KMPC

News Letter 6호

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)국가마우스표현형분석사업단은
현재 30명의 연구 책임자와 수많은 실무자로
구성되어 있습니다.
<Issue&People>에서는 연구자들을 만나
그들의 이야기를 들어보겠습니다.

01

생명과학이슈

소식지 6호에서는 마우스 제작을 담당하고 있는
김경미 교수님이 마우스 모델 제작에 적용했던
유전자 편집 기술들에 대해
소개해주시겠습니다.

02

사업단 소식

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

03

신규 제작 GEM 소개

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

Issue & People

코로나 19 치료제 개발이 최대 이슈인 요즘, 감염 동물 모델로써 마우스가 주목받고 있습니다. 사업단에서 GEM 제작과 자원 서비스(자원보존, 청정화, 미생물 모니터링, 유전 모니터링 등)을 담당하는 국립암센터의 전윤 연구원의 이야기를 들어보겠습니다.

Q

어떤 업무를 하고 계신가요?

A

Embryo manipulation을 포함한 유전자변형 마우스(GEM) 제작과 분석을 수행하고 있습니다. 국립암센터 연구실에서는 knockout, knockin, transgenic 마우스를 포함한 거의 모든 GEM 개발이 가능합니다. 이후 박사님과 함께 KMPC 사업단 연구에 참여하여 tm1a, em1, reporter 마우스를 개발하고 있습니다.

Q

신규 GEM을 제작하는 데 소요되는 대략적인 비용과 시간은 얼마인가요?

A

ES cell을 이용한 경우 conventional knockout 마우스는 약 1년, conditional knockout 마우스는 약 2년의 시간이 소요됩니다. 그리고 비용은 약 2,000~3,000만원입니다. 최근 개발된 유전자 가위 기술 (CRISPR/cas9)을 이용한다면 기간과 비용을 50%가량 절감할 수 있습니다.

Q

일반 기업에서 GEM을 제작하는 것과 국립암센터에서 제작하는 것은 어떤 차이점이 있나요?

A

기업에서 GEM을 제작할 경우 소요비용이 크고 mouse genetics 전문가가 없기 때문에 실험 목적에 맞는 디자인을 하는데 제한이 있습니다. 그런데 저희 연구실에서는 공동연구를 원칙으로 하며 마우스 신규 개발뿐만 아니라 분석까지 같이 진행하고 있습니다. 시간과 비용을 절약할 수 있을 뿐만 아니라 연구목적에 맞는 마우스 디자인과 분석까지 할 수 있기 때문에 많은 연구자들이 선호합니다.

Q

GEM 제작, 보존 시 특별히 주의를 기울이는 점이 있나요?

A

Mouse breeding, 사육 시설 오염, 인수인계 등의 사유로 한 번 제작된 GEM 자원이 오래 유지되지 못했습니다. 그러나 GEM을 분양받은 연구자가 수개월 또는 수년이 흘렀는데 같은 마우스를 다시 보내달라는 경우가 종종 있거든요. 이를 대비하여 확보된 GEM은 sperm freezing을 통해 자원 보존 및 재생을 진행하고 있습니다.

Q

실무를 수행하면서 느끼는 애로사항이 있으신지요?

A

수정란 업무를 진행하다 보니 특정 시간에 실험을 진행하기 때문에 주말이나 공휴일에도 업무가 생기는 경우가 많습니다. 또 마우스 수정란을 충분히 확보하는 것이 어렵기 때문에 많은 개체를 다루어야 합니다. 손 기술을 요하는 업무이다 보니 새로운 인력을 훈련시키는데 많은 시간이 소요되는 점도 큰 어려움 중 하나입니다. 하지만 이러한 과정을 통해 마우스가 분양되고 연구자가 저희 마우스 덕분에 좋은 논문을 출간했다는 소식을 접했을 때 보람을 많이 느낍니다.

