표현형 분석을 담당하는 연세대학교 국가마우스감각기표현형센터(KMSPC)의 총괄 담당자 김홍경 박사님의 인터뷰를 담았습니다. 3가지 과제를 총괄하는 김홍경 박사님의 이야기를 들어보겠습니다.

Q

어떤 업무를 하고 계신가요?

A

안녕하세요. 저는 연세대학교 의과대학 국가마우스감각기표현형센터(KMSPC)의 김홍경입니다. 센터 총괄 담당자로서 마우스의 감각기 표현형 분석과 관련한 전반적인 업무를 하고 있습니다. 제 업무를 세 가지로 나눌 수 있을 것 같습니다.

첫 번째는 표현형분석장비 도입, 전담연구원 교육, 분석기술 개발 등의 감각기 표현형 분석 인프라 구축입니다. 두 번째는 유전자변형마우스 도입부터 마우스 동물실험 수행을 위한 제반 행정 업무를 맡아 외부 표현형분석서비스에 대한 전담 통합 창구의 역할도 함께 수행하고 있습니다. 세 번째로는 각 감각기팀과의 개별 연구 활동입니다. 표현형 분석 결과 감각기 장애가 확인되면 감각기팀과의 연계를 통하여 질환 원인 유전자의 기능을 규명하기 위한 연구를 수행합니다. 감각기표현형센터의 시각, 청각, 후각팀은 과학기술정보통신부에서 지원하는 바이오의료기술개발사업(국가마우스표현형분석기반구축)에서 각각의 세부과제를 수행하고 있으며 KMPC 사업단 목표에 맞는 성공적인 연구활동 및 과제 수행을 위해 긴밀한 협력관계를 유지 하고 있습니다.



연세대학교
국가마우스감각기표현형센터(KMSPC)의
총괄 담당자 김홍경 박사

Q

연세대학교 감각기 센터는 무엇을 하는 기관인가요?

A

국가마우스감각기표현형센터는 유전자변형마우스를 모델로 이용하여 시각, 청각, 후각기와 같은 감각기관의 일차 및 이차 표현형 분석을 수행하는 곳입니다. 감각기 장애 마우스의 표현형분석 결과를 통해 질환 특성을 분석하여 원인 유전자의 기능을 규명하는데 목표를 두고 있습니다. 아울러 저희 센터에서는 국내 연구자들의 요청에 따라 연구자들이 보유하고 있는 유전자변형 마우스의 감각기표현형분석 서비스를 제공해 드리고 있습니다.

Q

실무 수행하시면서 느끼는 애로사항이 있으신지요?

A

외부표현형분석 서비스를 포함한 감각기표현형분석 건수 (분석 마우스의 수)는 해마다 증가하고 있는 추세입니다. 따라서 대량의 마우스들을 보다 신속하고 효율적으로 분석하기 위해서는 현재 사용하는 표현형분석연구실과 같은 연구 공간을 더 확보해야 합니다.

하지만 현재 연구실 공간은 표현형분석장비들로 이미 과포화 상태이며 신규 개발되는 분석 기법에 운용될 장비 도입에도 많은 어려움이 있을 것으로 예상됩니다. 그리고 가장 필요한 것은 충분한 전담 연구 인력의 확보입니다. 결국 저희 센터에서 직면한 문제들은 비용 문제와 직-간접적으로 연관되어 있으며 이는 저희 센터뿐만 아니라 마우스 표현형분석을 수행하시는 많은 연구자들께서 공통적으로 느끼시는 고충이 아닐까 생각합니다.



Q

감각기 센터 총괄을 수행하면서 주의해야 할 점은 무엇인가요?

A

다양한 유전자변형마우스가 국내 및 국외로부터 도입되어 표현형분석이 진행됩니다. 동물의 도입 및 실험에 앞서 반드시 마무리 되어야 할 필수 행정 절차들이 있습니다. 예를 들면 국외의 경우 국내 반입을 위한 LMO 신고이고 국내 및 국외 마우스 모두 동물 실험 수행에 앞서 IACUC



기관 승인이 선행되어야 합니다. 또한 시-청-후각기 팀이 모두 표현형 분석을 하기 위해서는 효율적인 일정으로 조정하는 것이 필요합니다. 저는 각 팀 간의 원활한 소통을 가장 신경쓰고 있습니다.

