

상명대학교 생명공학전공 학술지

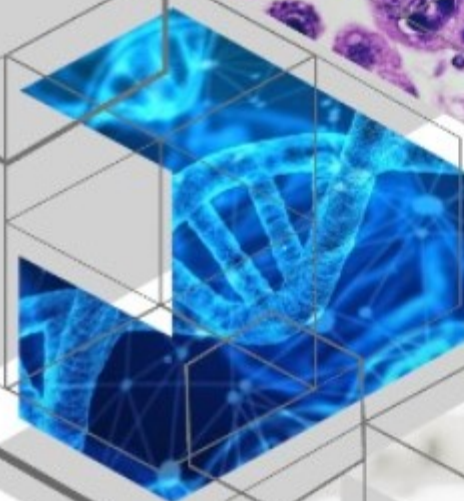
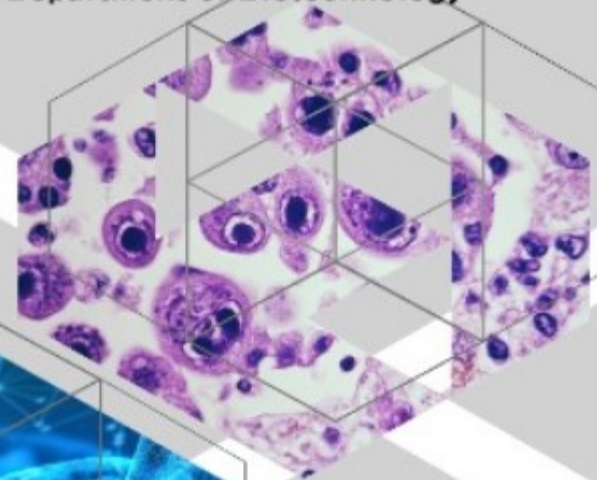
The CELL

Sangmyung University Department of Biotechnology

상명대학교 생명공학전공 학술지 The Cell Vol. 16 생명공학전공 학술동아리 AMP

Sangmyung University
Department of Biotechnology

December 2020 Vol. 16



Vol. 16

The CELL

생명공학전공 학술지

SANGMYUNG UNIVERSITY
BIOTECHNOLOGY MAJOR

발 간 사

생명공학전공 학술동아리 AMP

회장 송 윤 석

부회장 김 솔 빈

설레는 마음으로 시작했던 2020년 한 해가 어느덧 마무리에 접어들고 있습니다. COVID 19라는 큰 어려움에도 불구하고 이를 이겨내어 모두에게 올해 AMP의 활동 기록을 보여드릴 수 있어 매우 기쁩니다. 올해는 모든 팀들이 리뷰 논문작성에 집중하여 다양한 생명 공학 분야의 지식을 탐구하고 견해를 넓히는 데에 노력하였습니다. 대면 활동 제한이라는 처음 겪는 상황에도 모두가 주도적으로 활동을 이어나간 만큼 이 노력이 잘 전달될 수 있도록 학술지 집필에 최선을 다하였으며 마침내 'The Cell Vol. 16'을 출간하게 되었습니다.

먼저 동아리 운영에 대해 함께 고민해 주시고 올바른 방향으로 이끌어 주신 교수님들께 감사 말씀 드리고 싶습니다. 덕분에 1년이라는 중요한 시간을 코로나에 위축되지 않고 논문 리뷰라는 알찬 활동을 할 수 있었던 것 같습니다. 처음 하는 활동임에도 불구하고 성실하게 임해준 모든 동아리원들과 책임감을 가지고 팀을 이끌어준 팀장들에게도 감사의 말을 전합니다. 많은 것이 계획대로 되지 않아 당황하기도 하고, 코로나로 인한 정체 분위기에 휩쓸려 힘을 내기 힘들 때도 있었지만 저희는 새로운 걸 해냈고, 소중한 결과물을 얻었습니다. 모두가 정말 의미 있는 2020년을 보냈다고 전하고 싶습니다.

그동안 배운 경험과 지식들이 좋은 거름이 되어 앞으로의 활동에서 큰 결실을 맺을 수 있길 바랍니다. 올해의 학술지는 앞으로도 AMP가 이어질 수 있도록 방향성을 제시하는 지침서가 될 것이라 생각합니다. 지금처럼 멈추지 않고 나아가는 AMP가 되어 생명공학전공의 학술지가 이어지기를 기원합니다.

축 사

생명공학전공주임 및 학술동아리 AMP 지도교수

안 예 진

2020학년도 생명공학전공 학술지 The Cell의 발간을 진심으로 축하합니다!

올해는 코로나19 감염증의 확산으로 인해 전례가 없었던 한 해를 보냈습니다. 활동과 이동에 제한이 많았으며, 젊은 여러분들에게 특히 어려운 시간이었을 것으로 생각합니다. 대면 수업이 제한적으로 이루어지고 많은 학업을 온라인으로 진행해야 하였지만, 열심히 공부하여주시고 이해하고 따라준 데 대해 큰 감사를 드립니다.

올해는 코로나 시대의 특성상 AMP 활동으로 논문 리뷰를 수행하였습니다. 무엇보다 먼저 전반적인 AMP 활동을 이끌어 나아가준 회장 송윤석 학생과 부회장 김솔빈 학생에게 큰 감사의 인사를 드립니다. 5개 팀으로 나뉘어 최근 생명공학 분야의 핵심 주제들을 선정하고 관련 논문들을 읽고 정리하는 시간을 가졌지요. 많은 양의 연구논문들을 읽고 학습하는 모습에서 여러분이 생명공학 분야의 깊이 있는 전문적인 지식을 얻기를 원한다는 사실을 알 수 있었습니다. 늘 배우고자 하는 노력하는 자세를 가질 때 큰 성장을 이루어 낼 것임을 확신합니다. 바쁘신 중에도 학과 교수님들께서 각 팀을 지도하여 주심에 큰 감사를 드리며, 그 결과 매우 높은 수준의 리뷰 논문이 탄생할 수 있었습니다. 이번 활동에 참여한 AMP 구성원 여러분 모두가 이점을 매우 자랑스럽게 생각하시길 바랍니다.

코로나 사태는 우리 생명공학인들 에게는 오히려 마음껏 능력을 펼칠 기회가 될 수도 있겠습니다. 어느 노래 가사처럼 ‘말하는 대로, 마음먹은 대로, 생각한 대로’의 삶이 여러분 앞에 펼쳐질 것입니다. 항상 긍정적인 마음으로 앞으로 나아가시기를 기원합니다.

목 차

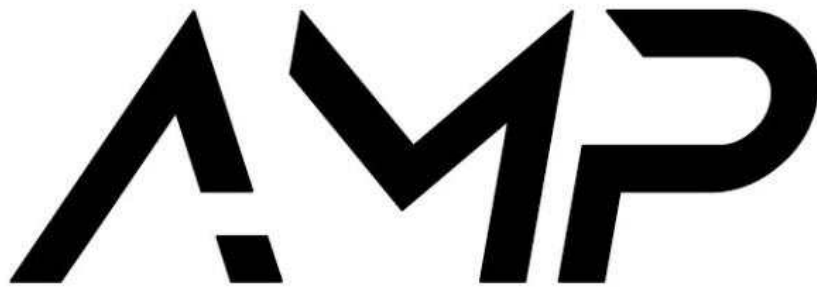
학과 학술통아리 AMP 소개	1
학과 소개	2
학과 교수님 소개	3
결과물 보고	
거대세포바이러스의 치료제 개발현황과 연구 동향	6
인간장내미생물 개념과 기능	24
유도만능줄기세포(iPSC)의 생산을 위한 체세포 리프로그래밍 기작 이해와 의학적 활용에 대한 연구	46
식물의 바이러스 방어기작과 작물 생산량 증대	83
식물에서의 정확한 유전체 편집을 위한 새로운 편집기술 개발	100
활동 소개 및 후기	
팀별 활동소개	118
COVID 19에 대한 기사 읽고 생각쓰기	123
AMP 활동 후기	128

학과 학술통아리 AMP 소개

AMP (Animal Microorganism Plant)는 생명공학과 학술통아리로서 학생들의 자치적인 학술 활동 및 교류를 위해 02학번 홍승우 학생을 필두로 2007년 6월에 창설되었습니다. 초기에는 스터디를 주 활동으로 하였으며, 2008년 이후에는 본격적으로 연구 활동을 시작하였습니다. 한 해의 연구 성과를 공유하기 위해 학술지 The CELL을 발간해오고 있으며, 2020년 현재 AMP 창설 13년을 맞아 Vol. 16를 발간합니다. 특히 2009년부터는 학술제를 개최하여 생명과학과/생명공학과와의 학술적 교류의 장을 만들고 있으나, 올해 2020년은 COVID 19로 인해 제 12회 학술제를 개최하지 못했습니다.

AMP에서는 매년 동아리의 창설 목적을 잊지 않고 학술 활동과 학생들 간의 친목 활동을 적극적으로 행하고 있습니다. 학생들이 자율적으로 진로를 설계하고 전문 지식을 습득할 수 있도록 돕는 것이 우리 AMP 동아리의 역할입니다.

올해의 AMP는 논문을 공부하고 리뷰하는 논문리뷰팀 5팀으로 편성되었습니다. 자신의 관심 분야에서 실제로 실험을 진행하고 결과를 정리한 뒤 공유하는 과정까지, AMP는 학생들이 생명공학도의 자질을 기를 수 있도록 지지하고 응원합니다. 각 팀별로는 활동을 지도해주는 교수님이 계시며 적극적인 지도를 해주셨기에 한 해의 활동을 마무리 지을 수 있었습니다.



A N I M A L
M I C R O O R G A N I S M
P L A N T

학과 소개

생명공학은 21세기 인류의 난제인 식량, 에너지, 질병, 환경 문제를 해결하는 핵심 학문 분야로 주목받고 있습니다. 이러한 추세에 발맞추어 생명공학과에서는 의료 및 헬스 관련 바이오 신기술 개발, 생명 정보분석, 유전공학, 유전체-단백체 분석 및 조작, 해양생명공학, 분자생태환경평가기술 개발, 생명 자원 활용기술 개발 등 생명공학 분야 전반에 걸친 다양한 분야의 연구와 교육을 수행하고 있습니다. 또한 21세기 첨단산업기술사회로의 진입을 위한 국가 신성장 동력의 주역으로 자리 잡은 생명공학 전반에 걸친 심오한 이론과 실험방법론을 교수·연구하는 동시에, 지도자적인 인격과 식견 및 미래에 대한 폭넓은 시야를 갖춘 국가와 인류사회에 기여할 수 있는 유능한 인재를 육성함을 목표로 하고 있습니다. 이러한 목표를 이루기 위해 생명공학과는 미래지향적인 수요자 중심의 맞춤형 교육을 실시하여, 졸업 후 생명공학 분야의 각종 바이오 산업체 및 국가 연구기관에서 활약할 전문인력의 양성을 목표로 하며 학생들의 취업기회를 높이기 위하여 생명공학 관련 기업들에서 요구되는 실용적 지식과 실험 실습 교육을 강화하고 있습니다.

학과 연혁

년도	내용
1980년 10월 02일	상명대학교 과학교육과 신설 인가 입학정원 100명 (생물교육, 수학교육, 화학교육 전공)
1982년 12월 29일	생물학과 남관으로 이전
1984년 11월 27일	대학원 석사과정 신설
1986년 11월 06일	상명여자대학교로 교명 변경 및 종합학교로 승격
1987년 03월 01일	자연과학부에서 자연과학대학으로 승격
1987년 11월 09일	대학원 생물학과 박사과정 신설
1989년 11월 06일	교육대학원 과학교육과 (생물전공) 신설 인가
1992년 06월 25일	자연과학연구소 신설
1996년 03월 01일	학부제 실시 (화학응용 생명과학부 생명과학 전공)
2000년 03월 01일	화학응용 생명과학부에서 자연과학부로 전환
2005년 03월 05일	생명화학시스템학부 생명과학 전공으로 명칭 변경
2010년 03월 01일	융합특성화대학 생명과학과로 변경
2013년 03월 01일	자연과학대학 생명과학과로 변경
2017년 03월 01일	미래융합공학대학 생명화학공학부 생명공학과로 변경
2018년 03월 02일	융합공과대학 생명화학공학부 생명공학과로 변경

학과 교수님 소개

	학위 및 학력
	이학박사 / 서울대학교 / 발생생리학
	학위 및 학력
	이학박사 / 서울대학교 / 동물계통분류학
	학위 및 학력
	이학박사 / Univ. of Maryland / 분자유전공학
이성호 교수님	연구분야
	-동물발생생물학 / 신경생물학 / 종양생물학 -성체줄기세포의 분화기작과 세포치료법 연구 -내분비계 장애물질(환경호르몬)이 신경계, 면역계에 미치는 영향 조사 -내분비계 장애물질(환경호르몬)이 쥐의 성 성숙 및 생식기능에 미치는 영향
김창배 교수님	연구분야
	-해양무척추동물의 분류 -한국 자생동물의 분자계통 및 진화 -야생생물의 비교유전체학 및 생물정보학 -절지동물 중심의 진화발생연구
안예진 교수님	연구분야
	-유전공학을 통한 스트레스 내성 형질전환 생물의 개발 및 이용 -의약 및 화학산업용 재조합 단백질 및 생물촉매 생산기술 개발 -항생제 개발을 위한 슈퍼박테리아의 중요 타겟 유전자 발굴 -분자 샤페론의 기능 규명 및 이용

	학위 및 학력
	이학박사 / 한양대학교 / 환경분자유전학
	연구분야
	학위 및 학력
	이학박사 / 한양대학교 / 분자생태 및 계통학
	연구분야
	학위 및 학력
	공학박사 / 고려대학교 / 생물공정공학
	연구분야

이영미 교수님

- 환경오염물질에 대한 수서 생물의 영향 및 작용기전 연구
- 생태 위해성 평가를 위한 분자생체지표 발굴 및 적용
- 환경요인에 따른 해양생물의 생태적 변화 및 특성 연구
- 해양생물의 유용 유전자의 분자·생화학적 특성 연구

기장서 교수님

- 조류(하등식물)의 독특한 계놈구조, 성장 조절 유전자 규명
- 환경게노믹스(Environmental Genomics): 생물의 분자 적응 기작
- 해양 적조, 담수 녹조 생물의 대량 증식과 유전자 조절 메커니즘 연구
- 미세조류 핵, 엽록체 유전체 구축, DNA taxonomy

유하영 교수님

- 바이오에너지 및 바이오소재 생산공정 개발
- 미생물 유래 신규물질, 효소발굴 및 특성 분석
- 항생물질 전구체 생산 및 생물전환 기술 개발
- 생물전환공정의 설계, 공정모사 및 경제성 평가

결과물 보고

[리뷰 논문]

1. 거대세포바이러스의 치료제 개발현황과 연구 동향
2. 인간장내미생물 개념과 기능
3. 유도만능줄기세포(iPSC)의 생산을 위한 체세포 리프로그래밍 기작 이해와 의학적 활용에 대한 연구
4. 식물의 바이러스 방어기작과 작물 생산량 증대
5. 식물에서의 정확한 유전체 편집을 위한 새로운 편집기술 개발

학부생 Review 논문

거대세포바이러스의 치료제 개발현황과 연구동향

Development status and research trend
of cytomegalovirus cure

2020年 11月 28日

상명대학교 융합공과대학
생명화학공학부 생명공학과
김민하 박윤진 홍유진 홍지예

지도교수
이성호

초록

기회감염을 통해 심각한 질병들이 유발되고 있는 요즘, 기회감염을 일으키는 바이러스인 거대세포바이러스(cytomegalavirus, CMV)에 대한 대처법의 중요성이 더욱 커지고 있다. 거대세포바이러스는 사람뿐 아니라 여러 다양한 설치동물을 감염시키는 바이러스로 바이러스의 특징인 변형 및 변이를 여러 형태로 변화하며 발전해왔다. 또한, 사람의 몸 내부뿐만 아니라 외부에도 영향을 미치기도 한다. 현시대에 맞춰 바이러스의 위험성과 치료제의 발전 가능성을 다뤄보았다. 거대세포바이러스는 미국이나 다른 선진국에서도 무시할 수 없는 질병을 일으키고 있어, 현재까지 4가지 치료제가 개발되었으며, 이들의 부작용을 줄인 치료제를 개발하기 위해 더 노력 중이다. 거대세포바이러스에 대한 개념과 치료제에 관해 연구함으로써 인해, 과학적인 영역만으로 거대세포바이러스로 구분 짓는 것이 아니라 실용적인 영역으로 다가가 비전공자들에게 더 쉽게 설명될 수 있게 하였다. 전 세계 80% 이상의 성인이 IgG 항체를 보유하고 있는 만큼, 이번 연구는 거대세포바이러스에 대해 정확히 알고 대처 방안을 생각할 기회가 될 것으로 예상된다. 또한, 시대에 맞춰 여러 바이러스 치료제의 발전과 예방법을 고안할 수 있는 기회가 될 것을 기대한다.

목 차

1. 서론	9
2. 본론	10
2.1. HCMV의 조직학적 구조 및 활성화	10
2.2. 체내 CMV 감염의 인식과 검출 방법	12
2.3. 치료제 개발 현황	14
2.4. 치료제 연구 동향	15
3. 결론	18
References	19

1. 서론

거대세포바이러스는 1957년에 처음 발견되었으며 이는 HIV와 같은 바이러스와 매우 유사한 방법으로 전달된다. 이는 직접적인 신체 접촉을 통해 감염될 수 있으며, 태아의 발생과정에서 모체로부터 감염될 수도 있다. AIDS와 마찬가지로, 현재로서는 치료가 불가능한 질병이지만 항생제와 같은 바이러스에 대한 약물이 발전하면서 증상 완화와 더불어 치료까지 가능하다고 예측하고 있다. 거대세포바이러스가 처음으로 관심을 받게 된 계기는, 1900년도에 장기 이식 환자와 골수 이식 환자를 더불어 몇몇 태아와 AIDS환자들에게서 유사한 증상이 발견되었을 때다. 세계 인구 대부분이 이 바이러스에 감염되어 있다고 할 수 있지만, 각각 인간의 면역력에 따라서 증상이 나타나지 않는 경우가 많다. 면역력 악화로 인해 바이러스가 활성화되며 증상이 나타나게 되는 것이 이 바이러스의 기본적인 작용 원리다. 과거 거대세포바이러스에 감염되면 IgG항체가 생성되는 것을 확인할 수 있다. 실제로 감염률이 더 높은 개발도상국에서는 인구의 100%가 이 항체를 가지고 있으며, 선진국의 경우 인구의 60%가 이 항체를 가지고 있다. 여성의 임신 기간 동안의 감염 사례를 살펴보면, IgM항체가 존재하며, 낮은 활성의 IgG항체가 동시에 발견되는 경우가 많다. 임신한 여성들 중 약 2%정도가 이 바이러스에 대한 반응이 음성에서 양성으로 전환되는 경우가 있다. 또한 선천적으로 거대세포바이러스에 대해 양성 반응을 가진 태아는 전체의 1% 정도다. 장기이식의 경우는, 혈청 양성 반응을 띠는 기증자의 78%가 음성 반응을 띠는 이식 대상에게 바이러스에 대한 반응을 양성으로 전환시킨다고 한다. 이는 혈액형과 마찬가지로 기증자로부터 이식 대상으로 이식이 되면서 일어날 수 있는 신체조건의 차이점에 의한 반응이다. 골수 이식 같은 경우는, 장기 이식과는 다르게 이식으로 인한 바이러스 감염 사례가 매우 적으며, 오히려 양성 반응을 가진 기증자로부터 양성 반응을 가지는 이식 대상에 골수가 이식되면서 바이러스에 대한 면역이 생기는 경우가 있다. 대부분 면역력을 가지고 있지만, 이에 의한 사망률이 비교적 높은 편으로 관찰되면서 해당 바이러스에 대한 연구가 중요하다고 여겨지고 있다.

2. 본론

2.1 HCMV의 조직학적 구조 및 활성

HCMV의 구조와 생활사

1957년 Weller에 의해 밝혀진 사람거대세포바이러스(Human Cytomegalovirus, HCMV or Human Herpesvirus-5, HHV-5)는 herpesviridae -subfamily에 속하며, 약 235,000 염기로 구성된 이중나선 DNA를 가지고 있다[1]. 면역기능이 저하된 환자에게서 질병을 일으키는 주요한 병원체로 한 번 감염이 되면 일반적으로 잠복기 상태로 평생동안 지속된다고 알려져있다[2]. 림프구, 단핵구, 다형 백혈구 등에 잠복 바이러스로 존재하다가 숙주의 면역기능이 저하되면 활성화되어 폐, 간, 중추신경계, 위장관, 망막 등에 병변을 유발한다[3]. 잠복기 상태에 있던 CMV가 재활성화 되는 주요 원인은 T 림프구 매개 면역 기능이 저하되는 경우로 알려져 있으나[4] 드물게 면역 기능의 저하가 없는 정상인에서도 CMV 감염이 발생한 예가 드물게 보고되고 그 기전은 아직 확실하게 밝혀지지 않았다[5]

HCMV 증식은 immediate-early (IE), early, late gene의 순차적인 발현에 의하여 이루어진다. 감염 후 1~3시간 뒤에 pp72나 IE2 등의 immediate-early 단백질이 CMV에 감염된 세포의 유전자의 발현을 조절하여 바이러스 증식 환경을 조성한다. 감염 3시간 후에는 early gene의 산물인 UL97 phosphokinase와 UL54 DNA polymerase가 바이러스 DNA를 합성하고 late gene의 산물인 pp65, glycoprotein B (gB)가 바이러스 capsid나 envelope를 구성하여 바이러스의 증식이 이루어진다[6].

HCMV는 envelope와 nucleocapsid 사이 바이러스 기질 단백질이 모여 하나의 선을 이루는 외피구조를 가지고 있다. 외피는 일반적으로 DNA 복제와 면역반응 회피에 도움을 주는 단백질들로 구성되어 있고, 게놈의 크기가 235-240 kb로 매우 크기 때문에 nucleocapsid 내부의 압력이 10atm에 달한다. 그러나 HCMV의 입자를 구성하고 있는 원자의 대한 정보가 아직 연구되지 않았기 때문에 어떠한 원리를 통해 capsid의 안전성이 유지되는지에 대한 정확한 메커니즘은 밝혀지지 않았다. 그러나 2017년 Xuekui Yu 등에 의해 pp150의 외피막 층이 안정성을 갖게 된다는 연구된 바가 있다[7].

잠복(latency)과 재활성화(reactivation)

HCMV는 모든 헤르페스 바이러스와 동일하게 평생동안 감염된 상태를 유지하고 있다가 일반적으로 면역력이 저하되면 그 증상을 일으킨다. 상피, 내피, 근육, 섬유질

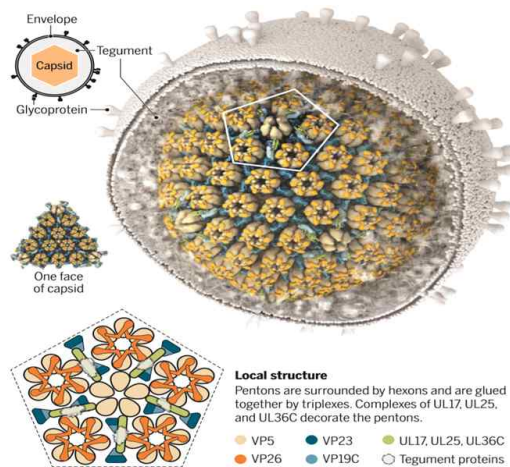


Fig.1. Human Herpesvirus-5
structure

그림출처 : Heldwein, E. E. (2018)

및 신경세포 등 다양한 세포에 존재하지만, 잠복할 수 있는 숙주 세포는 미엘로이드 계통의 세포이다[8]. 주요 잠복 부위로 CD34+ 과립세포 및 단핵세포의 전구세포, CD14+ 단핵세포에서 분화하는 세포 중에서도 수지상세포 (dendritic cell: DC)가 있다[9]. 특히 CD34+ 세포는 림프구와 골수 세포의 공통 전구체지만 바이러스 게놈의 운반은 골수 계통의 세포만으로 제한되는 것으로 보이며 그 메커니즘은 아직 정의되지 않았다[10].

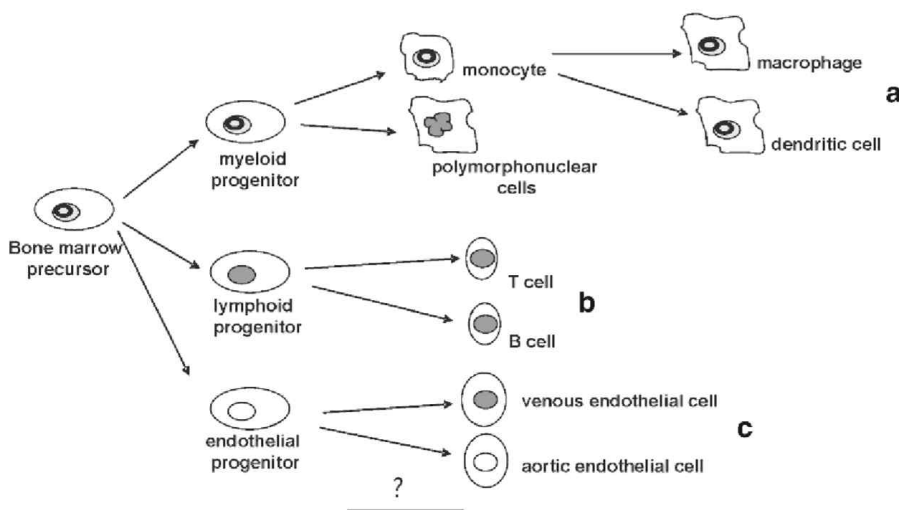


Fig 2. HCMV의 잠복 세포와 바이러스 게놈의 운반

그림출처: M. Reeves & J. Sinclair (2008)

HCMV의 게놈은 개인의 말초 혈액에서 2-6개 사이 복사본으로 단핵세포에 삽화된 형태로 운반된다. 게놈이 삽화된 미엘로이드계 세포에서 잠복이 이루어지는 메커니즘은 HCMV의 MIEP(major immediate early promoter)의 침묵(silencing)이다. MIEP

의 침묵이 일어나면 후속적으로 발생될 early, late gene의 순차적인 발현이 일어나지 않기 때문에 증식이 발생하지 않고 잠복상태가 된다[10].

MIEP의 침묵은 다중 세포 전사 인자와 고차 염색질 구조에 의해 조절되는 것으로 알려져있다[11]. YY1(ying yang 1), ERF(ets-2 repressor factor)및 Gfi-1(growth factor independent-1)등의 전사 인자는 MIEP를 억제한다[12, 13, 14]. 또한 YY1, ERF 에 의해 모집된 히스톤 탈아세틸화효소제(histone deacetylase)와 히스톤 메틸기전달효소제 (histone methyltransferase)가 MIEP에 모집된 히스톤 단백질을 탈아세틸화, 혹은 메틸화시킨다. 아세틸기가 제거된 히스톤 단백질은 MIEP와 더욱 강력하게 결합하여 발현을 억제하며, 메틸화 된 히스톤 단백질은 전사를 억제함과 동시에 Heterochromatin protein 1 (HP1)을 모집하여 억압과 지연시간을 증진시킨다[15].

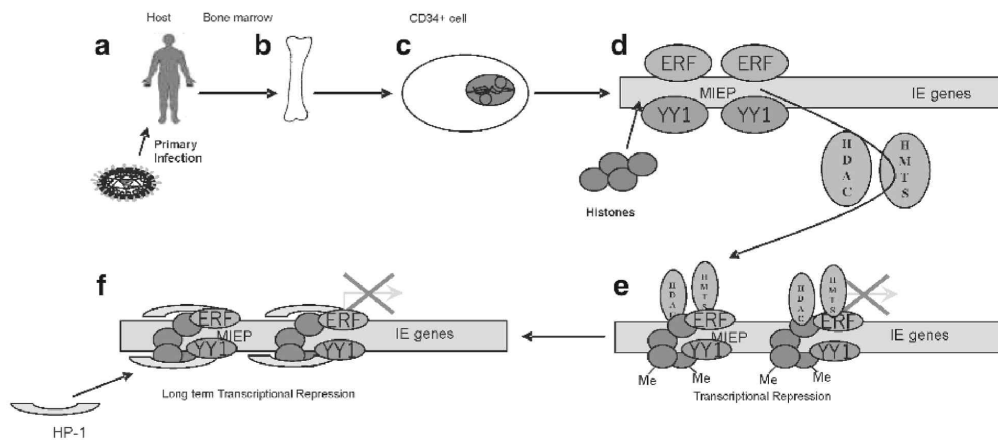


Fig 3. HCMV 게놈에 의한 세포 전사 억제 과정

그림출처: M. Reeves & J. Sinclair (2008)

HCMV의 잠복상태란 바이러스의 게놈에서 lytic 유전자 표현이 부재한 상태로 존재할 때로 정의된다. 바이러스는 일반적으로 다시 lytic cycle에 진입하게 되면 복제가 일어나면서 재활성화가 이루어지는데 이를 발생시키는 가장 중요한 원인은 세포의 환경 변화이다. 그러나 lytic 유전자의 존재가 부재한 상태에서 어떤 환경의 변화가 lytic cycle 진입을 가능케 하는지 밝혀진 바가 없다. 다만 CD34+와 같은 미엘로이드 계통에서는 성숙자극(maturation stimuli), 또는 염증 자극(inflammatory stimuli)에 의해 세포가 분화하면서 재활성화가 발생한다고 알려져있다[16].

2.2. 체내 CMV 감염의 인식과 검출 방법

PRR class으로 분류되어 있는 수용체들, 그 중에서도 TLR 수용체들은 CMV검출과 관련되어 있다. HCMV에 의해 생성되는 B, H 단백질이 TLR수용체에 결합하는 것으로 알려져 있기 때문이다. 마우스에서는 TLR3, TLR9 수용체에 의해 사이토카인, 케

모카인이 생성되어 신호전달을 하는 역할을 한다. 이 밖에도 RIPK에 의존해 세포 사멸을 유도할 수 있다고 알려졌다[17]. 일반적인 세포 사멸은 DNA 손상, 성장 요인 감소, ER(소포체) 스트레스를 비롯해 다양한 원인으로 이루어진다. 이런 요인으로 인해 bcl-2 패밀리의 단백질이 세포의 미토콘드리아의 외막의 안정성을 조절한다. 외막의 투과성이 변화함에 따라 cytochrome, Htr2/Omi와 같은 단백질이 세포 내에 방출되고 이는 시스테인 프로테아제를 활성화시켜 사멸을 유도한다[18]. CMV의 바이러스 복제는 숙주 세포에 부담을 주어 소포체에 스트레스를 주게 된다. 이때 PERK(PKR-like ER kinase)의 활성화로 인해 mRNA의 전사를 감소하여 소포체 스트레스를 감소시킨다. 하지만 소포체 스트레스를 완화시키지 못하면 세포 사멸을 유도하게 된다. PERK와 마찬가지로 inositol-requiring enzyme1(IRE1)이라 효소가 Bax, Bak와의 상호 작용을 통해 세포 사멸을 유도한다[19]. 또한 CMV 복제는 rolling-circle 메커니즘을 통해 복제되어 dsDNA 손상으로 인식될 수 있다. dsDNA 손상이 인식되면 ATM(ataxia-telangiectasia mutated) 효소로 인해 p53를 활성화, 그로 인해 세포 사멸에 관련된 Bax, Fas같은 단백질을 만든다. 결국 바이러스의 복제는 DNA 손상으로 인식되어 숙주 세포의 방어 기작을 활성화 시킨다[20].

CMV antigenemia assay는 거대세포바이러스의 pp65 단백질을 검출하는 방법이다. 이 방법은 약 200,000개의 백혈구를 가지고 양성 반응을 일으키는 백혈구의 숫자를 구하는 방식으로 진행한다. CMV PCR는 QIAmp Blood Mini Kit을 이용해 PCR을 진행시켜서 1mL 당 250개의 유전자가 발견되는 경우 양성이라고 판정한다. 한 연구에서는 환자 229명 중에서 177명을 대상으로 CMV PCR을 진행하고, 173명을 대상으로 antigenemia assay, PCR을 같이 진행했다. 그 결과 antigenemia assay이 양성 반응이 많고 음성 반응이 적게 나왔다[21]. 또한 antigenemia assay의 정확성은 CMV PCR에 비해 떨어지는 편이었다. PCR의 결과는 100% 유효했지만 antigenemia assay의 결과는 80.2% 유효하다고 나왔다.

또 다른 검출 방법으로는 DEAFF 기술이 있다. 세포를 일반적인 광학 현미경으로 관찰할 경우 차이를 확인할 수 없지만 자외선을 이용하면 감염된 세포의 핵이 더 밝게 염색되어 보인다. 이와 비교해 CCC(conventional cell culture)을 이용한 CMV 검출을 비교한 결과, DEAFF의 감수성은 78%, CCC의 감수성은 76%로 매우 낮은 편이었다[22]. CMV의 검출 과정을 크게 나누자면, DNA서열을 직접적으로 검출하거나 CMV로 인해 생성되는 단백질을 검출하는 과정으로 나뉘게 된다.

마찬가지로 dried blood spot, CMV DNA PCR과 같은 방법을 통해 진단한다. 이를 위해 소변, 혈액, 뇌척수액과 같은 체액을 이용해 CMV 또는 IgM 항체를 배양검사를 통해 검출해 내는 방법을 이용한다. 흔히 TORCH검사라고 불리며 대부분 생후 2주 내에 시행된다. 이 외에도 혈소판 수치와 같은 지표를 가지고 감염을 진단할 수 있다[23].

2.3. 치료제 개발 현황

Valganciclovir와 Ganciclovir

Valganciclovir는 ganciclovir의 전구 약물이며 경구투약을 통해 위장에서 흡수되어, 간과 장벽에서 빠르게 가수분해 돼 ganciclovir로 바뀌게 된다. Valganciclovir의 장점은 장에서 약물이 흡수되는 시간을 줄여주고 약물 기작이 더 촉진된다는 점이 있다. 체내에서 Ganciclovir는 세포 내 deoxy guanosine kinase에 의해 인산화되어 ganciclovir monophosphate로 변환된다[24]. 이후, 변환된 ganciclovir monophosphate는 거대 세포 바이러스에 감염된 세포 내에서 세포내 효소에 의해 ganciclovir triphosphate로 바뀌게 되고, 변환된 Ganciclovir, 즉 deoxyguanosine triphosphate(GTP)가 거대 세포 바이러스 세포의 DNA 중합효소와 결합하는 것을 경쟁적으로 방해하는 저해제로 작용해 바이러스의 DNA 복제를 억제하는 역할을 한다 [24].

Ganciclovir는 단순 포진 바이러스와 수두 대상포진 바이러스 감염증을 치료하는 항 바이러스 약물인 acyclovir와 유사한 구조와 작용기전을 보인다. Ganciclovir와 acyclovir는 무고리측쇄(acyclic side chain)에 하이드록시메틸기(hydroxymethyl)를 갖는다는 점에서 차이를 보이며, 이 차이로 인해 ganciclovir는 CMV에 대해 acyclovir의 50배에 달하는 활성을 띠게 된다. 그 이유에 대해 설명해 보자면, CMV의 유전자에 thymidine kinase을 암호화하고 있는 서열이 존재하지 않기 때문에, 인산화하기 위해 이를 필요로 하는 acyclovir의 활성이 낮은 반면, ganciclovir는 thymidine kinase을 필요로 하지 않기 때문에 바이러스에 대해 더 높은 활성을 가지게 된다. [29]

Foscarnet

Ganciclovir와 달리, foscarnet는 그 자체로 파이로인산염(pyrophosphate)과 유사한 구조를 보이기 때문에[3,7] foscarnet는 활성화 요건이 필요한 ganciclovir와 달리, 활성화 요건 없이 바이러스성 DNA 중합효소의 파이로인산염 결합 부위에 비경쟁적으로 작용하여 바이러스의 증식을 막는다. Foscarnet를 복용한 환자에서 복용하지 않은 환자에서보다 CMV의 진행 속도가 늦어지는 결과가 보고되어서 CMV와 같은 항바이러스제로써 미국에서 사용이 가능해졌다. Foscarnet의 장점으로 모든 헤르페스바이러스의 DNA 중합효소에 인산화 과정 없이 작용하므로 acyclovir 내성인 단순헤르페스바이러스, 수두대상포진바이러스와 ganciclovir 내성인 대부분의 거대세포 바이러스에 감수성을 보인다[25].

Cidofovir

Cidofovir는 바이러스성의 DNA polymerase를 억제시키는 시티딘 뉴클레오타이드 유사체로 CMV의 치료제 중 한 종류이며, 바이러스의 DNA 중합효소의 활성을 경쟁

적으로 억제하여 바이러스 DNA의 복제를 억제시킨다[26,27]. Cidofovir는 pyrimidine nucleoside monophosphate kinase로 인해 cidofovir monophosphate의 형태로 전환되며, 세포 내 다른 효소들에 의해 cidofovir diphosphate, cidofovir diphosphate-choline으로 변환된다. [28]. Cidofovir diphosphate는 cidofovir의 활성형 세포 대사체로, 바이러스의 DNA 중합 효소를 경쟁적으로 억제하여 비활성화시키고 바이러스의 DNA 사슬의 성장에 작용하여 바이러스의 DNA 합성 속도를 줄인다[28]. diphosphate-choline은 이후에 있을 추가적인 감염에 대비해 저장되어 있는 형태이다.

치료제 이용방식

CMV질병에 대한 치료제로는 주사제형의 항바이러스제인 ganciclovir와 ganciclovir의 경구형 전구 약물인 valganciclovir가 주로 사용되며, ganciclovir에 대한 약제 내성 또는 부작용이 있는 경우에는 Foscarnet과 Cidofovir로 대체 사용이 가능하다[25,30,31]. 일반적으로 선천적 혹은 후천적 거대세포바이러스 망막염은 혈관에 ganciclovir 항바이러스제를 주입하여 치료하며, 신장 이식 치료 등의 기관 의식 치료를 받을 때에는 거대세포 바이러스에 감염되는 것을 예방하기 위해 경구용인 valganciclovir를 사용한다. Foscarnet과 cidofovir의 주된 용도는 AIDS 환자들의 거대 세포 바이러스 망막염의 치료이다. Cidofovir는 세포 내 반감기를 길게 가지므로 유도 중엔 매주, 유지 치료 중에는 격주로 투여가 가능하며[27], 치료제들은 상황에 따라 병행되기도 하고 바뀔가며 사용되기도 한다[25, 32]. 또한, 각 치료제를 보조하는 역할을 위해 면역 글로불린을 주사하기도 한다[33]. 그 예시로 치료제들을 병행해 치료를 한 결과, 전신 혹은 국소 ganciclovir 제제의 단독 사용에 비해 전신 ganciclovir 와 국소 ganciclovir 복합사용이 치료에 더 효과적이라는 연구 결과가 존재한다[32]. 현재 존재하는 약물들로는 CMV를 치료하지는 못하고 바이러스의 생장을 억제하여 완화 시키는 역할만을 한다.

2.4. 치료제 연구 동향

Brincidofovir

Brincidofovir는 cidofovir가 구강에서 화학적으로 변형된 형태의 지질 결합물이다. cidofovir 보다 더 강력하고, 혈청에서 더 높은 농도로 존재할 수 있으며 콩팥의 세포에 비교적 적은 독성을 가진다[34,35]. Brincidofovir는 혈류로 들어간 후, 거대 세포 바이러스에 감염된 대상 세포에 도달한다. 도달 시, 지질이 분해되면서 분자 구조에서 지질의 특성이 사라져버리고, cidofovir 성분이 세포의 키나제(kinases) 효소에 의해 인산화된다. 이후 인산화 된 cidofovir는 PUL54에 결합함으로써 바이러스 번역과 증식을 억제한다. PUL54는 Human herpesvirus 1 (HHV-1)를 구성하는 RNA 결합 단백질 중 하나로 바이러스의 생활사에 중요한 단백질이라고 알려져있다. 단

brincidofovir는 cidofovir 에 비해 위장 독성 정도가 증가한다[36]. 더하여 Brincidofovir에 대한 저항은 cidofovir와 유사하지만[37], 임상 3단계 실험에서 조혈 세포 이식(Hematopoietic cell transplantation, HTC) 이후 24주 동안 임상적으로 유의미한 CMV 감염을 예방하지 못했다[38]. 하지만 HCMV가 PUL54 단백질을 생성하는 UL54 gene 돌연변이에 의해 저항성을 보이는 것이 아니라면, ganciclovir 에서 내성을 보이는 HCMV 감염에 Brincidofovir가 이용될 수 있을 것으로 예측된다[39].

Letermovir

Letermovir는 종말 효소 복합체의 pUL56 서브유닛을 표적으로 하여 후반 단계에서 CMV DNA 합성을 억제하는 새로운 매킨니즘을 가지고 있다[40-42]. Letermovir는 나노극성이 낮은 IC50[40]과 1단계 또는 2단계 연구에서 허용성이나 안전성 문제가 보고되지 않은 시험관내 anti-CMV 제제 중에서 가장 강력한 물질이다[42]. Letermovir의 작용방식이 폐 이식수혜자에서 보여지듯이 다른 어떤 anti-CMV 약물 에 의한 노출을 통해 받은 돌연변이를 극복할수 있다[43]. 그러나 UL56의 코돈 범위 231~369의 체외 레테모비르 저항 돌연변이는 유전적 저항 장벽이 있음이 확인되었다[44]. 이러한 체외 저항 돌연변이의 임상적 의미는 아직 결정되지 않았다. Letermovir는 바이러스성 DNA 합성을 막지 못하기 때문에, CMV DNAemia는 약물 내성의 증거 없이 레테르모비르로 치료를 받는 환자에서 초기에 검출 가능하며[45] Letermovir 치료 대응을 위한 대리 모니터링 기법이 향후에 필요하다[46].

CMV-specific CTLs

세포이식 면역요법은 CMV 특이 T세포 반응을 복원하여 이식 후 CMV 감염 치료에 효과가 있는 것으로 입증됐다[47-51]. 최근에는 항바이러스 요법에 반응하지 않는 CMV 감염을 치료하기 위해 세포이식면역요법이 사용되어 유망한 결과를 보이고 있다[52]. 그러나 세포이식면역치료의 사용은 이용가능성, 비용, 주입을 위한 적절한 세포 생성, 고용량 코르티코스테로이드나 상당히 GVHD를 앓고 있는 환자의 제한된 사용, 면역의 내구성 등의 어려움으로 인해 제한되어 왔다. 내성 CMV 감염을 치료할 때 특히 다중 약물 내성이 확인되는 경우 보조 요법으로 이용할 수 있을 때에는 세포 독성 T-림프세포(CTL) 주입을 권장한다. 특히 초기 반응이 최적이지 않거나 CMV viremia의 반동이 발생하는 경우 여러 가지 주입이 추가적으로 필요할 수 있다[53]. 그러나 이식부전이나 이식 관련 미세혈관질환과 같은 주요 부작용은 CTL 주입을 받는 극소수의 환자에서 보고되었다[51].