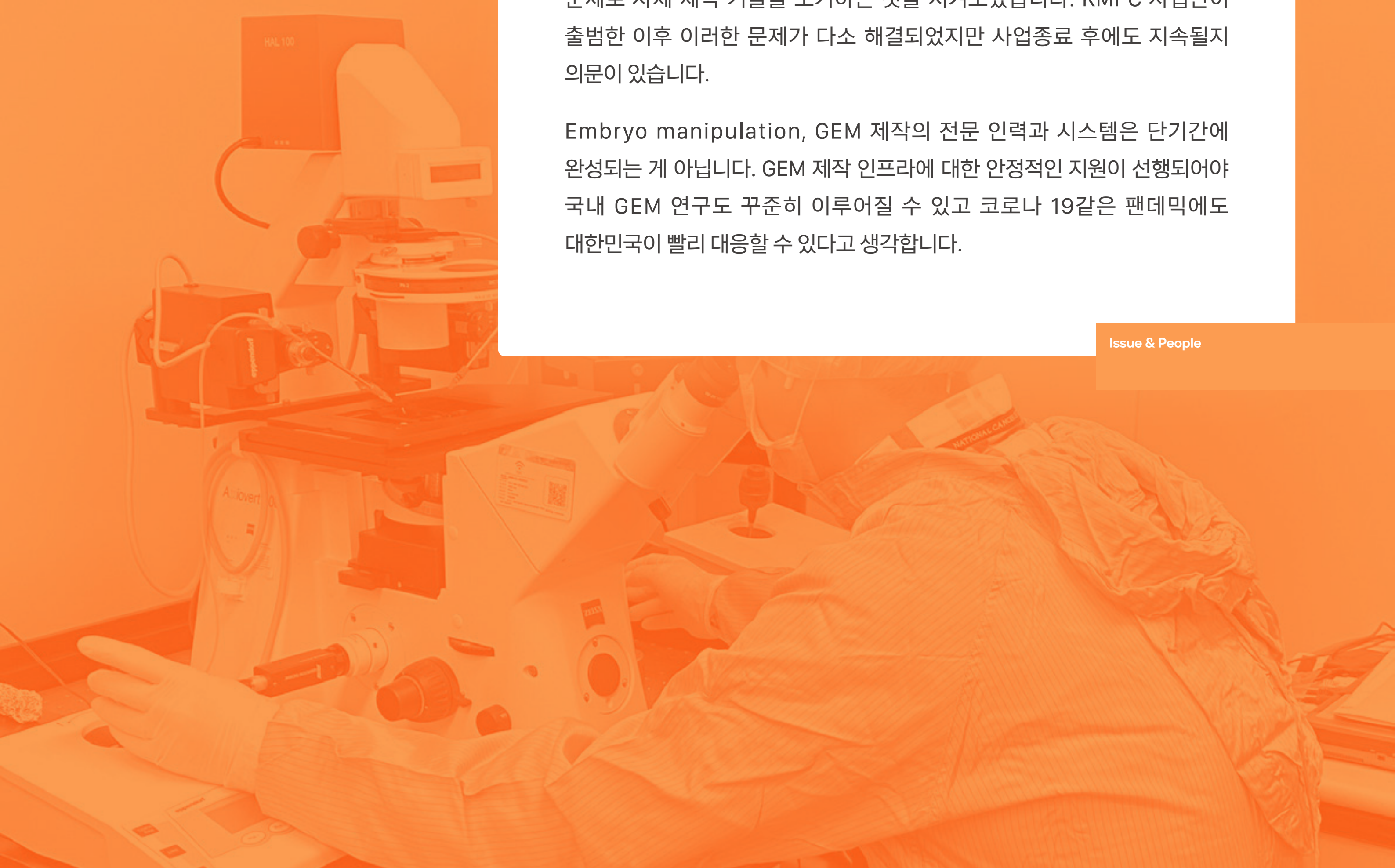
Q

국내에서 GEM 제작을 활성화하려면 가장 필요한 것이 무엇인가요?

A

지난 수년간 GEM 자체 제작 기술을 보유하고 있는 연구실이 인력과 연구비 문제로 자체 제작 기술을 포기하는 것을 지켜보았습니다. KMPC 사업단이 출범한 이후 이러한 문제가 다소 해결되었지만 사업종료 후에도 지속될지 의문이 있습니다.