Q

감각기연구인프라에서 잘 구축된 부분과 보완이 필요한 부분을 각각 꼽는다면?

A

잘 되어있는 부분은 첫째로 연구진 구성입니다. 각 감각기 팀(시각, 청각, 후각)의 구성원은 모두 해당 분야의 임상 전문의와 전공자로 구성되어 있습니다. 둘째로는 표현형 분석 인프라입니다. 체계적이고 정밀한 마우스감각기표현형분석 기반이 마련되어 있으며 시각, 청각, 후각의 감각기표현형분석이 모두 한 센터에서 수행되어 효율적인 분석이 가능합니다. 그리고 앞서 답했지만 표현형분석연구실 공간 확충과 전담 연구 인력 확보가 매우 절실합니다.





생명과학 이슈

안녕하세요? 국가마우스표현형분석사업단에서 마우스 미생물 모니터링 기술과 모델동물개발을 연구하고 있는 가천대학교 오승현 교수입니다. 마우스는 유전적 조작과 대량 사육이 용이하고 생애 주기가 짧아 많은 연구자들이 선호하는 동물 모델입니다. 또한 우리나라 질병 사망의 최대 원인으로 꼽히는 암을 정복하기 위해 많은 연구자들이 활발히 연구하고 있습니다. 오늘 <생명과학이슈>에서는 신약개발과정 중의 스크리닝 및 효능 평가에서 널리 사용되는 Xenograft 모델의 확립과 사용에 대해 이야기하겠습니다.



가천대학교 약학대학 오승현

Mouse Xenograft Model

질병의 원인을 규명하고 치료법을 개발하는데 있어서 좋은 모델은 무엇일까에 대한 고민은 끊임없이 계속되고 있습니다. 역설적이게도 최근에는 인간과 가장 가까운 반려동물이 질환모델로 제시되고 있습니다 (그림1). 반려동물은 유전적으로 인간과 가깝고 여러 환경 요인을 공유한다는 점에서 선천적 유전자적 변화 이외에 여러 요인에 의해 발생하는 만성 질환 연구에 적합할 것입니다. 그러나 유전적 조작과 대량 사육이 용이하고, 짧은 생애 주기를 갖는 마우스가 아직은 많은 연구자들이 선호하는 동물 모델입니다.

인간의 다양한 질환 중 암은 우리나라에서 사망원인 1위이며 지속적으로 사망자가 증가하고 있어 많은 연구자들의 주요 연구대상입니다. 암에 대한 마우스 모델은 역사적으로 산업혁명 이후로 독성물질이 암을 유발한다는 인과관계를 인지하여 다양한 화학물질을 이용한 암모델이 이용되다가, 1960년대 T면역세포가 결핍된 누드 마우스가 발견된 이후로 다양한 면역 결핍마우스를 이용한 이종이식 모델이 등장하게 되었습니다. 또한 유전공학 기법의 발달에 따라 특정 유전자의 과발현 또는 제거에 의한 암모델이 이용되고있습니다. 최근 주목 받고 있는 면역치료에 대한 모델로서는 제한이 있지만 신약개발과정 중의

Humans and pet animals share many environmental risk factors

Humans and pet animals share aspects of tumor biology

- Easily exposed to hazards
- Dogs are prone to cancer

The infographic depicts a man in a living room with a dog on a treadmill and another dog sitting on the floor. A DNA helix is shown on the man's chest, and a TV in the background shows a news anchor.

그림 1. 모델동물로서 반려동물

스크리닝 및 효능 평가에서 여전히 사용되고 있고 일반 연구자에게서 가장 많이 사용되고 있는 xenograft 모델의 확립 및 사용에 있어서 그동안의 경험을 바탕으로 몇 가지 정보를 드리고자 합니다.

1. 세포주 선택

많은 학생들이 세포주 실험에 사용한 암세포를 동물에 이식하면 당연히 성장할 것으로 생각하지만 표 (그림 2, 누드 마우스를 사용한 종양형성 능력 평가, Anticancer Drug Development Guide, 2004)에서 보는 바와 같이 우리에게 익숙한 많은 세포주가 동물실험에 적절하지 않음이 검증되었습니다.