Maribavir

Maribavir은 ViroPharma라고 하는 기업에 의해 처음부터 거대세포바이러스의 치료제를 목적으로 개발되었던 경구투여 형식의 항 바이러스제다. 2003년에 이 물질에 대

한 라이선스/허가를 받아서 본격적으로 임상시험을 하기 위한 준비를 시작했다. Maribavir이 거대세포바이러스 치료제로써 각광을 받고 있던 이유는, in vitro 실험 단계에서 HCMV 유전자가 포함되어 있는 단백질키나아제 효소(UL97/pUL97)를 비활성화 시키면서 HCMV 유전자 증폭을 억제하는 기작을 보였다는 것이다. [54] UL97은 바이러스 증폭에 중요한 역할을 맡고 있기 때문에, 해당 효소를 비활성화 시키는 것만으로도 바이러스 증폭을 막을 수 있을 거라고 기대했다. 임상시험 2단계에서 Maribavir를 이용한 시험을 진행한 결과, Valganciclovir를 사용한 사람들과 비교해 비슷한 정도의 치료 효과가 입증되었다. 하지만 임상시험 3단계에 들어서면서 더 높은 일회 분량으로 Maribavir을 복용했음에도 유의미한 치료 효과가 나타나지 않은 것으로 결론이 나왔다. 그 이유로 지목된 것 중 하나가, UL97가 억제됨에 따라서 같은 바이러스로부터 유래된 UL27의 돌연변이가 in vitro 단계에서 발견되어 UL97의 기능을 대신했을 것이라는 추측된다. [55] 다른 약물에 비해서 더 안전한 약물 개발을 목표로 했지만, 실제 임상시험 단계에서 Valganciclovir에 비해 심각한 부작용이 7%정도 높게 나타나면서 치료율이 낮게 나오자, ViroPharma는 이에 대한 추가적인 연구가 필요하다고 판단했다. [56]

3. 결론

바이러스는 여러 형태로 존재하며 다양한 메커니즘을 통해 생물에 침투하고 때로는 생명을 위협하기도 한다. 매번 새로운 형태의 바이러스가 발견되고 새로운 치료제를 개발해야 되는 상황이 발생할 정도로 바이러스는 변형되는 속도가 빠르며 쉽게 내성을 가지게 된다. CMV는 이런 바이러스의 한 종류로 평소에는 잠복하고 있다가 면역력 저하 등의 변화로 인한 기회감염의 형태로 증상이 나타난다. CMV는 대부분의 인구가 감염되어 있지만 바이러스 재활성화 사례가 많지 않은 편이며, 그마저도 장기이식과 골수 이식으로 인해 발생하는 것이므로 대부분이 항생제를 통해 사전 예방이 가능하다. 하지만 그렇다고 해서 해당 바이러스에 대한 연구보다 다른 바이러스에 대한 연구를 우선시해야 된다는 것은 아니다. 거대세포바이러스 또한 다른 바이러스들과 마찬가지로 복제를 반복하며 세포를 감염시켜 세포사멸 또는 기능 약화를 통해 각종 질환을 일으킬 수 있기 때문이다. CMV는 혈액, 신경계와 기관의 세포와 조직을 손상시켜 기능을 저하시키고 염증을 유발하는 등의 역할을 수행할 수 있다. 비록 우리나라 CMV 감염에 의한 사망 사례는 적지만, 감염으로 인한 후유증을 결코 무시해서는 안된다. 하지만 CMV의 진단 또는 검출 방법이 정확하지 못하며, 치료제는 완치의 목적보다는 바이러스의 활성화를 사전에 억제하거나 바이러스의 생장을 억제하는 역할을 수행한다. 최근 들어 유행하는 코로나 바이러스는 빠른 확산 속도와 높은 사망률, 심각한 호흡기 후유증으로 인해 주목받고 있으며 많은 연구가 진행되고 있는 반면 CMV와 같이 많이 주목 받지 못하는 바이러스들 또한 존재한다. 현재로서는 인체의 메커니즘과 바이러스에 대한 연구가 완벽하지 못하다는 점과 그로 인해 사망하는 사람들이 존재한다는 점을 고려하여 더 많은 연구를 통해 다양한 감염 물질에 대한 이해와 치료제 개발이 시급하다.

Reference

- [1] Craig JM, Macauley JC, Weller TH, Wirth P. Isolation of intranuclear inclusion producing agents from infants illness resembling cytomegalic inclusion disease. *Proc Soc Exp Biol* 1957;94:4-12.
- [2] Goodgame RW. Gastrointestinal cytomegalovirus disease. *Ann Intern Med* 1993;119:924-935
- [3] Ng FH, Chau TN, Cheung TC, et al. Cytomegalovirus colitis in individuals without apparent cause of immunodeficiency. *Dig Dis Sci* 1999;44:945-952
- [4] Hinnant KL, Rotterdam HZ, Bell ET, Tapper ML. Cytomegalovirus infection of the alimentary track: a clinic-pathological correlation. *Am J Gastroenterol* 1986;81:944-950.
- [5] 이형돈, 김남훈, 이기준, 이혁상, 전진호, 배원기, 김경아, 이준성. (2011). 면역기능정상 거대세포바이러스 위궤양의 항궤양제 치유. , 43(1), 21-24.
- [6] 채동완. (2008). 종설 : 거대세포 바이러스. *대한이식학회지*, 22(2), 177-182. Dong Wan Chae. (2008). CMV Disease. *The Journal of the Korean Society for Transplantation*, 22(2), 177-182.
- [7] Yu, X., Jih, J., Jiang, J., & Zhou, Z. H. (2017). Atomic structure of the human cytomegalovirus capsid with its securing tegument layer of pp150. *Science (New York, N.Y.)*, 356(6345), eaam6892.
- [8] Reeves M., Sinclair J. (2008) Aspects of Human Cytomegalovirus Latency and Reactivation. In: Shenk T.E., Stinski M.F. (eds) *Human Cytomegalovirus. Current Topics in Microbiology and Immunology*, vol 325. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-540-77349-8_17
- [9] Minton EJ, Tysoe C, Sinclair JH, Sissons JG. Human cytomegalovirus infection of the monocyte/macrophage lineage in bone marrow. *J Virol*. 1994;68(6):4017-4021. doi:10.1128/JVI.68.6.4017-4021.1994
- [10] Sinclair J, Sissons P. Latency and reactivation of human cytomegalovirus. *J Gen Virol*. 2006;87(Pt 7):1763-1779. doi:10.1099/vir.0.81891-0
- [11] Meier JL, Stinski MF. Regulation of human cytomegalovirus immediate-early gene expression. *Intervirology*. 1996;39(5-6):331-42. doi: 10.1159/000150504. PMID: 9130043.
- [12] Liu R, Baillie J, Sissons JG, Sinclair JH (1994) The transcription factor YY1 binds to negative regulatory elements in the human cytomegalovirus major immediate early enhancer/promoter and mediates repression in non-permissive cells. *Nucleic Acids Res* 22:2453-2459
- [13] Bain M, Mendelson M, Sinclair J (2003) Ets-2 repressor factor (ERF) mediates repression of the

human cytomegalovirus major immediate-early promoter in undifferentiated non-permissive

cells. *J Gen Virol* 84:41-49

[14] Zweidler-Mckay PA, Grimes HL, Flubacher MM, Tschlis PN (1996) Gfi-1 encodes a nuclear zinc

finger protein that binds DNA and functions as a transcriptional repressor. *Mol Cell Biol*

16:4024-4034

[15] Reeves, M., & Sinclair, J. (2013). Regulation of human cytomegalovirus transcription in latency: beyond the major immediate-early promoter. *Viruses*, 5(6), 1395-1413. <https://doi.org/10.3390/v5061395>

[16] Ng, A. P., Worth, L., Chen, L., Seymour, J. F., Prince, H. M., Slavin, M., & Thursky, K. (2005). Cytomegalovirus DNAemia and disease: incidence, natural history and management in settings other than allogeneic stem cell transplantation. *haematologica*, 90(12), 1672-1679.

[17] Brune W, Andoniou CE. Die Another Day: Inhibition of Cell Death Pathways by Cytomegalovirus. *Viruses*. 2017;9(9):249. Published 2017 Sep 2. doi:10.3390/v9090249

[18] Kluck RM, Bossy-Wetzel E, Green DR, Newmeyer DD. Science. 1997 Feb 21; 275(5303):1132-6.

[19] Isler JA, Skalet AH, Alwine JC. Human cytomegalovirus infection activates and regulates the unfolded protein response. *J Virol*. 2005;79(11):6890-6899. doi:10.1128/JVI.79.11.6890-6899.2005

[20] Xiaofei E, Kowalik TF. The DNA damage response induced by infection with human cytomegalovirus and other viruses. *Viruses*. 2014;6(5):2155-2185. Published 2014 May 23. doi:10.3390/v6052155

[21] Jong Wook Kim, Sun-Jin Boo, Byong Duk Ye, Chang Lae Kim, Suk-Kyun Yang, Jihun Kim, Sun A Kim, Sang Hyoung Park, Soo-Kyung Park, Dong-Hoon Yang, Kee Wook Jung, Kyung-Jo Kim, Jeong-Sik Byeon, Seung-Jae Myung, Jin-Ho Kim, Clinical utility of cytomegalovirus antigenemia assay and blood cytomegalovirus DNA PCR for cytomegaloviral colitis patients with moderate to severe ulcerative colitis, , Volume 8, Issue 7, 1 July 2014, Pages 693-701,

[22] Paul D. Griffiths, Diagnosis of cytomegalovirus infection, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, Volume 23, Issue suppl_E, 1989, Pages 11-16, https://doi.org/10.1093/jac/23.suppl_E.11

[23] 최새롬, (2018), 국내 유증상 선천 거대세포바이러스(Cytomegalovirus) 감염 유병률과 사례에 대한 다 기관 연구, <https://ir.ymlib.yonsei.ac.kr/handle/22282913/160116>

[24] Anon: Collaborative DHPG Treatment Study Group: Treatment of serious cytomegalovirus infections with 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanine in patients with AIDS and other immunodeficiencies. *N Engl J Med* 1986; 314:801-805.

[25] 최다예, 이수현, 김예진, 최수한, 김은영, 구홍희, and 김상진. "유리체강내 간시클로버와 포스카네트 병합 치료로 호전된 진행성외망막괴사 1예." *대한안과학회지* 56.6 (2015):

967-974.

[26] Safrin, S., Cherrington, J., & Jaffe, H. S. (1997). Clinical uses of cidofovir. *Reviews in medical virology*, 7(3), 145-156.

[https://doi.org/10.1002/\(sici\)1099-1654\(199709\)7:3<145::aid-rmv196>3.0.co;2-0](https://doi.org/10.1002/(sici)1099-1654(199709)7:3<145::aid-rmv196>3.0.co;2-0)

[27] Lea, A. P., & Bryson, H. M. (1996). Cidofovir. *Drugs*, 52(2), 225-231.

<https://doi.org/10.2165/00003495-199652020-00006>

[28] Akler ME, Johnson DW, & Burman WJ: Anterior uveitis and hypotony after intravenous cidofovir for the treatment of cytomegalovirus retinitis. *Ophthalmology* 1998; 105:651-657.

[29] W. Lawrence Drew, Kim S. Erlich, Chapter 34 - Management of herpesvirus infections (cytomegalovirus, herpes simplex virus, and varicella-zoster virus), W.B. Saunders, 2012, Pages 433-454, ISBN 9781455706952,

<https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-0695-2.00034-1>.

[30] 이재훈,최석재,최창수,and 김태현. "보존적인 치료로 호전된 면역 기능이 정상인 성인에서 발생한 거대세포바이러스 위염 2예." *Clinical Endoscopy* 37.5 (2008): 344-348.

[31] C. Blanshard, Y. Benhamou, E. Dohin, J.-O. Lernerstedt, B. G. Gazzard, C. Katlama, Treatment of AIDS-Associated Gastrointestinal Cytomegalovirus Infection with Foscarnet and Ganciclovir: A Randomized Comparison, *The Journal of Infectious Diseases*, Volume 172, Issue 3, September 1995, Pages 622-628,

<https://doi.org/10.1093/infdis/172.3.622>

[32] 김영준(Young Jun Kim),유웅선(Woong Sun Yoo),한용섭(Yong Seop Han),정인영(In young Chung),서성욱(Seong Wook Seo),유지명(Ji Myong Yoo),박종문(Jong Moon Park),조민철(Min Chul Cho),and 김성재(Seong Jae Kim). "거대세포바이러스 각막내피염의 임상적 특징과 치료 경과." *대한안과학회지* 57.6 (2016): 863-875.

[33] 구본용 (Bon Yong Koo) , 유희철 (Hee Chul Yu) , 김선광 (Sun Kwang Kim) , 문우성 (Woo Sung Moon) , 조백환 (Baik Hwan Cho). 2006. 증례 : 간이식 후 발생한 거대세포바이러스 대장염 1예. *대한이식학회지*, 20(2): 273-276

[34] Hostetler K. Y. (2009). Alkoxyalkyl prodrugs of acyclic nucleoside phosphonates enhance oral antiviral activity and reduce toxicity: current state of the art.

Antiviral research, 82(2), A84-A98. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2009.01.005>

[35] Painter, W., Robertson, A., Trost, L. C., Godkin, S., Lampert, B., & Painter, G. (2012). First pharmacokinetic and safety study in humans of the novel lipid antiviral conjugate CMX001, a broad-spectrum oral drug active against double-stranded DNA viruses. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 56(5), 2726-2734. <https://doi.org/10.1128/AAC.05983-11>

[36] Marty, F. M., Winston, D. J., Rowley, S. D., Vance, E., Papanicolaou, G. A., Mullane, K. M., Brundage, T. M., Robertson, A. T., Godkin, S., Momméja-Marin, H., Boeckh, M., & CMX001-201 Clinical Study Group (2013). CMX001 to prevent cytomegalovirus disease in hematopoietic-cell transplantation. *The New England journal of medicine*, 369(13), 1227-1236. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1303688>

[37] James, S. H., Price, N. B., Hartline, C. B., Lanier, E. R., & Prichard, M. N.

- (2013). Selection and recombinant phenotyping of a novel CMX001 and cidofovir resistance mutation in human cytomegalovirus. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 57(7), 3321–3325. <https://doi.org/10.1128/AAC.00062-13>
- [38] Chimerix. Chimerix announces top-line results from phase 3 SUPPRESS trial of brincidofovir. Available at: <http://ir.chimerix.com/releasedetail.cfm?releaseid=948172>. Accessed 1 April, 2016.
- [39] El-Haddad, D., El Chaer, F., Vanichanan, J., Shah, D. P., Ariza-Heredia, E. J., Mulanovich, V. E., Gulbis, A. M., Shpall, E. J., & Chemaly, R. F. (2016). Brincidofovir (CMX-001) for refractory and resistant CMV and HSV infections in immunocompromised cancer patients: A single-center experience. *Antiviral research*, 134, 58–62. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2016.08.024>
- [40] Lischka P, Hewlett G, Wunberg T, et al. . In vitro and in vivo activities of the novel anticytomegalovirus compound AIC246. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54(3):1290–1297. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
- [41] Goldner T, Hewlett G, Ettischer N, Ruebsamen-Schaeff H, Zimmermann H, Lischka P. The novel anticytomegalovirus compound AIC246 (Letermovir) inhibits human cytomegalovirus replication through a specific antiviral mechanism that involves the viral terminase. *J Virol*. 2011;85(20):10884–10893. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
- [42] Chemaly RF, Ullmann AJ, Stoelben S, et al. ; AIC246 Study Team. Letermovir for cytomegalovirus prophylaxis in hematopoietic-cell transplantation. *N Engl J Med*. 2014;370(19):1781–1789. [PubMed] [Google Scholar]
- [43] Kaul DR, Stoelben S, Cober E, et al. . First report of successful treatment of multidrug-resistant cytomegalovirus disease with the novel anti-CMV compound AIC246. *Am J Transplant*. 2011;11(5):1079–1084. [PubMed] [Google Scholar]
- [44] Goldner T, Hempel C, Ruebsamen-Schaeff H, Zimmermann H, Lischka P. Geno- and phenotypic characterization of human cytomegalovirus mutants selected in vitro after letermovir (AIC246) exposure. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58(1):610–613. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
- [45] Stoelben S, Arns W, Renders L, et al. . Preemptive treatment of Cytomegalovirus infection in kidney transplant recipients with letermovir: results of a Phase 2a study. *Transpl Int*. 2014;27(1):77–86. [PubMed] [Google Scholar]
- [46] Hebart H, Lengerke C, Ljungman P, et al. . Prospective comparison of PCR-based vs late mRNA-based preemptive antiviral therapy for HCMV infection in patients after allo-SCT. *Bone Marrow Transplant*. 2011;46(3):408–415. [PubMed] [Google Scholar]
- [47] Peggs KS, Verfuether S, Pizzey A, et al. . Adoptive cellular therapy for early cytomegalovirus infection after allogeneic stem-cell transplantation with virus-specific T-cell lines. *Lancet*. 2003;362(9393):1375–1377. [PubMed] [Google Scholar]
- [48] Cobbold M, Khan N, Pourgheysari B, et al. . Adoptive transfer of

cytomegalovirus-specific CTL to stem cell transplant patients after selection by HLA-peptide tetramers. *J Exp Med*. 2005;202(3):379-386. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]

[49] Riddell SR, Watanabe KS, Goodrich JM, Li CR, Agha ME, Greenberg PD. Restoration of viral immunity in immunodeficient humans by the adoptive transfer of T cell clones. *Science*. 1992;257(5067):238-241. [PubMed] [Google Scholar]

[50] Walter EA, Greenberg PD, Gilbert MJ, et al. . Reconstitution of cellular immunity against cytomegalovirus in recipients of allogeneic bone marrow by transfer of T-cell clones from the donor. *N Engl J Med*. 1995;333(16):1038-1044. [PubMed] [Google Scholar]

[51] Blyth E, Clancy L, Simms R, et al. . Donor-derived CMV-specific T cells reduce the requirement for CMV-directed pharmacotherapy after allogeneic stem cell transplantation. *Blood*. 2013;121(18):3745-3758. [PubMed] [Google Scholar]

[52] Einsele H, Roosnek E, Rufer N, et al. . Infusion of cytomegalovirus (CMV)-specific T cells for the treatment of CMV infection not responding to antiviral chemotherapy. *Blood*. 2002;99(11):3916-3922. [PubMed] [Google Scholar]

[53] Stuehler C, Stüssi G, Halter J, et al. . Combination therapy for multidrug-resistant cytomegalovirus disease. *Transpl Infect Dis*. 2015;17(5):751-755. [PubMed] [Google Scholar]

[54] Maertens J, Cordonnier C, Jaksch P, Poiré X, Uknis M, Wu J, Wijatyk A, Saliba F, Witzke O, Villano S. Maribavir for Preemptive Treatment of Cytomegalovirus Reactivation. *N Engl J Med*. 2019 Sep 19;381(12):1136-1147. doi: 10.1056/NEJMoa1714656. PMID: 31532960.

[55] Piret J, Boivin G. Clinical development of letermovir and maribavir: Overview of human cytomegalovirus drug resistance. *Antiviral Res*. 2019 Mar;163:91-105. doi: 10.1016/j.antiviral.2019.01.011. Epub 2019 Jan 25. PMID: 30690043.

[56] Frange P, Leruez-Ville M. Maribavir, brincidofovir and letermovir: Efficacy and safety of new antiviral drugs for treating cytomegalovirus infections. *Med Mal Infect*. 2018 Dec;48(8):495-502. doi: 10.1016/j.medmal.2018.03.006. Epub 2018 Apr 9. PMID: 29650261.

학부생 Review 논문

인간장내미생물의 개념과 기능

Concept and Function of Human Gut Microtobia

2020年 11月 28日

상명대학교 융합공과대학
생명화학공학부 생명공학과
이하은 한승민 이가빈 정민영

지도교수

김창배

목 차

1. 서론	26
2. 본론	26
2.1. 인간장내미생물의 개념	26
2.1.1 마이크로바이옴의 기원	26
2.1.2 왜 하필 장내미생물인가?	27
2.1.3 인간장내미생물의 조성	28
2.2. 인간장내미생물의 기능	30
2.2.1 장내미생물과 질환	30
2.2.1.1 장 질환	30
2.2.1.2 심혈관 질환	31
2.2.1.3 뇌 질환	34
2.2.2 장내미생물을 이용한 치료법	36
2.3. 기술의 현황 및 전망	37
3. 결론	38
인용 문헌	39

I. 서론

사람의 몸은 거시적인 관점에서 하나의 단위체로 보이지만 미시적인 관점으로 보면 내·외부적으로 다양한 미생물과 상호작용하며 살아간다는 것을 알 수 있다. 특히 미생물은 인체 내 영양소의 흡수 및 대사, 면역계와 신경계의 신호전달, 다양한 질환의 발생과 치료에서 주요한 기능을 수행한다고 알려져 왔는데 최근에는 장내미생물이 장 신경계 및 위장관과 중추 신경계 사이의 상호작용에 관여한다는 장뇌축(gut-brain axis) 이론이 주목을 받으면서 장내미생물에 대한 관심이 늘고 있다[1,2]. 본 연구에서는 인간 장내미생물의 개념과 사용되는 기술, 인간에 끼치는 영향 그리고 응용 가능한 학술적·상업적 전망에 대해 살펴보았다.

II. 본론

2.1 인간장내미생물의 개념

2.1.1 마이크로바이옴의 기원

미생물(microorganism)이란 눈에 보이지 않는 작은 생물들을 이르는 것으로 고세균, 박테리아, 바이러스부터 효모 및 곰팡이 등의 진핵생물까지도 포괄하는 생물집단을 말한다. 미생물은 의도적으로 무균상태를 만들지 않는 이상 지구상의 거의 모든 환경에서 생존하는데, 그 중 특정 환경에서 존재하는 미생물 군집(microbiota)과 이들 각각의 게놈(genome)의 집합체를 마이크로바이옴(microbiome)이라고 지칭한다[3]. 미생물 군집은 환경에 따라 식물마이크로바이옴, 동물마이크로바이옴, 인체마이크로바이옴 등의 다양한 이름으로 불리고 그 세부기관에 따라서도 명칭이 달리된다. 우리가 다룰 장내마이크로바이옴은 인체마이크로바이옴에 속하며 인간 장내미생물과 그것의 게놈을 총체적으로 이르는 개념이다.

인체마이크로바이옴에 대한 연구는 1990년대 인간게놈프로젝트(Human Genome Project, HGP)를 진행하던 중에 발발한 인간염기서열 분석범위에 대한 논의를 기점으로 활발하게 이루어졌다. 논의를 불러일으킨 배경에는 사람의 게놈에 포함된 단백질코딩유전자는 불과 약 20,000개에 불과한 반면 미생물에까지 범위를 늘릴 경우 그 수가 100배 이상인 약 3백 3십만 개를 가뿐히 넘는다는 사실과 인체 내의 많은 미생물들이 다양한 질환과 관련이 있다는 연구결과가 있다[4,5]. 이는 사람과 공생관계를

맺는 미생물의 중요성을 나타내는 지표가 되었다.

2.1.2 왜 하필 장내미생물인가

사람은 미생물과의 상호작용이 물질대사에 포함되는 경우 하나의 초유기체(superorganism)로 표현할 수 있을 만큼 피부, 구강, 생식기, 호흡기, 위장관 등 여러 신체 부위에 다양한 종류의 미생물을 보유하고 있다[1]. 하지만 그중에서도 미생물 군집의 수와 다양성이 단연 높은 곳은 위장관(gastrointestinal tract)이다[1]. 위장관이란 위와 장을 통틀어 이르는 것으로 500-1000 종의 미생물이 약 0.5~1.5 kg에 이르기까지 존재하며, 위(stomach)에는 1 g당 약 $10^3 \sim 10^4$ 정도로, 대장(large intestine)에는 1 g당 약 10^{11} 정도로 분포해있다[1]. 사람세포는 1 g당 대략 10^{10} 개이므로 대장에는 사람세포의 10배가 넘는 수로 세균세포가 위치해있는 것을 알 수 있다[13].

장내미생물이 주목받는 계기가 된 것은 2006년 네이처(Nature)에 발표된 고든(Jeffery Gordon) 연구팀의 '인간의 장내미생물이 비만과 관련되어 있다(Human gut microbes associated with obesity)'는 연구결과였다[3,11]. 그들은 사람의 장에 주로 분포하는 의간균류(Bacteroidetes)와 후벽균(Firmicutes)을 대상으로 실험을 진행하였고 실험을 통해 마른 사람에 비해 비만인 사람의 의간균류 비중이 낮으며 식단에 의한 체중 감소(weight loss) 중에 그 비중이 늘어났다고 보고하였다[11]. 이는 단순히 사람들의 식습관과 생활양식, 혹은 선천적인 체질에 의해 결정되는 줄만 알았던 질환인 비만에 새로운 관점을 제시하는 동시에 장내미생물의 영향력을 알리는 시발점이 되었다. 이후로도 고든 연구팀은 비만과 장내미생물에 대한 연구를 지속하여 2009년에는 '비만 및 마른 쌍둥이의 핵심 장내 미생물 군집(A core gut microbiome in obese and lean twins)'에 대한 연구결과를, 2013년에는 '비만에 서로 다른 감수성을 보이는 쌍둥이의 장내미생물은 생쥐의 물질대사를 조절한다(Gut microbiota from twins discordant for obesity modulate metabolism in mice)'는 연구결과를 발표하여 비만이 유기체의 혈통(organismal lineage) 수준보다는 미생물군의 문 수준에서의 변화(phylum-level changes), 세균 다양성의 감소, 세균 유전자 및 대사 경로의 대표세력의 변화(altered representation)와 관련이 있음을 보였다[12]. 이후 비만뿐 아니라 다양한 신경성, 염증성 질환에도 장내미생물이 관여한다는 것이 밝혀지면서 현재까지도 장내미생물과 다양한 질환간의 연관성을 밝히려는 연구가 지속적으로 행해지고 있다.

인간이 외부로부터 영양분을 섭취하고 환경에 적응하는 일련의 과정에서 장은 섭취한 영양소의 종류에 따라 신호를 생성하여 뇌에 전달하는, 식습관(eating behavior)과 기초대사(energy expenditure)를 잇고 상호 조절하는 인터페이스(interface)로서의 역할을 수행한다[10]. 장내미생물은 특히 우리가 매일 섭취하는 음식과 밀접한 관계가 있으며 장에서 파생된 신호를 통해 신경계에 영향을 미친다는 점에서 여러 가지

신경성, 호르몬 및 식이 관련 질환에 밀접한 관련성을 보인다.

2.1.3 인간장내미생물의 조성

그렇다면 인간의 장내미생물은 언제 어떻게 형성되는 것일까. 우선 인간의 시작이라고 볼 수 있는 태아에게는 장내미생물이 존재하지 않는다[7]. 하지만 이후 성장하면서 섭취하는 음식이나 숙주의 환경과 같은 환경적 요인과 모계효과(maternal effect)와 같은 유전적 요인이 관여함에 따라 사람마다 각기 다른 장내미생물 군집을 형성하게 된다[7]. 유전적 요인 중 선천적 및 적응성 면역계(innate and adaptive immune system) 그리고 신진대사(metabolism)는 장내미생물의 다양성과 조성을 변화시킨다고 알려져 있는데 장내미생물 또한 위의 요소들에 영향을 준다는 점에서 상호협력의 관계임을 알 수 있다[7,8]. 다만 장내미생물의 다양성이 지닌 영향력이 현재까지는 명확히 알려져 있지 않아 그 기작을 명확히 할 수 없다는 한계가 있다[7].

인간장내미생물 조성에 대한 연구는 주로 인간의 건강상태와 질환의 유무에 따라 장내미생물의 조성과 구성이 어떻게 달라지는지를 다루기 때문에 표본군집에 실험군 군집을 비교하는 작업이 일차적으로 행해진다. 건강한 사람의 장내미생물은 기본적으로 후벽균, 의간균류, 방선균(Actinobacteria), 프로테오박테리아(Proteobacteria), 우미균류(Verruco-microbia)의 5가지 세균 문(Phylum)과 하나의 고세균(Archea)으로 구성되어 있으며 이 중에서도 후벽균과 의간균류의 Bacteroides속이 전체의 약 80%를 차지한다(표 1)[13,15]. 장내미생물군집은 이 외에도 50가지 이상의 세균 문과 1000가지 이상의 세균 종으로 구성되어 있으며 류재현(2017)은 군집의 다양성이 클수록 인체 건강을 증진시키는 역할의 균도 많이 분포하며 서로 다른 종이 함께 작용할 때 개체의 필요에 따라 적절한 기능을 수행한다는 것을 언급함으로써 다양성을 강조하였다[15]. 하지만 이러한 다양성에도 불구하고 모든 개체에 존재하는 핵심종은 18개에 불과하다는 사실은 각각의 균이 차지하는 비율의 차이가 크다는 것을 시사한다[15].

표 1. 건강한 사람의 주요 장내미생물.

분류	문	속
세균	후벽균(Firmicutes)	<i>Ruminococcus</i>
		<i>Clostridium</i>
		<i>Lactobacillus</i>
		butyrate 생성균
		: <i>Eubacterium</i>
		<i>Faecalibacterium</i>
		<i>Roseburia</i>

	의간균류(Bacteroidetes)	<i>Bacteroides</i> <i>Prevotella</i> <i>Xylanibacter</i>
	방선균(Actinobacteria)	<i>Collinsella</i> <i>Bifidobacterium</i>
	프로테오박테리아 (Proteobacteria)	<i>Escherichia</i> (장내세균과(Enterobacteriaceae family)) 황산염 환원세균(sulphate-reducing bacteria, SRB) : <i>Desulfovibrio</i>
	우미균류 (Verruco-microbia)	<i>Akkermansia</i>
고세균	유리고세균 (Euryarchaeota)	<i>Methanobrevibacter</i>

인간장내미생물은 주요 균의 구성과 장 기능의 특성에 따라 3가지의 ‘장유형(enterotypes)’으로 분류할 수 있다[1]. 장유형은 박테로이스(*Bacteroides*), 프리보텔라(*Prevotella*), 루미노코크스(*Ruminococcus*)로 구분되고 이들은 각각 식습관과 연관성이 높으며 영양분 흡수 또는 생산 측면에서 차이를 보인다는 특징이 있다(표 2).

표 2. 인간의 장유형 3가지.

장유형	주요 대상	특징
박테로이스 (<i>Bacteroides</i>)	식이섬유를 많이 섭취하지 않고 고지방식을 하는 사람들	탄수화물 소화효소를 잘 만들 수 있어 탄수화물 소화를 잘 시킴 비타민 B7(biotin)을 생산하여 피부병이나 우울증을 예방함
프리보텔라 (<i>Prevotella</i>)	식이섬유를 많이 섭취하고 지방 을 적게 먹는 사람들 채식주의자	비타민 B1(thiamine)을 생산하 여 각기병을 예방 뮤신을 생산하여 장내 점액을 분해
루미노코크스 (<i>Ruminococcus</i>)	고지방식이를 하는 사람들	당분(glucose) 흡수가 잘 이루 어져 비만이 되기 쉬움

출처: 이정숙(2019). 장내미생물의 재발견: 마이크로바이옴. 생명공학정책연구센터. 10(68): 1-13.

2.2 인간장내미생물의 기능

2.2.1 장내미생물과 질환

장내미생물의 구성과 주요 대사산물은 장에서 파생하는 신호, 호르몬, 신경 등의 성질을 바꿀 수 있다[13]. 이는 장내미생물의 구성과 그 비율이 신체 전반의 기관에 영향을 끼칠 수 있음을 의미하며 이것을 계기로 질병이 유발될 수 있음을 의미한다. 이번 단원에서는 장내미생물이 야기할 수 있는 질환의 유형 세 가지와 관련 연구에 대해 살펴보았으며 순서대로 장내미생물과 가장 직접적인 연관성이 있다고 추정되는 장 질환, 마찬가지로 식습관의 영향을 크게 받는 심혈관계 질환, 그리고 장뇌축 이론에 근거한 뇌 질환을 다루었다.

2.2.1.1 장 질환

장질환은 장에 생기는 병으로 대표적으로는 과민성 장증후군과 염증성 장 질환이 있다. 두 질병 모두 아직 정확한 원인이 밝혀지지 않았지만 과민성 장증후군의 경우 스트레스와 내장 과민성 등의 요인이, 염증성 장질환의 경우 환경적 요인이 주로 영향을 미친다고 알려졌다. 최근에는 이러한 장 질환 환자가 건강한 사람의 장내미생물 구성과 다양성에서 차이를 보인다는 사실이 보고되어 장내미생물과 장 질환과의 연관성을 밝히려는 시도가 계속되고 있다.

1) 과민성 장증후군(irritable bowel syndrome, IBS)

과민성 장증후군은 복통, 복부 불편감을 특징으로 하는 만성적인 기능성 위장관 질환으로 긴장하거나 스트레스를 받을 때 심해진다는 특징이 있다[14]. 과민성 장증후군의 정확한 원인은 아직까지 밝혀진 바가 없지만 일반적으로 스트레스와 같은 정신적 기전, 내장 과민성, 염증 등이 복합적으로 작용한 결과로 생각되어 왔다[14]. 최근 기존에 없던 관점인 장내미생물과의 연관성을 제시하는 연구가 늘어나면서 장내미생물이 과민성 장증후군을 유발하는 주요인으로 여겨지고 있다. 이들은 환자의 장내미생물 군집을 분석하여 그 분포에 따라 유익균을 접종하거나 장내 환경을 개선하기 위해 식단을 짜는 등의 치료법으로 과민성 장증후군을 완화시키거나 치료할 수 있다고 제시한다.

연구결과를 살펴보면 각기 변화되었다고 제시한 군집이 차이를 보이는 것을 확인할 수 있다. Corander 등(2007)은 환자들이 건강 대조군에 비해 후벽균이 많고 의간균류가 적으며 장내 마이크로바이옴의 다양성이 감소된 상태임을 밝힌 반면 류재현(2017)에서는 실험군의 조성이 건강 대조군에 비해 상대적으로 비피더스균(Bifidobacterium)과 젖산균(Lactobacillus)이 감소되었다는 연구를 보고한 바 있기 때문이다[15,16]. 이러한 결과는 통일성이 없다는 점에서 신뢰성을 낮추는 요인으로

치부될 수 있지만 대부분의 연구에서 표본균주와 차이를 보이는 군집이 제시되었고 과민성 장증후군의 병인이 다양하다는 것을 고려하면 연구마다 미생물의 종류가 다양한 이유도 충분히 생각할 수 있다.

2) 염증성 장 질환(inflammatory bowel diseases, IBD)

염증성 장 질환은 장에 만성적 염증을 일으키는 질환으로, 궤양성 대장염(ulcerative colitis, UC)과 크론병(Crohn's disease, CD)으로 분류된다[17]. 염증성 장 질환은 환경적 요인 혹은 면역학적 요인이 주원인으로 꼽혀왔는데 이 외에도 장내 마이크로바이옴의 불균형에 의해서 매개될 수 있다는 것이 밝혀졌다[18]. 이때의 불균형은 친염증성(proinflammatory) 면역반응을 유도하는 균들이 장내에 정착하여 표본균주에 비해 그 수가 증대한 상황으로서 장 내의 염증 반응이 증가하고 면역 반응 조절이 방해되는 결과를 낳는다[19].

연구에 따르면 염증성 장 질환 환자들의 조성에는 건강 대조군과 달리 후벽균과 의간균류, 이 외에도 정상적 면역반응을 유도하는 락노스피로세(Lachnospiraceae)와 같은 세균류가 감소된 양상을 보였으며 다양성의 면에서도 감소된 양상을 보였다[20,21]. 이 외에도 부착 및 침습적 특성을 지닌 부착-침습성 대장균, *Campylobacter concisus*, *enteropathogenic Helicobacter* 등의 프로테오박테리아군은 숙주의 염증성 변화를 유도하여 염증성 장 질환을 발달시킨다고 알려졌다[22].

3) 대장암(colorectal cancer, CRC)

이번에 다룬 대장암은 전이성 용종 혹은 병변이 영상 장비에서 확인되는 경우이며 최근 연구를 통해 장내 마이크로바이옴의 조성이 대장암 발생 위험성의 증감을 결정한다는 사실이 밝혀진 바 있다[18]. 대장암 환자들의 균 조성은 건강 대조군에 비해 박테로이데스균과 프레보텔라균이 증가된 상태라는 것이 밝혀졌으며 이와 반대로 젯산균과 *Eubacterium aerofaciens*가 대장암에 걸릴 위험성을 감소시킨다는 것이 밝혀졌다[23].

암은 만성적인 염증이 면역체계의 염증 세포와 신호전달 분자와 같은 선천적인 방어체제를 약화시켜서 유발되기도 한다[23]. 위에서 언급했던 염증성 장질환은 정상 피층에 만성 염증을 일으켜 염증성 대장암으로도 이어질 수 있는데 이는 장내미생물의 조성이 직접적으로 대장암에 영향을 끼칠 뿐 아니라 간접적인 원인 중 하나로도 기능할 수 있음을 시사한다[14].

2.2.1.2 심혈관 질환

심혈관 질환(cardiovascular diseases, CVDs)은 심장이나 주요 동맥에 발생하는 질환으로 동맥경화(atherosclerosis), 고혈압(hypertension), 심부전(heart failure), 심방 세동(atrial fibrillation), 심근 섬유증(myocardial fibrosis) 등이 해당된다. 이

러한 심혈관 질환의 근본적인 메커니즘은 각 질병에 따라 다르지만 흡연, 당뇨병, 운동 부족, 비만, 고혈당 콜레스테롤, 식이 불량, 과도한 음주 등으로 인해 발생한다고 알려져 왔다[24,25]. 하지만 이러한 원인들이 모든 심혈관 질환의 원인은 아니며, 최근에는 장내 미생물과 장내 미생물이 합성하는 대사체들이 심혈관 질환의 발생과 진행에 밀접한 관계가 있음이 연구를 통해 보고되고 있다[26].

심혈관 질환의 발생에서는 트릴메틸아민-*N*-산화물(trimethylamine-*N*-oxide, TMAO)과 단쇄 지방산과 같은 장내미생물의 대사체가 주요하게 기능한다. 먼저 트릴메틸아민-*N*-산화물의 경우, 이것을 생산하는 특정 장내미생물이 일정 기준 이상일 때 혈중 농도가 증가하고 동맥경화가 선행되기 전 생성되는 대식세포형 세포(macrophage foam cell)를 형성하는 것이 확인되었다[26]. 동맥경화 같은 심혈관 질환을 유발할 수 있는 소고기, 돼지고기, 치즈와 같은 식품에 다량 함유된 Choline, betaine, L-carnitine, phosphatidylcholine 등의 물질은 TMA로 분해된 후 간에서 산화되는 과정을 통해 최종적으로 트릴메틸아민-*N*-산화물이 된다(그림 1)[26].

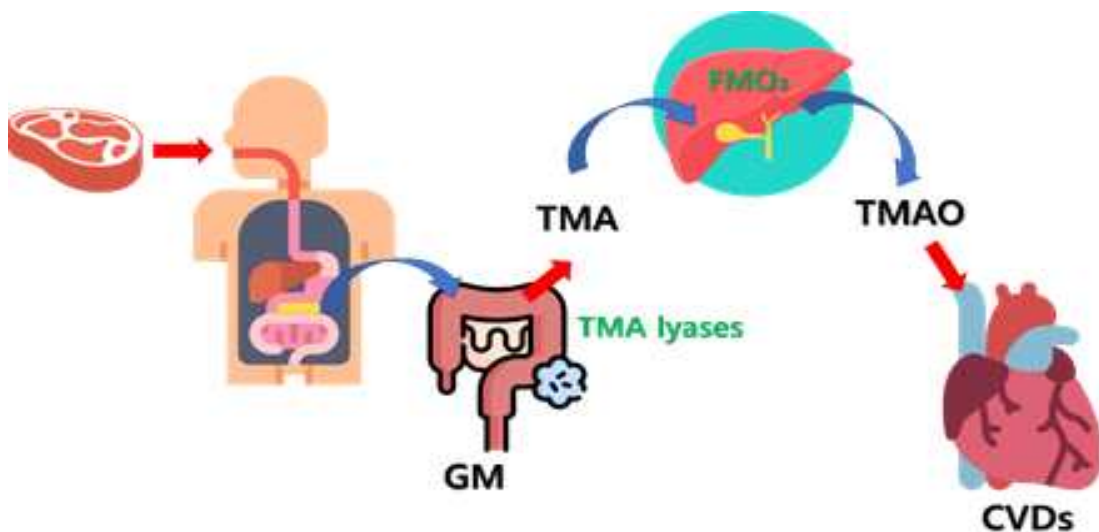


그림 1. 트릴메틸아민-*N*-산화물 형성 과정.

반면 단쇄 지방산은 장내의 pH를 낮춰 유해균을 감소시키고 암모니아 흡수를 저해시켜 심혈관 질환의 위험도를 낮추는 역할을 수행한다[26,27,28]. 단쇄 지방산은 식이 섬유, 복합 탄수화물 등이 결장에서 장내미생물에 의해 발효될 때 생성되며 장내 미생물과 인체의 주요 에너지 공급원으로도 작용한다[29,30]. 단쇄 지방산의 대표적인 예로 아세트산(acetic acid), 프로피온산(propionic acid), 뷰티르산(butyric acid) 등이 있다[30].

1) 관상동맥 심질환(coronary heart disease, CHD)

관상동맥은 산소와 혈액을 심장에 공급하는 혈관으로 동맥벽에 콜레스테롤이 축적되어 일정 범위 이상 좁아지면 관상동맥 심질환이 발생하게 된다. 그러다 보니 혈류를 방해하는 물질이나 혈관을 막는 장애물에 취약하며 그 심각성이 커질 경우 심장마

비를 일으킬 수 있다[33]. 장내미생물이 합성하는 트릴메틸아민-*N*-산화물은 동맥경화, 혈소판 과반응성 유발 및 혈전증을 유발시키는 위험인자로서 심질환을 유발시킨다[34]. 트릴메틸아민(trimethylamine) 및 트릴메틸아민-*N*-산화물을 합성하는 세균에는 후벽균문의 *Clostridium asparagiforme*, *Clostridium hathewayi*, *Clostridium sporogenes*, 프로테아박테리아문의 *Escherichia fergusonii*이 있으며 이 외에도 *Anaerococcus hydrogenalis*, *Proteus penneri*, *Providencia rettgeri* 등이 있다[31].

2) 고혈압(hypertension)

고혈압이란 성인 기준 수축기 혈압이 140 mmHg, 이완기 혈압이 90 mmHg 이상인 때를 말하는 것으로 흔히 유전, 식습관, 약물 부작용 등에 의해 발생한다. 한편 여성은 임신을 하는 경우 고혈압 증세를 보일 수 있는데 고혈압이 20주 이전 혹은 출산 이후에도 발생할 경우 산모의 간과 신장을 비롯한 장기 심하게는 태아의 생명에까지 위협을 끼칠 수 있다는 점에서 혈압 완화에 대한 연구가 지속되어왔다. Gomez Arango(2016)는 임신 초기단계의 비만 임신부를 대상으로 장내미생물과 혈압의 연관성을 연구한 결과, 단쇄 지방산 생산균의 분포가 높을수록 혈압과 반비례한다는 사실을 알아냈으며 혈압 완화를 위해서는 프로바이오틱스와 같은 유산균을 섭취하여야 한다고 강조했다[35]. 또한 Tang과 그의 연구팀(2017)의 경우 장내미생물의 다양성 감소와 단쇄 지방산 생산균의 감소가 고혈압의 발생과 연관이 있다는 것을 발견하였고 고혈압과 관련된 장내미생물과 대사체의 역할을 규명하는 성과를 거두었다고 보고되었다[26].