Embryo manipulation, GEM 제작의 전문 인력과 시스템은 단기간에 완성되는 게 아닙니다. GEM 제작 인프라에 대한 안정적인 지원이 선행되어야 국내 GEM 연구도 꾸준히 이루어질 수 있고 코로나 19같은 팬데믹에도 대한민국이 빨리 대응할 수 있다고 생각합니다.



생명과학 이슈

안녕하세요. 국가마우스표현형분석사업단에서 마우스 제작을 담당하고 있는 고려대학교 의과대학의 김경미입니다. 저희 연구실은 크리스퍼 시스템 기반의 유전자 편집 기술을 고도화하여 이를 활용한 동물모델 제작 및 치료제 개발을 위한 적용 연구를 진행하고 있습니다. 오늘은 그 중에서도 마우스 모델 제작에 적용했던 유전자 편집 기술들에 대해 소개하고자 합니다.

크리스퍼 시스템 기반의 유전자 편집 기술

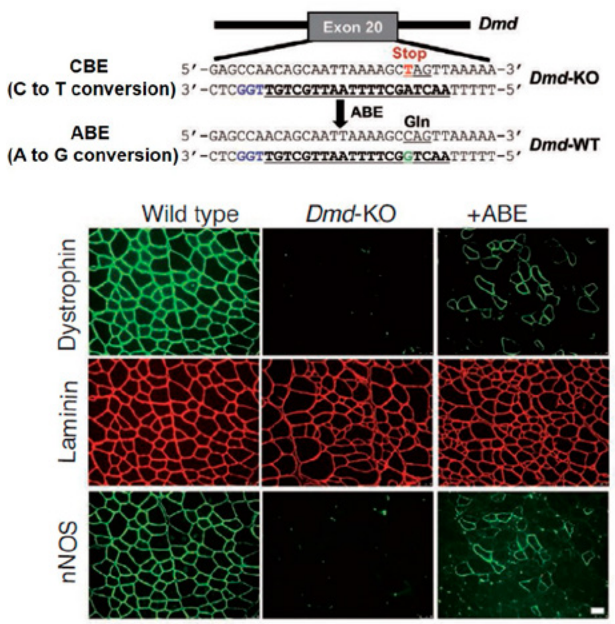
고려대학교 의과대학
김경미 교수

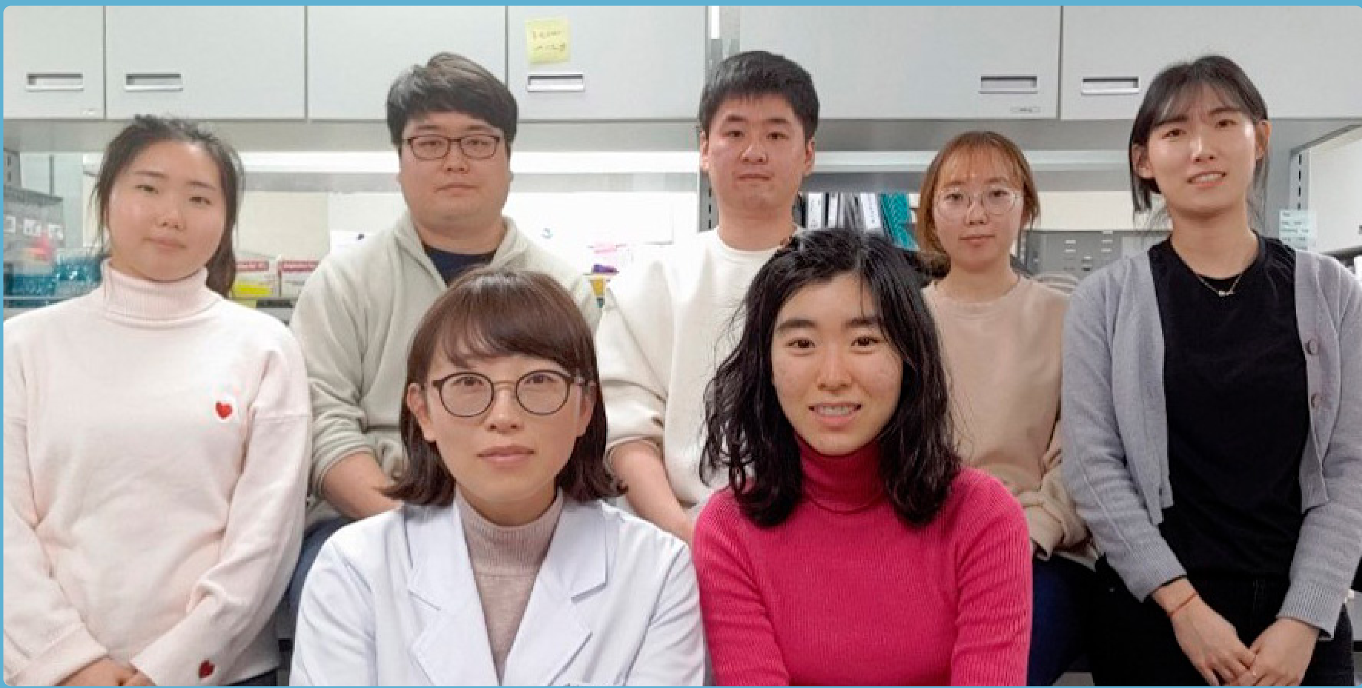
원핵 생물의 후천성 면역 시스템에서 파생 된 CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) 시스템은 다양한 연구에 적용될 수 있는 혁신적인 게놈 편집 기술입니다. 이 중 3 세대 유전자 편집 시스템인 Streptococcus pyogenes Cas9 (SpCas9)는 가이드 RNA (gRNA)에 의존하여 게놈 상의 원하는 표적 위치에 돌연변이를 효율적으로 도입할 수 있습니다. Protospacer-adjacent motif (PAM) 서열이라 불리는 SpCas9의 표적 인식 서열은 5'-NGG-3'(N = A 또는 T 또는 G 또는 C) 입니다. 