마우스에 이식하였을 때 세포주에 따라 종양이 전혀 형성되지 않기도 하고, 일부의 마우스에서만 종양이 형성되거나 또는 이식한 모든 마우스에서 100% 종양이 형성되기도 합니다. 세포주 실험 후 동물실험을 고려한다면 세포주 선택에서부터 주의해야 합니다. 필요한 경우 종양세포 이식 후 종양이 형성된 마우스만 선택하여 사용하는 경우도 있습니다.

2. 마우스 선택

면역결핍 마우스 중에서 가장 많이 사용되는 누드 마우스는 T세포만, SCID 마우스는 T세포와 B세포가 기능적으로 결핍되어 있으며, NOD/SCID 마우스는 단핵구가 비정상인 NOD 마우스와 SCID 마우스를 교배하여 좀 더 면역이 결핍되도록 확립된 마우스입니다 (그림 3). NOG 마우스와 NSG 마우스는 NOD SCID 마우스를 IL-2Rnull 마우스와 교배하여 만들어진 마우스입니다. IL-2 수용체는 IL-2R α , IL-2R β , IL-2R γ 로 구성되는데, 이 중에서도 IL-2R γ 는 IL-4, IL-7, IL-9, IL-15, IL-21 등의 다른 사이토카인 수용체를 구성하는 데 필요합니다. 따라서 NK 세포 발생에 중요한 사이토카인 신호 전달도 억제되므로 이들 마우스에서는 NK세포 면역도 결핍되게 됩니다.

면역 결핍의 정도가 심한 마우스를 사용할 수록 종양 발생의 확률이 증가하고 종양의 성장 속도가 빨라질 가능성이 있습니다. 또한 많은 연구자들이 혼동하는 것 중에 중 하나가 BALB/c nude 와 athymic nude 마우스의 구별입니다. 두 계통 모두 FOXP1 유전자의 돌연변이에 의한 흉선의 발달이 저하되어 있고 이식거부 반응이 없다는 공통점이 있으나, 근교계와 폐쇄군이라는 차이가 있어 구별해서 사용해야 합니다.

암	세포주	이식 후 종양 형성률	암	세포주	이식 후 종양 형성률
Colon	SW 620	≥90%	Leukemia	MOLT-4	80-100%
	KM 12	≥90%		HL-60(TB)	85-100% (ip)
	HCT-116	≥90%		OCDF-CEM	60-80%
	HCT-15	≥90%	SF1	80%	
	HCC-2998	≥90%	RFM1-8226	거의 성장 안함	
	LD-1	≥90%	K-562	거의 성장 안함	
ONS	KM20L2	≥90%	Lung, nonsmall cell	NCI-H460	≥90%
	QOLO 205	≥90%		NCI-H522	≥90%
	H129	≥90%		HOP-62	30-65%
	SF-295	≥90%		NCI-H23	≥90%
	SNB-75	≥90%		NCI-H322M	≥90%
	U251	≥90%		EVX	≥90%
Mammary	XF 498	60-70%	Lung, small cell	HOP-92	≥90%
	SNB-19	60-70%		A549(ATCC)	70-80%
	SF-539	70%		HOP-18	거의 성장 안함
	SF-698	거의 성장 안함		NCI-H286	거의 성장 안함
	SNB-78	성장 안함			
	ZR-75-1	≥90%		DM5273	≥90%
	MX-1	≥90%	Pancreas	DMS114	75-90%
	UI50-BCA-1	≥90%		CAR1-1	≥90%
	MDA-MB-231(ATCC)	≥90%		RFX 631	≥90%
	MOF-7	≥90%		A488	≥90%
	MOF-7/ADR-FES	≥90%		RFX 393	≥90%
	MDA-MB-435	≥90%		SN 12C	≥90%
Ovarian	MDA-N	≥90%	Melanoma	786-O	80%
	HSS78T	거의 성장 안함		ACKN	거의 성장 안함
	BT-424	성장 안함		UO-31	거의 성장 안함
	T-47D	성장 안함		TK-10	성장 안함
	OVCA9-5	≥90%		LOX-IMVI	≥90%
	SK-OV-3	≥90%		SK-MEL-28	≥90%
OVCA9-3	≥90%	UACC-62	70-80%		
OVCA9-4	70-100%	UACC-257	≥90%		
IGROV1	≥90%	SK-MEL-2	80-90%		
OVCA9-B	70%	M14	≥90%		
PC3	≥90%	SK-MEL-5	≥90%		
DU-145	≥90%	MALME-5M	80-90%		
		M19-MEL	80-90%		