고혈압 환자의 장내 미생물 조성은 건강 대조군에 비해 *Faecalibacterium*, *Oscillibacter*, *Roseburia*, *Bifidobacterium*, *Coprococcus*, *Butyrivibrio*의 분포량과 전체적인 군집의 다양성이 적다는 특징을 지녔다[36]. 이 중에서 *Faecalibacterium*, *Oscillibacter*, 그리고 *Coprococcus*는 심혈관계 질환뿐 아니라 크론병과 대장암과 같은 장 질환에 관여한다는 점에서 장내미생물의 적용범위가 신체 전반에 걸쳐있다는 것을 알 수 있다.

3) 심부전

심부전이란 심장의 펌프작용이 저하되어 심장에 유입된 혈액을 충분히 내보내지 못하는 증세이다[31]. T. kamo(2017)의 연구팀은 심부전 환자 22명을 대상으로 16S rRNA 시퀀싱을 시행하여 심부전 환자가 정상 대조군에 비해 장내미생물의 조성이 불균형하다는 것과 *Eubacteriumrectale*나 *Dorea longicatena*와 같은 단쇄 지방산 생산 장내미생물이 적다는 것을 발견하여 장내미생물의 불균형과 장내미생물 유래 대사체가 해당 질환과 관련이 있음을 밝혔다[37].

또한 Organ(2016)의 연구팀은 마우스에게 Choline과 트릴메틸아민-*N*-산화물을 먹여 관찰한 결과 이들의 심장이 커지고 심부전의 중증도가 증가했다고 보고하였으며

Marques(2017)의 연구팀은 마우스의 식이를 고섬유질로 바꾸는 실험을 통해 마우스의 장내미생물 조성이 변화하는 동시에 단쇄 지방산이 증가하며 심부전의 발생이 지연되었다는 결과를 얻었다고 보고하였다[38,39].

2.2.1.3 뇌 질환

뇌 혹은 정신 질환은 개개인마다 발생 원인이 상이하며 명확하게 정의할 수 없다는 점에서 오랜 기간 미지의 영역으로 치부되어 왔다. 하지만 오랜 연구를 통해 뇌 질환이 신체 질환과 마찬가지로 유전적, 생물학적, 환경적 요인과 신경전달물질이나 호르몬 분비 등의 이상에 의해 유발된다는 것이 밝혀지면서 뇌 질환의 기작에 대한 많은 연구결과가 축적되기 시작했다[48]. 최근에는 장뇌축에 대한 논의가 이어지면서 장내 미생물 혹은 그 대사체가 뇌 질환에 미치는 영향에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있다.

1) 퇴행성 뇌질환

퇴행성 뇌질환은 인지장애와 기억손상을 수반하는 질환으로 그 종류에는 알츠하이머병(Alzheimer's disease, AD), 파킨슨병(Parkinson's disease, PD), 헌팅톤병(Huntington's disease, HD), 다발성경화증(Multiple sclerosis, MS), 루게릭병으로 알려진 근위축성 측삭 경화증(Amyotrophic lateral sclerosis, ALS) 등이 있다[49]. 이중에서는 알츠하이머병과 파킨슨병이 가장 흔한 퇴행성 뇌질환이지만 이들마저도 그 발병 원인과 기전이 명확하게 밝혀지지 않았다는 것이 특징이다[50].

1-1) 알츠하이머병(Alzheimer's disease, AD)

흔히 치매로 알려진 알츠하이머병(AD)은 주로 비정상적인 베타아밀로이드(β -Amyloid, A β)와 신경원매듭섬유(neurofibrillary tangles)의 주성분인 타우 단백질(Tau)이 뇌 속 뉴런에 다량 축적되기 때문에 발생한다[50,51,52]. 하지만 이 외에도 신경 세포가 손상되는 경우나 신경교세포(neuroglia cell)에 과도한 염증성 반응이 일어날 경우에 알츠하이머병이 발생할 수 있다[50,51,52].

목인희 외 공동 연구진(2020)은 알츠하이머병이 유발된 마우스 모델의 뇌 병변 악화가 장내미생물 군집 조성의 변화를 유발한다는 것을 발견한 후 이를 정상적인 장내 미생물 조성을 통해 극복하려는 실험을 진행하였다[56]. 이 과정에서 치매 마우스 모델의 불균형한 조성이 장벽의 기능을 약화시켜 혈액으로 장내 독소가 퍼지게 하며 전신적으로 염증반응을 증가시킨다는 기작이 밝혀졌으며 이에 대응하여 치매 마우스 모델에 정상 마우스 모델의 분변을 이식한 결과 치매 마우스 모델의 인지장애와 기억손상이 회복되고 뉴런 내 베타아밀로이드와 타우 단백질 그리고 신경교세포 및 전신의 염증 반응이 감소했다는 결과를 도출해냈다[56]. 한편 Francechi 등(2019)은 유해균 헬리코박터균의 감염이 알츠하이머병 환자의 장내미생물 군집의 불균형을 야기하며

헬리코박터균의 대사체 암모니아가 신경세포의 사멸 및 인지기능 저하를 유발하게 된다고 밝혔다[57]. 위의 두 연구는 장내미생물 구성에 따라 알츠하이머병 증상의 경중이 결정된다는 것을 시사한다.

1-2) 파킨슨병(Parkinson's disease, PD)

퇴행성 뇌질환 중 알츠하이머병 다음으로 발병률이 높은 파킨슨병은 중뇌의 흑색질에 분포한 도파민(dopamine) 신경세포의 소실로 발생하는 질환이며 일반적으로 운동장애, 인지 능력 저하, 심각한 변비를 증상으로 보인다[53,54]. 파킨슨병 환자에서 나타나는 운동장애 및 인지능력 저하는 헬리코박터균에 의한 증상, 변비는 알츠하이머병과 마찬가지로 비정상적인 장내미생물 군집에 의해 발생하는 증상이며 그 구성에 따라 악화되는 정도가 다르다는 특징을 보인다[54].

최근 파킨슨병의 주원인인 도파민 신경세포의 소실이 장내미생물과 연관이 있다는 연구가 보고되고 있다. Srivastav와 공동 연구진들(2019)은 파킨슨병 동물모델에게 *L. rhamnosus* GG, *B. animalis* lactis, *L. acidophilus*가 포함된 프로바이오틱스를 주입한 결과 단쇄 지방산의 일종인 뷰티르산의 생성이 증가하면서 도파민 신경세포가 보호되었다고 보고하였다[55]. 이는 대사체인 단쇄 지방산이 도파민 신경세포의 소실을 억제함으로써 파킨슨병 증상을 완화시킨 예시를 단적으로 보여준다. 또한 파킨슨병은 알파-시누클레인(alpha-synuclein)이라는 단백질 돌연변이가 다른 단백질의 분해를 막아 불필요한 단백질들이 세포에 쌓이고 결과적으로 신경단위세포인 뉴런까지 사멸되는 과정이 원인으로 작용하기도 한다[62]. 이에 관하여 Sampson과 공동 연구진들(2016)은 파킨슨병 환자의 미생물군집이 접종된 마우스 모델의 알파-시누클레인으로부터 촉발된 운동장애가 악화되었다는 결과를 보여 장내미생물이 파킨슨병을 유발하는 주원인과 관련이 있음을 입증하였다[54,62].

2) 자폐 스펙트럼장애(Autistic Spectrum Disorder, ASD)

흔히 자폐증이라고 불리는 자폐 스펙트럼장애는 제한적이고 반복적인 행동과 의사소통 문제를 특징으로 보이는 발달 장애이다[64]. 발병 원인은 명확하게 하나로 정의되지는 않으나 임신, 분만을 전후한 합병증, 대사 장애, 선천성 풍진, 뇌손상과 뇌염과 같은 뇌의 뚜렷한 기질적 병변 등이 자폐 스펙트럼장애와 관련이 있는 것으로 알려져 왔고 Kohane 등(2012)이 14,000명 이상의 자폐 스펙트럼장애 환자를 대상으로 실험하여 얻은 결과로 자폐 스펙트럼장애가 장 질환과도 연관성이 있음을 추가로 제시하고 있다[65,66]. 이들은 실험 결과로 자폐 스펙트럼장애 환자들의 염증성 장 질환 유병률이 높게 나타난다는 결과와 더불어 뇌성 마비 및 주요 우울증을 포함한 다른 신경 질환에서도 염증성 장 질환이 함께 보고된다는 사실을 덧대어 언급함으로써 장내미생물이 신경 질환과 밀접한 관련이 있음을 시사하였다[66]. 이 외에도 Paul H. Patterson와 공동 연구진들(2013)은 동물 모델의 장 내에 *B. fragilis*이 적은 경우 자폐 스펙트럼장애와 같은 사회성 부족 현상이 일어났으며 자폐 스펙트럼장애 생쥐 모

델에게 *B. fragilis*를 이식하자 자폐 스펙트럼장애 증상들이 치료된 것을 확인하였다고 보고하여 장내미생물과 정신 질환의 연관성을 입증하기도 했다[67].

2.3 장내미생물을 이용한 치료법

앞서 언급되었던 것처럼 장내미생물과 우리의 건강 사이에는 밀접한 관련이 있으며 그 구성에 따라 질환을 치료하거나 예방할 수 있다. 장내미생물로 인해 발생하는 질병을 치료하는 방법에 대해 알아보았다.

첫 번째는 프로바이오틱스와 프리바이오틱스를 통한 치료법이다. 프로바이오틱이라는 단어의 어원은 ‘생명을 위하여’라는 뜻으로 이것을 적정량 섭취되었을 때 숙주의 건강유지에 기여할 수 있는 생균을 의미한다[44,45]. 프리바이오틱이란 일부 장내 미생물의 성장을 선택적으로 촉진시켜 숙주에게 도움이 되는 난소화성 식이성분으로 쉽게는 장내 유익균의 성장을 촉진시키는 물질이라고 할 수 있다[46]. 프로바이오틱스는 장내 유익균의 수를 늘리고 유해균의 수를 감소시키는 역할을 하기 때문에 설사 및 변비를 예방하는 등 소화기능 개선에 도움을 주며 면역력 개선, 항당뇨, 항비만, 항염, 항암, 항알레르기 등의 효과를 나타낸다. 프로바이오틱스는 그것이 함유된 음식을 적정량 섭취하는 것만으로도 장내미생물 구성을 긍정적으로 바꿀 수 있으며 대표적인 식품에는 요거트, 김치와 된장 등의 발효식품 등이 있다[45]. 프리바이오틱스는 장내 미생물이 acetate, butyrate 및 propionate와 같은 항염증 및 항암에 효과가 있는 단쇄지방산을 생산하도록 작용함으로써 장내미생물 구성을 변화시킬 뿐 아니라 칼슘 흡수를 개선하고, 알레르기 위험을 감소시키고, 면역 체계를 개선시키는 등의 이점을 제공한다[46].

두 번째는 분변 미생물상 이식(fecal microbiota transplantation, FMT)이다. 이것은 최근에 제시된 생태학적 접근법으로 건강한 공여자의 대변을 멸균된 증류수에 풀어 내시경으로 집어넣는 방식이다[47]. 현재의 기술로는 배양할 수 있는 미생물의 수가 매우 적다는 한계 때문에 건강한 사람의 대변으로부터 채취한 미생물을 직접 이식하지만 후에 배양 가능한 미생물 개체수가 늘어난다면 분변이 아닌 배지에서 배양된 균을 개개인의 특성에 맞게 구성을 바꾸어 장에 주입하는 것이 가능할 것으로 추정된다. 현재까지 분변 미생물상 이식이 가능하다고 알려진 질병에는 *C. difficile* 감염, 염증성 장 질환, 과민성 대장증후군과 만성변비, 당뇨병, 다발성경화증, 만성피로증후군, 면역성 혈소판 감소성 자반증, 비알콜성 지방간 질환과 비알콜성 지방간염, 비만, 알레르기반응이 있지만 관련 연구가 계속됨에 따라 그 범위가 점차 확장되고 있어 관련 시장이 매우 커질 것이 예측되고 있다[68,69].

또한 항생제를 통해서도 특정 균(예를 들면 헬리코박터)의 작용을 쉽게 해결할 수 있다는 것이 밝혀졌다[54,58,59,60,61]. 헬리코박터는 위에서 언급했듯이 파킨슨병과 알츠하이머병과 같은 뇌 질환에 주로 작용하기 때문에 이와 관련된 연구가 진행된 것

을 확인할 수 있다. 실험은 파킨슨병에 걸린 동물 모델에 반코마이신, 네오마이신, 젠타마이신, 에리트로마이신과 같은 항생제를 접종하는 방법으로 진행되었고 접종 결과 항생제로 인해 기존의 장내미생물 군집이 제거되면서 파킨슨병이 완화되는 것으로 나타났다[54,58,59,60,61]. 한편 Balskus와 그의 연구팀(2019)은 *Lactobacillus brevis* 과 같은 장내미생물이 파킨슨병 치료제 레보도파를 분해시켜 실제로 도달되는 약의 양을 감소시키는 것을 확인하였는데 이는 장내미생물의 조성이 질환 자체에 영향을 미칠 뿐만 아니라 질환을 치료하는 치료제의 효능에서도 차이를 유발한다는 것을 알 수 있다[63].

2.3.1 기술의 현황 및 전망

2007년, 미생물이 인간의 생리학적 기작 및 질병의 발생에 끼치는 영향을 연구하는 인간마이크로바이옴프로젝트(Human Microbiome Project)가 시작되었다[5]. 이것은 인체 전반에 존재하는 거대한 수의 미생물과 숙주 간의 관계성을 연구하는 프로젝트로서 대용량의 유전자를 고효율로 분석해내는 기술을 활용하고 발전시키는 계기가 되었다. 이러한 분석기법을 바탕으로 인간 마이크로바이옴프로젝트는 새로운 유기체(new organisms), 유전자 기능(gene functions), 대사 및 조절 네트워크(metabolic and regulatory networks), 그리고 미생물 군집의 구조와 건강과 질병 간의 상관관계 등을 식별하는 데이터베이스를 형성할 수 있게 되었다는 데에 의의가 있다[4,5,9]. 2014년에는 인체마이크로바이옴치료제가 세계경제포럼에서 세계 10대 유망 미래 기술 중 하나로 선정되면서 인체마이크로바이옴과 그 기술의 발전에 대한 관심을 더욱 높이는 성과를 거두었다[4,5,9].

미생물 군집 분석기법에는 16S 리보솜 RNA(rRNA) 유전자 서열 및 분류학적 프로파일(taxonomic profiles), 앰플리콘 시퀀싱(amplicon sequencing), 전체 게놈 샷건(whole-genome shotgun, WGS) 또는 메타 게놈 시퀀싱(metagenomic sequencing) 등이 있다[9,42]. 각각의 분석기법은 종류에 따라 그 특성과 활용되는 분야에서 차이를 보이는데 그 예시로 앰플리콘 시퀀싱의 경우에는 표지 유전자(marker gene)를 선택적으로 증폭시킨 후 그 산물의 염기서열을 분석하는 반면 16S rRNA의 경우 모든 세균과 그것에 존재하는 산물의 염기서열을 분석하여 비교한다는 점에서 차이를 보인다는 것을 들 수 있다[42,43]. 둘 중 보다 널리 쓰이는 16S rRNA의 경우 위와 같은 특성을 바탕으로 세균 분류 및 동정에 유용하게 사용되며 주로 분류학적 연구에 활용되곤 한다.

미생물 분석기법 중 최근 가장 각광받는 기술은 1992년 시드니 브레너 등에 의해 제시되고 2004년에 상용화된 차세대염기서열기법(next generation sequencing, NGS)이다[41]. 이것은 또한 Massive parallel sequencing으로 일컬어지며 한국말로 는 ‘대용량 염기서열 분석법’, ‘대규모 병렬형 염기서열 분석법’ 등으로 번역된다[41].

이름에서 암시하듯이 이 기술은 하나의 유전체를 무수히 많은 조각으로 분해한 후 각 조각을 동시에 읽어내는 병렬형이며, 이렇게 취득한 데이터는 생물정보학적 기법을 통해 조합함으로써 대용량의 유전체 정보를 빠르게 해독하는 기작을 지녔다[41]. 그러다 보니 차세대염기서열기법기술의 발달은 신속하고 저렴하게 대량의 유전자 정보를 획득하는 것과 미생물의 특성을 보다 정확하게 파악하는 것을 가능하게 해주었고 그것의 발달과 함께 메타게노믹스의 발달에도 기여하게 되었다[40,41].

메타게놈이란 ‘군유전체’를 이르는 말로 특정 환경샘플에 존재하는 세균, 곰팡이, 바이러스 등 모든 생물체의 모든 유전체의 종합, 혹은 한 종의 유전체가 아닌 특정한 경단위별로 포함되는 모든 종의 유전체를 말한다[4]. 메타게놈을 연구하기 위해서는 미생물을 분리하거나 배양하는 과정 없이 환경샘플에서 바로 모든 미생물의 DNA를 추출하기 때문에 대용량으로 염기서열 분석하는 차세대염기서열법이 큰 기여를 하게 되었던 것이다[42]. 하지만 이 기술은 워낙 대량의 데이터를 처리하는 만큼 염기서열 분석 과정에서 발생하는 무작위적인 오류에 취약하며 돌연변이나 오차가 다수의 정확하게 분석된 DNA에 의해 상쇄될 수 있다는 한계가 있다[40,41]. 최근 차세대염기서열기법의 한계점을 극복할 수 있는 새로운 방안으로 단일분자염기 서열분석법(third-generation sequencing)이 제시되고 있지만 이 또한 아직 실험단계에 불과하다는 한계를 지녔다. 하지만 차세대염기서열기법과 유사하게 단일분자염기서열분석법 또한 비약적인 발전이 가까운 시일 내에 예측된다는 점과 이것이 상용화될 시 DNA 염기서열 분석법, 유전체학 등의 분야에 혁신적인 발전을 이룩할 것이 예상된다는 점에서 앞으로의 분석기술은 더욱 발전할 전망으로 예측되고 동시에 장내미생물에 관한 연구 또한 활발히 이어져 빠른 시간 내에 발전할 전망으로 예측된다[41].

III. 결론

본 연구에서는 장내미생물의 기원과 개념, 그리고 장점을 먼저 다루어 장내미생물에 관한 전반적인 기초 지식을 제공하였고 이후 장내미생물의 구성에 따라 장유형이 나뉜다는 것과 이것이 질환의 발생여부와 관련이 있다는 것을 연구결과들과 함께 살펴보았다. 질환의 종류는 장 질환, 심혈관 질환, 정신 질환 이 세 가지로 나누어 살펴보았으며 각각의 대표 유형을 꼽아 대략 세 가지씩 살펴보았다. 이후 현재 통용되고 있는 장내미생물 파생 질환의 치료법에 대해 언급하여 현재 의료적 차원에서 보이는 현황을 나누었으며 마지막으로 이러한 발전을 일궈낼 수 있도록 기여한 분석기법의 종류와 전망을 언급하며 보고서를 끝마쳤다.

인간은 살아가는 중에 신체의 모든 기관, 모든 조직, 혹은 하나의 세포까지도 서로 간에 복잡한 네트워크망을 이루어 상호작용하는 만큼 30조의 인체 세포수보다도 대략 30%가 더 많은 39조의 장내미생물이 우리 몸에 끼치는 영향력은 생각보다 넓은 범위

에 걸쳐있으며 그 위력이 클 수밖에 없다[70]. 하지만 최근 관심을 받았던 장뇌축 이론에 대한 반응이 대부분 놀라움이었다는 것은 우리가 아직 장내미생물에 관해 아는 바가 적으며 그 위력을 실감하지 못한다는 것을 입증해준다. 현재까지도 많은 연구가 이루어지고 있지만 장내미생물에 대해 알려진 연구는 아직 불안정한 단계에 불과하기 때문에 발전하는 공학적 기술과 함께 연구에도 박차를 가해 장내미생물의 숨겨진 기능과 역할 등이 차차 발굴될 것이 기대된다.

IV. 인용 문헌

- [1]유현주, 이성희, 고광표. (2015). 인간 장내 마이크로비옴 연구: 개념과 전략. KJPH, 52(1), 11-19.
- [2]Emeran, A., Mayer, Kirsten Tillisch, & Arpana Gupta. (2015). Gut/brain axis and the microbiota. JCI, 125(3), 926-938.
- [3]김경철. (2018). 장내미생물이 인간을 지배한다: 마이크로바이옴. 미생물유전체전략연구사업단.
- [4]이정숙. (2019). 장내미생물의 재발견: 마이크로바이옴. 생명공학정책연구센터, 10(68), 1-13.
- [5]Peter, J., Turnbaugh, Ruth, E., Ley, Micah Hamady, Claire, M., Fraser-Liggett, Rob Knight & Jeffrey I. Gordon. (2007). The Human Microbiome Project. Nature, 449(18), 804-810.
- [6]Ezkurdia Iakes, Juan Davidk, Rodriguez, M. Jose, Frankish Adam, Diekhans Mark, Harrow Jennifer, Vazquez Jesus, Valencia Alfonso, & Tress L. Michael. (2014). Multiple evidence strands suggest that there may be as few as 19,000 human protein-coding genes. Human molecular genetics, 23(22), 1866-78. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddu309>
- [7]Spor, A., Koren, O., & Ley, R. (2011). Unravelling the effects of the environment and host genotype on the gut microbiome. Nature Reviews Microbiology, 9, 279-290.
- [8]Tabrett, A., Horton, W., Matthew. (2020). The influence of host genetics on the microbiome. PMC, 9, F1000 Faculty Rev-.
- [9]Methé, B., Nelson, K. et al. (2012). The Human Microbiome Project Consortium. A framework for human microbiome research. Nature, 486, 215-221.
- [10]Monteiro, P. M., Batterham, L. R. (2017). The Importance of the Gastrointestinal Tract in Controlling Food Intake and Regulating Energy Balance. Gastroenterology, 152(7), 1707-1712.
- [11]Gordon, I. J., Klein, S., Turnbaugh, J. P., Ley E. R. (2006). Human gut microbes associated with obesity. Nature, 444(7122), 1022-1023.
- [12]Ridaura, V. K., Faith, J. J., Rey, F. E., Cheng, J., Duncan, A. E., Kau, A. L., Griffin, N. W., Lombard, V., Henrissat, B., Bain, J. R., Muehlbauer, M. J., Ilkayeva, O., Semenkovich, C. F., Funai, K., Hayashi, D. K., Lyle, B. J., Martini, M. C., Ursell, L. K., Clemente, J. C., Van Treuren, W., ... Gordon, J. I. (2013). Gut microbiota from twins discordant for obesity modulate metabolism in mice. Science (New York, N.Y.), 341(6150), 1241214. <https://doi.org/10.1126/science.1241214>.
- [13]김정목. (2013). 장내미생물무리의 구성과 대사가 건강과 질병에 미치는 영향. Korean J Gastroenterol, 62(4), 191-205.
- [14]Jung Ho Park, Jeong-SikByeon;Woon-Geon Shin, Young Hun Yoon, Jae HeeCheon, Kwang Jae Lee, Hyojin Park, The Korean Society of

- Neurogastroenterology and Motility. (2010). Diagnosis of Irritable Bowel Syndrome: a Systematic Review. *대한소화기학회지*, 55, 308-315.
- [15]류재현. (2017). 장내 미생물에 대한 이해와 기능성 장질환에서 프로바이오틱스의 유용성. *EwhaMedJ*, 40(1), 22-28.
- [16]Kassinen, A., Krogius-Kurikka L., Makivuokko, H., Rinttila, T., Paulin, L., Corander, J., et al. (2007). The fecal microbiota of irritable bowel syndrome patients differs significantly from that of healthy subjects. *Gastroenterology*, 133(1), 24-33.
- [17]송인성. (1999). 한국인의 염증성 장질환. *Korean Journal of Medicine*. 57(4), 661-674.
- [18]황순재, 김성훈, 이기종. (2018). Gut Microbiome and Gastrointestinal Diseases. *Korean Clin Lab Sci*, 50(1), 11-19.
- [19]김정목. (2010). 염증성 장질환과 장내 미생물무리. *대한소화기학회지*, 55(1), 4-18.
- [20]Frank, DN., St, Amand AL., Feldman, RA., et al. (2007). Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104, 13780-13785.
- [21]Chaysavanh Manichanh, Natalia Borruel, Francesc Casellas & Francisco Guarner. (2012). The gut microbiota in IBD. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol*, 9, 599-608.
- [22]Mukhopadhyay, I., Hansen, R., El-Omar, EM., Hold, GL. (2012). IBD-what role do Proteobacteria play? *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 9, 219-230.
- [23]Mantovani, A. (2005). Cancer: inflammation by remote control. *Nature*, 435, 752-753.
- [23]명대성, 주영은. (2012). 대장암에 대한 장내 미생물 무리의 영향과 프로바이오틱스. *Korean J Gastroenterol*, 60(5), 275-284.
- [24]Mendis, S., Puska, P., Norrving, B., & World Health Organization. (2011). *Global atlas on cardiovascular disease prevention and control*. World Health Organization.
- [25]Abubakar, I. I., Tillmann, T., & Banerjee, A. (2015). Global, regional, and national age-sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet*, 385(9963), 117-171.
- [26]Tang, W. W. & Hazen, S. L. (2017). The gut microbiome and its role in cardiovascular diseases. *Circulation*, 135(11), 1008-1010.
- [27]Hijova, E., Chmelarova, A. (2007). Short chain fatty acids and colonic health. *Bratisl Lek Listy*, 108, 354-358.
- [28]Kumar, V., Sinha, A. K., Makkar, H. P., de Boeck, G., Becker, K. (2012). Dietary roles of non-starch polysaccharides in human nutrition. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 52, 899-935.
- [29]Brody, Tom. (1999). *Nutritional Biochemistry* (2nd ed.). Academic Press, 320. Retrieved December 21, 2012.
- [30]Wong, J. M., De Souza, R., Kendall, C. W., Emam A., & Jenkins, D. J. (2006). "Colonic health: Fermentation and short chain fatty acids". *Journal of Clinical Gastroenterology*, 40(3), 235-43.

- [31]Romano, K. A., Vivas, E. I., Amador-Noguez, D., & Rey, F. E. (2015). Intestinal microbiota composition modulates choline bioavailability from diet and accumulation of the proatherogenic metabolite trimethylamine-N-oxide, *MBio*, 6(2), e02481.
- [32]Koeth, R. A. et al. (2013). Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med*, 19(5), 576-585. doi:<https://doi.org/10.1038/nm.3145>
- [33]Coronary artery disease- Coronary heart disease. (2015). http://www.heart.org/HEARTORG/Conditions/More/MyHeartandStrokeNews/Coronary-Artery-Disease---Coronary-Heart-Disease_UCIM_436416_Article.jsp#.V9fFk5MrLMI
- [34]Zhu, W., Gregory, J. C., Org, E., Buffa, J. A., Gupta, N., Wang, Z., Li, L., Fu, X., Wu, Y., Mehrabian, M., Sartor, R. B., McIntyre, T. M., Silverstein, R. L., Tang, W., DiDonato, J. A., Brown, J. M., Lusi, A. J., & Hazen, S. L. (2016). Gut Microbial Metabolite TMAO Enhances Platelet Hyperreactivity and Thrombosis Risk. *Cell*, 165(1), 111-124. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.02.011>
- [35]Gomez-Arango, L. F., Barrett, H. L., McIntyre, H. D., Callaway, L. K., Morrison, M., & Dekker Nitert, M. (2016). Increased systolic and diastolic blood pressure is associated with altered gut microbiota composition and butyrate production in early pregnancy. *Hypertension*, 68(4), 974-981.
- [36]Kang, Y. & Cai, Y. (2018). Gut microbiota and hypertension: From pathogenesis to new therapeutic strategies. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology*, 42(2), 110-117.
- [37]Kamo, T., Akazawa, H., Suda, W., Saga-Kamo, A., Shimizu, Y., Yagi, H., Liu, Q., Nomura, S., Naito, A. T., Takeda, N., Harada, M., Toko, H., Kumagai, H., Ikeda, Y., Takimoto, E., Suzuki, J. I., Honda, K., Morita, H., Hattori, M., & Komuro, I. (2017). Dysbiosis and compositional alterations with aging in the gut microbiota of patients with heart failure. *PloS one*, 12(3), e0174099. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174099>
- [38]Organ, C. L., Otsuka, H., Bhushan, S., Wang, Z., Bradley, J., Trivedi, R., Polhemus, D. J., Tang, W. H., Wu, Y., Hazen, S. L., & Lefer, D. J. (2016). Choline Diet and Its Gut Microbe-Derived Metabolite, Trimethylamine N-Oxide, Exacerbate Pressure Overload-Induced Heart Failure. *Circulation. Heart failure*, 9(1), e002314. <https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.115.002314>
- [39]Heianza, Y., Ma, W., Manson, J. E., Rexrode, K. M., & Qi, L. (2017). Gut Microbiota Metabolites and Risk of Major Adverse Cardiovascular Disease Events and Death: A Systematic Review and Meta-Analysis of Prospective Studies. *Journal of the American Heart Association*, 6(7), e004947. <https://doi.org/10.1161/JAHA.116.004947>
- [40]Metzker M. L. (2010). Sequencing technologies - the next generation. *Nature reviews. Genetics*, 11(1), 31-46. <https://doi.org/10.1038/nrg2626>
- [41]이수민. (2014). 최근 차세대염기서열분석(NGS) 기술 발전과 향후 연구 방향. *BRIC View*,

T05, 1-15.

- [42]김병용. (2017). 휴면 마이크로바이옴 연구동향 : 장내 마이크로바이옴 중심으로. 천렵 생물 연구 소 .
<https://www.bioin.or.kr/board.do?num=267233&cmd=view&bid=report&cPage=1&cate1=all&cate2=all2>
- [43]고관수. (2008). 미동정 균주의 염기서열 분석을 이용한 동정. 아시아-태평양 감염연구재단, 40(2), 121-124.
- [44]에드 용. (2017). 내 속엔 미생물이 너무도 많아. 서울: 도서출판 어크로스.
- [45]문기성. (2019). 프로바이오틱스, 프리바이오틱스 및 신바이오틱스 연구동향. 식품과학과 산업, 52(3), 208-219.
- [46]황혜원, 이동우. (2019). 프리바이오틱스 최신 연구 현황 및 제품 개발 동향. 식품과학과 산업, 52(3), 241-260.
- [47]김응빈. (2018). 나는 미생물과 산다. 서울: 을유문화사.
- [48]KAWA 한인정신건강협회. (연도미상). 정신 질환의 원인과 종류.
<https://library.khu.ac.kr/seoul/referencingNcitation/apa>
- [49]오상남, 김영훈, & 문용일. (2016). 장내미생물과 퇴행성 뇌질환의 상호작용 특성. Current Topic in Lactic Acid Bacteria and Probiotics, 4(1), 19-23.
- [50]Jagust, W. (2018). Imaging the evolution and pathophysiology of Alzheimer disease. Nature Reviews Neuroscience, 19(11), 687-700.
- [51]Cai, H. Y., Yang, J. T., Wang, Z. J., Zhang, J., Yang, W., Wu, M. N. & Qi, J. S. (2018). Lixisenatide reduces amyloid plaques, neurofibrillary tangles and neuroinflammation in an APP/PS1/tau mouse model of Alzheimer's disease. Biochem. Biophys. Res. Commun. 495, 1034-1040.
- [52]Kashyap, G., Bapat, D., Das, D., Gowaikar, R., Amritkar, R. E., Rangarajan, G., & Ambika, G. (2019). Synapse loss and progress of Alzheimer's disease-A network model. Scientific reports, 9(1), 1-9.
- [53]Ho, P. W. L., Leung, C. T., Liu, H., Pang, S. Y. Y., Lam, C. S. C., Xian, J., & Ho, S. L. (2020). Age-dependent accumulation of oligomeric SNCA/ α -synuclein from impaired degradation in mutant LRRK2 knockin mouse model of Parkinson disease: role for therapeutic activation of chaperone-mediated autophagy (CMA). Autophagy, 16(2), 347-370.
- [54]Sampson, T. R., Debelius, J. W., Thron, T., Janssen, S., Shastri, G. G., Ilhan, Z. E., & Chesselet, M. F. (2016). Gut microbiota regulate motor deficits and neuroinflammation in a model of Parkinson's disease. Cell, 167(6), 1469-1480.
- [55]Srivastav, S., Neupane, S., Bhurtel, S., Katila, N., Maharjan, S., Choi, H., & Choi, D. Y. (2019). Probiotics mixture increases butyrate, and subsequently rescues the nigral dopaminergic neurons from MPTP and rotenone-induced neurotoxicity. The Journal of Nutritional Biochemistry, 69, 73-86.
- [56]Kim, M. S., Kim, Y., Choi, H., Kim, W., Park, S., Lee, D., & Lee, J. Y. (2019). Transfer of a healthy microbiota reduces amyloid and tau pathology in an Alzheimer's disease animal model. Gut, gutjnl-2018.

- [57]Franceschi, F., Ogetti, V., Candelli, M., Covino, M., Cardone, S., Potenza, A., & Lopetuso, L. (2019). Microbes and Alzheimer's disease: lessons from *H. pylori* and GUT microbiota. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 23(1), 426-430.
- [58]Minter, M. R., Hinterleitner, R., Meisel, M., Zhang, C., Leone, V., Zhang, X., & Jabri, B. (2017). Antibiotic-induced perturbations in microbial diversity during post-natal development alters amyloid pathology in an aged APP SWE/PS1 $\Delta E9$ murine model of Alzheimer's disease. *Scientific reports*, 7(1), 1-18.
- [59]Pierantozzi, M., Pietroiusti, A., Galante, A., Sancesario, G., Lunardi, G., Fedele, E., & Stanzione, P. (2001). *Helicobacter pylori*-induced reduction of acute levodopa absorption in Parkinson's disease patients. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*, 50(5), 686-687.
- [60]Hashim, H., Azmin, S., Razlan, H., Yahya, N. W., Tan, H. J., Manaf, M. R. A., & Ibrahim, N. M. (2014). Eradication of *Helicobacter pylori* infection improves levodopa action, clinical symptoms and quality of life in patients with Parkinson's disease. *PLoS One*, 9(11), e112330.
- [61]Harach, T., Marungruang, N., Duthilleul, N., Cheatham, V., Mc Coy, K. D., Frisoni, G., & Bolmont, T. (2017). Reduction of A β amyloid pathology in APPPS1 transgenic mice in the absence of gut microbiota. *Scientific reports*, 7, 41802.
- [62]KISTI. (2004). 파킨슨병에서 알파-시누클레인 단백질 축적 기작 동정. <https://www.ibric.org/myboard/read.php?Board=news&id=90558>
- [63]Maini Rekdal, V., Bess, E. N., Bisanz, J. E., Turnbaugh, P. J., & Balskus, E. P. (2019). Discovery and inhibition of an interspecies gut bacterial pathway for Levodopa metabolism. *Science (New York, N.Y.)*, 364(6445), eaau6323. <https://doi.org/10.1126/science.aau6323>
- [64]Autism Spectrum Disorder NIH. (2020). https://www.nimh.nih.gov/health/topics/autism-spectrum-disorders-asd/index.shtml#part_145441
- [65]삼성서울병원. (2020). 자폐증. http://www.samsunghospital.com/home/healthInfo/content/contentView.do?CONT_SRC_ID=09a4727a8000f31d&CONT_SRC=CMS&CONT_ID=3215&CONT_CLS_CD=001020001001
- [66]Kohane, I. S., McMurry, A., Weber, G., MacFadden, D., Rappaport, L., Kunkel, L., & Churchill, S. (2012). The co-morbidity burden of children and young adults with autism spectrum disorders. *PloS one*, 7(4), e33224.
- [67]Hsiao, E. Y., McBride, S. W., Hsien, S., Sharon, G., Hyde, E. R., McCue, T., & Patterson, P. H. (2013). Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopmental disorders. *Cell*, 155(7), 1451-1463.
- [68]김혜진, 강경민, 김수진, 임은옥. (2014). Fecal Microbiota Transplantation의 최근 동향. *미생물학회지*, 50(4), 265-274. <http://dx.doi.org/10.7845/kjm.2014.4072>
- [69]KHISS 보건산업통계. (2017). 미국 내 분변미생물이식 시장 형성 조짐.

<https://www.khiss.go.kr/board/view?pageNum=1&rowCnt=10&menuId=MENU00307&schType=0&schText=&categoryId=&continent=&country=&boardStyle=&linkId=63408>

[70]강석기. (2016). 장내미생물 숫자가 인체 세포의 10배?.

<https://www.sciencetimes.co.kr/news/%EC%9E%A5%EB%82%B4%EB%AF%B8%EC%83%9D%EB%AC%BC-%EC%88%AB%EC%9E%90%EA%B0%80-%EC%9D%B8%EC%B2%B4-%EC%84%B8%ED%8F%AC%EC%9D%98-10%EB%B0%B0/>

학부생 Review 논문

유도만능 줄기세포(iPSC)의 생산을 위한 체세포
리프로그래밍 기작 이해와 의학적 활용을 위한
연구

Study on the Understanding and
Medical Use of Somatic Cell
Reprogramming Techniques for the
Production of Induced Pluripotent Stem
Cell(iPSC)

2020年 11月 28日

상명대학교 융합공과대학
생명화학공학부 생명공학과
김솔빈 김예인 설지윤 장희준

지도교수
안예진

초록

유도만능줄기세포(iPSC)는 인위적인 체세포 리프로그래밍 과정을 통해 생성된 줄기세포를 말한다. 성체줄기세포처럼 채취가 용이하고 윤리적인 문제가 없으며, 배아줄기세포의 뛰어난 자가재생 능력 및 전분화능을 가지기 때문에 iPSC에 대한 관심이 높아지고 있다. 체세포 리프로그래밍 과정은 Oct4, Sox2, Klf4, c-Myc 등의 인자 도입을 통해 시작된다. 이들 인자는 초기 배아와 생식세포에서 발현되며, 체세포가 줄기세포로 전환되기 위한 특이 유전자의 발현을 활성화하고 염색질의 변형을 일으켜 체세포를 ‘초기화’ 한다. 다양한 벡터를 이용하여 도입된 인자들의 유전자가 표현형으로 나타나 발현되기 시작하면, 체세포의 만능성 관련 신호체계가 활성화되어 리프로그래밍이 시작된다. DNA의 메틸화 변화로 인해 세포가 독립적으로 만능성 유전자를 발현할 수 있게 되면 안정화된 iPSC를 얻을 수 있다. iPSC는 기존의 난치성 질병을 치료할 수 있을 것으로 기대된다. 파킨슨병, 알츠하이머 같은 신경계 질환이나 혈우병과 같은 유전자 결핍 질환 등을 치료할 수 있는 획기적인 방법으로 주목받고 있다. 또한 iPSC를 이용한 질병 모델은 동물 모델을 대신하여 더 정확한 환자 맞춤형 정보를 얻을 수 있으며 희귀 질환과 암에 대한 연구도 가능하게 한다. 특히 전 세계적으로 유행하고 있는 COVID-19의 치료제로 MSC의 임상 적용 가능성이 확인되면서 iPSC에 대한 사람들의 기대가 높아지고 있다. 앞으로 체세포 리프로그래밍의 원리와 분자적 메커니즘의 규명을 바탕으로 iPSC의 분화를 정규화 하고 효과적인 치료제 및 질병 모델을 개발할 수 있을 것으로 기대된다.

목 차

I . 서론	49
II . 본론	51
2. iPSC 생산을 위한 리프로그래밍의 과정	51
3. iPSC의 이용	61
4. 줄기세포 연구 동향	66
III . 결론	69
참고문헌	71

I. 서론

줄기세포는 특정 조직 세포로 분화할 수 있는 능력을 지닌 상대적으로 미분화된 세포를 말하며, 조직 재생, 인공 장기 형성, 세포치료 등 의학적 이용 가능성이 높은 세포이다. 줄기세포는 자신을 새롭게 재생산하는 자가재생능력(self-renewal)과 다양한 세포로 분화할 수 있는 전분화능(pluripotency)을 갖는데, 세포가 유래한 발생 시기에 따라 배아줄기세포(Embryonic Stem Cell; ESC)와 성체줄기세포로 나눌 수 있다. 배아줄기세포 연구는 1998년 11월 미국의 Thomson과 Gearhart 연구팀이 인간 배아줄기세포 배양에 성공하면서 시작되었다[1]. 배아줄기세포는 비교적 추출하기 쉽고 시험관 내에서 오랫동안 미분화 상태를 유지할 수 있지만 배아를 파괴해야 한다는 생명윤리 문제가 존재한다. 성체줄기세포는 채취가 용이하고 윤리적 문제가 없지만 세포의 증식이나 분화 능력이 비교적 떨어진다는 단점을 가진다. 이에 분화된 체세포에 인위적 자극을 가해 윤리적 문제가 없으면서 배아줄기세포처럼 증식과 분화능력은 뛰어난 유도만능줄기세포(iPSC; induced Pluripotent Stem cell)가 새롭게 주목받고 있다. 2006년 일본의 Yamanaka Shinya 연구팀이 쥐의 성숙세포를 유도만능줄기세포로 전환하는데 처음으로 성공하였다[2]. 그들은 배아줄기세포의 유지에 중요할 것으로 생각되는 24종의 후보인자 pool에서 1종의 후보인자를 제거해가면서 콜로니(colony)를 관찰하였고, 이를 통해 Oct4, Sox2, Klf4, c-Myc 중 하나라도 부족한 그룹에서는 콜로니가 생성되지 않거나 현저히 적은 수로 생성되는 것을 확인하였다(Fig 1). 쥐의 섬유아세포(fibroblast)에 4종의 인자 중 1종의 인자만을 삽입하였을 때는 iPSC를 유도할 수 없었지만, 4가지를 모두 삽입한 결과 ESC와 유사한 iPSC를 얻을 수 있음이 밝혀지면서 위 4종의 인자들이 iPSC 생산에 핵심으로 여겨지기 시작했다[2]. 2007년에는 인간의 피부세포에 4종의 유전자를 삽입함으로써 인간 유도만능 줄기세포(hiPSC; human induced Pluripotent Stem cell)를 만드는 데에도 성공하였다[3]. iPSC는 기존 배아줄기세포의 윤리적 문제를 해결하고, 재생의학 및 난치병 치료 등 의료 전반에 그 유용성이 뛰어나다. 이에 일본의 Yamanaka Shinya는 iPSC의 개발과 응용에 기여한 공로를 인정받아 2012년 노벨 생리의학상을 수상하였다.