편집 및 보정을 위해 특정 유전자를 표적화 할 수 있는 Cas9 단백질은 짧은 gRNA에 상보적인 20 염기 쌍의 표적서열 위치에서 DNA 이중 가닥 절단을 생성합니다. 절단된 DNA는 비상동성말단접합 (NHEJ) 또는 상동재조합 (HDR) 메커니즘에 의해 복구되는 과정에서 삽입 또는 결실 (indel)의 돌연변이를 생성하게 됩니다. SpCas9은 매우 효율적이고 특성화 된 PAM 서열을 제공하기 때문에 동물 모델 제작 및 생체 내 연구를 포함한 다양한 기본 연구와 임상 응용 분야에서 널리 사용 할 수 있습니다.

다른 고효율 생체 내 유전자 편집 도구로는 Acidaminococcus sp. Cpf1 (AsCpf1)과 Lachnospiraceae bacterium Cpf1 (LbCpf1)이 보고되어 있습니다. Cpf1은 Cas9과 같이 표적 DNA의 이중 가닥 절단을 생성하여 수리

과정에 의해 염기 일부가 결실되거나 삽입 (Insertions and deletions, Indels)되는 돌연변이를 유도 할 수 있습니다. 또한, 다른 유전자 편집 방법에 비해 상동재조합 효율이 높기 때문에 특정 서열의 삽입 또는 전환이 가능합니다. 따라서 Cpf1은 절단에 의한 유전자변이 뿐만 아니라 녹인 (Knockin) 동물 모델 제작에도 유용하게 사용 될 수 있습니다. 저는 마우스 모델을 제작하는 연구에 Cpf1을 처음 적용하였고, 표적 유전자인 Tyrosinase gene이 높은 효율로 변이가 도입되는 것을 확인 할 수 있었습니다. 동시에 Tyrosinase 유전자의 녹아웃 (Knockout) 표현형인 백색증 (Albinism)을 보이는 것을 확인 할 수 있었습니다. 이처럼 Cpf1은 마우스모델 제작에 높은 효율로 적용이 가능한 유전자 편집 방법입니다.