그림 2. 종양세포주의 이식 후 종양 형성능력 비교

Strain	T cells	B cells	NK cells	Monocytes	Complement
NU/NU	X	O	O	O	O
BALB/c Nude	X	O	O	O	O
NOD/SCID	X	X	Functionally immature	Functionally immature	Loss of C5
NOG	X	X	Extremely low	Impaired	Loss of C5
NSG	X	X	Extremely low	Impaired	Loss of C5

그림 3. 면역 결핍 마우스 종류와 면역계 구성 요소의 기능 유무

3. 세포주 주입

동물에 이식할 세포는 최상의 상태가 요구됩니다. 단순히 많은 숫자를 주입한다고 해서 종양의 발생 확률이 높아지고 성장속도가 빨라지는 것이 아니기 때문에 배양과정 중 FBS 품질, 배양시간을 최적으로 유지해야 합니다. 세포주 오염은 이식 후 종양의 성장을 방해하거나 마우스 감염 또는 동물실 오염을 유발할 수 있으므로 미리 확인해야 합니다. 배양 중인 세포를 떼어 내어 마우스 피하에 이식하는 과정에서도 최대한 신속하게 세포를 PBS에 농축하고 동물실로 이동하여 마우스에 이식해야 합니다 (그림 4).

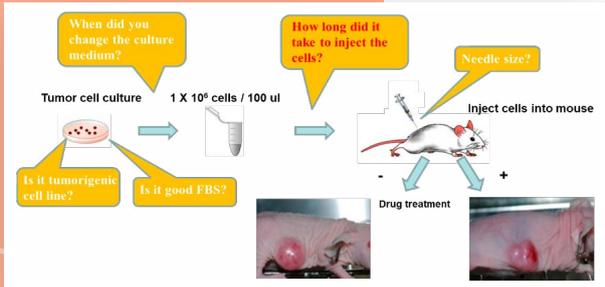


그림 4. 마우스에서 종양세포 이식 과정

또한 마우스의 수가 많을 경우 이식 중 시간이 지연되어 세포가 가라앉을 가능성이 있으므로 이식할 세포주를 잘 섞어야 하며 사용되는 마우스의 이식 부위가 동일해야 고른 성장을 예상할 수 있습니다. 이외 세포배양 조건, FBS 종류, 동물실 환경, 면역결핍마우스의 종류 등에 따라 종양의 형성 유무, 성장 속도 및 개체 차이 등이 나타납니다. 제일 바람직한 방법은 예비 실험을 통해 이러한 점을 미리 파악하여 실험 일정 및 실험군의 크기 등을 정하는 것입니다.

일반적으로 마우스 피하에 세포주를 이식하지만 목적에 따라 다른 부위를 선택할 수 있습니다. 암세포의 기원을 고려하여 폐암 세포주, 뇌암 세포주, 간암 세포주 등을 각각 마우스의 폐, 뇌, 간에 직접 이식하는 방법으로서 orthotopic 모델이라고 합니다. 숙련된 기술이 요구되지만 피하 조직에 비해 종양 형성에 필요한 미세환경 (세포)가 조성되어 있어 종양형성이 잘 되거나 성장이 빨라지기도 하고 개체 차이가 적어지기도 합니다.

4. 효능 평가

- Tumor volume : $a = \text{tumor length}$, $b = \text{tumor width}$
 $V = (a \times b^2)/2$
- Tumor weight change ratio : (g)
- Defined as: $\text{treated/control} \times 100\%$ (g) (V)
- Tumor weight in mg = $T/C < 40\text{-}50\%$ is considered significant



그림 5. 마우스 종양 크기 측정법

종양이 성장하게 되면 주 1-2회 calipers를 사용하여 크기를 측정하거나 최종적으로 부검 시 종양을 적출하여 무게를 측정하여 비교할 수 있습니다 (그림 5). 경우에 따라 전이능력이 있는 세포는 다른 장기로 전이를 하는 경우도 있으므로 확인할 필요가 있습니다. 세포주를 마우스 피하가 아닌 장기에 직접 이식하는 경우, 육안으로 성장여부가 확인이 안되므로 luciferase 발현 세포주 등을 이용하는 바이오이미징 기법으로 마우스 체강 내부에서의 성장 및 전이를 확인할 수 있습니다.