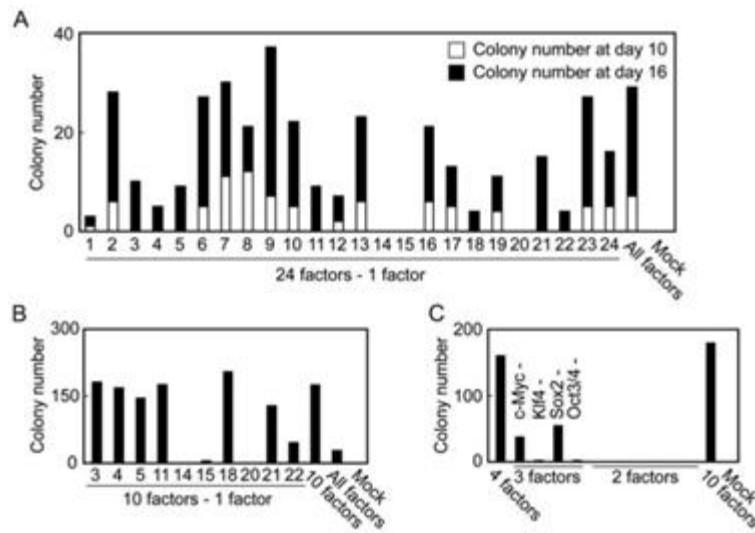


Fig 1. 인자 제거에 따른 콜로니 형성 결과[2].

iPSC를 만들기 위해서는 이미 분화된 세포를 미분화된 상태로 리프로그래밍하는 기술이 필요하다. 세포의 리프로그래밍은 몇 가지 단계가 존재하는데, 세포증식을 유지하고 세포의 분화를 억제하는 인자들을 세포 내로 도입하여 발현시키는 것이 필수적이다. 본고에서는 리프로그래밍에 필요한 인자 및 인자 도입방법과 리프로그래밍의 몇 가지 단계에 대해 중점적으로 다룰 것이다. 또한 최근 COVID-19 팬데믹을 포함한 다양한 질병에서 iPSC의 의학적 가치가 주목받고 있는데, 이에 대한 내용과 iPSC를 비롯한 줄기세포 시장의 현황 및 전망에 대해 살펴본다.

II. 본론

2. iPSC 생산을 위한 리프로그래밍의 과정

2.1. 리프로그래밍 인자

2.1.1. Oct4

Oct4는 POU 전사인자 중의 하나로[4], 줄기세포의 만능성을 유지하는데 필수적인 역할을 하는 것으로 알려져 있다[5]. Oct4의 발현이 정상인 경우 배아줄기세포의 줄기세포성이 유지되지만, 발현 정도가 감소하면 세포분화가 시작된다[6]. Oct4는 초기 배아와 생식세포, 그리고 성숙 중이거나 성숙한 생식소에서 발현된다[7]. Oct4가 제거된 배아는 발달을 끝내지 못하고 죽거나 영양포(trophoblast)까지만 진행되는 데[8], 실제로 이 인자가 결핍된 돌연변이 배아를 생성하였을 때 배아의 성장이 배반포 단계에서 멈추고, 성숙한 내세포괴(Inner Cell Mass; ICM) 세포가 되기 전에 붕괴되었다는 결과가 보고되었다[9]. 이는 Oct4가 ICM의 만능성을 위해 필수적인 인자임을 의미한다. 또한 Smad2*)가 불충분한 배아에서 Oct4 발현의 조기 소실은 외배엽의 조숙한 분화와 관련이 있으며[10], Oct4가 다능성의 독점적 마커임을 시사한다. 이러한 Oct4는 Sox2와 함께 작용하여 줄기세포 특이 유전자 발현을 증가시키는 효과를 유발한다[11]. 앞으로는 Oct4 하류의 주요 유전자의 확인과 Oct4 자체의 활성 및 발현을 조절하는 메커니즘을 정의하는 데 많은 관심이 집중될 것으로 보인다.

2.1.2. Sox2

Sox2는 Sox(SRY-related HMG-box) family에 속하는 인자로[12], 초기 배아와 생식세포에서 발현되며[13], 줄기세포의 증식과 분화가능성을 유지하는 데에 필수적인 역할을 한다고 알려져 있다[14]. 마우스 배아줄기세포에서 conditional knock-out 기술이나 RNAi를 이용하여 Sox2를 제거하였더니 세포의 분화가 유도되는 것이 관찰되었다[15]. 이는 Sox2의 발현이 저해되면 세포증식능력을 잃고 분화가 시작된다는 것을 의미한다. Sox2의 역할을 알기 위해 병아리 신경관(HH15-27)의 흥부에서 SOX2 단백질 발현을 조절하는 연구를 진행하였는데, Sox2 발현이 발달 중인 척수의 세포증식을 이끈다는 것이 보고되었다[16]. 또한 Sox2가 제거된 돌연변이 배아를 생성하여 PCR 분석을 한 결과 배반포의 외관적 모양은 정상이나 배반포를 시험관에서 배양할 때 세포증식이 제대로 일어나지 않아 죽게 된다는 것이 관찰되었다[17]. 이들

*) Smad2는 TGF- β 의 신호를 받아 세포 증식, 세포 사멸 및 분화와 같은 여러 세포 과정을 조절한다[165].

연구는 배아의 세포증식 유지에 있어 Sox2의 중요성을 시사한다. 앞으로, Sox2의 발현으로 세포증식의 유지와 분화 억제가 발생하는 메커니즘을 밝혀내는 것이 중요한 과제가 될 것으로 보인다.

2.1.3. Klf4

Klf4(Kruppel-like factor4)는 징크핑거 모티프를 갖는 전사인자로[18], 성장 억제에 관여하여 세포주기를 조절할 뿐 아니라 전사 조절, 세포사멸, 분화 등에 중요한 역할을 한다[19,20,21,22]. Klf4에 의해 상향 조절되는 세포주기 조절유전자들은 대체로 증식을 억제하는 기능을 하고, 하향 조절되는 유전자들은 증식을 촉진하는 기능을 한다[19]. 이처럼 Klf4는 세포주기 유전자 세트의 발현을 조절함으로써 세포증식을 협조적으로 억제한다[20,23,24]. Klf4는 미분화된 배아줄기세포에서 높은 수준으로 발현되고, 자가재생능력과 다능성 유지에 영향을 미친다[18]. 마우스 배아줄기세포에서 LIF*)는 Stat3**)유전자를 활성화하는데[26,27], LIF 결손 시 Oct4의 발현도 배아줄기세포의 분화를 막을 수가 없게 된다[6]. 따라서 LIF는 자가재생 능력과 다능성 유지에 필수적인 것이다[28,29]. Klf4는 이러한 LIF-Stat3 신호전달체계의 직하류 표적인 것으로 보인다[19,30,31]. 즉, Klf4는 STAT3 신호전달체계에 의해 활성화된다. 이때 활성화된 Klf4는 Oct4, Sox2 단백질과 직접 결합해 이들 유전자의 활성화를 유도하여 배아줄기세포의 상태를 유지한다[32]. 또한 이 인자는 Nanog 유전자의 상류지역에 위치하여 Nanog 유전자의 발현을 조절함으로써 배아줄기세포의 분화를 방지한다[25]. 때문에 Klf4 결핍은 결장 잔세포 및 피부 상피의 말단 분화를 방지하기도 한다[18,33]. 선행된 연구들과 앞으로 진행될 연구를 통한 Klf4의 작용 메커니즘에 대한 이해는 유도만능줄기세포의 제작과 그 기능의 증진 등에 긍정적인 영향을 미칠 것으로 기대된다.

2.1.4. c-Myc

파트너 단백질인 Max와 결합하는 c-Myc는 helix-loop-helix/leucine zipper의 모티프를 가지는 전사인자로[34], Stat3에 의해 조절되며, 배아줄기세포에서 자가재생과 다능성 유지에 관여한다[35]. c-Myc는 유전자 발현을 지속적으로 억제하면서 배아줄기세포의 성장 억제와 세포 유착에 관여한다[36]. 또한 히스톤 아세틸화의 제어를 통해 염색질의 구조를 변화시키는 중요한 역할도 하는데[37], 이러한 유전자의 발현 조절은 히스톤 아세틸화효소, 염색질 변형단백질, 기본전사인자(basal transcription

*) LIF((Leukemia Inhibitory Factor)는 백혈병억제인자로 백혈병세포를 분화 및 유도하며, 그 증식을 억제하는 물질로 발견된 적이 있다[166]. 또한 배아줄기세포의 분화 억제, 간에서의 급성기 단백질의 생산자극, 혈소판 증가작용, 신경세포의 분화유도, 파골세포에 의한 골흡수 촉진 등 다양한 생물활성이 있다[166].

**) STAT3(Signal transducer and activator of transcription 3)는 야누스 인산화효소(Janus kinase)와 함께 Cytokine의 주요 정보교환경로인 JAK-STAT 경로를 형성한다[167]. 이때 STAT은 각 Cytokine 기능에 중요한 유전자발현을 제어한다[167].

factor), DNA 메틸전이효소(DNA methyl transferase: DNMT)의 모집을 포함한 몇 가지 메커니즘에 의해 조절된다고 알려져 있다[38]. 특히 전사억제 메커니즘은 Mad 단백질 군(Mad1/Mad2/Mxi1, Mad3 및 Mad4)과 c-Myc 그리고 Max단백질의 작용으로 설명할 수 있다. Max단백질이 인접해지면 Mad 단백질 군은 공통 enhancer box (E-box)에 결합하고[36], 이후 c-Myc/Max 바인딩이 Mad/Max 바인딩으로 전환된다[39,40]. 이때 Max는 c-Myc에 의해 활성화된 상태이다[41]. 이후 Mad/Max dimers는 표적 유전자의 프로모터에 Sin3, N-CoR를 포함한 염색질 변형 보조억제 복합체와 히스톤 디아세틸화효소(histone deacetylase; HDAC)1과 2를 recruiting 하여 전사를 억제한다[36]. 이 복합체의 recruitment는 히스톤 단백질 꼬리와 닫혀 있는 염색질 형태의 아세틸 저하를 야기하므로 E-box를 통해 발생하는 전사 활성화가 방지된다[42,43]. 이 외에도 밝혀진 조절 메커니즘들은 c-Myc가 유전자 발현을 활성화시키는 다른 요소들에 관여함으로써 전사를 억제한다는 것을 보여준다.

2.1.5. Nanog

Nanog는 만능성을 가진 세포에서 발현되는 homeobox단백질이다[44]. ES세포의 분화를 차단하고, 만능성을 유지하는 기능을 한다[45,46]. 또한 다른 요인들로 인해 분화된 후생유전체를 소거한 후, 만능유전자 발현 체계의 전사를 이끄는 역할을 한다[46]. Nanog의 과발현은 세포가 feeder cell 없이도 성장할 수 있게 하며[47], ES 세포가 만능성이나 자가재생 능력을 갖기 어려운 LIF가 보충된 무혈청 배지의 조건에서도 체세포 리프로그래밍을 가능하게 한다[48]. 과거에는 iPSC의 수립을 위한 재프로그래밍에 Nanog가 필수인자로 여겨졌지만 최근 여러 연구를 통해 사실이 아님이 입증되었다[49]. 아스코르빈산(Ascorbic acid; AA)이 있는 조건에서 Nanog유전자의 발현이 부족한 세포가 iPSC로 리프로그래밍된다는 것이 밝혀졌는데, 이는 AA가 Nanog에 결합하여 TET(ten-eleven translocation)의 공동 인자 역할을 함으로써 발현 부족을 보완하기 때문으로 보인다[50,51]. 또한 Klf4, Sox2, Oct4, c-Myc의 표현을 활용하는 표준 조건에서도 iPSC 생성을 위해 Nanog가 필요하지 않다는 것이 밝혀졌다[52]. 그러나 유도성 렌즈 바이러스 전이체를 이용한 연구에서 Nanog가 리프로그래밍을 가속화하는 것으로 보고되었으며[53], 인산화효소 억제제(kinase inhibitor) 또는 DNA 메틸화의 작은 분자 억제제인 5-aza-cytidine과 협력하여 리프로그래밍을 강화한다는 사실이 밝혀졌다[48]. 이러한 연구들은 비록 Nanog가 세포 리프로그래밍에 필수인자는 아니지만 리프로그래밍의 효율을 높인다는 결론을 시사한다.

2.1.6. Lin 28

Lin28은 Oct4의 전사 후 조절에 관여하는 인자로 [54], let-7 microRNA*)를 억제

하고 mRNA 번역에 영향을 주어 포유류 배아줄기세포의 자가 회복을 조절하는 역할을 한다[55]. Lin28의 기능 상실은 피하와 외음 줄기세포의 분화를 가속화하는 반면, Lin28의 기능 증가는 자기회복을 촉진하고 피하와 외음 줄기세포 분화의 지연을 일으킨다[56]. Lin28의 줄기세포 분화 억제 메커니즘은 miRNA(lin-4 및 let-7)로 조절된다[57,58,59]. 피하 줄기세포에서의 let-7의 억제는 Lin28의 억제로 이어지며[60], let-7 바인딩 사이트의 돌연변이가 lin-28 3' UTR-lacZ 리포터 발현의 증가로 이어지는데[55,61], 이러한 점들을 종합하면 let-7의 바인딩이 Lin28의 억제에 관여하며 이는 음성적으로 조절된다는 것을 알 수 있다. 추가적으로 let-7의 녹다운(knock-down)이 일어난 섬유아세포에서 iPSC의 리프로그래밍이 촉진되었다는 연구 결과가 보고되었는데[62], 이를 통해 Lin28의 활성화가 리프로그래밍으로 이어진다는 것을 알 수 있다. Lin28b는 리프로그래밍 중에 초기에 활성화되고 Lin28a는 나중에 본체 유도 만능 줄기세포(iPSC)로 전환되는 동안 활성화되며 이 두 인자는 특히 근육 세포에서 원래의 세포가 뛰어난 만능성을 가진 세포로 전환되는 것을 용이하게 한다[63].

2.2. 리프로그래밍 인자의 도입 방법

iPSC는 리프로그래밍 전사인자의 작용으로 인해 체세포로부터 변환된다. 그러나 이 인자들은 여러 개가 동시에 전달되므로 각 인자와 대상 세포의 지속적인 발현에 따라 효율이 저하되는데, 따라서 리프로그래밍이 완료된 후 외생적인 리프로그래밍 인자를 내생적 인자로 대체하여 만능성을 확보할 수 있어야 한다[64]. 이러한 이유로 인해 기존에는 유전자 삽입 후 안정적인 유전자 발현 및 조절이 가능한 레트로바이러스(Retrovirus) 및 렌티바이러스(Lentivirus)가 사용되어 왔다[65]. 그러나 레트로바이러스를 이용한 리프로그래밍은 삽입성 돌연변이 유발, 제어되지 않는 유전자 침묵, 면역 유전성의 결함 등 문제를 야기하였고[66], 현재는 이를 극복하기 위해 minicircle RNA, mRNA등을 이용하는 방법에 대한 연구를 진행 중이다. 레트로바이러스의 한계에도 불구하고 현재 레트로바이러스는 많은 연구가 진행되어 오면서 인간질병의 유도 만능줄기세포 모델을 생성하기 위해 즉시 사용이 가능하며 앞으로도 유전자 교정에 중요한 역할을 할 것으로 보인다[67]. 우리는 기존에 연구되어 온 레트로바이러스 벡터부터 minicircle, mRNA 벡터까지의 리프로그래밍 인자 도입 방법을 알아보고자 한다.

2.2.1. Retrovirus 벡터

레트로바이러스 벡터는 일반적인 바이러스성 유전자 전달체로 단일 가닥 RNA 게놈

*) let-7 microRNA는 미숙한 세포에서 성숙한 세포로의 전환에서 발달 동안의 중요한 조절기를 말한다[60].

의 두 복사본으로 구성된다[68]. 이 방법은 EC와 ES 세포에 외부 유전자를 도입하는 방법인 미세 주사 또는 전기천공법(electroporation)의 잠재적인 대안이 된다[69]. 레트로바이러스 벡터를 이용하여 표적세포에 리프로그래밍 인자를 전달하기 위해서는 먼저 레트로바이러스 내에 전달 유전자를 삽입해야 한다(fig 2). 삽입된 레트로바이러스의 단일가닥 RNA 게놈은 표적세포 내부에서 자체 역전사 효소(reverse transcriptase)에 의해 이중 가닥 DNA로 변환된다[70,71]. 그 후 DNA는 유전성 DNA 프로바이러스를 생성한다[70,71]. 전사 및 번역을 거쳐 새로 만들어진 프로바이러스 입자는 세포막으로부터 발아되어 다른 세포를 감염시킨다[68]. 이러한 과정을 통해 레트로바이러스는 숙주 세포의 DNA에 통합되어 리프로그래밍 인자의 발현을 유도한다[72].

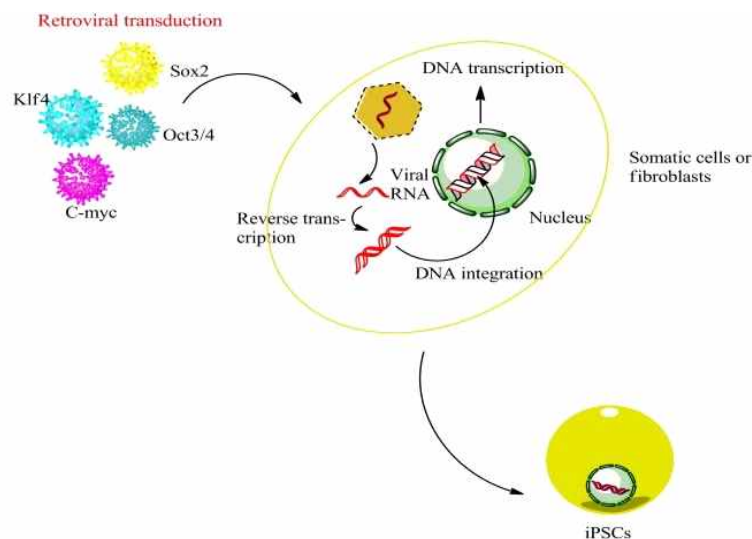


Fig 2. Retrovirus 벡터를 이용한 Oct3/4, Sox2, Klf4, C-myc인자 삽입 개략도[169].

레트로바이러스 벡터를 이용할 경우 유전자 발현 효율이 높으며 발현 지속 기간이 비교적 긴 장점이 있다. 또한 새로 도입한 유전자는 비교적 일정한 발현 수준을 가지고 있으며 single-copy integration*)을 보장하는 감염 프로토콜 조작 능력을 가진다 [73,74,75,76,77]. 하지만 레트로바이러스 벡터가 병원성 바이러스로 변이될 위험성이 있어 안전성이 낮고 면역원성이 높아 여러 번 투여 시 부작용을 유발할 수 있다는 문제점이 있다[68]. 또한 레트로바이러스의 감염성은 세포 분열에 의해 제한되며 분열하지 않는 세포에는 유전자전달 효율이 매우 낮다[78].

*) Single copy integration은 대상 균주의 genome에 단 한 copy만 삽입하는 것을 의미한다[10].

2.2.2. Minicircle 벡터

레트로바이러스 벡터와 같은 바이러스 벡터들은 종양 형성과 같은 병리로 이어질 수 있는 잠재적 위험으로 인해 기술의 임상 적용이 제한되고 있다[79]. 따라서, 이를 대체할 수 있는 방법들이 연구되고 있는데, 그 중 하나가 Minicircle 벡터를 이용하는 방법이다. "Minicircle" DNA 벡터는 박테리아 DNA가 없고 세포에서 지속적으로 높은 수준의 발현이 가능한 새로운 소형 벡터이다[80]. 단일 minicircle 벡터만이 필요한 인자 도입 방법이며[80], 외인성 침묵 메커니즘의 낮은 활성화로 인해 더 높은 형질 감염 효율과 더 긴 이소성 발현의 이점을 얻을 수 있어 iPSC 생성을 위한 이상적인 메커니즘으로 여겨진다[81]. Minicircle 벡터를 이용하기 위해 먼저 4개의 리프로그래밍 인자(Oct4, Sox2, Lin28, Nanog)와 녹색 형광 단백질(green fluorescent protein: GFP) 리포터 유전자의 단일 카세트를 포함하는 플라스미드(P2PhiC31-LGNSO)를 구축해야 한다[82](fig 3). 그 후, 플라스미드 백본이 박테리아에서 배제되고 분해되도록 PhiC31 기반 분자 내 재조합 시스템을 활용하여 minicircle 벡터를 정제하고 분리한다[83]. 이때 분리된 minicircle 벡터를 사용하여 iPSC를 생성할 수 있다. mc-iPSC는 GFP 리포터 유전자를 이용하여 다능성을 확인할 수 있다[81]. Minicircle DNA 벡터는 이미 FDA 승인을 받아[80], 임상 적용 가능성이 높기 때문에 iPSC 연구를 촉진할 수 있을 것으로 보인다.

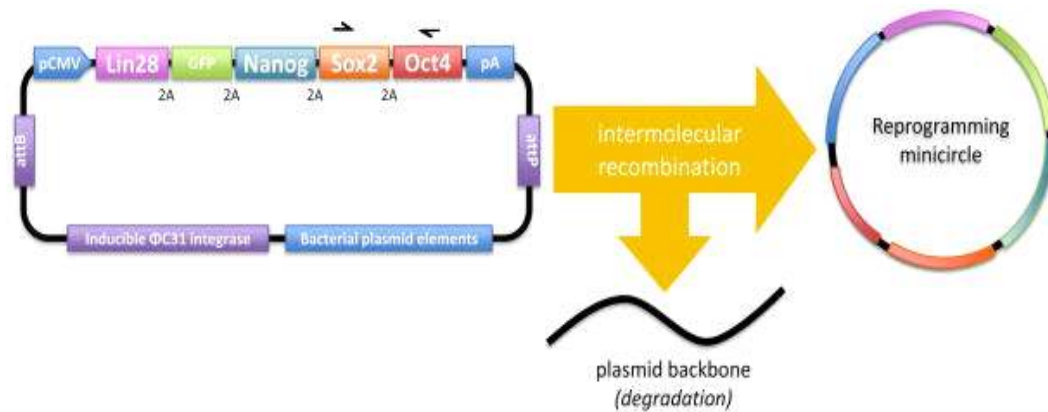


Fig 3. hiPSC 생성을 위한 미니 서클 발현 벡터[170].

2.2.3. mRNA

그러나 앞서 언급된 minicircle 벡터 역시 세포의 DNA를 변경시킬 가능성이 있다는 점에서 문제가 발생한다. 이에 게놈 변경을 피하는 방법으로 mRNA를 도입해 유도만능세포를 유도하는 방법이 활발하게 연구 중이다[84,85,86]. mRNA 방법을 이용

하면 바이러스 벡터를 이용했을 때보다 높은 효율성으로 footprint-free iPSC를 생성할 수 있다[84,85]. 또한 리프로그래밍 인자(Reprogramming Factor; RF)의 발현에 대한 제어가 가능하고, 인자의 형질 감염 후 세포질에서 mRNA가 빠르게 분해되어 표적세포에서 이소성 발현이 단기간에 중단된다[84,85]. 따라서 벡터의 잔류 흔적을 제거하기 위한 'clean up' 단계를 생략할 수 있다[84,85]. mRNA 도입방법은 무작위 게놈 통합이나 지속적인 바이러스 감염 등의 위험을 제거할 수 있다. 동시에 여러 라운드의 이소성 RF 발현이 가능하기 때문에 iPSC 중간체를 이용해 환자 샘플에서 특정 세포를 유도할 수 있다는 점에서 더 큰 의미를 갖는다.

그러나 mRNA에 의해 형질감염 된 후 RF의 발현이 빠르게 약화되므로 iPSC를 생성하는 데 필요한 반복 형질 감염을 수행하는 데 관련된 시간이 상대적으로 많이 들고, mRNA를 이용한 인자도입에 사용되는 feeder cell이 리프로그래밍 과정의 모니터링 및 분석에 방해가 될 수 있다는 단점이 있다. 하지만 최근 RF cocktail의 단계적 최적화를 통해 mRNA 리프로그래밍 과정을 가속화하고 iPSC 유도에 관련된 시간 및 비용 등의 노력을 줄이는 feeder-free, xeno-free 방법이 개발되었다[84,85]. mRNA를 이용한 인자도입 방법에서 RF cocktail의 최적화를 통한 footprint-free iPSC의 신속한 생산은 iPSC 기술의 치료적 적용에 남은 문제점을 제거하는 데 도움이 될 것이다.

2.3. iPSC 리프로그래밍의 메커니즘

리프로그래밍은 변환된 세포의 효율성이 0.01% 미만일 정도로 비효율적이고 정확한 메커니즘으로 정의되어 있지 않다[87]. 또한 안전성 및 대규모 생산 등의 실질적인 기술에 관한 난제들이 존재한다[88]. 유도만능줄기세포의 품질을 개선하고 세포의 상태 및 기능을 적절하게 제어하기 위해서는 내적 및 외적 신호를 통한 리프로그래밍의 분자적인 메커니즘 이해가 필요하다[89]. 과거에는 리프로그래밍 분야의 발전에도 불구하고 이에 관한 메커니즘이 무작위 적이고 예측할 수 없다고 여겨져 관련 연구가 활발하지 않았기 때문에 최근에서야 메커니즘에 대한 이해와 탐구가 진행되고 있는 중이다[90]. 최근 몇 년 동안 안정성, 재현성 및 효율성을 높이는 리프로그래밍의 새로운 메커니즘을 식별하기 위해 LIF/STAT3, BMP(Bone morphogenetic protein), PI3K(phosphatidylinositol-3-kinase), FGF2(Fibroblast growth factor 2), Wnt, TGF β (transforming growth factor β) 및 MAPK(Mitogen-activated protein kinase) 경로 등을 포함한 세포 리프로그래밍의 세포 신호 전달 과정을 연구해왔으며, 이를 통해 개시-성숙-안정화의 3단계로 구성되는 리프로그래밍 메커니즘의 모델을 이끌어 냈다[91](Fig 4). 우리는 리프로그래밍과 관련된 주요한 신호 및 분자들을 세단계의 메커니즘으로 정리하여 리프로그래밍에 대한 통합적인 이해를 이끌어내고,

리프로그래밍 기술의 발전을 위한 앞으로의 전략을 살펴보고자 한다.

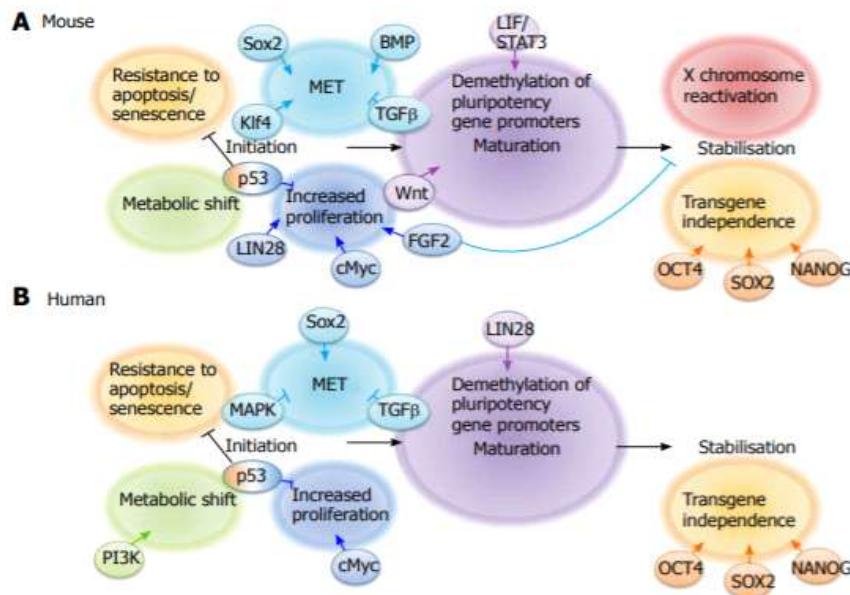


Fig 4. 세포 리프로그래밍의 주요 단계(A: mouse, B: human)[91].

2.3.1. 개시 단계

개시 단계는 첫 번째 만능성 관련 유전자가 발현되기 전까지 리프로그래밍 과정의 시작으로 정의된다[90]. 리프로그래밍의 개시 단계는 성공적으로 인자가 전이된 세포에서 발생하며 인자들에 의해 표현형이 전환되면서 이루어진다. 가장 흔한 것은 Oct4, Sox2, Klf4, c-Myc이며 상피성에서 간엽성으로의 전환되는 표현형을 수반한다[91]. 아래에서는 리프로그래밍의 시작을 알리는 MET(mesenchymal-epithelial transition)와 디메틸화를 중심으로 개시 단계를 설명하고자 한다.

개시 단계 동안에 모든 세포는 MET를 거치는 것으로 알려졌다[92,93,94]. Hawkins(2014)는 마우스의 pre-iPSC에서 리프로그래밍 인자를 제거했을 때, 세포가 EMT(epithelial-mesenchymal transition)로 역전되는 것을 관찰하였다[91]. 이는 셀을 성숙단계로 이끌기 위해선 지속적인 전이유전자(transgene)의 발현을 통한 MET 유지가 필요하다는 것을 의미한다. MET를 촉진하고 리프로그래밍을 강화하기 위해서는 A-83-01, E616452(RepSox), SB4342 등의 다양한 TGFβ 억제제와 FGF 신호 전달이 필요한 것으로 알려져 있으며, 이때 FGF는 MET를 촉진하여 세포 외 콜라겐을 제거함으로써 리프로그래밍의 초기 단계를 촉진한다[91,95,96,97,98,99]. 개시 단계에서는 염색질 영역을 탈응축하며 비활성 히스톤 마커를 제거하고, 활성 히스톤 마커를 추가함으로써 DNA를 디메틸화한다[100]. 대표적으로 TET 단백질은 사이토신

(cytosine)을 촉매하여 5hmC(5-hydroxy-methyl-cytosine), 5fC(5-formyl-cytosine), 5caC(5-carboxyl-cytosine)으로 만듦으로써 DNA를 디메틸화시키는 역할을 한다[101]. 4개의 후생유전적 규제 기관인 AOF2(KDM1/LSD1)와 AOF1, MECP1-p66 및 MECP2의 miR-302 표적 공동 억제도 global DNA 디메틸화를 유발할 수 있다 [102].

결론적으로, 리프로그래밍 중인 모든 세포는 개시 단계를 거치게 된다[103]. 그러나 개시 단계를 주도하는 명확한 사건 순서는 아직 완전히 정의되지 않았다. 따라서 모든 개시 단계 관련 정보가 획득되지 않는 한, 개시 단계의 사건 순서는 임의로 바뀔 수 있다[104]. 개시에서 성숙 단계로의 후속 전환은 리프로그래밍의 주요 병목이다. 이는 인간의 리프로그래밍 과정에서도 강조되었는데, Tra-1-60*)양성세포(마우스 내 SSEA1과 동일)의 체계적 분리를 통해 Tra-1-60음성세포의 대부분이 리프로그래밍의 성숙 단계로 진전될 수 없음을 보여주었다[105].

2.3.2. 성숙 단계

성숙 단계는 전사 과정과 결과 등에서 큰 변화를 수반하며, 만능성 관련 유전자의 첫 발현이 성숙 단계를 알린다[103,106]. 우선 마우스의 리프로그래밍 성숙 단계에는 LIF/STAT 신호전달이 필요하고, LIF/STAT3의 활성화는 pre-iPSC의 조기형성을 유도한다[107]. 메커니즘 측면에서 STAT3 신호전달은 DNA 메틸전이효소 DNMT1과 히스톤 디아세틸화효소 2, 3, 8의 작용을 통해 직접적으로 차단하는 것으로 보인다 [91]. 따라서 만능성 관련 유전자 프로모터의 디메틸화에 LIF/STAT3 신호전달이 필요하다[91]. 인간 iPSC에서는 Lin28이 iPSC의 성숙을 촉진한다[91]. 성숙 과정에서 후생유전학적 변화가 일어나 Fbxo15, sall4, Oct4, Nanog, Esrrb 같은 유전자들이 발현되고[108], 이러한 만능성 관련 유전자들은 점차적으로 활성화된다. 먼저 Fbxo15, Sall4, 내인성 Oct4가 활성화되고 이후로 Nanog와 Esrrb의 활성화가 일어난다[103,104,109]. 이후 성숙단계에서 안정화 단계로 넘어가는 부분에서는 Sox2나 Dppa4의 활성화를 관찰할 수 있다[103,104,109]. 리프로그래밍이 성숙단계에서 안정화 단계로 넘어가기 위해서는 Nanog의 발현이 중요한 역할을 것으로 보이는데 [53,110], 마우스에서는 Wnt신호전달이 Nanog의 발현을 촉진하여 리프로그래밍의 성숙단계를 강화한다[111]. 리프로그래밍에 대한 예측 마커로써 첫 번째 사용된 마커는 Fbxo15였지만 부분적으로 리프로그래밍된 세포에서도 Fbxo15가 발현되었다 [112]. 이에 Fbxo15에 대한 대체마커로 사용되는 Nanog와 oct4는 보다 신뢰도 있는 예측 마커로 사용되고 있다[113]. 이러한 성숙 유전자는 좋은 리프로그래밍 표지자이지만 그들만으로는 완벽한 리프로그래밍을 이룰 수 없다[103,104].

*) Tra-1-60은 줄기세포 마커로 인간 배아줄기세포의 다능성과 관련이 있으며 분화 시 손실된다[168].

2.3.3. 성숙 후기 - 안정화

성숙 후기부터 안정화 단계 동안 세포는 줄기세포 기능 유전자의 발현을 독립적으로 하기 위해 배아줄기세포의 기능을 통제하는 신호전달 네트워크를 이용한다. 이 단계에서 DNA 메틸화 또는 염색질 수정을 조절하는 화학 화합물의 상호작용을 통해 세포가 리프로그래밍 된다[114]. 세포는 안정화 단계에 진입하기 전에 전이유전자의 억제를 필요로 하는데, 전이유전자 대신 내생성 전분화능 유전자 발현을 활성화 한 세포만이 안정화단계에서 만능성을 유지할 수 있으며 이러한 과정은 디메틸화에 의해 촉진되어 다양한 DNA와 히스톤 메틸전이효소 억제제가 다른 소분자들 사이에서 리프로그래밍을 가속화한다[88]. 히스톤 디아세틸화효소(HDAC), 히스톤 메틸 전이효소(histone methyl transferase; HMT), 히스톤 디메틸화효소(histone demethylase; HDM), DNA 메틸전이효소 등은 후생유전효소를 변조하는 화합물로서 리프로그래밍의 효율성을 향상시키거나 특정 전사인자까지 대체할 수 있다[91]. 또한 siRNA역시 전이유전자의 억제에 관련한 역할을 수행하는 것으로 밝혀졌다[114]. 성숙 단계의 끝에서 세포는 독립적으로 자가재생 할 수 있게 되며 따라서 이 시기에 Sox2 또는 Dppa4를 검출할 수 있다[109,114,115].

그 후 리프로그래밍 중인 세포는 안정화 단계로 이동하여 완전한 만능성을 획득한다[116]. 만능성을 획득한 후 iPSC에서 발생하는 변화를 포함해 안정화 단계라고 한다[117,118]. hiPSC에서 세포를 hESC(human Embryonic Stem Cell) 성장 조건에 맞게 조정하며 실험 환경에 적용 전 초기 hiPSC와 hESC 사이에 존재할 수 있는 발현의 사소한 차이를 정규화해야 한다. 따라서 충분히 증폭하기 위해 광범위한 계대를 필요로 한다[116]. 이 시점에서 iPSC는 만능성을 유지하지만 수많은 후생학적 변화가 발생한다. 후생적 재배열에 관한 추가 연구는 고품질 iPSC의 생산을 보장하는 데 매우 중요한 영역이다. DNA 메틸화 프로파일의 변화는 안정화 단계 내내 계속된다. 안정화 단계에서 AID, TET 계열 및 DNMT와 같은 DNA 메틸화 조절제가 재활성화 된다[118]. 특히 AID는 이러한 후생적 재설정을 적극적으로 촉진하는 것으로 나타났다[119,120]. 메틸화 변화는 안정적인 리프로그래밍 된 상태를 가지게 되는 것과 일치하며 메틸화 패턴이 리프로그래밍 된 상태에서 안정적으로 고정된다[103].

2.3.4. 리프로그래밍 기작에 대한 고찰

현재는 줄기세포의 자가재생 잠재력을 유지하고 리프로그래밍의 효율을 높이거나 기존 인자들을 대체하여 리프로그래밍을 용이하게 하는 작은 분자가 점점 더 많이 확인되고 있다[88]. 우리는 체외 리프로그래밍 유도 방식에 관한 통찰력을 통해 고품질

의 유도만능줄기세포를 얻을 수 있을뿐만 아니라 SCNT(핵 전이), 또는 세포융합 매개 리프로그래밍에 대한 관련 정보를 얻을 수 있으며 세포의 가소성, 세포 정체성, 세포 운영 결정에 관한 이해를 넓힐 수 있다[115]. 그러나 리프로그래밍의 메커니즘에 대한 로드맵은 여전히 구체화 되어있지 않으며[115], 이를 위해 리프로그래밍의 광범위한 신호 전달 경로를 정확하게 추적하기 위한 새로운 기술의 진보가 필요할 것으로 보인다. 기존에 사용되어온 마이크로 어레이 분석, 형광 활성 세포 정렬 또는 단백질 추출 등의 방법은 데이터를 얻기 위해 세포를 희생해야 하므로 세포 신호 전달 추적이 어렵다는 문제점이 있는데 현재는 실시간으로 리프로그래밍의 세포를 확인할 수 있는 다양한 GFP 리포터 HDF 라인을 이용한 방법이 신호 전달 경로 추적에 기여할 것으로 기대된다[91]. 앞으로 체세포에서 OSKM의 무질서적인 결합이 어떻게 리프로그래밍 과정에 기여하는 지, 속도 제한 단계를 어떻게 정의할 지, 고품질 유도만능줄기세포를 위한 기준 및 가장 효과적인 방법은 무엇인지 등의 문제[114]를 해결하는 것은 리프로그래밍의 깊은 이해와 함께 아직 알려지지 않은 생물학적 현상을 밝힐 수 있을 것으로 기대된다.

3. iPSC의 이용

3.1. 줄기세포 치료제

기존 난치성 질병의 치료를 위한 약물치료나 수술 등의 방법은 그 효과가 미비하거나 심각한 부작용이 따르는 경우가 많았다. 이에 반해 줄기세포를 이용한 세포치료는 손상된 세포를 대체할 세포를 이식해 질병을 치료하므로 그 치료효과가 뛰어나며 부작용이 적을 것으로 기대된다. 줄기세포를 이용한 세포치료는 줄기세포나 전구세포를 주사하는 방식으로 진행되며, 파킨슨병, 알츠하이머 같은 신경계 질환 또는 뇌나 척수 손상, 심장병, 관절염, 혈우병, AIDS 등과 같은 질환 치료에 이용될 수 있다는 연구 결과들과 치아재생이나 시력회복에 대한 연구 사례들이 보고되고 있다 [121,122,123,124,125].

3.1.1. 줄기세포 치료제의 적용

iPSC를 이용한 연골세포치료제의 효과는 이미 여러 동물모델에서 확인되었다[126]. 2014년 배아체로부터 분화를 유도해 만든 연골을 면역 결핍 랫트(Rat)의 연골 손상 부위에 이식한 결과, 12주 후 대조군에 비해 조직학적으로 손상된 연골의 회복이 입증되었고, 연골 표면에서 프로테오글리칸 레벨의 증가 또한 확인할 수 있었다[127]. 나아가 2015년 대동물에 iPSC 유래 연골세포를 이식해 연골 손상부위 회복과 회복된

부위에서 인간 vimentin의 발현이 관찰되어 재생치료 효과를 확인했다[128]. iPSC의 세포치료제로서의 적용은 ‘혈우병A(Hemophilia A ; HA)’에도 가능할 것으로 보인다[121]. HA는 X 염색체에 위치한 제8 응고인자(F8) 유전자의 돌연변이로 인한 F8 인자의 결핍에 의해 발생하는 출혈장애이다. 이때 F8은 주로 정상인의 내피세포(endothelial cells; EC)에서 생성되기 때문에 EC가 HA의 치료에 대한 세포치료에 큰 잠재력을 갖는다[121]. 즉, HA-iPSC 유래 EC가 인간의 HA 치료를 위한 F8 생산자 역할을 할 수 있음을 시사한다.

3.1.2. 무세포 치료 시스템

최근 연구에 따르면 줄기세포의 치료 효능이 투여된 줄기세포 자체의 분화에 의한 것보다는, 줄기세포의 분비물에 의해 발생한다고 알려져 있다[122]. 줄기세포 치료제는 줄기세포의 체내 생존율이 매우 낮으며, 분화되지 못하거나 비정상적으로 자란 세포로 인한 암 발생, 독성 등 안전성 문제가 대두되고 있다. 이에 따라 줄기세포 치료제의 대체 방법으로서 줄기세포의 분비물을 이용하는 무세포 치료 시스템(cell-free therapeutic system)이 주목받고 있다[122]. 그 중 줄기세포로부터 추출한 엑소좀(Exosome)을 이용한 연구들이 진행 중이다[122].

대표적으로 골 암 줄기세포에 2주간의 분화 유도 엑소좀을 처리한 후 유전자 스크리닝을 통해 확인한 결과 골 분화 관련 유전자군의 발현 증가와 약물 저항성 관련 유전자군의 발현 저하를 관찰할 수 있었다[122]. 따라서 골세포로 분화하는 줄기세포 유래 엑소좀은 최종적으로 약물저항성을 낮춰 약물저항성 암 치료제로 적용이 가능할 것으로 기대된다. 또한 엑소좀 내부의 사이토카인(Cytokine)들이 파골세포의 분화를 억제시키며 중간엽 줄기세포의 세포 이동을 촉진시키는 것을 확인하였다. 실제로 제1형 골다공증 모델인 난소적출모델 실험동물을 통해 2주간의 엑소좀 투여가 골밀도를 증가시키고 최종적으로 골다공증을 완화시킨 것이 관찰되었다. 이로써 줄기세포로부터 추출한 엑소좀을 이용하여 골 암 줄기세포의 리프로그래밍 및 골다공증 치료제로서의 적용 가능성을 확인하였다.