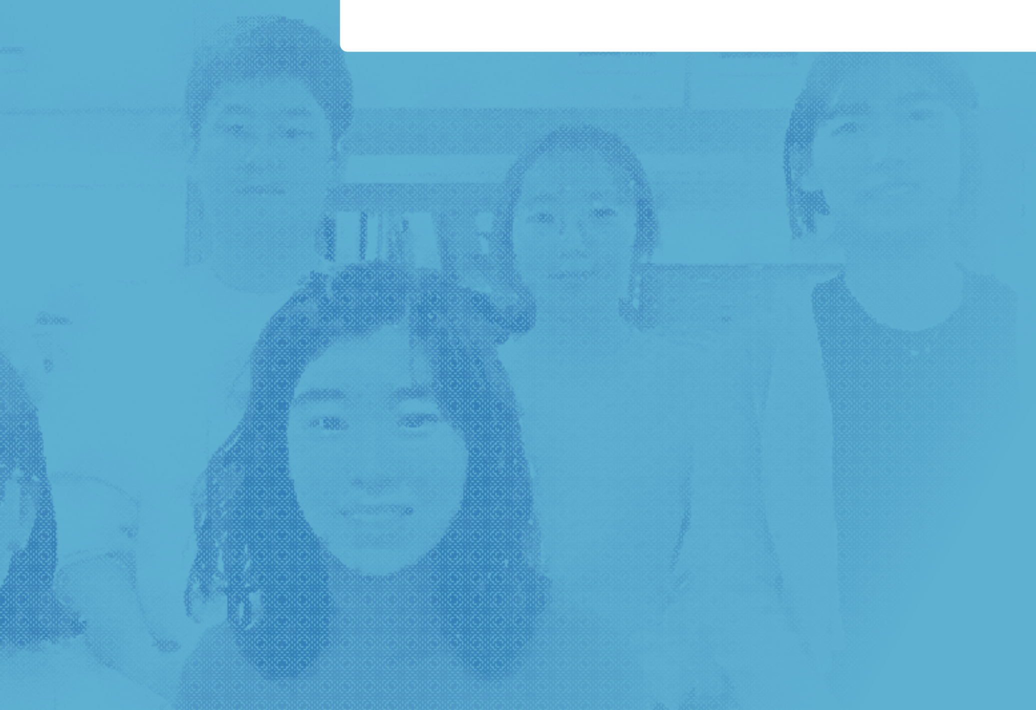
최근에는 염기교정방법 (Base-editior, BE)이라 불리우는 단일 염기 수준에서의 전환이 가능한 새로운 유전자 편집 방법이 보고되기도 하였습니다. CRISPR 시스템의 개발로 원하는 표적 부위에 변이 유도가 수월해 졌음에도 불구하고, 특정 염기 수준의 치환은 상동재조합 수리 과정을 거쳐야하기 때문에 효율은 매우 낮습니다. 이러한 한계를 극복하기 위해 개발된 염기교정방법 (Base-editior, BE)은 주형이 되는 donor DNA 없이도 높은 효율로 단일 염기 수준에서의 변이를 유도 할 수 있습니다. 염기편집 방법에는 nickaseCas9(nCas9)과 cytidine deaminase로 구성된 cytosine base editing (CBE), nCas9과 변형된 adenine deaminase로 구성된 adenine base editing (ABE)가 보고되어 있습니다. CBE는 C에서 T로의 염기 치환이 가능하고, ABE는 A에서 G로의 염기 치환이 가능한 유전자 편집 방법으로 인간의 질환을 유도하는 다양한 유전체 변이 중 약 50%가 점돌연변이인데 이것을 치료하기 위한 연구 및 동물 모델 제작에 적용 가능한 획기적인 방법입니다.





저희는 염기교정 방법인 CBE를 사용하여 C에서 T로 전환하여 Stop codon이 형성되도록 디자인하여 유전질환인 Dystrophin 유전자를 표적으로 처음으로 마우스 질환모델을 제작하였습니다. 또한, ABE를 이용해서 A에서 G로 염기 전환을 통해 정상으로 교정되도록 치료연구에 적용하였습니다.

