

형질전환동물의 생산현황과 그 전망

건국대학교 동물 자원 연구 센터

김진희

1. 서 언

형질전환동물 생산기법이 1980년 J. Gordon에 의해 도입된 이후, 다수의 연구자에 의해 다양한 종류의 형질전환동물이 생산되었다. 이중 가장 각광을 받는 분야는 질환모델동물 생산과 특수유용생리활성 물질을 생산하는 bioreactor system의 개발이다. 지금까지 생산된 형질전환 생쥐 및 흰쥐의 경우 특정 유전자의 기능해석에 유용한 수단으로 제공되었다. 그러나, 다수의 경우 고등동물에 동일 유전자를 적용할 경우 반드시 상충된 결과를 얻을 수 없어, 이들 형질전환동물의 생리활성 규명 및 제어에 있어, 이들 기법의 응용이 하나의 난제로 대두되고 있다. 또한, 형질전환 생쥐의 경우와는 달리 이들 대동물에서의 형질전환 생산효율은 매우 저조하며, 많은 노동력과 경비가 요구된다. 비록, genome project에 의해 다양한 유전자가 분리 동정되어 있으나, 이들 유전자중 이용 가능한 유용유전자의 경우 현재 극히 한정되어 있는 실정이다.

현재 형질전환동물 생산기법은 다양한 연구에 응용되고 있다. 이중 생식세포에 antisense oligonucleotide를 1세포기의 전핵에 주입함으로써, 배발생의 기능에 대한 해석이 가능하게 되었다. 이들 기술은 암세포에 응용이 가능하며, 암을 유발하는 조직 또는 세포에 이들 암 유전자를 저해하는 antisense oligo를 주입함으로써, 암세포의 증식을 저해할 수 있다. 또한, 이들 기술은 다양한 질환을 가진 환자에 응용 가능할 것이다. 이들 gene therapy는 현재 선진제국에서 일부 질환에 한해 그 치료가 허용되고 있다.

현재 진행중인 human genome project가 종결되는 2006년 경, 우리 인류는 인간의 활동 및 생리 기능에 필수적인 약 10만개의 모든 유전자를 분리·동정하게 될 것이다. 이때, 이들 유전자의 생리적 기능의 규명을 위해 형질

전환동물 생산기법은 유일한 수단으로 대두될 것이다.

2. 형질전환 동물의 현주소

1) 형질전환 생산 기법

형질전환동물의 생산기법은 다양하며, 이들 생산기법의 장단점은 아래와 같다.

(1) 현미미세주입법

현미미세주입법은 형질전환동물의 생산을 위해 가장 일반적으로 사용되는 방법이며, 이 방법의 장점으로서 직접 DNA를 전핵에 미세주입가능하며, 마우스의 경우 100개의 난자에 주입시 20-30마리의 산자를 얻을 수 있으며 이중 10-30% 즉 2-9마리의 형질전환 마우스의 생산이 가능하다. 단점으로서 고가의 설비를 요하며, 마우스 이외의 대가축의 경우 형질전환동물의 생산효율이 극히 저조하다. 예를 들면, 소, 돼지, 양, 염소의 경우 형질전환동물 생산효율은 1% 미만이다. 또한, 조류 및 어류에 적용이 불가능하며, 도입된 유전자의 경우 다수의 copies가 삽입되어 목적유전자의 정확한 생리규명이 불가능하다. 그 외에 취사 유전자를 이용한 형질전환동물의 기능해석을 할 수 없다.

(2) Retrovirus법

레트로바이러스를 이용한 형질전환동물의 생산은 주로 전핵이 불투명한 종에서 이루어지고 있으며, 이중 닭에서 가장 일반적으로 사용되고 있다. 이들 레트로바이러스를 이용한 장점으로서 특수한 설비가 요구되지 않고, 조작이 간단한데 있다. 또한 목적 유전자의 1copy 삽입에 의한 정확한 생리규명이 가능하다. 그러나, 단점으로서 초기배에 도입이 불가능해 형질전환동물의 대부분이 모자이크로 germline의 전달이 문제이다. 마우스, 닭, 물고기 이외의 동물의 경우 형질전환동물의 보고 사례가 없으며, 식용가축에의 적용이 불가능하며, 취사유전자 사용 또한 불가능

하다.