5. 종료시점

- Toxicity Endpoints:
 - Drug related death
 - Net animal weight loss

- Efficacy Endpoints
 - Tumor growth difference
 - Treated/control survival ratio
 - Tumor weight change

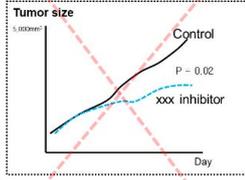


그림 6. 동물실험 종료 시점

실험 과정 중 종양의 크기 측정이 가능하므로 유의적인 차이가 확인되면 종료를 하게 됩니다. 하지만 예상된 결과에 도달하지 않았더라도 종양의 크기가 마우스 체중의 10-15%에 도달하게 되면 안락사를 권장합니다 (예, BALB/c nude 평균체중 20g 일 경우 종양의 크기가 종양 3,000mm³ = 3g 에 도달하면 마우스 체중의 15%를 초과하므로 안락사 권장). 무리한 실험 연장은 윤리적으로 문제가 되어 발표가 불가능한 결과를 생산할 수도 있기 때문입니다.

면역결핍 마우스를 이용한 xenograft 모델 사용은 암 연구에 있어서 다양한 암종에 대한 모델을 손쉽게 제작하고 종양의 크기 변화 관찰이 용이하며 빠른 시간 내에 실험을 완료할 수 있는 장점이 있습니다. 그러나 면역결핍 마우스는 감염에 취약하여 공조시설이 완벽히 갖춰진 곳에서만 실험 수행이 가능하고, 다른 장기로의 전이가 발생하기에는 너무 빠른 시간 내에 종양이 성장하며 종양의 미세환경(면역)에 대한 연구를 하기에는 한계가 있다는 단점이 있습니다. 그럼에도 불구하고 초급 연구, 약물 스크리닝에 있어서 아직까지 가장 많이 사용되고 있으나 모델 정립에 대한 구체적인 방법 소개가 제한적이어서 개인 연구자들이 시행착오를 겪고 있는 실정입니다. 기초적이고 간단한 내용이지만 유전자 기능 연구 및 신약의 효능 확인을 하시는 연구자들에게 도움이 되기를 바라며 성공적인 실험을 수행하여 마우스의 희생이 조금이나마 줄기를 바라는 마음으로 글을 마칩니다. 끝으로 오랜 시간 동안 동고동락하며 열심히 연구하는 실험실원들에게 감사의 말씀을 드립니다.



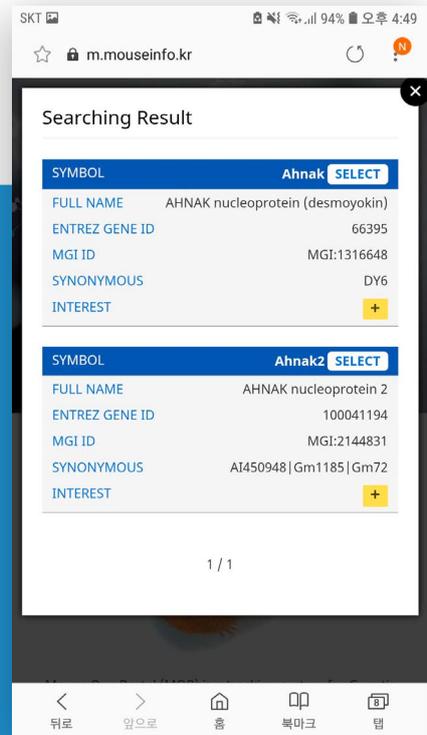
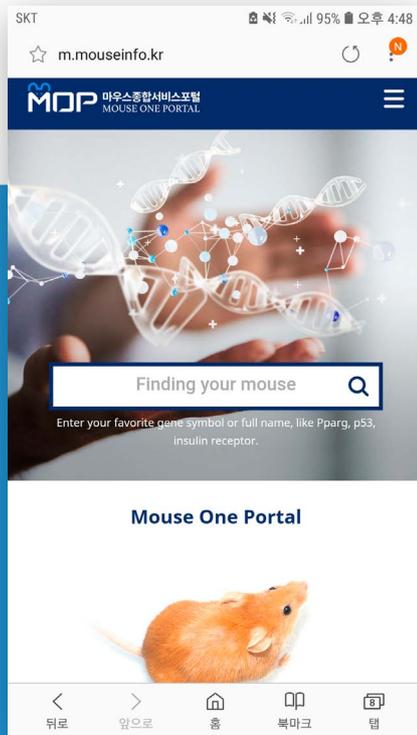
사업단 소식