이처럼 다양한 적용이 가능한 크리스퍼 시스템 기반의 유전자 편집 기술은 연구 및 임상 적용을 위한 동물 모델 연구에 매우 중요한 위치에 있습니다. 저희는 지속적인 연구를 통해 유전자 편집 기술을 고도화 하여 마우스 모델 제작 연구에 기여하도록 더욱 더 노력하도록 하겠습니다. 감사합니다.



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.

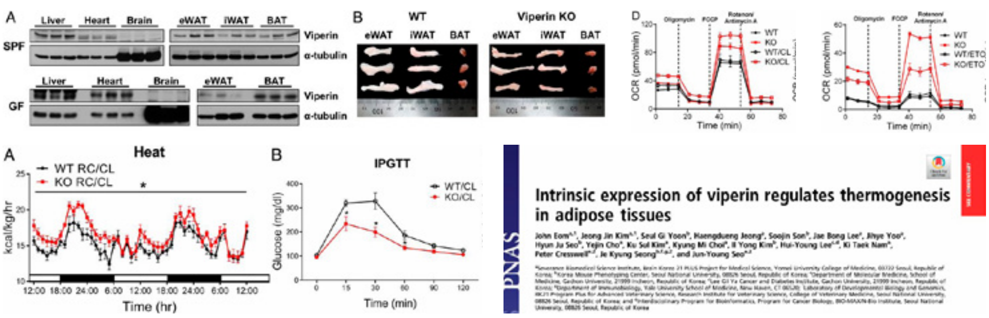
01

대표성과

면역관련 유전자 바이페린의 에너지소비 조절 기전 규명

면역에 관련된 유전자로만 알려져 있던 바이페린이 지방세포 내 지방산 산화 과정을 저해하여 에너지소비 조절에 관여한다는 사실을 처음으로 밝힘

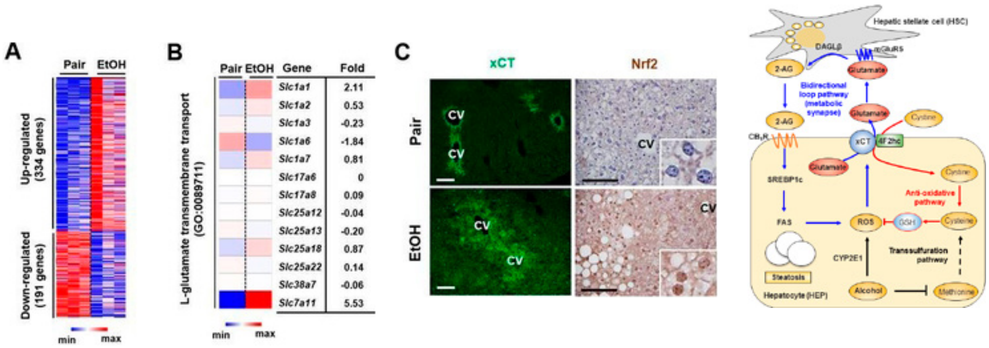
* 논문 : PNAS(IF: 9.58)에 게재



알코올성 지방간 매커니즘 규명

알코올성 스트레스 시 간세포가 글루타메이트를 분비한다는 사실과 간성상세포 mGluR5활성을 통해 엔도카나비노이드 매개 알코올성 지방간을 유도하는 기전을 밝힘

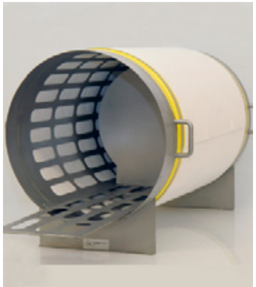
* 논문 : Cell Metabolism(IF: 22.415)에 게재



Gnotobiotes 사육 시스템 구축

Gnotobiotes 사육시설의 장비 확충

- 기존의 GF 마우스 사육시설의 장비를 개선, 보완하여 Gnotobiotes 사육 시스템 구축
- 멸균용 분무기, 멸균 테이블, 멸균용 실린더, 밀봉 작업용 테이블 등 4종의 장비 확충