3.1.3. 코로나19 치료에 이용되는 줄기세포 치료제

최근 중국 우한에서 출현한 신종 COVID-19가 전 세계적으로 유행하고 있다. COVID-19에 대해 의약 분야의 많은 연구자들이 대유행을 관리하기 위한 해결책이나 치료법을 찾는 중이다. 이 질병에 대한 표준 치료법은 현재까지 개발되지 않고 있지만 부분적인 해결책으로는 심각한 급성 호흡기 감염을 예방하는 것이 있다. 이와 관

련, 적절한 치료적 접근법으로 중피줄기세포(MSC) 기반의 면역억제 치료가 제안되어 여러 차례의 임상시험이 시작되었다[129]. MSC는 강력하고 광범위한 면역 조절 활성을 가지고 있다. MSC를 정맥 주사를 통해 체내에 투여할 때 MSC가 직접 폐로 이동하여 폐포 상피 세포를 보호하고 파라 크린 인자를 분비하여 폐의 미세 환경을 회복시킨다[130]. 또한 폐 상피 세포를 보호하며, 폐 섬유화를 차단하는 능력을 가진다[129]. 따라서 폐 기능 장애와 COVID-19 폐렴을 치료할 수 있는 줄기세포 치료제로서 주목받는 중이다[130]. 폐로 이동하지 않은 일부 MSC는 심장, 간, 신장 등 다른 손상 기관에 들어가 작용한다. 이외에도 MSC는 항균성을 가지며 통증 감소 분자를 생성하여 치료제로서의 역할을 가지고 있다[134,135]. (fig 5)

Zhao 박사와 공동 연구자들은 COVID-19 폐렴 환자 7명에게 임상 등급의 인체 MSC를 정맥 투여를 진행했다[131]. 이 7명의 환자들 중 5명은 중증 유형, 다른 2명은 일반적인 유형의 COVID-19 폐렴 증상을 나타냈다. 환자들은 증상이 악화할 때 체중 1kg당 1백만 MSC를 투여 받았으며 14일 동안 관찰 기간을 두었다. 이 연구에 대한 결과로 환자들은 부작용이 없었으며 MSC 주입 후 거의 모든 증상이 2~4일 정도만에 가라앉았다. 또한, 대부분 환자는 MSC 주입 후 1~2주 후 COVID-19 핵산 검사에서 음성 결과를 보였다. 감염 후 중증 상태에 있던 노인 환자의 전반적인 개선은 이 연구에서 거둔 특별한 성과였다.

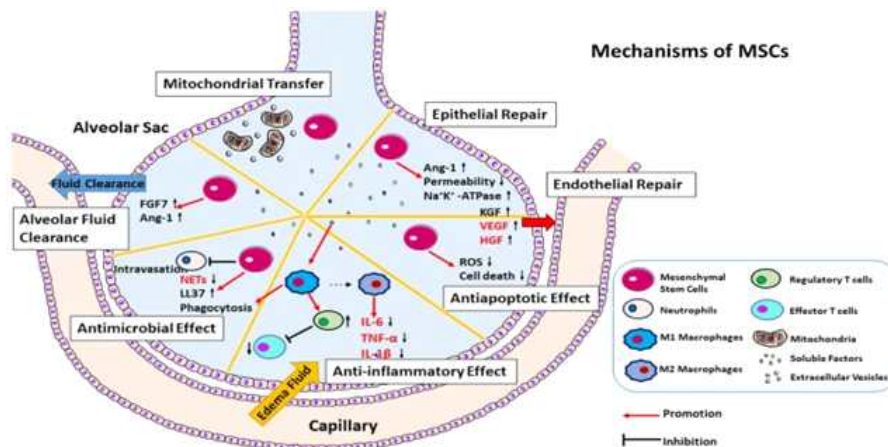


Fig 5. COVID-19 환자의 성인 호흡 부전증에서 MSCs의 작용 메커니즘 개략도[164].

3.1.4. 줄기세포 치료제에 대한 고찰

이처럼 관절손상, 혈우병, 골 암 줄기세포, 골다공증을 비롯한 다양한 질병에서 유도만능줄기세포 유래 세포치료제의 적용이 기대된다. 하지만 아직까지 세포치료제로서 임상에 적용하기 위해선 해결해야할 과제들이 존재한다. 또한 줄기세포가 치료제로서의 모든 조건을 갖추었다고 해도 세포 단위의 치료제로는 치료 영역이 매우 제한적일 수밖에 없다[132]. 이에 줄기세포를 유전적으로 가공하거나 신소재와 결합시켜 특정 장기 형상으로 가공한 줄기세포를 이용하는 융합 기술도 줄기세포 치료의 현실화를 위해 필요할 것으로 보인다[132]. 전 세계적으로 상당한 사회 경제적 부담을 초래한 COVID-19도 빠른 시일 내에 안전하고 효과적인 치료법을 찾는 것이 절실히 필요하다. 현재는 세포 기반 치료법이 COVID-19 치료의 해결책에 큰 가능성을 가지고 있다[133]. 따라서 줄기세포를 이용한 치료연구에 대해 집중할 필요가 있을 것으로 보인다.

3.2. 오가노이드를 활용한 질병 모델링

인간 질병의 병태생리를 기술하고 약물의 발견 및 임상 징후를 점검하기 위해서는 그와 관련된 질병모델을 필요로 한다[136]. 환자로부터 파생된 iPSC 질병 모델은 인간의 질병을 그대로 재현할 수 있고 환자에 맞는 진료 및 약물 적용을 할 수 있어 동물 모델을 대신할 새로운 연구 모델로 대두되고 있다. 또한 희귀질환 환자로부터 iPSC를 무한으로 공급받을 수 있어, 새로운 치료법의 정비를 가능하게 한다[137]. hiPSC 기반 질병 모델은 현재 심장, 뇌, 장, 뇌를 포함한 재생성 및 비재생성 조직을 대체할 수 있는 다양한 세포 유형을 제공하도록 연구되고 있다[138,153,154,155]. 암 질병 모델도 발암 유전자의 과발현 또는 침묵을 통해 암 발병 및 진행 동안 세포의 변화와 행동을 추적하는 데 사용될 수 있다[139]. 오가노이드의 생성은 배아발달을 조정하는 morphogens의 공간적 및 시간적 구배를 이용하며, 이 과정동안 정밀한 통제와 조직 별 전사요인(TF)의 발현이 중요하다[140]. 포배상태에서 오가노이드 형성은 외배엽과 중배엽 및 내배엽으로 나뉘어진다.

3.2.1. 외배엽 계통의 오가노이드

형질전환 성장인자(TGF)- β 및 골격형성 단백질(BMP) 신호(중배엽 투입 차단)를 억제하면 외배엽 형성과 신경 외배엽 투입이 이루어진다[141]. 중추신경계는 신경계통의 외배엽에서 유래하는데, 신경관이 생성되면 폴딩과 융합을 통해 신경관으로 형상화되고 형태 발생학적 변화(roof, alar, basal, floorplate)와 이마-꼬리 축 (tel-, di-, mes-, and rhomb-encephalon and spinal cord)을 설정한다[142]. 처음에는 대칭 분열을 통해 수를 증가시키다가, 비대칭 분열로 전환하여 자가 재생 촉진제와 분화된

세포유형의 시간파를 생성하고, 바깥으로 이동하여 척수, 시신경, 대뇌 피질과 같은 성층구조를 생성한다[142].

3.2.2. 내배엽 및 중배엽 계통의 오가노이드

중배엽 및 내배엽 계통의 오가노이드는 PSC에서 중간 PS 유도가 필요하다[140]. 전방 PS는 최종 내배엽 및 근축 중배엽(골격, 연골, 섬 유소)를 발생시키는 반면, 중간 PS는 심장과 사지 내배엽을 발생시킨다[140]. FGF2가 존재하는 BMP4는 hESC에서 중배엽 관련 유전자(Brachyury, Cdx2, Tbx3, Gata4)의 상향 조절을 유도하는 중요한 조절기이며[143], TGF- β 억제제는 PS와 끝에서 중배엽형성을 가속화한다[144]. BMP 억제제와 FGF 및 Wnt 활성제의 추가는 내배엽을 유도한다[142]. 특히 위 오가노이드는 내배엽으로부터 발달하는데, 레티노산 도포와 고농도의 EGF 처리 등 분자적, 형태적 단계를 거쳐 위 오가노이드로 변환시킨다[142]. 신장 오가노이드 제작을 위한 다양한 프로토콜 연구도 활발히 진행 중이다.

3.2.3. 오가노이드 질병모델링에 대한 고찰

실질적으로 hiPSC 오가노이드를 질병모델에 이용하기 위해서는 여러 환자와 대조군의 세포라인을 비교하여 개인간의 차이와 구별되는 질병의 차이를 식별할 수 있어야 한다[145]. CRISPR-Cas9 기반의 유전자 편집기술의 발전으로 특정 질병 유발 돌연변이를 제작할 수 있어[146], 유전 질병에 대해 개인 또는 질병으로 인한 차이의 불확실성을 해결할 수 있을 것으로 보인다. 그 다음으로 오가노이드의 제어를 강화하고, 3D환경을 구사하기 위한 기술적 발전이 이루어 져야 한다. 현재는 인체의 구조와 조직의 생리적 및 화학적 미세환경을 재현하는 Organ-on-chip을 통해 효율적인 체외 모델을 개발하기 위한 연구가 진행되고 있다[147,148]. 또다른 기술로 3D배양을 통한 오가노이드 생산이 있는데, 생물 소재를 구성하여 생물학적 구조를 생성함으로써 자연 조직과 장기의 구조와 기능을 모방한 3D 생물학적구조를 만들 수 있다[149]. 영양소를 함유한 하이드로겔 기반의 바이오 잉크는 3D 프린터에 세포를 배치하는 데 사용되어, 원래 조직과 닮은 3D 조직 덩어리가 발생한다[150]. 그러나 아직 고해상도 인쇄 능력, 목적 적합하고 통제 가능한 세포 밀도, 바이오잉크의 장기적 세포 기능 등의 달성을 포함한 몇 가지 난제가 남아있다[151].

앞으로 hiPSC의 명확하고 다양한 오가노이드의 분화 프로토콜을 개발할 수 있다면 임상연구에서 후보 약물의 고 처리량 스크리닝 플랫폼과 독성 테스트에서 큰 효과를 발휘하여 수십억 달러의 제약 개발 비용을 절감하고 신뢰 높은 연구 결과를 얻을 수

있을 것으로 기대된다[146,152](fig 6). 비록 iPSC 질병 모델링에 대한 연구 기간이 짧아 해결해야 하는 난제들이 많지만 hiPSC 모델은 질병과 약물에 대한 연구 및 임상에 대한 잠재력이 매우 크며 그 가치는 매우 높다.

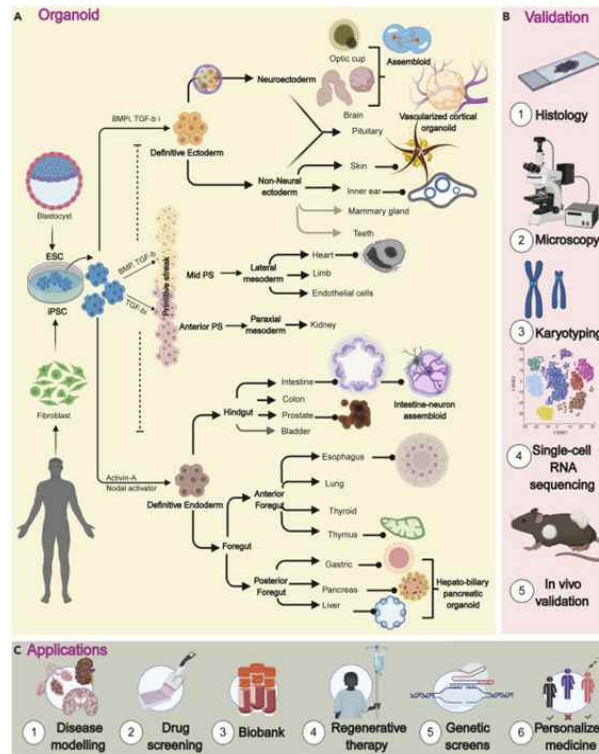


Fig 6. 오가노이드의 생성 및 이용

(A: 오가노이드 생성 과정, B: 오가노이드 기능 확인, C: 오가노이드의 적용)[140].

4. 줄기세포 연구 동향

4.1. 글로벌 줄기세포 시장 현황

세계보건기구(WHO)의 ICTRP 데이터베이스인 ClinicalTrials.gov에서 입수한 데이터를 바탕으로 PSC를 포함하는 임상시험과 관련된 연구 동향을 조사한 결과, 현재 이들 연구의 규모의 77.1%는 환자에게 직접 세포가 이식되지 않는 관찰 연구였으며, 중재 연구 유형은 22.9%를 차지하였다[156]. 중재적 연구 중 73.3%(22)가 hESC를 사용했으며 iPSC는 26.7%(8)에 불과했으며 관찰 임상 연구에서는 반대로 hESC가 10.9%에 불과했고 iPSC는 89.1%를 차지했다[156]. 따라서 전체적으로 iPSC(74.8%)가 포함된 임상시험이 ESC(25.2%)보다 상당히 많았으며 hiPSC 관련 임상시험에 대

해서는 미국은 38.4%, 프랑스는 17.2%, 일본은 12.1%가 수행된 것으로 확인되었다 [156].



Fig 7. 글로벌 줄기세포 시장 현황 및 전망(2016-2025)[157].

앞으로는 줄기세포치료제 및 기술 관련 임상시험의 증가와 줄기세포 기반 신약 개발 등으로 글로벌 줄기세포 시장은 꾸준히 확대될 것으로 보인다[157](fig 7). 2016년부터 2019년까지 약 47.3(십억 달러) 정도의 시장 규모확장을 보이고 있으며, 2025년까지는 연평균 25.8% 정도로 성장률이 증가할 것으로 기대된다[157]. 세계 지역별로는 북미 지역이 37.3%(234억 달러) 비중으로 줄기세포 시장을 선도하고 있으며 그 뒤로 유럽이 27.8%, 아시아 태평양지역이 21.3%순으로 뒤를 따르고 있다[158].

글로벌 줄기세포 치료제 시장은 2017년부터 13.5억 달러에서 연평균 16.5%로 성장하여 2023년에는 33.8억 달러 규모에 이를 것으로 예상된다[159]. 다양한 질병치료를 위해 자가 또는 동종의 지방유래 줄기세포(Adipose Derived Stem Cells; ADSCs), iPSCs 및 성체줄기세포를 기반으로 하는 줄기세포 치료제에 대한 수요가 점차 증가하는 추세이며, 치료 효과가 높은 줄기세포-유전자치료제와 같은 병용요법이 FDA의 빠른 승인을 유도하는 추세이다[159]. EU는 이러한 줄기세포 치료제 시장의 성장세에 빠르게 맞춰가고 있다. EU에서는 줄기세포를 이용한 치료를 의료행위가 아닌 첨단 의료 제품으로 보고 병원 면제 제도를 허용하여 환자 개인이 줄기세포 치료제를 이용할 수 있는 치료 접근권을 보장하고 있다[160].

전세계적으로 iPSC 연구에 대한 많은 집중에 불구하고 사실상 iPSC기술은 부족한 임상 연구단계에 머무르고 있는 실정이다. 아직 iPSC 기술의 발암성, 유전학적 불안정성, 면역 거부 또는 품질 관리 기준의 결여와 같은 임상 사용과 관련된 난제가 남아있다. 이를 극복하여 안정적인 임상 적용으로 이어가는 것은 전세계가 공통적으로 함께 해결해야 할 과제이다

4.2. iPSC선진국 일본의 연구 현황

일본은 iPSC 기술 및 치료법에 대한 투자와 관련하여 글로벌 선진국으로, 2013년 세계 최초로 iPSC 임상시험을 추진하는 등 iPSC 치료제 및 서비스 개발에 앞서 나가는 모습을 보이고 있다[157]. 일본의 줄기세포 시장은 2016년 17억 달러 규모를 형성하였으며 2025년까지 연평균 28.04%로 성장하여 162억 달러 규모로 확대될 것으로 전망된다[157]. 일본은 허가 받지 않은 줄기세포치료제라도 의사의 책임 아래에 시술을 허용하며, 일정 수준의 안전성이 있다고 판단되고 효능이 입증된다면 세포치료제를 7년간 시장에서 판매하고 이후 유효성 확인하도록 지원하고 있다[159]. 이와 같은 조건부 승인 정책은 일본이 세계적으로 줄기세포 기술에 앞장설 수 있도록 해준다. 실제로 일본은 2015년에 조건부 승인된 2개 품목이 시판 허가를 얻었다[160].

일본은 임상 연구가 활발하며 현재는 교토 대학과 미국의 BlueRock Therapeutics에서 파킨슨병의 치료를 위한 유도만능줄기세포 유래 도파민 뉴런의 전구체의 세포이식 연구가 진행되고 있다[161]. 일본은 척수손상 치료를 위한 유도만능줄기세포 임상시험을 세계 최초로 허가하기도 하였다[162]. 2012년에는 남성 HIV 감염환자에게 줄기세포 이식 후 완전히 치료했다고 Nature에 발표하였다[163]. 일본 교육부는 향후 10년 간 1,100억엔을 줄기세포 연구에 투자할 계획이며 일본 의회는 승인 절차의 속도를 높이고 안전성을 보장하는 법안을 논의하는 중이다[157].

4.3. 한국의 iPSC 연구 현황

한국의 줄기세포 시장은 2016년 11억 달러 규모를 형성하였으며 2025년까지 연평균 26.67%로 성장하여 95억 달러 규모로 확대될 것으로 보인다[157]. 한국에서는 최근 줄기세포 치료제 후보에 대한 상업화를 위한 법률 제정이 추진되는 등 줄기세포 시장 성장 촉진을 위한 정부의 지원이 활발하게 이루어지고 있다[157]. 하지만 총체적으로 다른 나라에 비해 연구가 적게 수행되고 있어 전세계적으로 차지하는 비율이 크지 않은 실정이다[156]. 따라서 아직 존재하는 민간 펀드의 제한과 규제 등의 문제

해결을 위해 더 많은 지원이 필요한 상황이다[159].

한국은 2004년 최초로 줄기세포 치료제 임상연구가 진행되었고 2016년 말 46건의 상업용 줄기세포의 임상시험이 진행되고 있어 미국에서 진행되는 155건에 이어 세계 2위를 차지하고 있다[160]. 또한, 2017년 총 7건의 판매 승인된 줄기세포 제품 중 급성심근경색 치료제 (하티젤그렘AMITM, 주)파미셀 등 4건이 한국제품인 것을 보아 한국은 줄기세포 치료분야에 우수한 역량을 보유하고 있다는 것을 알 수 있다[160].

논문조작 사건*) 이후 줄기세포 연구가 위축되었지만, 이에 그치지 않은 연구자들의 끊임없는 노력과 벤처 기업들의 용기 있는 도전으로 현재는 많은 성장을 이루어 내고 있다. 그러나 우리나라가 줄기세포 분야에서 선진국을 따라잡고 더 많은 발전을 이루기 위해서는 상대적으로 엄격한 규제를 완화시킬 필요가 있을 것으로 보인다. 이에 더 나아가 세포치료제 상용화, 신약개발 응용, 임상시험 등에 대한 기반 구축이 이루어진다면 충분히 줄기세포 시장에서 앞서 나갈 수 있을 것이다.

III. 결론

세포를 리프로그래밍 하여 iPSC를 만들기 위해서는 세포 내에 Oct4, Sox2, Klf4, c-Myc, Nanog 그리고 Lin28 등의 인자를 도입하는 과정이 필요하다. 이들 인자는 세포 내에 도입되어 세포가 만능성을 획득하고 유지하는 데에 필수적인 역할을 한다. 그러나 인자의 단순 전달은 본 세포의 지속적인 유전자 발현에 따라 효율이 저하되며 따라서 리프로그래밍이 완료된 후 세포가 이 인자들을 스스로 발현할 수 있도록 유도하는 과정이 필요하다. 최근에는 세포에 손상을 주지 않고 효율이 높은 mRNA 벡터를 이용하는 방법이 주목받고 있다. 벡터를 이용하여 인자들의 유전정보를 세포에 삽입하고, 세포에서 인자들이 발현되기 시작하면 세포 리프로그래밍이 시작된다고 볼 수 있다. 리프로그래밍의 과정은 개시-성숙-안정화 단계로 알려져 있으며, 다양한 인자들의 신호 조절을 통해 세포가 안정화 단계로 접어들면 만능성을 획득하게 된다.

이렇게 획득한 iPSC는 기존 방식보다 더 효율적인 치료 방식을 제안하거나 난치성 질병 치료제로서 이용될 수 있다. 특히 불가능에 가깝다고 여겨지던 심각한 신경 손상 질병의 치료도 가능할 것으로 기대되며 노화로 인한 질병을 예방하여 인류의 평균 수명 연장에 기여할 수 있을 것으로 보인다. 또한 iPSC는 현재 가장 큰 주목을 받고 있는 COVID19의 치료 가능성도 보이며, 이는 앞으로도 iPSC가 호흡기 손상 바이러

*) 황우석 교수, 줄기세포 논문조작 사건

김병수. (2014). 황우석 사태 이후의 배아줄기세포 연구. *사회과학연구*, 26(2), 235-251.

스 대유행 시 치료 방향을 제시하는 큰 해결책이 될 수 있음을 의미한다. iPSC를 이용한 질병모델도 중요한 가치를 가진다. iPSC질병 모델은 동물 모델을 대신하여 인간의 질병을 그대로 재현할 수 있고 환자 맞춤형 치료를 가능하게 한다. 또한 동물을 희생시키지 않아 윤리적인 기술로 여겨진다. 따라서 인간과 동물 모두에게 이점을 제공하는 iPSC는 그 연구 가치가 충분한 것이다. 현재 iPSC의 가치에 맞춰 전세계적으로 줄기세포 시장은 성장하고 있으며 우리나라에서도 이를 위해 다양한 지원이 이루어지고 있다. 앞으로 우리나라가 줄기세포에 대한 엄격한 규제를 완화하고 수행하는 연구의 양과 질을 늘려 발전을 이룬다면 줄기세포 시장에서 선진국 자리에 위치하고 있는 일본과 미국을 앞서 나갈 수 있을 것이다. 그러나 나라간 경쟁보다 협력을 통해 iPSC의 문제점을 해결하려는 자세가 더 중요하며 이를 통해 빠른 시일 내에 iPSC의 상용화를 이룰 수 있어야 할 것이다.

아직 리프로그래밍으로 변환된 세포의 효율성은 낮고, 리프로그래밍의 기작도 정확하게 정의되어 있지 않다. iPSC의 품질을 개선하고 세포의 상태를 적절하게 제어하기 위해서는 리프로그래밍의 분자적 메커니즘에 대한 정확한 이해와 추가적인 연구가 수행되어야 한다. 또한 iPSC의 효과적인 활용을 위해 iPSC를 미분화 상태로 유지하는 기술과 특정 장기로 분화시키는 기술의 확립이 필요하다. iPSC의 적절한 분화 프로토콜을 개발하고 생체 환경을 모사하는 기술의 발전이 뒷받침 된다면 훌륭한 오가노이드를 생산할 수 있을 것이다. 앞서 언급한 문제들을 해결한다면 우리는 어느 것도 될 수 있는 만능 열쇠, iPSC를 얻을 수 있다. iPSC 관련 연구를 위해서는 통합적으로 상황을 파악하고 이해하여 문제 해결 방법을 이끌어내는 것이 중요하다. 따라서 본 보고서는 이 점에서 가치를 가지며, 본 보고서를 통한 iPSC에 대한 이해가 발전의 첫걸음이 될 것이라고 믿는다.

참고문헌

- [1] Thomson, J. A., Itskovitz-Eldor, J., Shapiro, S. S., Waknitz, M. A., Swiergiel, J. J., Marshall, V. S., & Jones, J. M. (1998). Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *science*, 282(5391), 1145-1147.
- [2] Takahashi, K., & Yamanaka, S. (2006). Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *cell*, 126(4), 663-676.
- [3] Takahashi, K., Tanabe, K., Ohnuki, M., Narita, M., Ichisaka, T., Tomoda, K., & Yamanaka, S. (2007). Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *cell*, 131(5), 861-872.
- [4] Scholer H, S Ruppert, N Suzuki, K Chowdhury, P Gruss (1990). New type of POU domain in germ line-specific protein Oct4. *Nature*, 344, 435-9.
- [5] Lenardo MJ, Staudt L, Robbins P, Kuang A, Mulligan RC, Baltimore D (1989). Repression of the IgH enhancer in teratocarcinoma cells associated with a novel octamer factor. *Science*, 243, 544-6.
- [6] Niwa H, Miyazaki J, Smith AG (2000). Quantitative expression of Oct-3/4 defines differentiation, dedifferentiation or self-renewal of ES cells. *Nat Genet*, 24, 372-6.
- [7] Pesce M, Wang X, Wolgemuth DJ, Scholer H (1998). Differential expression of the Oct-4 transcription factor during mouse germ cell differentiation. *Mech Dev*, 71, 89-98.
- [8] Nichols J, Zevnik B, Anastassiadis K, Niwa H, Klewe- Nebenius D, Chambers I, Scholer H, Smith A (1998). Formation of pluripotent stem cells in the mammalian embryo depends on the POU transcription factor Oct4. *Cell*, 95,379-391.
- [9] Jennifer Nichols, Branko Zevnik, Konstantinos Anastassiadis, Hitoshi Niwa, Daniela Klewe-Nebenius, Ian Chambers, Hans Schöler, Austin Smith (1998). Formation of Pluripotent Stem Cells in the Mammalian Embryo Depends on the POU Transcription Factor Oct4. *Cell*, 95, 379-391.
- [10] Waldrip W.R, Bikoff E.K, Hoodless P.A, Wrana J.L, Robertson E.J (1998). Smad2 signaling in extraembryonic tissues determines anterior-posterior polarity of the early mouse embryo. *Cell*, 92, 797-808.
- [11] Tomioka M, Nishimoto M, Miyagi S, Katayanagi T, Fukui N, Niwa H, et al (2002). Identification of Sox-2 regulatory region which is under the control of Oct-3/4-Sox-2 complex. *Nucleic Acids Res*, 30, 3202-13.
- [12] Li, X. L., Eishi, Y., Bai, Y. Q., Sakai, H., Akiyama, Y., Tani, M., ... & Yuasa, Y. (2004). Expression of the SRY-related HMG box protein SOX2 in human gastric carcinoma. *International journal of oncology*, 24(2), 257-263.
- [13] Koopman P, Schepers G, Brenner S, Venkatesh B (2004). Origin and diversity of the SOX transcription factor gene family: genome-wide analysis in Fugu rubripes. *Gene* 328, 177-186.

- [14] 김수진. (2007). Silencing of Sox2 using RNA interference in mouse neuroepithelial stem cells for functional analysis.
- [15] Ivanova N, Dobrin R, Lu R, Kotenko I, Levorse J, DeCoste C, et al. (2006). Dissecting self-renewal in stem cells with RNA interference. *Nature*, 442, 533-8.
- [16] Graham, V., Khudyakov, J., Ellis, P., & Pevny, L. (2003). SOX2 functions to maintain neural progenitor identity. *Neuron*, 39(5), 749-765.
- [17] Avilion AA, Nicolis SK, Pevny LH, Perez L, Vivian N, Lovell-Badge R (2003). Multipotent cell lineages in early mouse development depend on SOX2 function. *Genes Dev*, 17,126-40.
- [18] Katz, J. P. et al. The zinc-finger transcription factor Klf4 is required for terminal differentiation of goblet cells in the colon. *Development* 129, 2619-2628 (2002).
- [19] Chen, X., Whitney, E. M., Gao, S. Y. & Yang, V. W. Transcriptional profiling of Kruppel like factor 4 reveals a function in cell cycle regulation and epithelial differentiation. *J. Mol. Biol.* 326, 665-677 (2003).
- [20] Shields, J. M., Christy, R. J. & Yang, V. W. Identification and characterization of a gene encoding a gut-enriched Kruppel-like factor expressed during growth arrest. *J. Biol. Chem.* 271, 20009-20017 (1996).
- [21] Rowland, B. D., Bernards, R., & Peeper, D. S. (2005). The KLF4 tumour suppressor is a transcriptional repressor of p53 that acts as a context-dependent oncogene. *Nature cell biology*, 7(11), 1074-1082.
- [22] Li Y, McClintick J, Zhong L, Edenberg HJ, Yoder MC, Chan RJ (2005) Murine embryonic stem cell differentiation is promoted by SOCS-3 and inhibited by the zinc finger transcription factor Klf4. *Blood* 105:635-637.
- [23] Chen, X. et al. Kruppel-like factor 4 (gut-enriched Kruppel-like factor) inhibits cell proliferation by blocking G1/S progression of the cell cycle. *J. Biol. Chem.* 276, 30423-30428 (2001).
- [24] Geiman, D. E., Ton-That, H., Johnson, J. M. & Yang, V. W. Transactivation and growth suppression by the gut-enriched Kruppel-like factor (Kruppel-like factor 4) are dependent on acidic amino acid residues and protein-protein interaction. *Nucleic Acids Res.* 28, 1106-1113 (2000).
- [25] Zhang, P., Andrianakos, R., Yang, Y., Liu, C., & Lu, W. (2010). Kruppel-like factor 4 (Klf4) prevents embryonic stem (ES) cell differentiation by regulating Nanog gene expression. *Journal of Biological Chemistry*, 285(12), 9180-9189.
- [26] Matsuda, T., Nakamura, T., Nakao, K., Arai, T., Katsuki, M., Heike, T., & Yokota, T. (1999). STAT3 activation is sufficient to maintain an undifferentiated state of mouse embryonic stem cells. *The EMBO journal*, 18(15), 4261-4269.
- [27] Niwa, H., Burdon, T., Chambers, I., & Smith, A. (1998). Self-renewal of pluripotent embryonic stem cells is mediated via activation of STAT3. *Genes & development*, 12(13), 2048-2060.
- [28] Smith, A. G., Heath, J. K., Donaldson, D. D., Wong, G. G., Moreau, J., Stahl,

- M., & Rogers, D. (1988). Inhibition of pluripotential embryonic stem cell differentiation by purified polypeptides. *Nature*, 336(6200), 688-690.
- [29] Williams, R. L., Hilton, D. J., Pease, S., Willson, T. A., Stewart, C. L., Gearing, D. P., & Gough, N. M. (1988). Myeloid leukaemia inhibitory factor maintains the developmental potential of embryonic stem cells. *Nature*, 336(6200), 684-687.
- [30] Bourillot, P. Y., Aksoy, I., Schreiber, V., Wianny, F., Schulz, H., Hummel, O., & Savatier, P. (2009). Novel STAT3 target genes exert distinct roles in the inhibition of mesoderm and endoderm differentiation in cooperation with Nanog. *Stem cells*, 27(8), 1760-1771.
- [31] Hall, J., Guo, G., Wray, J., Eyres, I., Nichols, J., Grotewold, L., & Tomlinson, S. (2009). Oct4 and LIF/Stat3 additively induce Krüppel factors to sustain embryonic stem cell self-renewal. *Cell stem cell*, 5(6), 597-609.
- [32] Wei, Z., Yang, Y., Zhang, P., Andrianakos, R., Hasegawa, K., Lyu, J., & Lu, W. (2009). Klf4 interacts directly with Oct4 and Sox2 to promote reprogramming. *Stem cells*, 27(12), 2969-2978.
- [33] Segre JA, Bauer C, Fuchs E (1999) Klf4 is a transcription factor required for establishing the barrier function of the skin. *Nat Genet* 22:356-360.
- [34] Adhikary, S., & Eilers, M. (2005). Transcriptional regulation and transformation by Myc proteins. *Nature reviews Molecular cell biology*, 6(8), 635-645.
- [35] Cartwright, P., McLean, C., Sheppard, A., Rivett, D., Jones, K., & Dalton, S. (2005). LIF/STAT3 controls ES cell self-renewal and pluripotency by a Myc-dependent mechanism. *Development*, 132(5), 885-896.
- [36] Dang, C. V., O'Donnell, K. A., Zeller, K. I., Nguyen, T., Osthus, R. C., & Li, F. (2006, August). The c-Myc target gene network. In *Seminars in cancer biology* (Vol. 16, No. 4, pp. 253-264). Academic Press.
- [37] Araki, R., Hoki, Y., Uda, M., Nakamura, M., Jincho, Y., Tamura, C., & Kasama, Y. (2011). Crucial role of c-Myc in the generation of induced pluripotent stem cells. *Stem Cells*, 29(9), 1362-1370.
- [38] Orian, A., Van Steensel, B., Delrow, J., Bussemaker, H. J., Li, L., Sawado, T., & Pierce, S. (2003). Genomic binding by the Drosophila Myc, Max, Mad/Mnt transcription factor network. *Genes & development*, 17(9), 1101-1114.
- [39] Bouchard, C., Dittrich, O., Kiermaier, A., Dohmann, K., Menkel, A., Eilers, M., & Lüscher, B. (2001). Regulation of cyclin D2 gene expression by the Myc/Max/Mad network: Myc-dependent TRRAP recruitment and histone acetylation at the cyclin D2 promoter. *Genes & development*, 15(16), 2042-2047.
- [40] Xu, D., Popov, N., Hou, M., Wang, Q., Björkholm, M., Gruber, A., & Henriksson, M. (2001). Switch from Myc/Max to Mad1/Max binding and decrease in histone acetylation at the telomerase reverse transcriptase promoter during differentiation of HL60 cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(7), 3826-3831.
- [41] Mao, D. Y., Watson, J. D., Yan, P. S., Barsyte-Lovejoy, D., Khosravi, F., Wong,

- W. W. L., & Penn, L. Z. (2003). Analysis of Myc bound loci identified by CpG island arrays shows that Max is essential for Myc-dependent repression. *Current Biology*, 13(10), 882-886.
- [42] Alland, L., Muhle, R., Hou, H., Potes, J., Chin, L., Schreiber-Agus, N., & DePinho, R. A. (1997). Role for N-CoR and histone deacetylase in Sin3-mediated transcriptional repression. *Nature*, 387(6628), 49-55.
- [43] Ayer, D. E., Lawrence, Q. A., & Eisenman, R. N. (1995). Mad-Max transcriptional repression is mediated by ternary complex formation with mammalian homologs of yeast repressor Sin3. *Cell*, 80(5), 767-776.
- [44] Schwarz, B. A., Bar-Nur, O., Silva, J. C., & Hochedlinger, K. (2014). Nanog is dispensable for the generation of induced pluripotent stem cells. *Current Biology*, 24(3), 347-350.
- [45] Chambers I, Colby D, Robertson M, et al. Functional expression cloning of Nanog, a pluripotency sustaining factor in embryonic stem cells. *Cell* 2003; 113:643-655.
- [46] Silva J, Chambers I, Pollard S, Smith A. Nanog promotes transfer of pluripotency after cell fusion. *Nature* 2006; 441:997-1001.
- [47] Darr, H., Mayshar, Y., & Benvenisty, N. (2006). Overexpression of NANOG in human ES cells enables feeder-free growth while inducing primitive ectoderm features. *Development*, 133(6), 1193-1201.
- [48] Theunissen, T. W., Van Oosten, A. L., Castelo-Branco, G., Hall, J., Smith, A., & Silva, J. C. (2011). Nanog overcomes reprogramming barriers and induces pluripotency in minimal conditions. *Current Biology*, 21(1), 65-71.
- [49] Mitsui, K., Tokuzawa, Y., Itoh, H., Segawa, K., Murakami, M., Takahashi, K., & Yamanaka, S. (2003). The homeoprotein Nanog is required for maintenance of pluripotency in mouse epiblast and ES cells. *Cell*, 113(5), 631-642.
- [50] Costa, Y., Ding, J., Theunissen, T. W., Faiola, F., Hore, T. A., Shliha, P. V., & Das, S. (2013). NANOG-dependent function of TET1 and TET2 in establishment of pluripotency. *Nature*, 495(7441), 370-374.
- [51] Blaschke, K., Ebata, K. T., Karimi, M. M., Zepeda-Martínez, J. A., Goyal, P., Mahapatra, S., & Lorincz, M. C. (2013). Vitamin C induces Tet-dependent DNA demethylation and a blastocyst-like state in ES cells. *Nature*, 500(7461), 222-226.
- [52] Carter, A. C., Davis-Dusenbery, B. N., Koszka, K., Ichida, J. K., & Eggan, K. (2014). Nanog-independent reprogramming to iPSCs with canonical factors. *Stem cell reports*, 2(2), 119-126.
- [53] Hanna, J., Saha, K., Pando, B., Van Zon, J., Lengner, C. J., Creighton, M. P., & Jaenisch, R. (2009). Direct cell reprogramming is a stochastic process amenable to acceleration. *Nature*, 462(7273), 595-601.
- [54] Qiu, C., Ma, Y., Wang, J., Peng, S., & Huang, Y. (2010). Lin28-mediated post-transcriptional regulation of Oct4 expression in human embryonic stem cells. *Nucleic acids research*, 38(4), 1240-1248.

- [55] Shyh-Chang, N., & Daley, G. Q. (2013). Lin28: primal regulator of growth and metabolism in stem cells. *Cell stem cell*, 12(4), 395-406.
- [56] Moss, E. G., Lee, R. C., & Ambros, V. (1997). The cold shock domain protein LIN-28 controls developmental timing in *C. elegans* and is regulated by the *lin-4* RNA. *Cell*, 88(5), 637-646.
- [57] Reinhart, B. J., Slack, F. J., Basson, M., Pasquinelli, A. E., Bettinger, J. C., Rougvie, A. E., & Ruvkun, G. (2000). The 21-nucleotide *let-7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *nature*, 403(6772), 901-906.
- [58] Pasquinelli, A. E., Reinhart, B. J., Slack, F., Martindale, M. Q., Kuroda, M. I., Maller, B., & Spring, J. (2000). Conservation of the sequence and temporal expression of *let-7* heterochronic regulatory RNA. *Nature*, 408(6808), 86-89.
- [59] Roush, S., & Slack, F. J. (2008). The *let-7* family of microRNAs. *Trends in cell biology*, 18(10), 505-516.
- [60] Abbott, A. L., Alvarez-Saavedra, E., Miska, E. A., Lau, N. C., Bartel, D. P., Horvitz, H. R., & Ambros, V. (2005). The *let-7* MicroRNA family members *mir-48*, *mir-84*, and *mir-241* function together to regulate developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Developmental cell*, 9(3), 403-414.
- [61] Morita, K., & Han, M. (2006). Multiple mechanisms are involved in regulating the expression of the developmental timing regulator *lin-28* in *Caenorhabditis elegans*. *The EMBO Journal*, 25(24), 5794-5804.
- [62] Melton, C., Judson, R. L., & Blelloch, R. (2010). Opposing microRNA families regulate self-renewal in mouse embryonic stem cells. *Nature*, 463(7281), 621-626.
- [63] Zhang, J., Ratanasirintrao, S., Chandrasekaran, S., Wu, Z., Ficarro, S. B., Yu, C., & Shinoda, G. (2016). LIN28 regulates stem cell metabolism and conversion to primed pluripotency. *Cell stem cell*, 19(1), 66-80.
- [64] Jaenisch, R., & Young, R. (2008). Stem cells, the molecular circuitry of pluripotency and nuclear reprogramming. *Cell*, 132(4), 567-582.
- [65] Nishimura, K., Sano, M., Ohtaka, M., Furuta, B., Umemura, Y., Nakajima, Y., & Sato, H. (2011). Development of defective and persistent Sendai virus vector a unique gene delivery/expression system ideal for cell reprogramming. *Journal of Biological Chemistry*, 286(6), 4760-4771.
- [66] Hu, K. (2014). Vectorology and factor delivery in induced pluripotent stem cell reprogramming. *Stem cells and development*, 23(12), 1301-1315.
- [67] Patel, M., & Yang, S. (2010). Advances in reprogramming somatic cells to induced pluripotent stem cells. *Stem Cell Reviews and Reports*, 6(3), 367-380.
- [68] Weiss, R. A., & Tailor, C. S. (1995). Retrovirus receptors. *Cell*, 82(4), 531-533.
- [69] Peries, J., Alves-Cardoso, E., Canivet, M., Debons-Guillemain, M. C., & Lasneret, J. (1977). Lack of multiplication of ecotropic murine C-type viruses in mouse teratocarcinoma primitive cells: brief communication. *Journal of the National Cancer Institute*, 59(2), 463-465.
- [70] Knipe, D. M., & Howley, P. M. (2020). Fields virology.

- [71] Brown, P. O. (1990). Integration of retroviral DNA. In *Retroviruses* (pp. 19-48). Springer, Berlin, Heidelberg.
- [72] Hotta, A., & Ellis, J. (2008). Retroviral vector silencing during iPS cell induction: an epigenetic beacon that signals distinct pluripotent states. *Journal of cellular biochemistry*, 105(4), 940-948
- [73] Takahashi, K., & Yamanaka, S. (2006). Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *cell*, 126(4), 663-676.
- [74] Teich, N. M., Weiss, R. A., Martin, G. R., & Lowy, D. R. (1977). Virus infection of murine teratocarcinoma stem cell lines. *Cell*, 12(4), 973-982.
- [75] Perutz, M., & Ten Eyck, L. F. (1971). Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol, 36, 295.
- [76] Stewart, C. L., Vanek, M., & Wagner, E. F. (1985). Expression of foreign genes from retroviral vectors in mouse teratocarcinoma chimaeras. *The EMBO Journal*, 4(13B), 3701-3709.
- [77] Seliger, B., Kollek, R., Stocking, C., Franz, T., & Ostertag, W. (1986). Viral transfer, transcription, and rescue of a selectable myeloproliferative sarcoma virus in embryonal cell lines: expression of the mos oncogene. *Molecular and cellular biology*, 6(1), 286-293.
- [78] Miller, D. G., Adam, M. A., & Miller, A. D. (1990). Gene transfer by retrovirus vectors occurs only in cells that are actively replicating at the time of infection. *Molecular and cellular biology*, 10(8), 4239-4242.
- [79] Okita, K., Ichisaka, T., & Yamanaka, S. (2007). Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells. *nature*, 448(7151), 313-317.
- [80] Jia F, Wilson KD, Sun N, et al. (2010). A nonviral minicircle vector for deriving human iPS cells. *Nature Methods*. Mar, 7(3), 197-199.
- [81] Chen, Z. Y., He, C. Y., & Kay, M. A. (2005). Improved production and purification of minicircle DNA vectors free of plasmid bacterial sequences and capable of persistent transgene expression in vivo. *Human gene therapy*, 16(1), 126-131.
- [82] Chen, Z. Y., He, C. Y., Ehrhardt, A., & Kay, M. A. (2003). Minicircle DNA vectors devoid of bacterial DNA result in persistent and high-level transgene expression in vivo. *Molecular therapy*, 8(3), 495-500.
- [83] Kay, M. A., He, C. Y., & Chen, Z. Y. (2010). A simple and rapid minicircle DNA vector manufacturing system. *Nature biotechnology*, 28(12), 1287.
- [84] Warren, L., Ni, Y., Wang, J., & Guo, X. (2012). Feeder-free derivation of human induced pluripotent stem cells with messenger RNA. *Scientific reports*, 2, 657.
- [85] Wang, Jiwu, Luigi Warren, and N. I. Yuhui. "Feeder-free derivation of human-induced pluripotent stem cells with synthetic messenger RNA." *U.S. Patent No. 10,155,929*. 18 Dec. 2018.