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

01

마우스종합서비스포털(MOP, mouseinfo.kr) 모바일 웹 오픈

국내 마우스 연구에 필요한 서비스를 종합적으로 제공하는 마우스종합서비스포털(Mouse One Portal, MOP)에서 모바일 웹을 오픈했다. 연구자들은 MOP 웹사이트에서 제공하는 Making your mouse, Sharing your mouse, 사업단에서 제작한 마우스를 무상으로 분양받는 New Mouse 서비스도 이용할 수 있다. Phenotype service, Resource service는 PC에서 신청서를 작성해야 이용할 수 있지만 KMPC에서 어떤 분야의 GEM 표현형 분석 서비스, 자원 서비스를 제공하는지 모바일에서 확인할 수 있다. 강연경 선임연구원은 “연구자들이 학술대회 등 오프라인에서 마우스종합서비스포털을 처음 접하기 때문에 모바일 환경에서도 쉽고 간편하고 MOP가 활용될 수 있도록 웹서비스를 구축했다”고 “더 많은 연구자들이 마우스종합서비스포털을 편리하게 이용할 수 있는 방법을 꾸준히 모색하겠다”고 덧붙였다.



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.

01

Gna14(Cas9 제작, em1)

- Full name : guanine nucleotide binding protein, alpha 14
- MGI : 95769

02

Tfpi2(Cas9 제작, em1)

- Full name : tissue factor pathway inhibitor 2
- MGI : 108543

03

Ak4(Cas9 제작, em1)

- Full name : adenylate kinase 4
- MGI : 87979

04

Sod2(EScell, tm1a)

- Full name : superoxide dismutase 2, mitochondrial
- MGI : 98352

05

Thsd7b(Cas9 제작, em1)

- Full name : thrombospondin, type I, domain containing 7B
- MGI : 2443925

06

Plaa(Cas9 제작, em1)

- Full name : phospholipase A2, activating protein
- MGI : 104810

07

Amecr1l(Cas9 제작, em1)

- Full name : AMME chromosomal region gene 1-like
- MGI : 2442711

08

Tspan10(Cas9 제작, em1)

- Full name : tetraspanin 10
- MGI : 2384781

09

Cep89(Cas9 제작, em1)