(3) Embryonic stem cell법

ES 세포를 이용한 형질전환동물의 생산은 주로 목적유전자의 'loss function'에 의한 생리기능을 추적하는 방법으로서, 타의 방법과는 달리 새로운 유전자의 단리를 목적으로 하는 'gene targeting'과 동일 유전자내의 'homologous recombination'이 가능하다. 이 방법은 TK유전자와 neo유전자의 발현에 의한 G418 및 Gancyclover에 의한 약물선택이 가능함으로서 체외에서 유전자 조작이 가능하며, 고효율의 형질전환동물을 생산할 수 있다. 목적유전자의 동일부위에 유전자 도입이 가능해, 정밀한 생리규정이 가능하며, 취사 유전자의 연구가 가능하다. 그러나, 단점으로는 배양 및 목적 유전자를 가진 개체 선발이 어려우며, 쉽게 전능성이 상실되어, germline에 잘 분포가 되지 않는다. 그외에 마우스 이외의 타종의 경우 다수의 ES 유사세포가 분리되었으나, 이들 세포를 이용한 카이메라 생산보고가 없어 급후 그 유용성의 검토가 요구된다. 최근 이들 ES 세포와 동일한 기능을 가진 primordial germ cell(PGCs)이 분리되었다. 이 PGCs는 ES와 기능은 동일하나, 이 세포 또한 마우스 및 닭이외의 경우 형질전환동물의 보고가 없다. 그러나, 닭의 경우 지금까지 보고된 방법 중 가장 유력한 방법으로 활용되고 있다.

(4) Sperm vector법

Sperm vector법은 수정능획득 과정에 단순히 외래 유전자를 첨가함으로써, 이들 정자가 막부위에 외래 유전자를 결합함으로써 수정란의 전핵에 전달한다는 원리에 입각하여 개발되었다. 이 방법은 타 방법에 비교가 되지 않을 만큼 조작이 간단함에 있으나, 단점으로는 Labitrano그룹과 Hochi동 이외에는 모두 negative라는 사실에 있다. 그러나 현재 다양한 방법이 개발되어 있다. 이들 방법 중, 어류의 경우 electropolator법에 의해 다수의 형질전환 fish의 생산가능성이 일본의 한 그룹에 의해 최근 보고 되어 물고기에서의 응용이 기대되고 있다. 그러나, 타 종에서는 이 electropolator법은 수정율의 저하로 그 실용성은 의문시되고 있다.

(5) 기타

앞에서 서술한 방법 외에도 몇가지 방법이 개발되어 있으며, 대부분 이들 방법은 전술한 방법의 combination에 의한 방법이라 할 수

있다.

① Pricking법: 배반포내의 ICM 부위에 외래유전자를 도입하는 방법이며, 현재 극히 효율이 저조하나, 현미미세주입법 보다는 조작이 간단하다. 이를 개량하기 위한 방법으로 liposome과 유전자 복합체를 이용하여 핵내부로 식작용을 유도하는 실험이 진행중이나, 대부분이 1 copy 미만이 삽입되어, 외래유전자의 발현이 미흡하다.

② Electropolator법: 단순 전기자극법에 의한 보고는 없다. 이는 전기자극시 막이 파괴되고 핵내 숙주 염색체의 재배열이 많이 유도되기 때문이다. 현재 정전압을 이용한 이들 방법이 개량중에 있다. 이들 정전압 사용에 의한 형질전환 마우스의 생산효율이 약 15% 전후로 company는 보고하고 있으나 타 그룹에 의해 confirm된 보고는 없다. 그러나 현재 개구리를 대상으로 인위적 mutation유도를 위한 method로 폭넓게 활용되고 있다.