- [86] Castro, A. A., León, M., del Buey Furió, V., Erceg, S., & Lukovic, D. (2018). Generation of a human iPSC line by mRNA reprogramming. *Stem cell research*, 28, 157-160.
- [87] Hasegawa, K., Zhang, P., Wei, Z., Pomeroy, J. E., Lu, W., & Pera, M. F. (2010). Comparison of reprogramming efficiency between transduction of reprogramming factors, cell-cell fusion, and cytoplasm fusion. *Stem Cells*, 28(8), 1338-1348.
- [88] Zhang, Y., Li, W., Laurent, T., & Ding, S. (2012). Small molecules, big roles—the chemical manipulation of stem cell fate and somatic cell reprogramming. *Journal of cell science*, 125(23), 5609-5620.
- [89] Buganim, Y., Faddah, D. A., & Jaenisch, R. (2013). Mechanisms and models of somatic cell reprogramming. *Nature Reviews Genetics*, 14(6), 427-439.
- [90] David, L., & Polo, J. M. (2014). Phases of reprogramming. *Stem cell research*, 12(3), 754-761.
- [91] Hawkins, K., Joy, S., & McKay, T. (2014). Cell signalling pathways underlying induced pluripotent stem cell reprogramming. *World journal of stem cells*, 6(5), 620.
- [92] Araki, R., Jincho, Y., Hoki, Y., Nakamura, M., Tamura, C., Ando, S., & Abe, M. (2010). Conversion of ancestral fibroblasts to induced pluripotent stem cells. *Stem Cells*, 28(2), 213-220.
- [93] Megyola, C. M., Gao, Y., Teixeira, A. M., Cheng, J., Heydari, K., Cheng, E. C., ... & Guo, S. (2013). Dynamic migration and cell-cell interactions of early reprogramming revealed by high-resolution time-lapse imaging. *Stem Cells*, 31(5), 895-905.
- [94] Smith, Z. D., Nachman, I., Regev, A., & Meissner, A. (2010). Dynamic single-cell imaging of direct reprogramming reveals an early specifying event. *Nature biotechnology*, 28(5), 521-526.
- [95] Li, R., Liang, J., Ni, S., Zhou, T., Qing, X., Li, H., & Qin, B. (2010). A mesenchymal-to-epithelial transition initiates and is required for the nuclear reprogramming of mouse fibroblasts. *Cell stem cell*, 7(1), 51-63.
- [96] Zhu, S., Li, W., Zhou, H., Wei, W., Ambasudhan, R., Lin, T., & Ding, S. (2010). Reprogramming of human primary somatic cells by OCT4 and chemical compounds. *Cell stem cell*, 7(6).
- [97] Hou, P., Li, Y., Zhang, X., Liu, C., Guan, J., Li, H., & Ge, J. (2013). Pluripotent stem cells induced from mouse somatic cells by small-molecule compounds. *Science*, 341(6146), 651-654.
- [98] Maherali, N., & Hochedlinger, K. (2009). Tgf β signal inhibition cooperates in the induction of iPSCs and replaces Sox2 and cMyc. *Current Biology*, 19(20), 1718-1723.
- [99] Lin, T., Ambasudhan, R., Yuan, X., Li, W., Hilcove, S., Abujarour, R., & Ding, S. (2009). A chemical platform for improved induction of human iPSCs. *Nature methods*, 6(11), 805-808.

- [100] Pasque, V., Jullien, J., Miyamoto, K., Halley-Stott, R. P., & Gurdon, J. B. (2011). Epigenetic factors influencing resistance to nuclear reprogramming. *Trends in Genetics*, 27(12), 516-525.
- [101] Iyer, L. M., Tahiliani, M., Rao, A., & Aravind, L. (2009). Prediction of novel families of enzymes involved in oxidative and other complex modifications of bases in nucleic acids. *Cell cycle*, 8(11), 1698-1710.
- [102] Lin, S. L., Chang, D. C., Lin, C. H., Ying, S. Y., Leu, D., & Wu, D. T. (2011). Regulation of somatic cell reprogramming through inducible mir-302 expression. *Nucleic acids research*, 39(3), 1054-1065.460(7259), 1145-1148.
- [103] Polo, J. M., Anderssen, E., Walsh, R. M., Schwarz, B. A., Nefzger, C. M., Lim, S. M., & Bar-Nur, O. (2012). A molecular roadmap of reprogramming somatic cells into iPS cells. *Cell*, 151(7), 1617-1632.
- [104] Buganim, Y., Faddah, D. A., Cheng, A. W., Itskovich, E., Markoulaki, S., Ganz, K., & Jaenisch, R. (2012). Single-cell expression analyses during cellular reprogramming reveal an early stochastic and a late hierarchic phase. *Cell*, 150(6), 1209-1222.
- [105] Tanabe, K., Nakamura, M., Narita, M., Takahashi, K., & Yamanaka, S. (2013). Maturation, not initiation, is the major roadblock during reprogramming toward pluripotency from human fibroblasts. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(30), 12172-12179.
- [106] Hansson, J., Rafiee, M. R., Reiland, S., Polo, J. M., Gehring, J., Okawa, S., & Krijgsveld, J. (2012). Highly coordinated proteome dynamics during reprogramming of somatic cells to pluripotency. *Cell reports*, 2(6), 1579-1592.
- [107] Yang, J., Van Oosten, A. L., Theunissen, T. W., Guo, G., Silva, J. C., & Smith, A. (2010). Stat3 activation is limiting for reprogramming to ground state pluripotency. *Cell stem cell*, 7(3), 319-328.
- [108] Feng, B., Jiang, J., Kraus, P., Ng, J. H., Heng, J. C. D., Chan, Y. S., & Vega, V. B. (2009). Reprogramming of fibroblasts into induced pluripotent stem cells with orphan nuclear receptor Esrrb. *Nature cell biology*, 11(2), 197-203.
- [109] Stadtfeld, M., Maherali, N., Breault, D. T., & Hochedlinger, K. (2008). Defining molecular cornerstones during fibroblast to iPS cell reprogramming in mouse. *Cell stem cell*, 2(3), 230-240.
- [110] Silva, J., Nichols, J., Theunissen, T. W., Guo, G., van Oosten, A. L., Barrandon, O., & Smith, A. (2009). Nanog is the gateway to the pluripotent ground state. *Cell*, 138(4), 722-737.
- [111] Ho, R., Papp, B., Hoffman, J. A., Merrill, B. J., & Plath, K. (2013). Stage-specific regulation of reprogramming to induced pluripotent stem cells by Wnt signaling and T cell factor proteins. *Cell reports*, 3(6), 2113-2126.
- [112] Takahashi, K., Tanabe, K., Ohnuki, M., Narita, M., Ichisaka, T., Tomoda, K., & Yamanaka, S. (2007). Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *cell*, 131(5), 861-872.

- [113] Maherali, N., Sridharan, R., Xie, W., Utikal, J., Eminli, S., Arnold, K., & Plath, K. (2007). Directly reprogrammed fibroblasts show global epigenetic remodeling and widespread tissue contribution. *Cell stem cell*, 1(1), 55-70.
- [114] Golipour, A., David, L., Liu, Y., Jayakumaran, G., Hirsch, C. L., Trcka, D., & Wrana, J. L. (2012). A late transition in somatic cell reprogramming requires regulators distinct from the pluripotency network. *Cell stem cell*, 11(6), 769-782.
- [115] Samavarchi-Tehrani, P., Golipour, A., David, L., Sung, H. K., Beyer, T. A., Datti, A., & Wrana, J. L. (2010). Functional genomics reveals a BMP-driven mesenchymal-to-epithelial transition in the initiation of somatic cell reprogramming. *Cell stem cell*, 7(1), 64-77.
- [116] Chin, M. H., Mason, M. J., Xie, W., Volinia, S., Singer, M., Peterson, C., & Khvorostov, I. (2009). Induced pluripotent stem cells and embryonic stem cells are distinguished by gene expression signatures. *Cell stem cell*, 5(1), 111-123.
- [117] Ho, R., Chronis, C., & Plath, K. (2011). Mechanistic insights into reprogramming to induced pluripotency. *Journal of cellular physiology*, 226(4), 868-878.
- [118] Stadtfeld, M., & Hochedlinger, K. (2010). Induced pluripotency: history, mechanisms, and applications. *Genes & development*, 24(20), 2239-2263.
- [119] Bhutani, N., Brady, J. J., Damian, M., Sacco, A., Corbel, S. Y., & Blau, H. M. (2010). Reprogramming towards pluripotency requires AID-dependent DNA demethylation. *Nature*, 463(7284), 1042-1047.
- [120] Kumar, R., DiMenna, L., Schrode, N., Liu, T. C., Franck, P., Muñoz-Descalzo, S., & Evans, T. (2013). AID stabilizes stem-cell phenotype by removing epigenetic memory of pluripotency genes. *Nature*, 500(7460), 89-92.
- [121] Rose, M., Gao, K., Cortez-Toledo, E., Agu, E., Hyllen, A. A., Conroy, K., & Zhou, P. (2020). Endothelial cells derived from patient's induced pluripotent stem cells for sustained factor VIII delivery and the treatment of hemophilia A. *Stem Cells Translational Medicine*, 9(6), 686-696.
- [122] 이경수. (2020). Therapeutic applications of exosomes derived from human adipose stem cells for cancer and osteoporosis (Doctoral dissertation, 한양대학교).
- [123] Segers, V. F., & Lee, R. T. (2008). Stem-cell therapy for cardiac disease. *Nature*, 451(7181), 937-942.
- [124] Kim, S. U., & De Vellis, J. (2009). Stem cell-based cell therapy in neurological diseases: a review. *Journal of neuroscience research*, 87(10), 2183-2200.
- [125] Pernet, O., Yadav, S. S., & An, D. S. (2016). Stem cell-based therapies for HIV/AIDS. *Advanced drug delivery reviews*, 103, 187-201.
- [126] Nam, Y., Rim, Y. A., & Ju, J. H. (2019). 줄기세포를 이용한 골관절염 치료. *대한내과학회지*, 94(2).
- [127] Ko JY, Kim KI, Park S, Im GI. In vitro chondrogenesis and in vivo repair of osteochondral defect with human induced pluripotent stem cells. *Biomaterials* 2014;35:3571-3581.

- [128] Yamashita A, Morioka M, Yahara Y, et al. Generation of scaffoldless hyaline cartilaginous tissue from human iPSCs. *Stem Cell Reports* 2015;4:404-418.
- [129] Golchin, A., Seyedjafari, E., & Ardehshirylajimi, A. (2020). Mesenchymal stem cell therapy for COVID-19: present or future. *Stem cell reviews and reports*, 1-7.
- [130] Lee, R. H., Pulin, A. A., Seo, M. J., Kota, D. J., Ylostalo, J., Larson, B. L., ... & Prockop, D. J. (2009). Intravenous hMSCs improve myocardial infarction in mice because cells embolized in lung are activated to secrete the anti-inflammatory protein TSG-6. *Cell stem cell*, 5(1), 54-63.
- [131] Leng, Z., Zhu, R., Hou, W., Feng, Y., Yang, Y., Han, Q., & Fan, J. (2020). Transplantation of ACE2-mesenchymal stem cells improves the outcome of patients with COVID-19 pneumonia. *Aging and disease*, 11(2), 216.
- [132] Gwon, H. C. (2011). 우리나라 줄기세포 연구의 현재와 미래-성체줄기세포. 유도 만능 줄기세포로 맞춤형 질병 치료. *The Science & Technology*, 23-28.
- [133] Rogers, C. J., Harman, R. J., Bunnell, B. A., Schreiber, M. A., Xiang, C., Wang, F. S., & Mineev, B. R. (2020). Rationale for the clinical use of adipose-derived mesenchymal stem cells for COVID-19 patients. *Journal of Translational Medicine*, 18, 1-19.
- [134] Mei, S. H., Haitsma, J. J., Dos Santos, C. C., Deng, Y., Lai, P. F., Slutsky, A. S., & Stewart, D. J. (2010). Mesenchymal stem cells reduce inflammation while enhancing bacterial clearance and improving survival in sepsis. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 182(8), 1047-1057.
- [135] Krasnodembskaya, A., Samarani, G., Song, Y., Zhuo, H., Su, X., Lee, J. W., & Matthay, M. A. (2012). Human mesenchymal stem cells reduce mortality and bacteremia in gram-negative sepsis in mice in part by enhancing the phagocytic activity of blood monocytes. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 302(10), L1003-L1013.
- [136] Gunaseeli, I., Doss, M. X., Antzelevitch, C., Hescheler, J., & Sachinidis, A. (2010). Induced pluripotent stem cells as a model for accelerated patient-and disease-specific drug discovery. *Current medicinal chemistry*, 17(8), 759-766.
- [137] Corbett, J. L., & Duncan, S. A. (2019). iPSC-derived hepatocytes as a platform for disease modeling and drug discovery. *Frontiers in Medicine*, 6.
- [138] Lancaster, M. A., Renner, M., Martin, C. A., Wenzel, D., Bicknell, L. S., Hurles, M. E., & Knoblich, J. A. (2013). Cerebral organoids model human brain development and microcephaly. *Nature*, 501(7467), 373-379.
- [139] Curry, E. L., Moad, M., Robson, C. N., & Heer, R. (2015). Using induced pluripotent stem cells as a tool for modelling carcinogenesis. *World journal of stem cells*, 7(2), 461.
- [140] Sahu, S., & Sharan, S. K. (2020). Translating embryogenesis to generate organoids: novel approaches to personalized medicine. *Isience*, 101485.
- [141] Tchieu, J., Zimmer, B., Fattahi, F., Amin, S., Zeltner, N., Chen, S., & Studer, L. (2017). A modular platform for differentiation of human PSCs into all major

ectodermal lineages. *Cell stem cell*, 21(3), 399-410.

[142] Clevers, H. (2016). Modeling development and disease with organoids. *Cell*, 165(7), 1586-1597.

[143] Gunne-Braden, A., Sullivan, A., Gharibi, B., Sheriff, R. S., Maity, A., Wang, Y. F., & Wollman, R. (2020). GATA3 Mediates a Fast, Irreversible Commitment to BMP4-Driven Differentiation in Human Embryonic Stem Cells. *Cell Stem Cell*.

[144] Loh, K. M., Ang, L. T., Zhang, J., Kumar, V., Ang, J., Auyeong, J. Q., & Tan, J. (2014). Efficient endoderm induction from human pluripotent stem cells by logically directing signals controlling lineage bifurcations. *Cell stem cell*, 14(2), 237-252.

[145] Vitale, A. M., Matigian, N. A., Ravishankar, S., Bellette, B., Wood, S. A., Wolvetang, E. J., & Mackay-Sim, A. (2012). Variability in the generation of induced pluripotent stem cells: importance for disease modeling. *Stem cells translational medicine*, 1(9), 641-650.

[146] Corbett, J. L., & Duncan, S. A. (2019). iPSC-derived hepatocytes as a platform for disease modeling and drug discovery. *Frontiers in Medicine*, 6.

[147] Gingold, J., Zhou, R., Lemischka, I. R., & Lee, D. F. (2016). Modeling cancer with pluripotent stem cells. *Trends in cancer*, 2(9), 485-494.

[148] Esch, E. W., Bahinski, A., & Huh, D. (2015). Organs-on-chips at the frontiers of drug discovery. *Nature reviews Drug discovery*, 14(4), 248-260.

[149] Atala, A., & Yoo, J. J. (2015). Essentials of 3D biofabrication and translation. *Academic Press*.

[150] Murphy, S. V., & Atala, A. (2014). 3D bioprinting of tissues and organs. *Nature biotechnology*, 32(8), 773-785.

[151] Du, Y., Lo, E., Ali, S., & Khademhosseini, A. (2008). Directed assembly of cell-laden microgels for fabrication of 3D tissue constructs. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(28), 9522-9527.

[152] Wu, S. M., & Hochedlinger, K. (2011). Harnessing the potential of induced pluripotent stem cells for regenerative medicine. *Nature cell biology*, 13(5), 497-505.

[153] Yoshida, Y., & Yamanaka, S. (2011). iPS cells: a source of cardiac regeneration. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 50(2), 327-332.

[154] Zhou, Q., Brown, J., Kanarek, A., Rajagopal, J., & Melton, D. A. (2008). In vivo reprogramming of adult pancreatic exocrine cells to β -cells. *nature*, 455(7213), 627-632.

[155] Zhou, Q., & Melton, D. A. (2008). Extreme makeover: converting one cell into another. *Cell stem cell*, 3(4), 382-388.

[156] Deinsberger, J., Reisinger, D., & Weber, B. (2020). Global trends in clinical trials involving pluripotent stem cells: a systematic multi-database analysis. *NPJ Regenerative medicine*, 5(1), 1-13.

[157] 생명공학정책연구센터, 글로벌 줄기세포 시장 전망 2017-2025, (2017),

- bioin.or.kr/board.do?cmd=view&bid=watch&num=273604.
- [158] Global_Research_Insights. (2018).
https://ww2.frost.com/wp-content/uploads/2018/12/ICT_-_Global_Research_Insights_2018_14.11.2018.pdf.
- [159] 학정협력위원회, 줄기세포 Trend Watch No.2. (2019)
http://www.ksscr.org/rang_board/list.html?num=1115&code=recent
- [160] 줄기세포 기술발전의 최근 동향과 시장전망. (2019).
https://www.ifs.or.kr/bbs/board.php?bo_table=News&wr_id=1036.
- [161] 줄기세포를 이용한 세포치료의 현재와 미래. (2020).
<https://www.khidi.or.kr/board/view?pageNum=1&rowCnt=10&no1=297&linkId=48827387&menuId=MENU01819&maxIndex=00488273879998&minIndex=00266020809998&schType=0&schText=&schStartDate=&schEndDate=&boardStyle=Image&categoryId=&continent=&country=>.
- [162] 'Reprogrammed' stem cells to treat spinal-cord injuries for the first time. (2019).
<https://www.nature.com/articles/d41586-019-00656-2>.
- [163] Brock, C.K., Wallin, S.T., Ruiz, O.E. et al. Stem cell proliferation is induced by apoptotic bodies from dying cells during epithelial tissue maintenance. *Nat Commun* 10,1044 (2019).
- [164] Xiao, K., Hou, F., Huang, X., Li, B., Qian, Z. R., & Xie, L. (2020). Mesenchymal stem cells: current clinical progress in ARDS and COVID-19. *Stem cell research & therapy*, 11(1), 1-7.
- [165] Eppert K, Scherer SW, Ozcelik H, Pirone R, Hoodless P, Kim H, Tsui LC, Bapat B, Gallinger S, Andrulis IL, Thomsen GH, Wrana JL, Attisano L (August 1996). "MADR2 maps to 18q21 and encodes a TGFbeta-regulated MAD-related protein that is functionally mutated in colorectal carcinoma". *Cell*. **86** (4): 543-52.
- [166] 네이버 지식백과, '백혈병억제인자', *생명과학대사전*,
<https://terms.naver.com/entry.nhn?docId=427223&cid=60261&categoryId=60261>
- [167] 네이버 지식백과, 'JAK-STAT경로', *생명과학대사전*,
<https://terms.naver.com/entry.nhn?docId=2693784&cid=60261&categoryId=60261>
- [168] Fesenko, I., Franklin, D., Garnett, P., Bass, P., Campbell, S., Hardyman, M., & Collins, J. (2010). Stem cell marker TRA-1-60 is expressed in foetal and adult kidney and upregulated in tubulo-interstitial disease. *Histochemistry and cell biology*, 134(4), 355-369.
- [169] Gao, A., Peng, Y., Deng, Y., & Qing, H. (2013). Potential therapeutic applications of differentiated induced pluripotent stem cells (iPSCs) in the treatment of neurodegenerative diseases. *Neuroscience*, 228, 47-59.
- [170] Narsinh, K. H., Jia, F., Robbins, R. C., Kay, M. A., Longaker, M. T., & Wu, J. C. (2011). Generation of adult human induced pluripotent stem cells using nonviral minicircle DNA vectors. *nature protocols*, 6(1), 78-88.

학부생 Review 논문

식물의 바이러스 방어기작과 작물 생산량 증대

Plant's Virus Defence Mechanism and
the Increase in Crop Production

2020年 11月 28日

상명대학교 융합공과대학
생명화학공학부 생명공학과
손혜림 송윤석 선유나 유호인

지도교수
기장서

초록

식물은 동물과 달리 이동성이 없어 외부로부터 받는 스트레스를 직접적으로 회피할 수 없다. 식물은 바이러스 외에도 곰팡이, 곤충 등 다양한 생물로부터 생물적 스트레스를 받을 뿐 아니라 열, 염분, UV 스트레스와 같은 비생물적 스트레스에 노출된다. 이에 대응하기 위해 식물의 방어 기작은 상대적으로 잘 발달되어 있다. 특히 바이러스에 의한 피해는 전 세계적으로 연간 300억 달러 이상으로 추정될 정도로 크다. 바이러스에 대해 식물이 방어하는 방법으로는 우성유전자 기반 저항성, 열성유전자 기반 저항성, 전신획득 저항성으로 나뉜다. 우성유전자 기반 저항성은 바이러스의 비기주 유전자와 “gene-for-gene” 개념을 이용하여 특이적 반응 인식을 통해 병 저항성이 성립된다. 특히나 1) Tobacco mosaic virus (TMV), 2) Potato virus X (PVX), 3) Turnip crinkle virus (TCV)를 대상으로 한 연구가 많이 진행되었다. 우성유전자 기반 저항성으로 인해 일어나는 자기방어 중 hypersensitive response (HR)은 식물의 병원균 감염 확산을 방지하기 위해 감염부위를 둘러싸고 있는 특정 지역의 세포를 빠르게 사멸시킨다. HR 역시 “gene-for-gene” 개념으로 식물과 병원체 서로가 인식되어야 일어난다. 열성유전자 기반 저항성은 바이러스의 생물학적 병환에 필요한 기주 인자의 결여로 발생하는 방어기작이다. 바이러스에 대한 대부분의 열성 저항성 유전자는 진핵생물의 번역 개시인자인 Eukaryotic translation initiation factor 4E (eIF4E)이며 열성 저항성은 potyvirus 그룹의 바이러스에서 많이 연구되었다. 전신획득 저항성은 이미 감염된 병원체에 대해 두 번째 감염 때 효과적으로 일어나는 면역반응이다. 전신획득 저항성은 작용 시 salicylic acid (SA)를 통해 신호전달이 일어나는 화학적인 방어 방법이다. 식물의 방어기작을 이용하여 작물 생산량 증대에 이용할 수 있는 기술로는 열성유전자 기반 저항성을 발현시키는 CRISPR/Cas9 같은 유전자 교정 기술과 전신획득 저항성을 유도할 수 있는 합성화학 활성제 등이 있다.

목 차

1. 서론	86
2. 본론	87
2.1 우성유전자 기반 저항성	87
2.1.1 hr	88
2.2 열성유전자기반저항성	90
2.3 전신획득 저항성	90
2.4 농업에 사용 가능한 기술	92
2.4.1 열성유전자 기반 저항성 활용	92
2.4.2 화학물질을 이용한 방법	92
3. 결론	93
참고문헌	95

1. 서론

식물바이러스는 절대기생체이며, 다른 감염 현상(곰팡이 또는 세균 감염)과 달리 회복이 어렵기 때문에 바이러스의 침입을 사전에 예방하는 것이 중요하다. 그럼에도 바이러스에 노출될 경우, 식물 세포에서는 다양한 피해 증상이 나타난다. 식물 바이러스는 기주에 침입한 뒤 자신의 유전물질을 복제하여 증식하는데, 이로 인해 식물 세포가 교란되어 다양한 변화가 생기는 것이다. 보고된 변화로 (1) 핵산 및 단백질 합성, (2) 효소 작용, (3) 대사 작용, (4) 광합성 작용에 대한 영향 등이 있다[1]. 이러한 변화는 결국 육안으로 관찰 가능한 병징으로 이어지기도 한다. 한 예로, 색소체에 대한 영향 사례가 있다. 바이러스 감염으로 인해 엽록체 수가 감소하고 카로틴과 잔토필의 색이 나타나는 등의 변화로, 잎 또는 과실이 변색되기도 한다[1]. 그 밖에도 생장 조절 물질 관련 이상으로 인한 생육 이상, 기주 식물 세포의 괴사 등 다양한 피해 유형이 알려져 있다[2]. 바이러스의 종류, 계통, 복합감염 여부, 기주 식물체의 감수성 등 다양한 요인에 의해 피해 증상의 종류와 정도가 결정된다[2].

일반적으로 바이러스는 식물의 세포벽, 큐티클, 왁스층 같은 물리적 장벽에 가로막혀 식물체를 감염시키지 못한다. 그래서 식물의 상처 나 매개체를 이용하여 식물 체내로 침입한다. 식물바이러스의 감염경로는 다양하다. (1) 접촉전염은 바이러스에 감염된 식물체의 접촉으로 인한 전염이며 밀식에 취약하다[2]. 바이러스의 예로는 cucumber mosaic virus와 tobacco mosaic virus가 있다[3]. (2) 접목전염은 식물병의 병원체가 접목에 의해 전염되는 것이다[4]. 바이러스의 예로는 cucumber green mottle mosaic virus와 Zucchini mottle mosaic virus가 있다[2]. (3) 종자전염은 바이러스가 병원체 혹은 종자를 매개로 다음 세대로 전이되어 병을 일으키는 것이다[5]. 대표적인 예는 앞서 언급한 cucumber green mottle mosaic virus와 Zucchini mottle mosaic virus, 고추나 파프리카에 피해를 주는 Pepper mild mottle virus, tobacco mosaic virus 등이 있다[2]. (4) 충매전염은 곤충이 매개 역할을 하여 병원체가 전염되는 것이다[6]. 매개충의 예로는 진딧물, 매미충, 멸구류 등이 있고 바이러스의 예로는 cucumber mosaic virus와 potato virus, Watermelon mosaic virus가 있다[2]. 또 병원균이 물에 의해 전염되어 병을 일으키는 현상인 수매전염과 토양에 잠재하던 병원체로 인해 전염되는 토양전염도 있다.

우리가 농업을 통해서 식물을 재배할 때, 상업적인 효율을 위해서 최소한의 공간에 최대한의 식물을 키우게 된다. 이때, 식물 간 물리적 접촉이 쉽기 때문에 바이러스의 전파에 취약하다. 따라서 바이러스의 감염이 생길 경우에 농작물의 피해가 상당하다. 실제로 바이러스로 인해 전 세계적으로 연간 300억 달러 상당의 농작물이 손실될 것으로 예측된다[7]. 자세하게 알아보면 아프리카, 인도, 스리랑카에서는 전 세계에서 5억 명 이상이 주식으로 매일 섭취하는 Cassava가 Cassava mosaic begomoviruses 돌연변이에 의해 연간 2500만 톤 이상의 손실을 겪고 있다[7,8]. 또 미국과

영국에서는 Potato leafroll polerovirus에 의해 연간 1억 달러, 5000만 달러의 손실을 겪고 있다(H4,H1-9,7). 그 밖에도 Citrus Tristeza closterovirus에 의해 매년 전 세계에서 1억 달러의 손실을 겪으며[10,11], Barley yellow dwarf luteovirus에 의해 영국은 밀, 보리, 옥수수와 같은 작물에서 1000만 유로의 피해를 받는다[7]. Plum pox potyvirus는 1970년대부터 유럽 전역에서 100억 유로의 피해를 줬다[12]. 이렇게 식물바이러스로 인한 손실이 이미 막대함에도 지구의 평균 기온의 상승으로 기후가 변하면서 곤충의 개체 수가 급증하고 있다[13]. 이는 곧 더욱 활발한 식물 바이러스의 전파로 이어져 농작물의 손실이 증가할 것이다. 식물바이러스에 대한 대책이 필요한 상황이다. 이 리뷰 논문은 바이러스에 대한 식물의 방어기작과 이를 농업에 활용해 식물바이러스로 인한 피해를 줄이는 방법을 기술하고자 한다.

2. 본론

비기주 저항성은 모든 식물이 병원체에 대해 보유하고 있는 저항성이며, 두 가지 주요 유형으로 나눌 수 있다[14]. 제 1형 비기주 저항성은 두꺼운 세포벽, 리그닌 생성, 2차 대사 산물 생성으로 병원균의 침입을 방지하는 기본 방어 메커니즘이며. 이러한 유형의 내성은 일반적으로 나타나는 병징이 없다[15]. 대조적으로, 제 2형 비기주 저항성은 감염 부위의 괴사 유도과 관련이 있으며, 병원체가 제 1형 내성을 극복할 때 유발된다[15]. 본론에서는 제 2형 비기주 저항성에 해당하는 우성유전자기반 저항성, 열성유전자기반 저항성, 전신획득 저항성에 대해 알아볼 것이다.

2.1 우성유전자 기반 저항성

식물의 우성저항성 유전자 (R gene)는 식물과 바이러스의 상호작용을 연구하는 것을 통해 그 특성이 확인되었으며 대부분 nucleotide binding site leucinerich repeat (NBS-LRR)구조를 가지고 있다. 바이러스의 비기주 유전자 (avr gene)와 "gene-for-gene" 개념을 통한 특이적인 반응 인식을 통해 병저항성을 가진다[16]. 저항성 유전자 기반 바이러스 병 면역반응 기작에 대한 연구는 1) Tobacco mosaic virus (TMV), 2) Potato virus X (PVX), 3) Turnip crinkle virus (TCV)들을 대상으로 비교적 많이 이루어졌다.

1)TMV에 대응하는 저항성 유전자는 담배의 N gene이며 N gene은 TIR-NBS-LRR 구조를 가지고 있다. 또한 TMV의 replicase domain과 ATP에 직접적으로 의존하는 상호작용을 한다[17]. TMV에 대한 저항성이 유도되기 위해서는 기주 내 N receptor interacting protein 1 (NRIP1)이 필요하며 NRIP1은 엽록체로부터 세포질

과 핵으로 이동하면서 TMV의 복제효소와 N 단백질이 상호작용하는 것으로 알려져 있다[18].

2)PVX에 대한 저항성 유전자는 Rx1 유전자이다. Rx1 유전자는 CC-NBS-LRR 구조를 가지고 있으며 PVX의 외피 단백질을 인식해서 저항성을 나타낸다. Rx1의 CC 도메인은 ranGTPase-activating protein 2 (ranGAP2)와 heterodimer를 형성하며 직접적으로 Rx1의 기능에 영향을 미치게 된다[19]. ranGAP2 단백질은 아직까지 잘 알려지지 않은 host factor을 통해 외피 단백질과 간접적인 상호작용을 하며 이로 인하여 단백질 복합체의 구조적 변화로 인해 Rx1 단백질의 활성을 도와준다[20].

3)TCV는 애기장대를 감염시키는 바이러스이다. 애기장대 Di-17에 침입을 하면 CC-NBS-LRR 구조를 가진 HRT 저항성 단백질과 rrt라는 recessive locus에 의하여 HR이 초기에 나타나게 되고 저항성이 활성화된다. TCV에 대한 HRT 저항성 단백질 기반 면역반응에는 SA에 관련 유전자 Enhanced diseasesusceptibility 5 (EDS5), Senescence-associated gene 101 (SAG101), Salicylic acid induction-deficient 2 (SID2), Phytoalexin deficient 4 (PAD4)가 직접적으로 관여하며, HRT와 EDS1은 직접적인 상호작용을 한다. 또한 TCV 저항성은 빛에 의해 직접적으로 영향을 받으며 청색광 수용체가 HRT degrada/-tion에 영향을 미치게 되면 TCV에 대한 저항성을 약화시킨다[21].

2.1.1 HR

hypersensitive response (HR)은 식물의 병원균 감염 확산을 방지하기 위한 기작인데, 감염부위를 둘러싸고 있는 특정 지역의 세포가 빠르게 사멸하는 것이다. HR이 일어나기 위해서는 식물과 병원체 서로가 인식되어야 한다. 병원체가 식물을 인식하기 위해서는 type III secretion system (TTSS)이 필요한데, TTSS는 병원성 박테리아에서 바늘과 같은 구조로 진핵생물의 존재를 감지하고 박테리아 감염을 돕는 단백질을 분비하는 감각탐사 역할을 한다[22]. TTSS에서 분비된 이펙터 단백질은 박테리아 세포에서 직접 진핵세포로 분비된다[22]. TTSS 구조물이 이펙터라는 일련의 단백질들을 합성하여 균주 외부에 분비하면, TTSS를 통하여 숙주 세포 내부로 주입되어 숙주 세포의 감염을 촉진하고, 방어를 억제해 식물의 HR을 유발한다[23].

식물이 병원체를 인식하기 위해서 세균성 편모, 지질다당류, 펩티도글리칸과 같은 병원체와 관련된 분자 패턴인 pathogen or microbial-associated molecular patterns (PAMP)를 인식한다. PAMP를 인식하는 것은 식물의 패턴 인식 수용체인 PRR이라는 특수한 막 횡단 단백질인데, pattern recognition receptors (PRR)이 PAMP를 인식하면 기본저항의 활성화로 이뤄지는 다운스트림 신호 전달이 발생하고, PAMP-Triggered Immunity (PTI)을 유발한다[24]. PTI는 avr 인자인 병원체에 코딩된 이펙터 단백질에 의해 억제 될 수 있다[25]. avr 인자는 식물의 R 단백질에 의

해 인식이 되며, 인식이 되면 effector-triggered immunity (ETI)라는 강력한 저항성을 부여한다. ETI는 감염 부위에서의 세포사멸을 유발한다.

식물의 R 유전자에 의해 매개되는 저항이 HR을 유도한다. 때문에 대부분의 식물 R 유전자에 암호화되어 있는 nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors (NLR) 단백질은 HR 과정에 중요한 역할을 한다[26]. NLR 단백질 도메인 구성은 NB-ARC 도메인으로 구성되며, NLR 단백질 활성화와 관련된 형태적 변화를 담당한다. 비활성 상태에서 NB-ARC 도메인은 adenosine diphosphate (ADP)에 얽매어 있지만 병원체가 감지되면 ADP는 adenosine triphosphate (ATP)로 바뀌며 이러한 변화가 NLR 단백질의 형태적 변화를 유도하여 HR이 유도된다. 병원균의 독성 인자를 NLR에 직접 결합시키면 HR을 활성화시킬 수 있지만 일반적으로는 독성인자로 인해 변형하는 특정 세포 단백질을 인식하며 특정 세포 단백질의 변형이 NLR에 감지가 된다. 이런 간접적인 인식이 일반적인 이유는 다중 독성인자가 동일한 변형으로 동일 세포 단백질을 변형시킬 수 있으므로 하나의 수용체가 다중 독성인자를 인식할 수 있기 때문이다[27].

NLR은 개별적으로 기능을 할 수도 있지만 NLR 단백질이 쌍으로 작동하는 경우도 있다. 쌍으로 작동하는 경우 센서 NLR과 도우미 NLR로 구성된다. 센서 NLR은 병원체에서 분비된 이펙터 단백질을 인식하고 도우미 NLR을 활성화시켜 세포사멸을 실행하는 역할을 한다. 센서와 도우미 NLR은 계놈에서 쌍을 이루며 이 둘은 동일한 프로모터에 의해 제어 가능하다. 이는 동일한 양의 NLR이 만들어지도록 한다[28]. NLR이 쌍으로 작동하는 경우 부정적인 조절 또는 협력 조절이라는 두 방법을 통해 이뤄진다. 부정적인 조절에서는 센서 NLR은 도우미 NLR을 음성으로 조절하며 정상적인 조건에서 세포사멸을 방지한다. 그러나 이펙터 단백질이 센서 NLR에 인식될 때 도우미 NLR의 음성조절이 완화되고 HR이 유도된다. 협력 조절에서는 센서 NLR이 이펙터 단백질을 인식할 때 도우미 NLR에 신호를 보내어 활성화시킨다[29].

N-terminus에서 NLR은 Toll/IL-1 receptor (TIR)영역 또는 coil-coil (CC) 모티브를 가지고 있다. TIR과 CC 영역 모두 HR 중 세포사멸의 원인이 된다[30]. 이 밖에도 R 유전자가 활성화가 되면 수산화물과 칼륨이 세포 밖으로 유출되고 칼슘과 수소 이온이 세포 안으로 유입되는 이온 유속을 유발한다. 이후 HR에 관여하는 세포는 ROS, 과산화물 음이온, 과산화수소, 하이드록실 산소, 아산화질소를 생성하여 산화물 유동을 일으킨다. 이는 세포막 기능에 영향을 미치며 부분적으로 지질 과산화를 유도하여 지질 손상을 야기한다[31]. 세포의 이온 구성의 변경과 ROS로 인하여 세포 구성물이 분해되면 세포의 죽음에 영향을 미치게 된다. ROS는 역시 리그닌과 칼로스퇴적을 유발하고 PPPY 모티브에 있는 티로신을 통해서 벽 매트릭스에 미리 형성된 hydroxy proline이 풍부한 glyco proteins을 형성한다. 이렇게 생긴 화합물은 감염 주위에 세포벽과 장벽을 만들어 확산을 억제한다[32].

2.2 열성유전자 기반 저항성

열성유전자 기반 저항성은 바이러스의 생물학적 병환에 필요한 기주 인자의 결여로 발생하는 방어기작이다[16]. 열성유전자 기반 저항성은 우성유전자 기반 저항성보다 더 강하게 작용되며 넓은 특이성을 가지고 있기 때문에 돌연변이 발생에 저항성이 쉽게 무너지지 않는다는 특성을 가지고 있다[33]. 이는 바이러스와 식물 사이의 분자적 상호작용을 통해 이뤄진다. 바이러스는 숙주 세포의 단백질을 이용해 자신들의 유전체를 증식시킨 후 건강한 세포로 이동하는 생활사를 가지는데 이때 중요한 역할을 하는 식물 유전자에 돌연변이가 생기게 되면 이용이 억제되면서 식물이 바이러스에 대한 열성 저항성을 얻게 된다.

바이러스에 대한 대부분의 열성 저항성 유전자는 진핵생물의 번역 개시인자인 Eukaryotic translation initiation factor 4E (eIF4E)와 Eukaryotic translation initiation factor 4G (eIF4G) 또는 이들의 isoform(아형)이다[34]. eIF4E는 번역개시 복합체를 이루는 구성요소 중 하나이며 단백질을 복합체로 이동시키는 기능과 mRNA의 캡 결합 단백질 기능을 한다. 열성 저항성은 주로 potyvirus 그룹에 있는 바이러스 들에서 많이 연구되었다. 그 이유는 potyvirus 그룹은 eIF4E 매개 저항성이 나타나기 때문이다. potyvirus 그룹 이외의 바이러스에서도 eIF4E 매개 저항성이 나타나기도 하지만 최소 한 가지 이상의 eIF4E와 상호작용을 하는 바이러스에게만 효과적이라 밝혀졌다[35]. eIF4E 중 기능적으로 다중성이 있는 경우도 있기 때문에 한 가지의 eIF4E 결합이 항상 저항성을 유도하지 않을 수 있기 때문이다[36]. eIF4E가 바이러스의 RNA와 직접적으로 상호작용을 하거나 바이러스 단백질을 통해 바이러스의 RNA에 결합하기도 하는데 eIF4E의 구조가 모든 진핵 생물 사이에서 잘 보존되어 있기 때문이다. potyvirus는 viral protein genome-linked (VPg) 단백질을 통해 직접적으로 eIF4E와 상호작용을 한다. VPg 단백질은 다른 바이러스 단백질이나 기주 단백질과 상호작용 하는 역할을 하며 바이러스의 이동, 복제와 관련된 과정들을 조절하는 허브 단백질로 작용한다[37]. potyvirus에 대한 열성유전자 기반 저항성은 자연적으로 발생한 eIF4E 돌연변이에 의해 VPg 단백질과 상호작용하는 능력을 잃어 바이러스 유전자의 번역이 억제되면서 유도된다[38].

2.3 전신획득 저항성

전신획득 저항성은 식물체에 이미 감염됐던 병원체에 대해 두 번째 감염 때 효과적으로 일어나는 면역반응으로 곰팡이, 박테리아, 바이러스를 포함한 광범위한 병원체에 대한 면역반응이다[39]. 직접적으로 감염되지 않은 부위까지 저항성을 증가시켜 식물 전체가 병원균의 2차 침입에 대해 대비하며, 몇 주부터 한 달, 혹은 한 계절 전

체동안 지속된다[39]. 그렇다면 여기서 한 가지 의문점이 생길 수 있다. '전신획득 저항성 상태가 오래 지속되면 에너지 소모가 너무 큰 것이 아닌가?'. 한 실험에 따르면 방어 메커니즘의 직접적인 유도가 식물의 성장과 종자에 심각한 영향을 미치는 반면 프라이밍은 미미한 영향만을 미친다는 것을 발견했다[40]. 즉 전신획득 저항성 상태는 방어기작을 직접 활성화시킨 것에 비해 비용적인 측면에서 이득이라는 것이고 병원균의 2차 침입에도 빠르게 대응할 수 있는 상태인 것이다. 이런 전신획득 저항성의 정확한 기작을 파악하여 농업에 활용한다면 병충해로 인한 작물 손실을 줄일 수 있을 것이라 기대된다.

전신획득 저항성의 신호전달 기작에 대해서 많은 연구가 진행되었다. 그중에서도 전신획득 저항성과 salicylic acid (SA)에 대한 연구를 보면 내부 SA의 수준을 감소시키고 식물을 질병에 취약하게 만드는 박테리아 유전자 (nahG 유전자)를 과발현하는 식물은 전신획득 저항성이 억제되었다[41]. TMV에 감염된 담배 및 오이에 관한 연구에선 전신획득 저항성 유도 동안 SA가 이동하며 SA가 감염된 식물의 비감염된 잎에까지 전체적으로 축적된다는 것을 보여줬다[42]. 이 결과들을 보면 전신획득 저항성과 SA가 관련이 있다는 것은 충분히 알 수 있다. 이 SA는 phenylalanine ammonia lyase (PAL) 경로 또는 isochorismate synthase (ICS/SID2) 경로에서 합성된다[43]. 언뜻 보면 SA가 전신획득 저항성의 중요 신호인 것처럼 보이지만 SA는 전신획득 저항성의 주요 신호가 아니다[41].

오히려 전신획득 저항성 신호는 휘발성 화합물 Methyl salicylate (MeSA)를 통해 발생하며, MeSA는 식물의 감염되지 않은 부분과 주변 식물에게 신호를 보내 저항성을 가지게 할 수도 있다[44]. 병원체 공격 시 SA가 축적되어 SAMT(Methyl Transferase)에 의해 MeSA로 전환되고, 멀리있는 잎으로 이동한다[43]. MeSA가 도착한 전신의 앞에서는 SA 결합 단백질 2(SABP2)의 메틸 에스테라아제 활성에 의해 MeSA가 SA로 전환되어 전신에 저항성이 유도된다[43]. 1) 식물 세포벽에 리그닌 성분의 축적을 통해 세포벽을 더 경화시키고, 2) 침입 부위에 papillae를 형성하여 병원균의 침입을 기계적으로 억제하고, 3) 표피층을 침입한 병원균 군사 주위에 식물세포가 사멸하는 과민성 반응을 유발하고, 4) PR (Pathogenesis-related)단백질이 생성되어 직접 항균작용을 하거나 다른 항균물질을 생성하는 데 촉매 역할을 하여 저항성을 높인다.

NPR1은 SA 경로의 중요한 하위 요소로 식물 전신획득 저항성의 필수 조절자이다 [a7-45]. 이 SA경로는 NPR1에 의존적인 경로와 독립적인 경로 두 가지로 나뉜다. NPR1 독립경로는 WRKY 전사 인자의 발현을 직접 유도하며, NPR1 의존경로는 NIMIN 유전자와 NPR1/NIM1이 결합하여 형성된 복합체와 TGA 또는 WRKY 전사 인자와의 상호작용을 통해 PR 유전자의 발현을 유도한다[43].