사진	세부사항		사진	세부사항	
	명칭	Stainless Steel Atomizer and Compressor Cart (멸균용 분무기)		명칭	Double Sterilizing Table Unit (멸균 테이블)
	용도	소독액을 공기 중에 분사하여 아이솔레이터 내 소독		용도	물품 반입을 위한 실린더를 포함하는 멸균 테이블
	명칭	Sealing table (반입물품 밀봉 작업용 테이블)		명칭	Economy sterilizing cylinder (멸균용 실린더)
	용도	사육시설 작업용 테이블		용도	물품 반입 전 autoclave를 위한 실린더

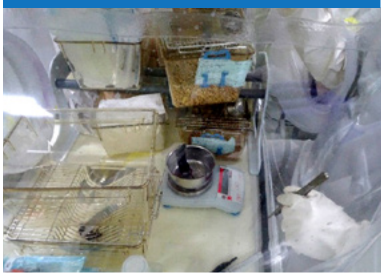
Gnotobiotes 사육 시스템 구축

ISOcage P 설치 및 유지

- Gnotobiotic 마우스 개별 케이지 시스템을 위한 ISOcage P 설치
- 이중 차단구조로 되어 있어 Gnotobiotes 사육시설의 청정도 유지, 교차오염 방지에 적합
- 시설 유지관리를 위한 표준작업지침 (SOP) 제작
- 60 cage 수용 가능, 현재 14 cage 운용중

Gnotobiotes 개별 케이지 시스템

GF 마우스 사육시설 운용



ISOcage P 표준작업지침


ISO CAGE - P
SOP

Isocage Biosafety Station (IBS) 설치 및 유지

- 마우스의 케이지 교체 및 실험을 위한 특수 생물 안전 캐비넷
- Laminar flow와 Dunk tank를 통해 무균환경을 유지하며 무균케이지 반입 가능
- 시설 유지관리를 위한 표준작업지침 (SOP) 제작

Isocage Biosafety Station 설치

IBS 유지 및 관리

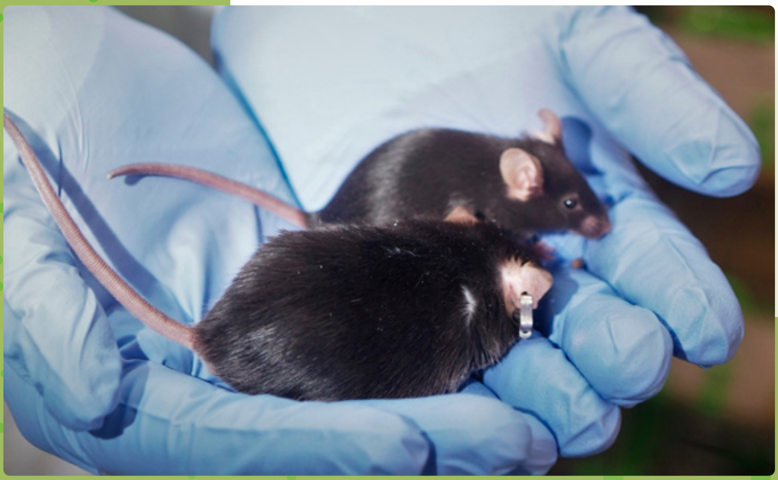
ISOcage P 표준작업지침


Isocage Biosafety Station
SOP

02

코로나19 치료제 감염 모델 마우스 5종 개발 돌입

국가마우스표현형분석사업단은 신종 코로나바이러스 감염증(코로나 19)에 효능이 있는 약물을 검증하기 위한 동물모델 개발을 추진하고 있다. 그간 확보한 유전자변형마우스 신규 제작 역량을 바탕으로 코로나 바이러스 변이 상황을 고려해 코로나 감염 모델 마우스 5종을 개발하고 있다. 또 사업단은 코로나 감염 마우스를 보유한 나라들이 국외 반출을 꺼리는 상황임에도 불구하고 국제 네트워크를 기반으로 이미 개발된 해외 마우스를 도입하기로 했다. 국가마우스표현형분석사업단은 확보한 감염 모델 마우스들을 각 기관에 신속하게 보급할 예정이다. 마우스들은 전임상실험을 통해 코로나 19 치료제를 개발하는 데 사용할 계획이다.