③ Vacum pump법: 이 방법은 살아있는 개체의 gene therapy를 목적으로 개발 되었다.

2) 형질전환동물의 이용

형질전환동물 기법은 다양하며, 이들 기법을 이용한 분석법도 다양하다. 그러나, 본고에서는 주로 현미미세주입에 의한 형질전환동물 생산과 이들 응용 현황에 대해 살펴보기로 하겠다(ES 세포를 이용한 형질전환 동물의 경우 변태호 박사 참고).

(1) 성장관련 유전자

형질전환동물의 생산에 의해 최초로 이목을 주목시킨 것은 Brinster등에 의해 생산된 흰쥐 유래의 성장호르몬 유전자를 생쥐의 전핵기 수정란에 도입함으로써 생산된 거대생쥐의 출현이었다. 이들 생쥐의 경우, 대조군에 비해 2배 이상의 체중을 가진 개체로 발달하였다. 이들 결과는 축산분야의 큰 관심을 유발하여, 다수의 성장관련 유전자가 도입된 형질전환 돼지가 생산되었다. 그러나, 이들 결과는 생쥐와는 달리 거대 돼지의 생산은 유도되지 않았으며, 또한, 생쥐와는 달리 다수의 negative effects가 보고되었다. 그러나, 이러한 사실은 1970년 경의 결과로서도 예측될 수 있었다. 즉, 돼지의 경우 타 동물과는 달리 돼지 이외의 성장호르몬 단백질을 복강내 투여시 성장촉진이 인정되지 않지만, 돼지의 성장호르몬을 투여시에 약 25%의 성장촉진을 보였기 때

문이다.

(2) 생리활성물질 생산

Clack그룹에 의해 1987년 유선 특이조절인자의 조절아래 우유에서의 유용생리활성물질의 생산이 보고된 이래 다수의 형질전환동물이 생산되었다. 이들 형질전환동물의 생산은 현재 선진제국에서 가장 많이 관심을 쏟고 있는 분야의 하나로서, 이미 몇 유전자에 관해서는 특히 신청 및 신소재 동물로서 등록되어 미래지향적 산업으로 각광을 받고 있다. 그러나, 생리활성물질의 생산은 가축에 있어서 형질전환동물 생산효율이 낮을 뿐만 아니라, 또한 높은 생산비용 때문에 개발에 저해요인으로 작용하고 있다. 이들 요인은 간단하고, 손쉬운 형질전환동물의 개발에 따라서, 혹은 대체효과로서 유선조직 대신 계란의 난백에 알부민 promotor을 이용하여 목적의 유용생리활성물질을 대량 생산함으로써 그 부가가치를 대체가 가능하다 하겠다.

(3) 질환 모델 동물의 생산

자연계에 존재하지 않은 질환동물의 개발은 인류의 복지와 번영과 직결되는 문제이다. 암, 에이즈, 간염등 다수의 질환동물이 생산되어, 이들을 이용하여 치료약의 개발 및 임상용으로 활용되고 있다. 가축에서는 인간의 장기를 대체할 동물이 이미 개발되어, 1995년을 전후해 인간에게 장기를 제공할 예정이어서, 금후 그 결과가 주목되고 있다. 이들 장기 제공등 임상적 목적으로 사용될 후보로는 Von Willebrand factor와 antisense IGF를 들 수 있다. 아울러, 당 연구실에서도 선천성, 후천성 망막장애에 의한 인위적 장님을 유도한 형질전환동물을 생산하였으며, 금후 이들 동물에서의 광수용기 치료를 위한 모델동물로서의 큰 관심을 쏟고 있으며, 이들의 성공적인 결과는 눈이 부자유한 장애자 및 40대 이후의 야맹증 환자와 시력이 급속히 떨어지는 사람에게 빛을 제공할 수 있으리라 믿는다.