비활성화된 NPR1은 분자 간 이황화 결합을 통해 형성된 올리고머로서 존재한다[45]. 전신획득 저항성 유도 시 NPR1은 단량체 형태로 환원되고[45], 단량체 NPR1은 핵에 축적되어 유전자 발현을 활성화한다[45].

SA처럼 Jasmonic acid (JA) 또한 바이러스 면역반응과 관련있다[16]. 일반적으로 JA는 바이러스보다 세균, 곤충, 곰팡이, 선충 등에 대한 저항성에 관여하는 호르몬으로 잘 알려져 있으며, 바이러스 면역반응에서의 역할은 아직 완전하게 이해되지 못했다[16]. 전신획득 저항성은 SA에 의존적인 반면 유도획득저항성은 JA에 의존적이다[46]. 유도획득저항성은 HR로 시작해서 전신획득 저항성과 협력해서 작용한다. JA 또한 바이러스 면역반응에 관련되어 있으며[16], 유도획득저항성은 전신획득 저항성과 협력해서 작용한다[47].

2.4 농업에 사용 가능한 기술

2.4.1 열성유전자 기반 저항성 활용

전통적으로 식물 바이러스를 방제하기 위해서는 살충제나 천적을 이용해서 매개충을 제거하는 방법을 사용했다. 그러나 바이러스 질병의 발생과 관련된 매개충들의 이동역학과 빠른 바이러스의 진화, 예상 불가한 바이러스 기주 범위 확장 등 여러 복잡한 역학적인 요소들로 인해 장기적인 바이러스 방제 전략을 세우는 것은 어렵다[48]. 때문에 현재 바이러스를 방제하기 위한 효과적인 방법으로는 바이러스 저항성을 가진 품종을 재배하는 것이 대두되고 있다. 그중 열성유전자 기반 저항성을 유도시키는 기술이 연구되고 있다.

열성 저항성을 유도하기 위해서는 열성 저항성을 유도하는 다양한 기주 인자를 알고 이들의 유전자원을 확보하는 것이 우선적으로 연구되어야 한다. 이런 기초 연구 결과를 바탕으로 하여 유전자 편집 기술과 접목시키면 기주 유전자에 돌연변이를 도입하는 것을 통해 열성 저항성을 유도할 수 있다. 이러한 방법이 가능한 이유는 유전자 편집 기술이 발달하고 있기 때문이다. 최근 CRISPR/Cas9과 같은 기술이 발전되어 바이러스 단백질과 상호작용 하는 기주 유전자를 정교한 유전자 교정을 통해 돌연변이를 만들어낼 수 있게 되었다. 열성유전자 기반 저항성 eIF4E에 돌연변이가 생겨 VPg와 상호작용하는 능력을 잃게 되었을 때 주로 일어나게 된다. 때문에 이를 활용한 연구가 많이 진행되었으며 그 예시로는 오이, 콩, 밀 등이 있다. 오이의 경우 기주 유전자인 eIFiso4E에 돌연변이를 유발해 turnip mosaic virus (TuMV)에 대한 열성 저항성을 가진 돌연변이 작물을 개발하였다[49]. 다배체인 콩의 경우 ZFN을 활용하여 병저항성 돌연변이를 만들었으며 이질육배체인 밀의 경우 TALEN를 활용해 3가지의 MILDEW RESISTANCE LOCUS 유전자에 돌연변이를 유발해 흰가루병을 일으키는 곰팡이에 열성 저항성을 가진 작물을 개발하였다[50].

다양한 바이러스에 대해 열성 저항성을 유도시키기 위해서는 바이러스 증식에 필수적인 기주 인자에 대해 밝혀내고 이들의 유전자원을 확보하는 것이 중요하다. 이런

기초 연구를 바탕으로 CRISPR/Cas9과 같은 유전자 편집 기술을 활용하면 더 많은 열성 저항성이 유도되는 작물을 개발할 수 있기 때문이다. 또한 편집 기술의 발전으로 더 세밀한 유전자 편집이 가능할 경우 특정 유전자의 knockout으로 인해 유도되는 식물의 악영향을 최소화할 수 있으며 자연적으로 발생하는 돌연변이와 더 유사해지기 때문에 안전해질 수 있다[51]. 그 예로 최근 바이러스 단백질과 상호작용하는 중요 기주 단백질의 아미노산에 돌연변이를 유입할 수 있는 단일 염기 교정이 가능해졌다[52].

2.4.2 화학물질을 이용한 방법

또 다른 활용방법으로는 식물의 기존 방어기작을 활성화시키는 것이다. Benzo(1,2,3)-thiadiazole-7- carbothiolic acid (BTH)는 식물의 방어기작인 전신 획득 저항성을 유도할 수 있는 합성화학 활성제로, 바이러스와 같은 병원체로부터 식물을 보호하는데 사용될 수 있다[53,54]. 이미 Acibenzolar-S-methyl이라는 ISO 표준 명으로 시장에 출시되어 있기도 하다.

식물은 바이러스나 병원균의 침입 뿐 아니라 methyl jasmonic acid (Me-JA)와 같은 다양한 유도물질에 의해서 방어 작용의 발현이 유도된다. ‘거봉’과 ‘캠벌얼리’ 포도나무 잎에 ethylene, H₂O₂, Me-JA, SA 등의 물질을 저농도와 고농도로 나누어 처리하고 0, 1, 6, 24, 48, 72시간 경과 후 RNA를 추출하여 RT-PCR 등을 실시하여, 병 저항성 유도 물질로서의 활성을 분석한 결과 ‘캠벌얼리’에서는 13개, ‘거봉’에서는 22개의 유전자가 특이적으로 발현하였다. 또한 stilbene 화합물의 생성을 확인하고자 resveratrol, piceatannol, piceid 등의 함량변화를 조사한 결과 resveratrol에서는 큰 변화의 차이는 없었지만, piceatannol과 piceid에서 크게 증가하였으며, 시간이 경과함에 따라 성분 함량이 증가하였다. 식물의 병 저항성 신호 전달 물질을 처리한 식물체를 대상으로 유전자의 발현과 stilbene 화합물의 함량에 변화가 생겼다는 것을 통해 이는 식물체에서 유래한 물질을 처리하여 친환경적인 식물의 병해 발생 억제가 가능하다는 것을 보여준다[56].

3. 결론

식물은 바이러스에 대한 방어 기작으로 우성유전자 및 열성유전자 기반 저항성, 전신 획득 저항성 등 다양한 저항 기작을 갖는 것으로 조사되었다. 우성유전자 기반 저항성은 바이러스의 비기주 유전자와 “gene-for-gene” 개념을 이용하여 특이적 반응을 하는 저항성이다. 우성유전자 기반 저항성으로 인해 일어나는 자기방어 중 하나는

HR인데, HR은 식물의 병원균 감염 확산을 방지하기 위해 감염부위를 둘러싸고 있는 특정 지역의 세포가 빠르게 사멸되는 것이다. 열성유전자 기반 저항성은 바이러스의 생물학적 병환에 필요한 기주 인자의 결여로 발생하는 방어기작이다. 전신획득 저항성은 이미 감염된 병원체에 대해 두 번째 감염 때 효과적으로 일어나는 면역 반응이며 SA를 통해 신호전달이 일어난다. 이러한 식물의 바이러스 저항성 기작은 농업 분야에서 작물 생산량 증대에 유용하게 활용될 수 있을 것으로 전망된다. 대표적으로 CRISPR/Cas9 시스템을 활용한 열성유전자 기반 저항성 발현 작물 개발, 전신획득 저항성 유도 화학물질의 개발을 소개하였다. 그중 CRISPR/Cas9은 기주식물의 특정 유전자에 돌연변이를 일으킴으로써 열성 저항성 돌연변이체를 생산하는 과정에 적용될 수 있다. 특히 보다 정교화 된 CRISPR/Cas9 시스템이 도입될 경우, 단일염기 교정을 통한 기존 한계점 극복이 가능할 것으로 기대된다. 한편, 전신획득 저항성을 유도하는 화학물질도 식물의 방어 기작을 활용한 사례로 유망하다. 관련 물질 중 BTH는 *Nicotiana tabacum*에서 *Oidium neolycopersici*와 *Lycopersicon esculentum*에 저항성을 유도하였다는 보고가 있었다. 하지만 *B. cinerea*와 *O. neolycopersici*에서는 저항성이 유도되지 않았다는 상충된 보고가 있다[55]. 따라서 목적 작물에서 기능할 수 있는 유도제가 조사 및 개발되어야 할 것으로 보이며, 더 나아가 일반적으로 쓰일 수 있는 유도제의 개발이 필요할 것으로 사료된다. 추후 식물의 바이러스 방어 기작에 대한 세부적인 원리 규명과 이를 산업으로 적용하기 위한 연구들이 지속적으로 수행된다면, 농업 분야에서 작물 생산량 증대에 크게 기여할 수 있을 것으로 기대된다.

참고문헌

- [1] 권순배(2005). 식물바이러스 감염에 의한 식물의 생리적 변화 연구에 관한 고찰. BioWave, 7(19): 3. Available from <https://www.ibric.org/myboard/read.php?Board=review0&id=1086> (Mar 17, 2009)
- [2] 식물바이러스의 병해와 그에 따른 진단과 방제
- [3] [네이버 지식백과] 접촉전염 [contact transmission, 接觸傳染] (생명과학대사전, 초판 2008., 개정판 2014., 강영희)
- [4] [네이버 지식백과] 접목전염 [graft transmission, 接木傳染, つぎきでんせん] (농업용어사전: 농촌진흥청)
- [5] [네이버 지식백과] 종자전염 [seed transmission, seed borne, seed infection, 種子傳染, しゅしでんせん] (농업용어사전: 농촌진흥청)
- [6] [네이버 지식백과] 충매전염 [insect transmission, 蟲媒傳染, ちゅうばいでんせん] (농업용어사전: 농촌진흥청)
- [7] Sastry S. K., Zitter T. A. (2014). "Management of virus and viroid diseases of crops in the tropics," in Plant Virus and Viroid Diseases in the Tropics Vol. 2 Epidemiology and Management (Dordrecht: Springer:) 149-480 10.1007/978-94-007-7820-7_2
- [8] Calvert L. A., Tresh J. M. (2002). "The viruses and virus diseases of cassava," in Cassava: Biology, Production and Utilization eds Hillocks R. J., Thresh J. M., Bellotti A. C. (Wallingford: CABI Publishing:).
- [9] Wale S., Platt B., Cattlin N. D. (2008). Diseases, Pests and Disorders of Potatoes: A Colour Handbook. London: Manson Publishing Ltd.
- [10] Moreno P, Ambrós S, Albiach-Martí MR, Guerri J, Peña L Mol Plant Pathol. 2008 Mar; 9(2):251-68.
- [11] Harper, S. J. (2013). Citrus tristeza virus: evolution of complex and varied genotypic groups. Frontiers in Microbiology, 4, 93.
- [12] Cambra, M., Capote, N., Myrta, A., & Llácer, G. (2006). Plum pox virus and the estimated costs associated with sharka disease. EPPO Bulletin, 36(2), 202-204.
- [13] Mysore, K. S., and Ryu, C. M. (2004). Nonhost resistance: how much do we know? Trends Plant Sci. 9, 97-104. doi: 10.1016/j.tplants.2003.12.005
- [14] Deutsch, C. A., Tewksbury, J. J., Tigchelaar, M., Battisti, D. S., Merrill, S. C., Huey, R. B., & Naylor, R. L. (2018). Increase in crop losses to insect pests in a warming climate. Science, 361(6405), 916-919.
- [15] Mysore, K. S., & Ryu, C. M. (2004). Nonhost resistance: how much do we know?. Trends in plant science, 9(2), 97-104.
- [16] de Ronde, D., Butterbach, P., & Kormelink, R. (2014). Dominant resistance against plant viruses. Frontiers in plant science, 5, 307.

- [16] 식물바이러스 면역반응 최신 연구 동향 및 전망, Nam-Yeon Kim1
- [17] Ueda, H., Yamaguchi, Y. and Sano, H. 2006. Direct interaction between the tobacco mosaic virus helicase domain and the ATP-bound resistance protein, N factor during the hypersensitive response in tobacco plants. *Plant Mol. Biol.* 61: 31-45.
- [18] Caplan, J. L., Mamillapalli, P., Burch-Smith, T. M., Czymmek, K. and Dinesh-Kumar, S. P. 2008. Chloroplastic protein NRIP1 mediates innate immune receptor recognition of a viral effector. *Cell* 132: 449-462.
- [19] Tameling, W. I. L., Nooijen, C., Ludwig, N., Boter, M., Slootweg, E., Govers, A. et al. 2010. RanGAP2 mediates nucleocytoplasmic partitioning of the NB-LRR immune receptor Rx in the Solanaceae, thereby dictating Rx function. *Plant Cell* 22: 4176-4194.
- [20] Hao, W., Collier, S. M., Moffett, P. and Chai, J. 2013. Structural basis for the interaction between the potato virus X resistance protein (Rx) and its cofactor Ran GTPase-activating protein 2 (RanGAP2). *J. Biol. Chem.* 288: 35868-35876.
- [21] Jeong, R. D., Chandra-Shekara, A. C., Barman, S. R., Navarre, D., Klessig, D. F., Kachroo, A. et al. 2009. Cryptochrome 2 and phototropin 2 regulate resistance protein-mediated viral defense by negatively regulating an E3 ubiquitin ligase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 107: 13538-13543.
- [22] Pallen M. J.; Bailey C. M.; Beatson S. A. (2006). "Evolutionary links between FliH/YscL-like proteins from bacterial type iii secretion systems and second-stalk components of the FoF1 and vacuolar ATPases". *Protein Science*.
- [23] Vo Dinh Le Tam, 홍순호. Salmonella Type III Secretion System을 이용한 단백질 분비시스템 개발. *KSBB Journal* v.24 no.4, 2009년, pp.393 - 396.
- [24] Schwessinger, B., & Ronald, P. C. (2012). Plant innate immunity: perception of conserved microbial signatures. *Annual review of plant biology*, 63.
- [25] Göhre, V., & Robatzek, S. (2008). Breaking the barriers: microbial effector molecules subvert plant immunity. *Annual review of phytopathology*, 46, 189-215.
- [26] Baggs, E; Dagdas, G; Krasileva, KV (1 August 2017). "NLR diversity, helpers and integrated domains: making sense of the NLR Identity". *Current Opinion in Plant Biology*. 38: 59-67.
- [27] Bonardi, Vera; Dangl, Jeffery L. (2012). "How complex are intracellular immune receptor signaling complexes?". *Frontiers in Plant Science*.
- [28] Van Wersch, Solveig; Li, Xin (August 2019). "Stronger When Together: Clustering of Plant NLR Disease resistance Genes". *Trends in Plant Science*.
- [29] Césari, Stella; Kanzaki, Hiroyuki; Fujiwara, Tadashi; Bernoux, Maud; Chalvon, Véronique; Kawano, Yoji; Shimamoto, Ko; Dodds, Peter; Terauchi, Ryohei; Kroj, Thomas (14 July 2014).
- [30] Takken, Frank LW; Albrecht, Mario; Tameling, Wladimir IL (August 2006).

"Resistance proteins: molecular switches of plant defence". *Current Opinion in Plant Biology*

[31] Matthews, Ben. "The Hypersensitive Response". Agricultural Research Service: Plant Science Institute. The United States Department of Agriculture. Archived from the original on 2007-02-22. Retrieved 2007-01-12.

[32] 강영희, '생명과학대사전', 아카데미서적, 2008

[33] Wang, A., & Krishnaswamy, S. (2012). Eukaryotic translation initiation factor 4E-mediated recessive resistance to plant viruses and its utility in crop improvement. *Molecular plant pathology*, 13(7), 795-803.

[34] Matthews, Ben. "The Hypersensitive Response". Agricultural Research Service: Plant Science Institute. The United States Department of Agriculture. Archived from the original on 2007-02-22. Retrieved 2007-01-12.

[35] Hashimoto, M., Neriya, Y., Yamaji, Y., & Namba, S. (2016). Recessive resistance to plant viruses: potential resistance genes beyond translation initiation factors. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1695.

[36] Martínez-Silva, A. V., Aguirre-Martínez, C., Flores-Tinoco, C. E., Alejandri-Ramírez, N. D., & Dinkova, T. D. (2012). Translation initiation factor AtelF (iso) 4E is involved in selective mRNA translation in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *PloS one*, 7(2), e31606.

[37] Roudet-Tavert, G., Michon, T., Walter, J., Delaunay, T., Redondo, E., & Le Gall, O. (2007). Central domain of a potyvirus VPg is involved in the interaction with the host translation initiation factor eIF4E and the viral protein HcPro. *Journal of general virology*, 88(3), 1029-1033.

[38] 한수정. (2019). 바이러스 열성 저항성: 병저항성 작물 개발을 위한 유전자 교정 소재 발굴연구의 동향. *Research in Plant Disease*, 25(2), 50.

[39] Marion Wenig; Andrea Ghirardo; Jennifer H. Sales; Elisabeth S. Pabst; Heiko H. Breitenbach; Felix Antritter; Baris Weber; Birgit Lange; Miriam Lenk; Robin K. Cameron; Joerg-Peter Schnitzler; A. Corina Vlot. Systemic acquired resistance networks amplify airborne defense cues. *Nature* 2019, 3813(10), <https://www.nature.com/articles/s41467-019-11798-2>.

[40] Van Hulten M, Pelser M, van Loon LC, Pieterse CMJ, Ton J. Costs and benefits of priming for defense in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006;103:5602-5607.

[41] Y. Bektas, T. Eulgem, Synthetic plant defense elicitors, *Front. Plant Sci.* (2015).

[42] L.C. van Loon, The intelligent behavior of plants, *Trends Plant Sci.* (2016), <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2015.11.009>.

[43] Tripathi, D., Raikhy, G., & Kumar, D. (2019). Chemical elicitors of systemic acquired resistance—Salicylic acid and its functional analogs. *Current Plant*

Biology, 17, 48-59.

- [44] van Loon, L. C. (2016). The intelligent behavior of plants. Trends in plant science, 21(4), 286-294.
- [45] Mou, Z., Fan, W., & Dong, X. (2003). Inducers of plant systemic acquired resistance regulate NPR1 function through redox changes. Cell, 113(7), 935-944.
- [46] Ton, J., Ent, S., van Hulten, M. H. A., Pozo, M., Oosten, V. V., Van Loon, L. C., & Pieterse, C. M. (2009). Priming as a mechanism behind induced resistance against pathogens, insects and abiotic stress. IOBC/wprs Bulletin, 44, 3-13.
- [47] Hammond-Kosack, K. E., & Parker, J. E. (2003). Deciphering plant-pathogen communication: fresh perspectives for molecular resistance breeding. Current opinion in biotechnology, 14(2), 177-193.
- [48] Loebenstein, G. and Katis, N. 2014. Control of plant virus diseases seed-propagated crops. Preface. Adv. Virus Res. 90: xi.
- [49] Chandrasekaran, J., Brumin, M., Wolf, D., Leibman, D., Klap, C., Pearlsman, M. et al. 2016. Development of broad virus resistance in non-transgenic cucumber using CRISPR/Cas9 technology. Mol. Plant Pathol. 17: 1140-1153.
- [50] Curtin, S. J., Zhang, F., Sander, J. D., Haun, W. J., Starker, C., Baltes, N. J. et al. 2011. Targeted mutagenesis of duplicated genes in soybean with zinc-finger nucleases. Plant Physiol. 156: 466-473.
- [51] Han, S.-J., Heo, K.-J., Choi, B., & Seo, J.-K. (2019). 바이러스 열성 저항성: 병저항성 작물 개발을 위한 유전자 교정 소재 발굴 연구의 동향. 식물병연구, 25(2), 49-61.
- [52] Cermak, T., Curtin, S. J., Gil-Humanes, J., Cegan, R., Kono, T. J. Y., Konecna, E. et al. 2017. A multipurpose toolkit to enable advanced genome engineering in plants. Plant Cell 29: 1196-1217.
- [53] Gozzo, F., & Faoro, F. (2013). Systemic acquired resistance (50 years after discovery): moving from the lab to the field. Journal of agricultural and food chemistry, 61(51), 12473-12491.
- [54] Friedrich, L., Lawton, K., Ruess, W., Masner, P., Specker, N., Rella, M. G., ... & Métraux, J. P. (1996). A benzothiadiazole derivative induces systemic acquired resistance in tobacco. The Plant Journal, 10(1), 61-70.
- [55] Achuo, E. A., Audenaert, K., Meziane, H., & Höfte, M. (2004). The salicylic acid-dependent defence pathway is effective against different pathogens in tomato and tobacco. Plant Pathology, 53(1), 65-72.
- [56] 한재현, 안순영, 김선애, 최성진, 윤해근. (2012). 식물의 신호전달 물질 처리에 의한 포도나무의 병저항성 관련 방어 반응 유도. 한국원예학회 학술발표요지, 42-42

학부생 Review 논문

식물에서의 정확한 유전체 편집을 위한
새로운 편집기술 개발

Development of Plant Prime-Editing Systems
for
Precise Genome Editing

2020年 11月 28日

상명대학교 융합공과대학
생명화학공학부 생명공학과
김수황 양지원 김흥기 진예솔

지도교수

유 하 영

초록

유전자 가위는 자르고자 하는 염기서열에 정확하게 들어가서 매우 정교하게 잘라내고 붙이는 작업을 수행해야 한다. 그러나 낮은 확률로 자르고자 하는 표적 부분에 들어가지 못 할 경우, 큰 문제가 발생하게 된다. 유전자가 잘못 교정되어 돌연변이가 생기거나 유전자 자체가 통째로 제거되는 경우가 생길 수 있다. 이를 예방하기 위해 더욱 정교한 작업을 수행하는 프라임 유전체 편집기(Prime genome editor)라는 기술이 등장하게 되었다. 이 기술은 해석 그대로 최고의 유전자편집기다. DNA 변화에 대한 제어 능력을 향상시킴으로써, 지금까지 유전자 편집기술의 난제들을 해결해줄 수 있는 기술로 파악된다. Prime editing은 2019년 10월 미국 하버드대 데이비드 리우 교수 연구팀이 네이처에 발표하면서 '4세대 유전자 편집' 기술로 주목받았다. 기존의 유전자편집 기술의 정밀도를 크게 향상시키면서 "워드프로세서를 사용하듯이" 자유자재로 유전자를 편집할 수 있는 기술로, 유전자편집 기술을 또다른 차원으로 진화시킬 것으로 평가된다. 프라임편집 도구에서 사용되는 Cas9 효소는 한 가닥의 DNA만 절단하도록 변형되었다. 그 다음으로, 역전사효소라는 제2의 요소가 RNA 가닥의 안내를 받으며 등장하여, 절단된 부위에서 편집 작업을 수행한다. 프라임편집의 효소는 유전자편집을 위해 두 가닥의 DNA를 절단할 필요가 없으므로, 연구자들로 하여금 '(연구자의 통제권에서 벗어난) 세포 자체의 DNA 수리시스템에의 의존'에서 벗어나 '자신이 원하는 편집'을 수행할 수 있도록 해준다. 2020 10대 바이오 미래유망기술로 선정된 프라임편집(prime editing)이라는 이름의 도구는 '예측 불가능한 변화의 혼합체' 대신 '연구자들이 원하는 변화'만을 얻을 수 있는 가능성을 높인다. 또한 이 도구는 일부 응용분야에서 직면한 문제의 핵심인 표적 이탈 효과를 줄여준다. 이 도구를 통해 식물에서의 스크리닝 효율성을 증가시키고 농작물 개선이 가능하며 더 나아가 인간의 유전체 편집 등 까지 기대해볼 수 있을 것이다.

목 차

1. 서론	103
2. 본론	103
2.1. 식물에서 HDR 매개 유전체 편집이 자리잡지 못한 이유	103
- CBE와 ABE의 소개와 한계점	
2.2. PE의 구성요소	104
- 식물을 위한 PE 시스템 구축	
- 형질 전환 식물에서 pPE2 시스템을 사용한 정확한 유전체 편집	
2.3. 형질 전환 식물에서 PE3, PE3b, pPE2 시스템을 사용한 PE	109
2.4. Vector Construction	110
2.5. Genotyping	110
3. 결론	111
참고문헌	113

1. 서론

프라임 편집 시스템(PE)은 인간 세포에서 효율적이고 정확한 유전체 편집 기능을 수행할 수 있는 장점을 갖고 있다. 본 연구에서는 먼저 plant Prime Editor 2 (pPE2) 시스템을 개발하여 쌀의 HPT-ATG reporter에 표적 돌연변이를 발생시켜 그 활성성을 시험했다. 이를 통해 pPE2 시스템이 다른 유전체 부위에서도 역시 유용한 편집을 유도할 수 있다는 것을 밝혀냈다. 형질전환된 T₀ plants의 경우, pPE2가 생성한 돌연변이는 0~31.3%의 빈도로 발생했으며, 이는 pPE2의 효율성이 여러 유전자 부위 및 다양한 구조의 Prime-editing guide RNA(pegRNA)에서 크게 달라질 수 있음을 나타내었다. 편집의 효율성을 최적화하기 위해 인간 세포의 PE3 및 PE3b 전략을 따라 gRNA를 pPE2 시스템에 도입하였다. 그러나 테스트 결과 genomic site에서 pPE3 시스템은 pPE2 시스템과 비슷하거나 더 낮은 편집 빈도만 만들어냈다. 따라서 prime-editing 된 세포들의 질을 높이기 위해 HPT-ATG reporter를 결합하여 대리 pPE2 시스템을 개발하였다. 대리 pPE2 시스템을 사용하여 변환된 저항성 calli에서는 nucleotide의 편집이 쉽게 발견되기도 했는데, 이는 편집된 세포들의 강화된 screening efficiency 때문이라고 여겨진다. 종합해보면 본 연구에서 개발한 식물 PE 시스템은 쌀 유전체에서 다양하고 유연한 편집을 제공할 수 있다는 결과를 도출할 수 있었다. 이로 미루어 보아 다른 식물체에도 적용함으로써 현재의 Cas9 시스템의 단점을 보완할 수 있는 새로운 기술로 자리 잡을 수 있을 것으로 전망된다.

2. 본론

2.1. 식물에서 HDR 매개 유전체 편집이 자리 잡지 못한 이유

식물의 유전체 편집은 오랫동안 실용적인 유전체 연구 및 작물의 육종을 위해 요구되어왔다. 널리 사용되는 특이적 서열인 CRISPR 관련 시스템은 진핵생물의 유전체에 *)DSB를 도입할 수 있다. donor DNA가 있는 경우 조작가능한 서열의 결실, 삽입 및 교체는 DSB의 **)HDR을 통해 생성될 수 있다. 수많은 노력을 했지만, HDR 매개 정밀 유전체 편집법은 주로 극히 제한된 재조합 빈도와 외인성 유전자의 전달 장벽 때문에 여전히 식물에서 제대로 자리 잡지 못했다.

*) DSB : Double Strand Break; 이중 나선이 끊어진 상태

**) HDR : 상동재조합수리; 상동유전체를 주형으로 하여 절단 부위 주변을 재조합하여 수리하는 방식으로 보통 활발하게 분열하는 세포의 S나 G2/M시기에만 가능한 세균의 DNA 손상 수리 메커니즘

CBE와 ABE의 소개와 한계점

CRISPR/Cas9 매개 염기 편집 시스템은 DSB형성 또는 donor DNA와 관계 없이 원하는 서열을 치환하기 위해 개발되었다. 현재까지 *)CBE, ABE 2가지 유형의 염기 편집 도구가 비가역적인 편집을 진행하기 위해 개발되었다. CBE의 경우 현재 rat에는 APOBEC1, PmCDA을, human에는 AID, APOBEC3A를 nickase에 융합하여 uracil glycosylasae inhibitor[12,24,28,34] 없이 사이토신에서 티민으로의 전환을 가능하게 했다. 아데닌 편집의 경우, TadA(*E.coli*-tRNA-adenosine deaminase)는 DNA adenosine deaminase 활성을 위해 **)유도진화함으로써 설계되었다. TadA-7.10 및 nSpCas9 D10A에 의해 구축된 ABE는 원치않는 돌연변이의 발생을 무시할 정도로 아데닌에서 구아닌으로 효율적으로 변환할 수 있었다[6]. 또한, CBE와 ABE는 모두 다양한 모델 식물과 작물에서 성공적으로 적용되었다[5]. 위는 식물의 키, 개화시기, 질병 저항성 및 제초제 저항성을 포함한 중요한 농업적 특성을 개선하기 위해 주요 유전자를 표적 치환하는데 널리 사용되었다[2,4,11,18,23,30,32,36,41]. 또한 BE는 식물내에서 초기에 정지코돈을 생성하거나 pre-mRNA의 잘못된 스플라이싱을 유도하여 유전자에 지장을 주기 위해 사용되었다[11,15,16,21,40]. 더해서 sgRNA library와 함께 BE는 원하는 부위에 고밀도 편집으로 식물 유전자의 유도진화를 촉진할 수 있다[13,17,22]. BE는 식물에서 더 나은 응용을 위해 광범위하게 최적화되었다. 이 편집 범위를 확장하기 위해 SpCas9(절단효소)을 Cas ***)orthologs로 교체하거나 ****)PAM을 포함한 진화된 SpCas9으로 대체하였다[8,9,25,29,35,42]. 게다가, 융합 단백질 구조의 변이, deaminase orthologs의 활용 또는 선택-강화 시스템의 개발을 통해 BE의 효율성이 향상되었다[10,14,19,26,38,43]. BE에 의한 편집은 효율성 및 생성물의 순도측면에서 HDR 매개 편집기를 능가하였다. 그러나 염기 치환 및 삽입과 같은 많은 돌연변이 유형은 현재의 BE로는 처리할 수 없어 식물에 BE의 적용은 크게 제한된다. 따라서 식물에서 여러 유형의 유전체 편집을 제공하는 새로운 시스템이 매우 요구된다.

2.2. PE의 구성요소

앞서 말했듯, PE는 DSB혹은 donor DNA없이 정확한 편집을 진행하기 위해 개발되었다. PE(Prime editing)의 주요 구성요소는 쥐과 동물의 백혈병 바이러스 역전사 효소 M-MLV -RT (Moloney murine leukemia virus Reverse Transcriptase)와

*) CBE/ABE : Cytosine/Adenosine base editor; 유전체교정 도구 중 하나로 DNA 염기서열 중 C를 T로, A를 G로 치환시키는 기능을 수행하는 분자생물학적 도구

**) 유도진화 : 연구자가 의도하는 방향으로 단백질이나 염기 서열을 변화시키는 단백질공학의 기술

***) orthology : 종 분화에 의해 분리된, 동일한 조상이지만 서로 다른 두 개의 개별 종으로 갈라지게 되면 결과로 마지막 공통 조상의 단일 유전자에서 수직 하강으로 시작된 다른 종의 유전자

****) PAM : Protospacer Adjacent Motif; 세균에 침입한 바이러스의 서열 일부를 세균 유전체에 저장시킨 서열이 Protospacer이다. 다음에 이 바이러스가 재침입시, 그 부위를 전사하여 gRNA를 생성한다. 이 서열이 침입부위 인접 세균 서열에 붙어 있게 되는데 이 서열을 PAM이라고 한다.

Cas9 nickase(nCas9)의 결합이다[Fig.1,1]. PEgRNA(PE guide RNA)는 nCas9에 의해 부위별 nicking을 조정하도록 설계되었고, 그 후 RT가 사용자 지정 가능한 돌연변이를 설치하는 주형역할을 한다. 여기서 본 연구는 식물의 PE 시스템을 제시하고 쌀에서 다용도적이고 정밀한 유전체 편집이 가능함을 보여준다[44].

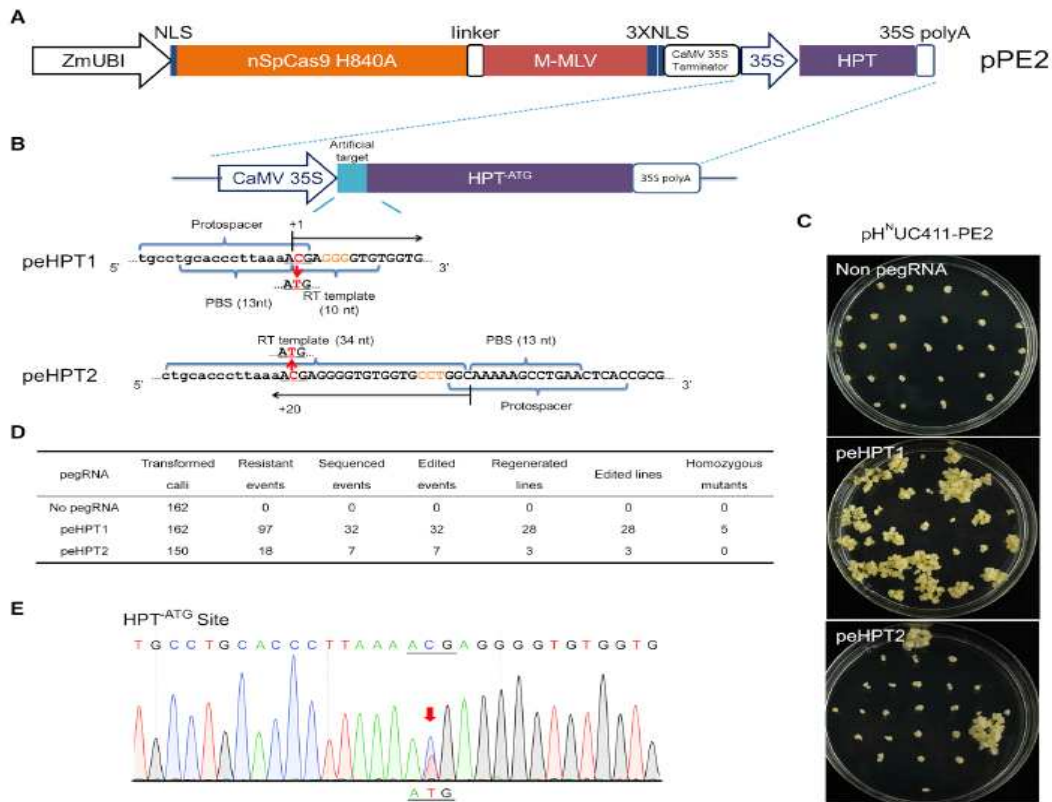


Fig 1. PE3 구성 및 구조

그림출처: Huiyuan Li, Jingying L, Jilin Chen, Lei Yan, Lanqin Xia[18]

식물을 위한 PE 시스템 구축

- pPE2 시스템의 정확한 발현

M-MLV RT 돌연변이의 코딩 서열은 벼 발현을 위해 코돈 최적화되고 합성되었다. 조작된 RT는 33-아미노산 링커를 사용해 SpCas9 H840A nickase의 C말단에 융합되었다[14]. 식물 ABE 최적화에서 얻는 지침에 따라 핵 위치 신호의 사본 1개와 사본 3개를 nSpCas9-RT의 50 및 30 말단에 추가로 융합했다. 융합된 분자인 pPE2는 SpCas9을 대체하여 pHUC411 backbone에서 옥수수 유비퀴틴 프로모터(ZmUBI)의 downstream에 삽입되어 pHUC411과 PE2, 두 부분으로 이뤄진 이원 벡터(binary vector)[Fig.2-A]를 생성하였다. pPE2 시스템의 활성을 직관적으로 검증하기 위해 pHUC411-PE2의 HPT(hygromycin phosphotransferase)유전자를 개시코돈(HPT-ATG)에서 ACG 치환으로 *)null 대립 유전자로 대체하였다. CRISPR 매개 편집

*) binary vector : 식물의 형질전환에 사용되는 plasmid vector

을 가능하게 하기 위해 HPT-ATG 바로 앞에 인공 서열을 표적으로 삽입하였다[38]. 이 서열은 *)OsPDS유전자의 PDS-1표적에서 유래했으며 SpCa9 및 벼에서 높은 효

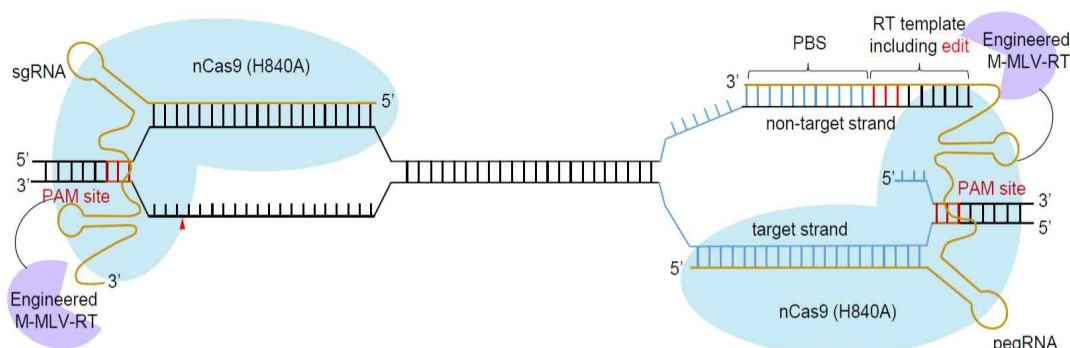


Fig 2. 쌀의 HPT-ATG 리포터 유전자에서 pPE2 유도 편집
그림출처 : Rongfang Xu, Juan Li & Xiaoxhunag Liu (2020) [45]

율로 그 변이체에 의해 강력하게 돌연변이 되었다[27]. peHPT1 pegRNA는 13-nt primer 결합부위(PBS) 서열과 10-nt RT 주형을 sgRNA의 30개 말단에 결합하여 조립되었다[Fig.2-B]. peHPT1은 +1위치에서 C-T 변환을 유도한다. 이 돌연변이는 **) HPT에 대한 시작코돈을 생성하여 편집된 세포에서 Hygromycin 내성을 회복한다. HPT-ATG-함유 pHUC411-PE2 벡터, 즉 pHNUC411-PE2는 peHPT1의 유무에 관계없이 아그로 박테리아를 통해 자포니카 쌀의 캘러스로 형질전환되었다. 예상대로, pegRNA없이 벡터를 형질전환한 캘러스에서는 저항 효과가 관찰되지 않았다. 대조적으로 4주간의 hygromycin 선택 후 pH^NUC411-PE2-peHPT1형질 전환체에서 총 162개의 캘리(59.9%)중 97개의 내성 효과가 얻어졌는데[Fig.2-C], 이는 시작 코돈에서의 돌연변이가 pPE2 시스템이다. 다음으로, Sanger 시퀀싱에 의해 표적 영역을 조사하기 위해 32개의 독립적인 효과가 무작위로 선택되었다. 모든 테스트 샘플에서 +1 위치의 C에서 T로의 변환이 확인되었다[Fig.2-D,E]. 선택적 압력하에서 재생한 후 28개의 형질 전환 식물을 얻었다. 모든 T₀ 재생 식물에서 HPT-ATG 리포터가 수정되고 동형 접합 돌연변이가 5개 라인에서 감지되어 pPE2가 식물에서 정확한 편집을 효율적으로 중재할 수 있음을 확인했다[Fig2.-D]. 또 다른 pegRNA인 peHPT2는 HPT-ATG에서 동일한 표적을 편집하도록 설계되었다. peHPT2는 peHPT1과 다른 protospacer를 사용했다. 13-nt PBS 서열과 34-nt RT 템플릿을 사용함으로써, peHPT2는 HPT-ATG의 가짜의 시작 코돈에서 +20의 위치에서 C에서 T로 변환을 허용했다[Fig.2-B]. hygromycin 선택에서 내성 캘리는 12%의 빈도로 나타났고 후속 서열은 편집이 내성 캘리에서 얻어졌다는 것을 나타낸다[Fig.2-D]. 3개의 돌연변이된 식물 만이 재생되었고, pegRNA가 다른 pPE2 시스템의 가변효율을 시사한다.

**) null allele : 비기능 대립유전자; 활성이 전혀 없는 유전자 돌연변이 (=Non Functional Allele)
*) OsPDS gene : 쌀의 피토크(탄소수 40개의 포화탄화수소)을 이중결합을 생성해 불포화화하는 gene
**) HPT : hygromycin phosphotransferase; 하이그로마이신(항생물질)의 저항을 갖게하는 gene

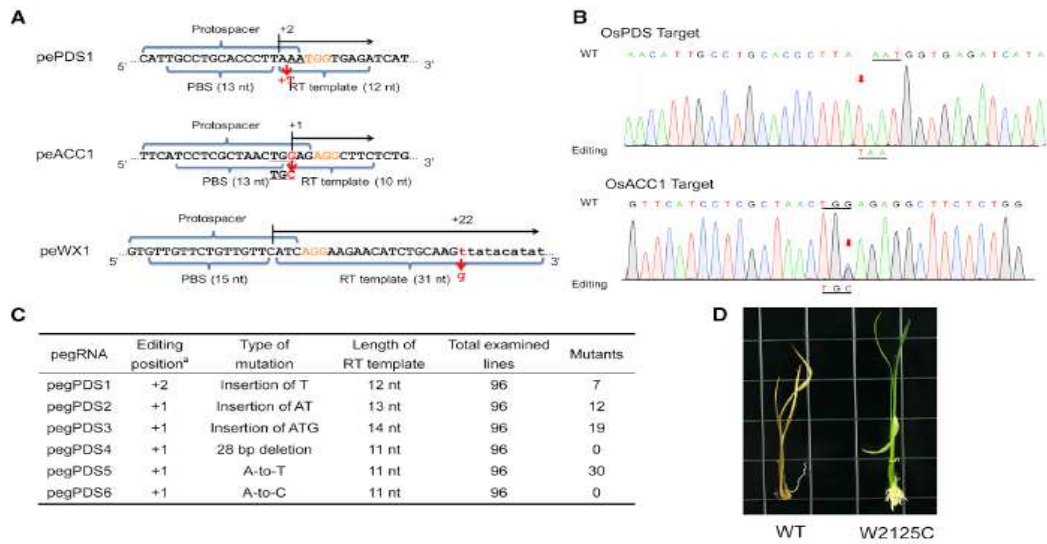


Fig 3. 형질 전환 식물에서 pPE2 시스템을 사용한 정확한 유전체 편집
그림출처 : Rongfang Xu, Juan Li & Xiaoxhunag Liu (2020) [45]

형질 전환 식물에서 pPE2 시스템을 사용한 정확한 유전체 편집

pPE2가 벼의 유전체를 편집하는지 여부를 테스트하기 위해 OsPDS, *)OsACC1 및 **)OsWx의 세 가지 유전체 부위를 표적으로 선택했다. pePDS1 pegRNA는 OsPDS 유전자의 다섯 번째 엑손에서 T의 +2 위치에 삽입을하여 전사체에서 조기 정지 코돈을 생성하도록 설계되었다[Fig.3-A].