03

2020 Mouse Workshop by KSMCB & KMPC 개최

(재)국가마우스표현형분석사업단은 한국 분자세포 생물학회(KSMCB) 마우스유전체분과와 함께 2월 19일 서울대학교 호암교수회관에서 ‘2020 Mouse Workshop by KSMCB & KMPC’를 개최했다. 마우스 연구자의 기본 역량 강화를 목적으로 올해 처음 개최한 마우스 워크숍은 ‘Workshop on Mouse Model and Translational Research’를 주제로 열렸다. 1일 집중 프로그램으로 기획된 워크숍에는 성제경 단장을 비롯하여 각 분야의 마우스 연구 전문가 12명이 초청 연자로 나섰다. 특히 실험 디자인, 이종이식 모델, GEM 모델 제작, 질환 모델, 지방이상증 모델, 무중력 근골격계, 해부생리, 병리, 배아, 사육관리, 핸들링 기법, 인공지능 분석 시스템 등 참여 연구자들에게 마우스 표현형과 관련된 다양한 강의를 접할 기회를 제공했다. 마지막에는 강의 관련 퀴즈 및 상품 증정 순서를 마련하여 강의 내용에 대한 집중도를 높이고 워크숍 퀴즈 참여를 독려하는 등 프로그램 전반에 대한 흥미를 배가했다. 책임 및 선임연구자, 대학원생 등 약 150여명이 참가한 이번 워크숍은 향후 정기적으로 개최하여 마우스 유전체의 최신 연구 동향을 교류하고 참여 연구자의 역량 향상을 위해 지속적으로 노력하는 등 국내 바이오 연구의 장기적 경쟁력 강화에 적극 기여할 계획이다.

04

신규 제작 GEM 소개

(재)국가마우스표현형분석사업단에서 제작한 유전자변형마우스(GEM)를 국내 연구자에게 분양해드리고 있습니다.
연구자 여러분의 많은 이용 바랍니다. 연구자들의 관심과 문의가 많은 GEM 10개를 소개해드립니다.

Birc3(Cas9, em1) 01

- Full Name : baculoviral IAP repeat-containing 3
- MGI : 1197007
- MOP : MOP1909003
- NCBI Gene : 11796

Fam187b(Cas9, em1) 02

- Full Name : family with sequence similarity 187, member B
- MGI : 1923665
- MOP : MOP2003003
- NCBI Gene : 76415

Cep170(Cas9, em1) 03

- Full Name : centrosomal protein 170
- MGI : 1918348
- MOP : MOP2003004
- NCBI Gene : 545389

Armc9(Cas9, em1) 04

- Full Name : armadillo repeat containing 9
- MGI : 1926045
- MOP : MOP2003005
- NCBI Gene : 78795

Cep295(Cas9, em1) 05

- Full Name : centrosomal protein 295
- MGI : 2442521
- MOP : MOP2003006
- NCBI Gene : 319675

Vapa(Cas9, em1) 06

- Full Name : vesicle-associated membrane protein, associated protein A
- MGI : 1353561
- MOP : MOP2003009
- NCBI Gene : 30960

Gm11992(Cas9, em1) 07

- Full Name : predicted gene 11992
- MGI : 3651127
- MOP : MOP2003010
- NCBI Gene : 626870

Ccdc113(Cas9, em1) 08

- Full Name : coiled-coil domain containing 113
- MGI : 3606076
- MOP : MOP2003007
- NCBI Gene : 244608

Fank1(Cas9, em1) 09

- Full Name : fibronectin type 3 and ankyrin repeat domains 1
- MGI : 1914180
- MOP : MOP2003011
- NCBI Gene : 66930

Bc016579(Cas9, em1) 10

- Full Name : cDNA sequence, BC016579
- MGI : 27720
- MOP : MOP2003008
- NCBI Gene : 212998

KMPC GEM 제작, 분양 문의

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