(4) 면역관련 물질의 생산

현재 면역기능 강화를 위해 크게 3가지가 개발되고 있다. 첫째는 내병성이 강한 동물의 생산이며, 두번째는 생리활성물질의 생산과 같이 대량생산이 목적이며, 3번째는 lactoferrin과 같이 유아의 면역기능 강화를 위해 단순히 우유에 분비시킴으로서, 습취하는 system의 개발이다. 이들 종류의 형질전환동물의 생산을 현재 개발중이거나, 개발을 목적

으로 수행중에 있어 금후 그 결과가 주목된다.

(5) 특수 동물생산

특수 동물의 생산은 목적에 따라 다양하나, 이중 흥미로운 것을 분류하면 다음과 같다.

① 혈액성분의 생산

인간의 혈액은 항상 수요를 충족시키기에 절대적으로 부족하다. 또한 전쟁과 같은 비상 시기에 이들의 수요는 공간적 또는 보존적 시기의 제약을 받는다. 이러한 수요의 공급적 측면에서 혹은 공간적 또는 보존 기간의 문제점을 해결하기 위한 방안으로 인간의 hemoglobin을 형질전환동물의 혈액내에서 발현하여 분리하려는 연구가 진행중에 있으나, 현재 분리 방법의 어려움으로 금후 그 결과가 기대된다.

② 불로장생관련 동물생산

생로병사중 죽음을 피하고 싶은 심정은 불로장생주를 구하려던 진시황제의 꿈만은 아닌 것 같다. 최근 잉어에 묻어 사는 미생물로부터 단리된 유전자는 형질전환동물을 불사화를 유도했으며, 이들은 다수의 연구 그룹에 의해 확인되고 있다. 그러나, 윤리적 문제로 인해 형질전환동물이 도살되는 등 다수의 사회적 문제점이 제기되고 있어 금후 검토를 요하는 사항이다.

③ Homeo유전자의 활용

Homeo유전자는 동물의 특정 부위의 생산을 지령하는 유전자이다. 최초로 이들 유전자는 안테나를 생산하는 연구의 결과에서 비롯되었다. 현재, 새의 날개를 생산하는 유전자의 단리 후, 이들 유전자를 이용하여 형질전환닭을 생산한 결과 날개가 3인 동물의 생산에 성공하였다. 이들 결과는 장기의 부분 절제 및 완전 제거된 인간에게 이들 기술을 응용할 경우 새로운 장기의 인위적 유도가 가능하여 각 부위에 따른 질환 치료의 모델로서 활용가능하다 하겠다.

④ 관상관련 동식물의 생산

반디불 유전자의 분리에 따라, 이들 유전자를 활용하여, 밤에 반디불을 나타내는 식물이 개발되었다. 이들 유전자를 어류에의 응용은 야광을 나타내는 관상어의 개발로 연결될 수 있다. 어류의 경우, 나무와는 달리 3배체의 인위적 조절이 가능하여, 번식조절을 인위적으로 유도할 수 있어 금후 주목되는 분야중의 하나이다.

⑤ 임신과 피임의 조절

착상은 자궁과 배의 상호작용에 이루어지고 있으나, 착상이 유도되기 위해서는 반드시 자궁의 원도가 작용해야만 한다. 이들 착상은 자궁에서의 원도가 중요한 역할을 한다. 이 착상 원도의 조절인자의 후보의 하나로서 백혈병저해인자(LIF)를 들 수 있다. 최근 이들 유전자의 일부를 파괴하여 상동치환에 의한 형질전환동물의 생산에 성공하였다. 이들 유전자가 완전히 결여된 home 생쥐의 경우 LIF의 결여로 인해 정상적으로 발달한 배반포의 경우에도 착상에 실패하였다. 이들 생쥐에 LIF을 자궁에 이식한 관을 통해 일정하게 투여하였을 경우 착상이 유도되었다. 이들 결과는 LIF을 이용하여 임신과 피임을 조절하는 수단으로 사용할 수 있으며, 가축의 경우 20%이상의 번식효율을 제고할 수 있다.