- Full name : centrosomal protein 89
- MGI : 1919390

10

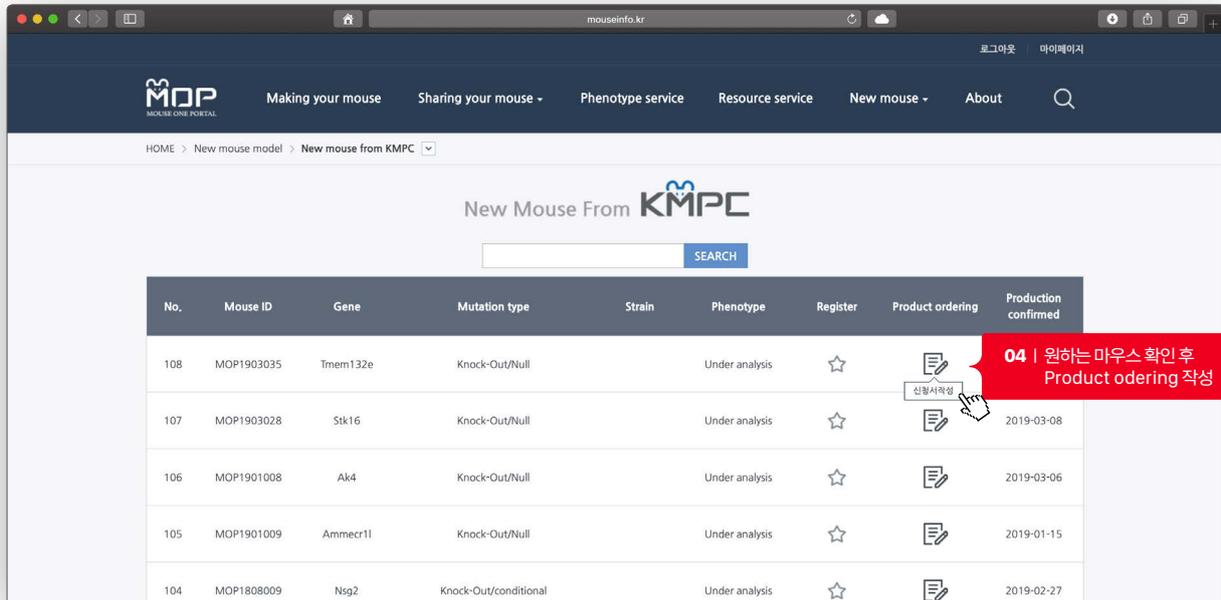
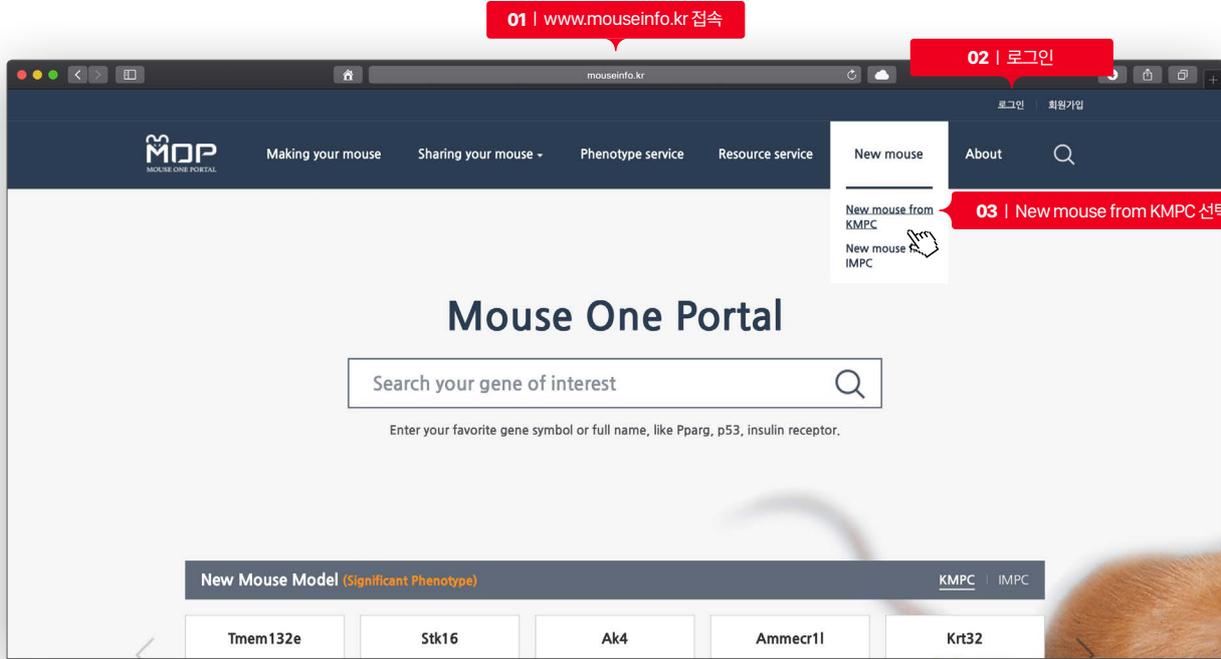
Cep78(EScell, tm1a)

- Full name : centrosomal protein 78
- MGI : 1924386

GEM 제작·분양 문의

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

MOP 분양 신청 방법



※ IACUC 번호, LMO 시설 번호 기입 필수 / PI로 등록된 ID만 분양 가능함