3. 미래의 전망

형질전환동물 생산 기술은 단순히 특정 유전자의 생리규명 이외에 물질생산과 질환 치료를 위한 gene therapy로 개발되고 있다. 그러나, 현재 생쥐이외의 형질 전환생산 효율이 극히 저조한 실정이며, 이들은 sperm vector 등과 같은 단순방법에 의한 생산 효율의 제고가 요구된다. 또한, 내인성 유전자와는 달리 형질전환동물의 경우 특정 유전자의 만성적 생산으로 인해 생리기능에 있어 negative feedback system이 다수 발생한다. 따라서, 금후의 연구과제로는 이들 부의 생리기능을 제어하기 위해 내인성유전자와 동일한 제어 system의 개발이 요구된다. 이를 위해 cis-또는 trans-promotor element의 개발이 요구되며, 이들 promotor의 시간적·공간적 제어가 가능한 switch on/off system의 개발 또한 요구된다. 또한, 특정 유전자의 intron 혹은 poly(A)⁻내에 존재하는 enhancer등의 규명에 따라 공간 특이적, 단계특이적 발현이 조절 가능할 것이다. 아울러, 유용생리활성물질은 promotor내에 유도성 인자를 도입하여 필요한 시기에 대량 생산을 유도할 수 있도록 이들 유도인자의 개발이 요구된다. 그외에 요구되는 사항으로서

는 특정 유전자의 multifactor에 의한 작용기전을 이해하기 위해, 이들 유전자 상류부위에 존재하는 조절인자의 충분한 기능이 동정되어 어느 유전자의 발생과 분화에 따른 생리적 기능이 충분히 이해되어야 한다. 이들 대표적인 유전자의 실례로는 hemoglobin 유전자를 들 수 있다. 이 유전자는 태아 유래의 글로빈과 성인 유래의 글로빈이 임신기의 태아에서 일어나며, 이 유전자의 발현은 다수의 성장인자 또는 cytokine에 의해 제어된다.

Genomic project가 완성되는 2006년의 경우 다수의 유용 유전자가 분리 동정되어 형질전환동물의 생산은 최고의 황금시기를 맞을 것으로 예상된다. 이들 분리 동정된 유전자는 지금보다 더 정밀한 제어체계가 요구될 것으로 사료된다.

4. 결론

현재 이용되고 있는 형질전환동물 생산기법은 특정 유전자의 기능해석, 물질생산, 또는 특이기능을 가진 신소재 동물의 생산에 머물고 있다. 고등동물의 경우 유전자 조절 기능은 어느 특정 유전자의 산물이라기 보다는 다수의 multifactor의 영향에 의해 지배된다. 따라서, 금후 이들 인자의 개발이 우선되어야 하며, 현재 이용되고 있는 형질전환동물 생산기법이 보다 정밀하고, 높은 효율로 생산 가능해야 한다. 또한, 현재 생산되고, 금후 개발된 각종 형질전환동물의 경우, 비록 그 연구실에서는 불필요한 존재라 할지라도 타 연구실에서 소중한 연구재료로 활용가능하다. 따라서, 누구나 쉽게 이해할 수 있도록 형질전환동물의 명명법으로 통일되어야 하겠다. UR의 일괄타개로, 신소재동물의 지적보호권이 강화되고 있는 현실을 감안할 때, 보다 체계적이고 지속적인 연구의 수행이 절실하다. Human genomic project가 완성되는 2000년경 초 형질전환동물 생산기법은 보다 광범위한 분야에서 필수 불가결한 연구수단으로 활용되리라 믿어마지 않는다.