Table. 1. 쌀의 OsACC1 site에서의 Prime editing

그림출처 : Rongfang Xu, Juan Li & Xiaoxhunag Liu (2020) [45]

PE system	pegRNA	PBS length (nt)	RT template length (nt)	Nicking position of gRNA	Total examined lines	Edited lines	Plants with by-product mutation
pPE2	peACC1	13	10	–	96	14	0
	peACC2	10	13	–	96	3	0
	peACC3	13	20	–	96	1	0
	peACC4	15	34	–	96	0	0
pPE3	peACC1	13	10	–31	48	9	2
	peACC1	13	10	+78	48	5	0
	peACC1	13	10	+116	48	8	0
pPE3b	peACC1	13	10	–7	96	6	0

형질 전환 후, pPE2 pePDS1 형질전환된 벼에서 알비노 식물이 관찰되지 않았다. 이는 동형 접합 또는 복대립 돌연변이가 없음을 나타낸다. OsPDS 표적 부위는 96개의 독립적인 사건에서 유전자형이 결정되었다. 7개의 식물(7.3%)이 정확하게 편집됨

*) OsACC1 : 벼의 ACC; ACC(효소)의 발현을 억제하면 식물의 보존을 향상시킬 수 있다.

**) OsWx : 벼의 Wx gene; 벼의 전분 합성을 돕는 유전자. 쌀에서 알비노 효과를 일으킴.

나타났다[Fig.3-B,C]. 표현형 관찰과 일치하여 모든 돌연변이는 이형접합으로 추정되거나 *키메라 였다. peACC1 pegRNA는 G에서 T로의 전환을 매개하여 OsACC1 유전자에서 aryloxyphenoxypionate 제조제 내성 관련 W2125C 돌연변이를 생성하도록 설계되었다[Fig.3-A,17]. Hygromycin 선택 형질 전환 식물의 96개의 event에서 14개 라인은 OsACC 부위에서 예상되는 +1 위치에서 G에서 T로의 돌연변이가 나타났다[Fig.3-B and Table.1]. pePDS1 식물의 편집과 유사하게 OsACC1 부위에서 동형 접합 돌연변이가 검출되지 않았으며 돌연변이가 검출되지 않았다. 이는 식물에서 pPE2 시스템의 제한된 효율성을 의미한다. 또한, W2125C 돌연변이 체의 제조제 내성을 5mM haloxyfop-R-methyl이 공급된 **)발근배지에서 조사하였다. 그림 Fig.2-D에서 나타난 바와 같이, 편집된 식물에서는 유의한 성장 억제가 관찰되지 않았다. 제조제 내성의 명백한 향상은 PE 시스템이 작물에서 기능적 이득을 유발하는 돌연변이를 생산하는데 적용될 수 있음을 시사한다. 또한, 31-nt 주형가닥 및 15-nt PBS서열을 사용하여 Wx gene intron1의 splice 부위에서 T에서 G로의 변환을 유도하기 위해 peWx1 pegRNA를 구현하였다[Fig.2-A,3]. 그러나 96lines의 재생 식물을 조사한 결과 OsWx 부위의 +22 위치에서 돌연변이가 나타나지 않았다. pPE2가 식물 유전체에 다른 유형의 돌연변이를 설치할 수 있는지 테스트하기 위해 OsPDS 표적 부위에서 PE를 위해 5개의 추가 pegRNA(pePDS2에서 pePDS6)를 설계했다. 2-3bp 삽입, 28-bp 결실 및 염기 전환은 동일한 protospacer, 동일한 PBS 서열 및 다른 맞춤형 RT 주형가닥을 사용하는 이러한 pegRNA에 의해 OsPDS 사이트의 +1 위치에서 도입되었다[Fig.3-C]. 각 pPE2 벡터에 대해 96개의 독립 사건을 조사하였다. +1 위치(pePDS2 및 pePDS3에 의해)에서 작은 삽입의 돌연변이는 식물의 각각 12.5% 및 19.8%으로 확인되었다[Fig.3-C]. 그러나 pePDS4에 의해 유도된 표적 결실은 형질전환 집단에서 얻어지지 않았다. pePDS5에 의해 유도된 A에서 T로의 전이는 최대 30개의 식물(돌연변이의 약 31.3%)에서 얻어졌고, pePDS6에 의해 유도된 A에서 C로의 전이는 식물에서 생성되지 않았다(96개 중 0개)[Fig.3-C]. PE의 효율성은 인간 세포의 pegRNA 구조와 밀접한 관련이 있다고 제안해왔다[1]. OsACC1 부위에서 세 개의 추가 pegRNA (peACC2에서 peACC4)가 동일한 peACC1의 protospacer로 설계되었다. peACC1의 13-nt PBS서열 및 10-nt RT 주형가닥과 달리, peACC2 pegRNA는 10-nt PBS서열과 13-nt RT 주형가닥을 갖고 있다. pegACC3은 pegACC1과 동일한 13-nt PBS 서열을 갖지만 더 긴 RT 주형가닥(20nt)을 갖고 있다. 또한 확장된 15-nt PBS 서열과 34-nt RT 주형가닥을 peACC4 pegRNA에서 검사하였다. peACC2와 peACC3을 결합한 pPE2에 의해 각각 3.1% (96개 중 3개) 및 1.0% (96개 중 1개)의 계통 만이 편집되었으며, 식물에서는 peACC4 유도 돌연변이가 발견되지는 않았다(96개 중 0개)[Table.1].

*) 키메라 : 두 개 이상의 유전적으로 다른 개체에서 유래하는 세포, 핵, 염색체 혹은 유전자함유 개체

**) 발근배지 : 뿌리유도에 사용되는 배지

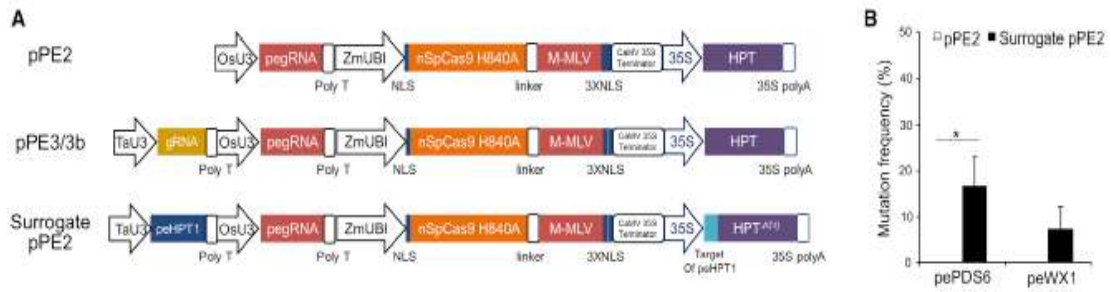


Fig 4. 대리 pPE2 시스템을 도입한 PE 식물의 스크리닝의 용이함
그림출처 : Rongfang Xu, Juan Li & Xiaoxhunag Liu (2020) [45]

2.3. 형질 전환 식물에서 PE3, PE3b, pPE2 시스템을 사용한 PE

인간 세포의 효율성을 최적화하기 위해, 편집된 가닥에 따라 DNA의 불일치를 고칠 가능성을 높이기 위해 편집되지 않은 가닥을 nicking하여 PE3 시스템을 개발하였다 [1]. 또한 실험을 통해 쌀에서 동일한 전략을 테스트했다. 식물 PE3(pPE3) 시스템을 구축하기 위해, pPE2 시스템에서 *TaU3* 프로모터의 제어하에 상보적 가닥을 표적으로 하는 추가 두 번째 gRNA를 표현했다[Fig.4-A]. *peWX1*의 편집 효율을 높이기 위해 PHUC411-PE2-*peWX1* 벡터의 +59 위치에서 nicking을 위한 gRNA를 공동 발현했다. 96 line의 T₀의 형질전환 식물을 조사한 후에도 pPE3 시스템에 의해 표적 편집이 여전히 검출되지 않았다. *peACC1* *pegRNA*의 경우, 3개의 gRNA가 표적 부위의 31,+78 및 +116 위치를 nicking하도록 설계되었다. 결과로, 식물의 18.8% (48개 중 9개)가 사이트의 31번 위치에 gRNA nicking이 있는 pPE3 시스템에 의해 정확하게 편집되었으며, 두 식물에서 gRNA의 표적에 작은 indel(1-bp 결실)이 검출되었음을 발견했다[Table.1].

대리 BE 시스템에서 hygromycin 선택은 HPT-ATG 리포터를 사용해 성공적으로 편집해 세포를 풍부하게 하는데 사용되어 편집된 식물의 스크리닝 효율성을 향상시켰다[38]. HPT-ATG의 선택 복구가 pPE2 매개 편집을 위한 리포터로도 사용될 수 있음을 위에서 알아보았다. 따라서 pH^NUC411-PE2 벡터에서 *pegHPT1* *pegRNA*와 게놈 표적화 *pegRNA*를 공동 발현하여 대리 pPE2 시스템을 구축했다[Fig.3-A]. pHUC411-PE2에서 제한된 편집 효율을 보인 두 개의 *pegRNA*, *pePDS2* 및 *peWX1*이 대리 시스템에서 테스트 되었다. pPE2 및 대리 pPE2 벡터를 병렬로 쌀로 형질 전환하고 hygromycin에 의해 선택하였다. 편집 빈도는 복제 서열에 의해 새로 출현한 내성 캘리에서 결정되었다. 두 개의 *pegRNA*, *pePDS6* 및 *peWX1*이 테스트되었습니다. 두 표적의 모든 클론은 pPE2 캘리에서 야생형이었다. 대조적으로, 클론의 16.7%는 대리 pPE2 시스템에서 *pePDS6* *pegRNA*에 의해 편집되었고 이는 편집된 세포의 상당한 증가를 나타낸다. (p=0.01136)[Fig.4-B]. *peWx1*의 경우 대리 pPE2 시스템에 의한 향상이 통계적으로 유의하지 않았지만 (p=0.05724) 클론의 7.3%에서 표

적 돌연변이가 생성되어 Wxa와 Wxb 사이의 중요한 벼에 있는 대립유전자의 단일 뉴클레오타이드 다형성(SNP)을 모방할 수 있었다.

2.4. Vector Construction

쌀 코돈에 최적화 된 M-MLV RT D200N/L603W/T330P/T306K/W313F 돌연변이가 합성된다. H840A 돌연변이는 빠른 돌연변이 유발 시스템에 의해 식물 코돈 최적화 된 SpCas9에 도입된다. pPE2는 Gibson cloning kit에 의해 만들어졌다. 그 후 pPE2를 pHUC411 벡터에 삽입하여 NotI/SacI 소화로 인한 SpCas9 fragment를 대체했다. protospacer의 이중 가닥, sgRNA 골격, PBS plus RT template 서열을 합성, 열처리하고 Golden Gate assembly 방법으로 pHUC411-PE2 벡터의 BsaI-predigested 된 OsU3 promoter driving expression *)cassette에 삽입했다 [37]. PE3 또는 PE3b를 구성하기 위해 TaU3-SpR-sgRNA 골격(?)을 사용하여 pHUC411-PE2 벡터에서 OsU3-SpR-sgRNA 골격 요소를 대체했다. 먼저 구성된 sgRNA 골격-OsU3 프로모터 시퀀스는 protospacers를 도입하기 위한 증폭 템플릿으로 사용되었고, 그 다음 sgRNA 골격과 PBS plus RT template 서열로 조립되었다. 모든 벡터는 Sanger sequencing에 의해 확인되었다. HPT-ATG를 구축하기 위해 개시 코돈에서의 돌연변이와 **)direct PCR 증폭에 의한 인공 표적 서열을 도입했다. 대리 벡터의 이중 pegRNA expression cassettes는 multiplex sgRNA 구성의 조립 전략에 따라 pHNUC411-PE2 벡터로 구성되었다[37].

2.5. Genotyping

초기 calli는 이전에 기술 된 방법에 따른 형질전환을 위해 쌀 품종 Nipponbare(수량이 낮은 품종)의 성숙한 종자에서 유도되었다[7]. 개별 형질 전환 체의 경우, 150-350개의 아그로박테리아에 감염된 calli가 50 mg/ l hygromycin 미만으로 선택되었다. 각 저항성 결과(사건)에서 1-5개의 작은 황색 calli를 단일 결과로 선택하여 4-5 주 동안 25mg / l hygromycin으로 ***)선택압 하에서 식물을 재생시켰다. 재생된 식물들은 2-3주간의 성장 후에 ****)genotyping을 위해 발근배지로 옮겨졌다. 조직 배양은 26C-28C에서 배양되었다.

T₀ 유전자 변형식물의 Prime editing을 결정하기 위해 genotyping을 위한 단일 sample로 각 사건의 최소 3개의 잎을 함께 선택했다. PCR의 주형가닥으로 사용하기

*) cassette : prokaryote의 경우 여러개의 발현될 gene, Eukaryote의 경우 Intron, Exon을 포함해 Promoter부터 terminator까지의 유전자 부위

**) direct PCR : DNA 추출 과정 없이 시료에서 바로 PCR하는 기술

***) 선택압 : 어떤 집단내의 선발에 의해 유전자군의 상대빈도가 변하는 경우 이때 개개의 유전자에 작용하는 선발의 강도

****) genotyping : 비슷한 시료의 유전자 염기서열이 어떻게 다른가를 알아내는 방법

위해 genomic DNA를 CTAB 방법으로 추출했다. 표적 영역은 부위 특이적 프라이머로 증폭되었다. 돌연변이 임계값 5%의 CRISPR/Cas시스템에 의해 유도된 돌연변이의 높은 처리량 추적을 위한 분석법 Hi-TOM 분석 및/또는 sanger sequencing으로 식별되었다[21].

3. 결론

PE시스템은 인간 세포의 염기 편집 시스템보다 더 폭넓은 범위의 유전체 편집을 유도한다. 여기서 프로그래밍 가능한 *)염기 전위, **)염기 전환, 1-to 3-bp 삽입이 pPE2 시스템에 의해 쌀 genome에 도입되어 식물에서 prime editing의 다용성을 나타낸다는 것을 보여준다. 효율성은 식물 prime-editing 시스템의 응용에 있어 주요한 관심사이다. 일반적으로, 유전자 변형 식물의 절반 이상이 쌀에서 잘 최적화된 염기 편집자에 의해 편집될 수 있다. 그러나 위의 연구에서 가장 효율적인 편집은 식물 유전체 표적부위에서 pPE2 시스템의 제한된 효율을 제시한 31.3%의 유전자 변형 식물 (by pePDS5)에서만 달성되었다. PE2 시스템의 활동은 인간 세포의 pegRNA 서열과 관련이 있는 것으로 생각되고 있다[1]. 또한, 식물에서 HPT-ATG reporter의 동일 표적이 pPE2 시스템에서 다른 pegRNA를 이용하여 매우 다양한 빈도로 수정할 수 있음을 발견했다. 돌연변이체빈도의 분화 또한 peACC1에서 peACC4까지의 유전자 변형 모집단에서도 발견되었다. 이 네 개의 pegRNA는 동일한 protospacer를 가지고 있으며 OsACC1 부위에서 정확히 동일한 +1 돌연변이를 유발한다. PEACC pegRNA의 PBS(primer-binding site) 시퀀스 및 RT template의 길이는 돌연변이 발생 빈도(0% ~ 18.8%) 변화의 주요 요인이어야 한다. 그러므로 식물 genome의 특정 표적에서 pPE2의 이상적인 효율을 달성하기 위해, nick 위치, PBS 길이, RT template을 포함한 각 표적에 대한 pegRNA 설계 인자들을 종합적으로 최적화해야 할 수 있다. 흥미롭게도, pePDS5와 pePDS6 사이에 돌연변이 발생 빈도의 분명한 차이가 관찰되었으며(0 %에 비해 31.3 %), 염기 전이 시 뉴클레오티드에서만 이 서열이 다르다. 이러한 데이터는 SNP조차도 서로 다른 pegRNA 구조를 초래하고 편집 효율성에 큰 변화를 가져올 수 있음을 시사한다. 인간 세포에서는 PE3 및 PE3b 시스템을 통해 prime editing의 효율성을 최적화할 수 있다. 그러나 적어도 본 연구에서 테스트 한 genomic target에서는 돌연변이 빈도가 유의미하게 향상되지 않았다 [Table.1]. 인간 세포의 ***)transfection 동안 전달 된 수많은 PE 복제본과 달리, 매우 제한된 prime-editing 분자는 식물 세포에서 ****)transformation을 얻을 수 있다. 따라서 다른 가닥의 nicking은 단일 표적 편집과 mismatch-repair 기작에서 덜 동기

*) 염기 전위 : pyrimidine 염기가 다른 pyrimidine 염기로 또는 purine 염기가 다른 purine 염기로 치환되는 경우

**) 염기 전환 : purine 염기가 pyrimidine 염기로, pyrimidine 염기가 purine 염기로 치환되는 경우

***) transfection : 정제된 바이러스 핵산이나 플라스미드를 진핵세포에 도입하는 것

****) transformation : 아그로박테리움 매개의 안정한 형질전환

화 될 수 있다. 이전 연구는 염기 편집 세포의 선택적 도움 향상이 편집 된 식물의 스크리닝 효율성을 증가시킬 것이라고 보여주었다[38]. 마찬가지로, 본 연구의 결과는 prime editing된 세포들이 쌀의 calli의 동일한 전략에 의해서도 강화될 수 있다는 것을 보여주었다.[Fig.4-B] 본 논문에서는 네 개의 독립된 그룹들은 쌀과 다른 식물 종에서 일시적으로 또는 안정적으로 PE를 표현함으로써 외인성 또는 내인성 표적에서 성공적인 식물 프라임 편집을 보고했다[18, 20, 31, 45]. 본 연구는 PE시스템으로 통해 식물의 보다 유연한 유전체 편집에 대한 근본적인 접근법을 제공하였다. 현 시점 이후 PE와 관련된 활발한 연구가 진행될 것이 틀림없으며, 농작물 개선을 위한 효율적이고 다용도적인 새로운 기술이 될 것이다. 최신 연구인 만큼 아직 알아가야 할 것들이 많지만, 활용 분야가 무궁무진한 기존의 방식보다 훨씬 효율적이고 획기적인 연구가 될 것이다.

참고문헌

- [1] Anzalone, A.V., Randolph, P.B., Davis, J.R., Sousa, A.A., Koblán, L.W., Levy, J.M., Chen, P.J., Wilson, C., Newby, G.A., and Raguram, A. (2019). Search-and-replace genome editing without double-strand breaks or donor DNA. *Nature* 576:149-157.
- [2] Bastet, A., Zafirov, D., Giovino, N., Guyon-Debast, A., Nogue', F., Robaglia, C., and Gallois, J.-L. (2019). Mimicking natural polymorphism in eIF4E by CRISPR-Cas9 base editing is associated with resistance to potyviruses. *Plant Biotechnol. J.* 17:1736-1750.
- [3] Cai, X.-L., Wang, Z.-Y., Xing, Y.-Y., Zhang, J.-L., and Hong, M.-M. (1998). Aberrant splicing of intron 1 leads to the heterogeneous 5' UTR and decreased expression of waxy gene in rice cultivars of intermediate amylose content. *Plant J.* 14:459-465.
- [4] Chen, Y., Wang, Z., Ni, H., Xu, Y., Chen, Q., and Jiang, L. (2017). CRISPR/Cas9-mediated base-editing system efficiently generates gain-of-function mutations in *Arabidopsis*. *Sci. China Life Sci.* 60:520-523.
- [5] Chen, K., Wang, Y., Zhang, R., Zhang, H., and Gao, C. (2019). CRISPR/Cas genome editing and precision plant breeding in agriculture. *Annu. Rev. Plant Biol.* 70:667-697.
- [6] Gaudelli, N.M., Komor, A.C., Rees, H.A., Packer, M.S., Badran, A.H., Bryson, D.I., and Liu, D.R. (2017). Programmable base editing of A to G in genomic DNA without DNA cleavage. *Nature* 551:464-471.
- [7] Hu, L., Li, H., Qin, R., Xu, R., Li, J., Li, L., Wei, P., and Yang, J. (2016). Plant phosphomannose isomerase a
- [8] Hua, K., Tao, X., Han, P., Wang, R., and Zhu, J.-K. (2019a). Genome engineering in rice using Cas9 variants that recognize NG PAM sequences. *Mol. Plant* 12:1003-1014.
- [9] Hua, K., Tao, X., and Zhu, J.-K. (2019b). Expanding the base editing scope in rice by using Cas9 variants. *Plant Biotechnol. J.* 17:499-504.
- [10] Hua, K., Tao, X., Liang, W., Zhang, Z., Gou, R., and Zhu, J.-K. (2020). Simplified adenine base editors improve adenine base editing efficiency in rice. *Plant Biotechnol. J.* 18:770-778.
- [11] Kang, B.-C., Yun, J.-Y., Kim, S.-T., Shin, Y., Ryu, J., Choi, M., Woo, J.W., and Kim, J.-S. (2018). Precision genome engineering through adenine base editing in plants. *Nat. Plants* 4:427-431.
- [12] Komor, A.C., Kim, Y.B., Packer, M.S., Zuris, J.A., and Liu, D.R. (2016). Programmable editing of a target base in genomic DNA without double-stranded DNA cleavage. *Nature* 533:420-424.
- [13] Kuang, Y., Li, S., Ren, B., Yan, F., Spetz, C., Li, X., Zhou, X., and Zhou, H.

- (2020). Base-editing-mediated artificial evolution of OsALS1 in planta to develop novel herbicide-tolerant rice germplasms. *Mol. Plant* 13:565-572.
- [14] Li, C., Zong, Y., Wang, Y., Jin, S., Zhang, D., Song, Q., Zhang, R., and Gao, C. (2018). Expanded base editing in rice and wheat using a Cas9- adenosine deaminase fusion. *Genome Biol.* 19:59.
- [15] Li, Y., Zhu, J., Wu, H., Liu, C., Huang, C., Lan, J., Zhao, Y., and Xie, C. (2019a). Precise base editing of non-allelic acetolactate synthase genes confers sulfonyleurea herbicide resistance in maize. *Crop J.*
- [16] Li, Z., Xiong, X., Wang, F., Liang, J., and Li, J.-F. (2019b). Gene disruption through base editing-induced messenger RNA missplicing in plants. *New Phytol.* 222:1139-1148.
- [17] Li, C., Zhang, R., Meng, X., Chen, S., Zong, Y., Lu, C., Qiu, J.-L., Chen, Y.-H., Li, J., and Gao, C. (2020a). Targeted, random mutagenesis of plant genes with dual cytosine and adenine base editors. *Nat. Biotechnol.*
- [18] Li, H., L, J., Chen, J., Yan, L., and Xia, L. (2020b). Precise modifications of both exogenous and endogenous genes in rice by prime editing. *Mol. Plant*
- [19] Li, J., Qin, R., Zhang, Y., Xu, S., Liu, X., Yang, J., Zhang, X., and Wei, P. (2020c). Optimizing plant adenine base editor systems by modifying the transgene selection system. *Plant Biotechnol. J.*
- [20] Lin, Q., Zong, Y., Xue, C., Wang, S., Jin, S., Zhu, Z., Wang, Y., Anzalone, A.V., Raguram, A., Doman, J.L., et al. (2020). Prime genome editing in rice and wheat. *Nat. Biotechnol.*
- [21] Liu, Q., Wang, C., Jiao, X., Zhang, H., Song, L., Li, Y., Gao, C., and Wang, K. (2019). Hi-TOM: a platform for high-throughput tracking of mutations induced by CRISPR/Cas systems. *Sci. China Life Sci.* 62:1.
- [22] Liu, X., Qin, R., Li, J., Liao, S., Shan, T., Xu, R., Wu, D., and Wei, P. (2020). A CRISPR-Cas9-mediated domain-specific base-editing screen enables functional assessment of ACCase variants in rice. *Plant Biotechnol. J.*
- [23] Lu, Y., and Zhu, J.-K. (2017). Precise editing of a target base in the rice genome using a modified CRISPR/Cas9 system. *Mol. Plant* 10:523-525.
- [24] Nishida, K., Arazoe, T., Yachie, N., Banno, S., Kakimoto, M., Tabata, M., Mochizuki, M., Miyabe, A., Araki, M., Hara, K.Y., et al. (2016). Targeted nucleotide editing using hybrid prokaryotic and vertebrate adaptive immune systems. *Science* 353:aaf8729.
- [25] Qin, R., Li, J., Li, H., Zhang, Y., Liu, X., Miao, Y., Zhang, X., and Wei, P. (2019a). Developing a highly efficient and widely adaptive CRISPRSaCas9 toolset for plant genome editing. *Plant Biotechnol. J.* 17:706-708.
- [26] Qin, R., Liao, S., Li, J., Li, H., Liu, X., Yang, J., and Wei, P. (2019b). Increasing fidelity and efficiency by modifying cytidine base-editing systems in rice. *Crop J.*
- [27] Qin, R., Li, J., Liu, X., Xu, R., Yang, J., and Wei, P. (2020). SpCas9-NG self-targets the sgRNA sequence in plant genome editing. *Nat. Plants* 6:197-201.

- [28] Ren, B., Yan, F., Kuang, Y., Li, N., Zhang, D., Zhou, X., Lin, H., and Zhou, H. (2018). Improved base editor for efficiently inducing genetic variations in rice with CRISPR/Cas9-guided hyperactive hAID mutant. *Mol. Plant* 11:623-626.
- [29] Ren, B., Liu, L., Li, S., Kuang, Y., Wang, J., Zhang, D., Zhou, X., Lin, H., and Zhou, H. (2019). Cas9-NG greatly expands the targeting scope of the genome-editing toolkit by recognizing NG and other atypical PAMs in rice. *Mol. Plant* 12:1015-1026.
- [30] Shimatani, Z., Kashojiya, S., Takayama, M., Terada, R., Arazoe, T., Ishii, H., Teramura, H., Yamamoto, T., Komatsu, H., and Miura, K. (2017). Targeted base editing in rice and tomato using a CRISPRCas9 cytidine deaminase fusion. *Nat. Biotechnol.* 35:441-443.
- [31] Tang, X., Sretenovic, S., Ren, Q., Jia, X., Li, M., Fan, T., Yin, D., Xiang, S., Guo, Y., Liu, L., et al. (2020). Plant prime editors enable precise gene editing in rice cells. *Mol. Plant*
- [32] Tian, S., Jiang, L., Cui, X., Zhang, J., Guo, S., Li, M., Zhang, H., Ren, Y., Gong, G., Zong, M., et al. (2018). Engineering herbicide-resistant watermelon variety through CRISPR/Cas9-mediated base-editing. *Plant Cell Rep.* 37:1353-1356.
- [33] Veillet, F., Chauvin, L., Kermarrec, M.-P., Sevestre, F., Merrer, M., Terret, Z., Szydlowski, N., Devaux, P., Gallois, J.-L., and Chauvin, J.-E. (2019). The *Solanum tuberosum* GBSSI gene: a target for assessing gene and base editing in tetraploid potato. *Plant Cell Rep.* 38:1065-1080.
- [34] Wang, X., Li, J., Wang, Y., Yang, B., Wei, J., Wu, J., Wang, R., Huang, X., Chen, J., and Yang, L. (2018). Efficient base editing in methylated regions with a human APOBEC3A-Cas9 fusion. *Nat. Biotechnol.* 36:946-949.
- [35] Wang, M., Xu, Z., Gosavi, G., Ren, B., Cao, Y., Kuang, Y., Zhou, C., Spetz, C., Yan, F., Zhou, X., et al. (2020). Targeted base editing in rice with CRISPR/ScCas9 system. *Plant Biotechnol. J.*
- [36] Wu, J., Chen, C., Xian, G., Liu, D., Lin, L., Yin, S., Sun, Q., Fang, Y., Zhang, H., and Wang, Y. (2020). Engineering herbicide-resistant oilseed rape by CRISPR/Cas9-mediated cytosine base-editing. *Plant Biotechnol. J.*
- [37] Xu, R., Yang, Y., Qin, R., Li, H., Qiu, C., Li, L., Wei, P., and Yang, J. (2016). Rapid improvement of grain weight via highly efficient CRISPR/Cas9-mediated multiplex genome editing in rice. *J. Genet. Genomics* 43:529-532.
- [38] Xu, W., Yang, Y., Liu, Y., Kang, G., Wang, F., Li, L., Lv, X., Zhao, S., Yuan, S., Song, J., et al. (2020a). Discriminated sgRNAs-based SurroGate system greatly enhances the screening efficiency of plant base-edited cells. *Mol. Plant* 13:169-180.
- [39] Xu, W., Zhang, C., Yang, Y., Zhao, S., Kang, G., He, X., Song, J., and Yang, J. (2020b). Versatile nucleotides substitution in plant using an improved prime editing system. *Mol. Plant*

- [40] Xue, C., Zhang, H., Lin, Q., Fan, R., and Gao, C. (2018). Manipulating mRNA splicing by base editing in plants. *Sci. China Life Sci.* 61:1293-1300.
- [41] Zhang, R., Liu, J., Chai, Z., Chen, S., Bai, Y., Zong, Y., Chen, K., Li, J., Jiang, L., and Gao, C. (2019). Generation of herbicide tolerance traits and a new selectable marker in wheat using base editing. *Nat. Plants* 5:480-485.
- [42] Zhong, Z., Sretenovic, S., Ren, Q., Yang, L., Bao, Y., Qi, C., Yuan, M., He, Y., Liu, S., Liu, X., et al. (2019). Improving plant genome editing with high-fidelity xCas9 and non-canonical PAM-targeting cas9-NG. *Mol. Plant* 12:1027-1036.
- [43] Zong, Y., Song, Q., Li, C., Jin, S., Zhang, D., Wang, Y., Qiu, J.-L., and Gao, C. (2018). Efficient C-to-T base editing in plants using a fusion of nCas9 and human APOBEC3A. *Nat. Biotechnol.* 36:950-953.
- [44] Li, H., Li, J., Chen, J., Yan, L., & Xia, L. (2020). Precise modifications of both exogenous and endogenous genes in rice by prime editing. *Molecular plant*, 13(5), 671-674.
- [45] Xu, R., Li, J., Liu, X., Shan, T., Qin, R., & Wei, P. (2020). Development of Plant Prime-Editing Systems for Precise Genome Editing. *Plant Communications*, 1(3), 100043.

활동 소개 및 후기

팀별 활동 소개

‘거대세포바이러스의 치료제 개발현황과 연구동향’ 팀

‘인간장내미생물의 개념과 기능’ 팀

‘유도만능줄기세포(ipsc)의 생산을 위한 체세포 리프로그래밍 기작
이해와 의학적 활용에대한 연구’ 팀

‘식물의 바이러스 방어기작과 작물 생산량 증대’ 팀

‘식물에서의 정확한 유전체 편집을 위한 새로운 편집기술 개발’ 팀

COVID 19에 대한 기사 읽고 생각 쓰기

AMP 활동 후기

팀별 활동 소개

-거대세포바이러스의 치료제 개발현황과 연구동향-

박윤진, 김민하, 홍유진, 홍지예

저희 조는 거대세포바이러스의 정의와 치료제를 사용하여 리뷰논문을 작성하였습니다. 현재 코로나의 심각성으로 바이러스에 관한 관심이 극대화되며 흔하지 않으며 사람들에게 많이 나타나는 바이러스를 찾다가 거대세포바이러스에 눈을 돌리게 되었습니다. 다른 바이러스에 비해 치사율도 높지 않고 흔하지 않은 바이러스라 정보가 매우 부족하였지만 조원 간에 서로서로 도와가며 잘 끝낼 수 있었던 것 같습니다. 또한, 코로나로 인해 실험도 하지 못하고 만나는 것조차 힘들었지만 화상으로라도 잘 참여해주어서 감사했습니다. 거대세포바이러스란 단순포진 같은 바이러스로 대부분 사람이 몸속에 가지고 있다고 표현할 수 있습니다. 이 바이러스는 우리 몸의 면역력이 떨어짐과 동시에 활성화되며 여러 작용기에서 해를 끼치기도 합니다. 지금까지 바이러스를 죽이는 치료제는 개발되지 않았으며 바이러스의 활성을 막는 정도뿐이라고 알려져 있습니다. 거대세포바이러스는 우리 몸의 여러 장소를 자유자재로 다닌다는 점에서 벡터로 사용 가능한 것으로도 알려져 있는데 이것으로 뇌에 사용하는 약과 같은 것들을 만든다고 합니다.

이번에 리뷰논문을 작성하며 바이러스를 제거하는 데에 초점을 맞추는 것이 아니라 더 나아가서 바이러스를 우리 몸에 유용하게 사용하고자 하는 방안을 생각해보는 시간이 된 것 같습니다. 새로운 주제로 각국의 논문을 찾아보아야 했던 어려움이 있었지만, 열심히 따라와 준 조원들에게 큰 감사함을 느꼈고 중간중간 힘든 점도 많았지만, 이성호 교수님과 박진수 조교님께서 도와주신 덕분에 끝낼 수 있었던 것 같습니다. 처음 논문을 써보는 만큼 새로운 경험과 값진 기회가 된 것 같다고 생각합니다.



팀별 활동 소개

-인간장내미생물의 개념과 기능-

이하은, 한승민, 이가빈, 정민영

2020년 7월 AMP 논문 리뷰팀이 되어서 회의를 통해 각자의 관심분야를 나누고 주제를 정하는 것을 필두로 팀 활동이 시작되었습니다. 이후 9월에 학기가 시작되고서는 학교 프로그램 스터디상생플러스 융복합프로젝트 연구 보고서 부문에 참가하여 동아리 활동과 병행하면서 논문을 작성했으며 11월 말에 논문을 완성하여 기한 내 제출까지 완료하였습니다. AMP 및 상생플러스 활동의 지도교수님이신 김창배 교수님께서서는 논문에 대하여 세부 주제 선정, 논문 작성 방식, 용어 및 개념 정립 등을 지도해 주셨으며 이 외에도 생명공학에 대한 전반적인 지식을 지도해주심으로서 저희의 실력을 점검하고 향상하는 기회를 제공해 주셨습니다. 작성한 논문의 제목은 '인간장내미생물의 개념과 기능(Concept and Function of Human Gut Microbiota)'이며 인간장내미생물이 무엇인지와 장내미생물이 인체에서 발생하는 기관별 질환에 어떤 영향을 미치는지에 관하여 주로 서술하였습니다.

서로 얼굴 한 번 못 본 상황에서 카카오톡(KakaoTalk)과 줌(Zoom)으로만 회의하며 논문을 작성했지만 팀으로서 서로 존중하며 배려하는 가운데 논문 작성을 끝마쳤습니다. 관심분야에 따라 팀이 꾸려진 것이 아니다 보니 자신의 관심 분야와 공통의 주제가 서로 다를 수 있었음에도 불구하고 함께 화합하여 하나의 논문을 끝마칠 수 있어서 감사하다는 생각이 듭니다. 이번 활동은 자신이 맡은 부분을 무엇 하나 소홀히 하지 않았던 저희 팀 각자에게 주제에 관한 기초지식은 물론 다양한 연구논문을 접하는 노하우와 관련 지식들을 습득하는 값진 자산이 된 것 같습니다. 팀을 위해 고생하며 함께해준 팀원 모두에게 감사하다는 말씀 전합니다. 또한 팀원들을 지도해주시고 학생으로서 배워야 할 것들을 지도해주신 김창배 교수님께 감사의 말씀을 전합니다. 감사합니다.



팀별 활동 소개

-유도만능줄기세포 생산을 위한 체세포 리프로그래밍 기작 이해와 의학적 활용에 대한 연구-
김솔빈, 장희준, 설지윤, 김예인

저희 팀은 줄기세포라는 공통적인 관심사를 주제로 논문 공부를 시작하였고 그 과정에서 iPSC생산의 기초가 되는 체세포 리프로그래밍에 매력을 느껴 한 학기동안 이를 중심으로 리뷰 보고서를 작성하였습니다. 처음에는 줄기세포라는 큰 주제가 매우 어렵게 느껴지고 자료도 부족하여 활동을 시작하는데 감을 잡기 어려웠습니다. 그러다 체세포를 줄기세포로 리프로그래밍 한다는 구절을 발견하였고 저희는 세포의 유전정보를 배아상태로 '초기화'하는 것이 매우 흥미롭게 느껴져 이를 본격적인 주제로 삼아 활동을 시작하였습니다.

체세포를 리프로그래밍하기 위해서는 Oct4, Sox2, Klf4, c-MYC 등의 인자가 필수로 필요합니다. 이들은 배아줄기세포의 초기 상태에서 발현되는 인자로 줄기세포의 만능성 획득 및 유지에 중요한 역할을 합니다. 리프로그래밍 인자 및 인자들의 유전정보가 체세포 내에 도입되면 다양한 신호 기작에 의해 리프로그래밍 즉 유전정보 초기화가 시작됩니다. 세포가 스스로 이 인자들을 발현하고 만능성을 획득하면, 우리는 이것을 iPSC라고 부릅니다. iPSC는 난치성 질병 치료제나 동물 모델을 대신하는 질병 모델로 이용될 수 있습니다. 저희 팀은 치료제 제작 및 질병 모델링의 원리와 임상 적용 가능성에 대해서도 조사하였습니다. 그러던 중 안예진 교수님께서 코로나19 치료제로서의 가능성에 대해서 알아보는 것과 줄기세포 연구 동향을 살펴보는 것을 추천해 주셨고 덕분에 저희는 보고서에 더 유용한 내용을 담을 수 있었습니다. 특히 줄기세포를 코로나와 연결시켜 생각해 봄으로써 저희의 융합적인 사고도 기를 수 있었던 것 같습니다.

한 학기동안 활동하면서 효율적으로 팀프로젝트를 진행하는 방법에 대해 고민하였고 많은 시행착오를 겪었지만, 모두가 적극적으로 참여한 덕분에 저희 스스로 자랑스러운 보고서를 만들 수 있었다고 생각합니다. 또한 이 과정에서 논문을 찾고, 해석하고, 정리하는 능력이 성장한 것 같아 매우 뿌듯합니다. 마지막으로 저희 팀에 관심을 가지고 저희가 많은 성장을 이룰 수 있도록 조언을 아끼지 않으신 안예진 교수님께 감사말씀 드립니다.



팀별 활동 소개

-식물의 바이러스 방어기작과 작물 생산량 증대-
손혜림, 송윤석, 신유나, 유호인

저희 팀은 식물의 자기방어 방법에 대해 흥미를 느끼고, 이를 더 알아보고 싶어 ‘식물의 바이러스 방어기작과 작물 생산량 증대’를 주제로 삼아 리뷰논문 활동을 하게 되었습니다. ‘식물의 자기방어’라는 큰 주제를 처음 시작으로 삼아 세부적으로 틀을 잡기까지 많은 어려움이 있었는데 벌써 활동을 마무리하게 되었다는 것이 감회가 새롭습니다. 상생 플러스라는 좋은 활동 기회까지 얻게 되어 더 열심히 활동에 임할 수 있었던 것 같습니다.

‘식물의 바이러스 방어기작’은 우성유전자 기반 저항성, 열성 유전자 기반 저항성, 전신 획득 저항성이 있다는 것을 알 수 있었습니다. 이외에도 다양한 방어기작이 있겠지만 저희 팀은 이 3가지 방어기작에 대해 상세히 알아보고자 하였고 이를 활용하는 방안에 대해 찾아보게 되었습니다. 처음 너무 큰 주제를 선정하고 목차를 만들기까지의 어려움이 많았는데 기장서 교수님의 도움을 통해 문제를 해결할 수 있었습니다. 이 밖에도 여러 논문 작성시 주의사항에 대해 알려주신 것이 큰 도움이 되었습니다.

리뷰 논문에 참여했던 모든 팀원들에게 논문과 더욱 친근해질 수 있었던 좋은 기회였고 1학년 2학년 모두 부족한 점이 많았지만 서로 보완해 가며 결과물을 만들 수 있었던 값진 경험이었습니다. 코로나 때문에 여러 번의 활동을 온라인으로 진행하게 되었는데 그럼에도 불구하고 모두 잘 참여를 해주어서 잘 마무리할 수 있었던 것 같습니다.



팀별 활동 소개

-식물에서의 정확한 유전체 편집을 위한 새로운 편집기술 개발-
김수향, 양지원, 김흥기, 진예솔

저희 조는 2020년도 AMP 활동에서 조원들과 각자 관심 있는 생명공학 지식을 공유하였고 공통된 관심 분야를 바탕으로 리뷰논문을 작성하였습니다. 본격적인 리뷰논문 작성에 앞서 각자 관심 있는 생명공학 주제와 관련된 논문을 공유하고 서로의 관심 분야를 확인하였습니다. 각자 자신이 찾은 논문이 어떠한 주제인지, 논문을 통해 무엇을 배우고 알아갈 수 있는지 등이 요약된 보고서를 작성했고, 이 과정에서 조원들의 관심분야를 보다 자세히 이해하였습니다. 조원들의 공통된 관심사에 알맞은 내용을 가진 논문을 간추렸고 간추려진 논문을 해석하고 공부한 후 요약했습니다. 이러한 활동을 진행하면서 공통 관심 주제를 찾을 수 있었고 리뷰논문을 작성할 하나의 주제를 정했습니다.

이렇게 정해진 저희 조의 주제는 Prime editing입니다. Prime editing(PE)이란 4세대 유전체 편집기로 주목받는 기술입니다. 기존 유전체 편집기의 문제점을 보완하고 유전체 편집을 더욱 정밀하게 할 수 있는 방법을 알아보고 싶었기 때문에 세포에서 효율적이고 정확한 유전체 편집을 수행할 수 있는 PE 시스템을 주제로 선정하였습니다. PE 시스템은 인간 세포 자체의 염기 편집 시스템보다 더 폭넓은 범위의 유전체 편집을 유도하면서도 다른 유전체 편집기에 비해 정밀합니다. 저희는 프라임 편집 시스템에 대한 리뷰논문을 작성하며 앞으로 이 기술에 기반하여 '표준 CRISPR-Cas9 시스템'을 보완하면 안전성 확보뿐만 아니라 앞으로의 다용도적인 유전체 편집 접근법을 제공할 것이라는 부분까지도 생각해 볼 수 있었습니다.

COVID19라는 변수가 생겨 직접 만나기 어려웠기 때문에 동아리 활동이 마냥 순조롭지는 않았습니다. 어렵고 막막해지는 부분이 있었고 학부생의 입장이라 부족하기도 했지만 교수님의 도움과 조원들의 협력으로 무사히 리뷰논문을 완성할 수 있었습니다.



COVID 19에 대한 기사 읽고 생각 쓰기

이름	내용
장희준	최근 코로나19 팬데믹이 지속됨에 따라 전 세계적으로 코로나19 백신 개발에 주목하고 있다. 세계적인 제약회사에서 여러 백신 후보물질을 내놓고 있는데, 그중 mRNA를 이용한 백신이 주목받고 있다. 최근 화이자와 모더나의 mRNA 백신이 임상 3상 실험에서 90퍼 이상의 효과를 보인다고 하지만 아직 안심하기엔 이른 것으로 보인다. 낮은 온도에서 백신을 운송해야 한다는 점과 대량생산을 위한 플랫폼이 갖춰져 있다는 점, 항체의 지속능력이 아직 밝혀지지 않았다는 점 등은 해결해야 할 과제로 남아있다. 이번 팬데믹을 계기로 mRNA 백신 개발에 성공해 코로나는 물론 이후에 발생할 또 다른 바이러스의 위협에서 벗어날 수 있길 기대한다.
김민하	대웅제약, 셀트리온, 아스트라제네카, 칸시노, 시노팜과 같은 글로벌 국내외 제약회사에서 개발한 코로나 백신이 임상시험 3단계를 진행하고 있어서 내년 상반기에는 결과가 나올 것으로 기대하고 있다. 해외 제약회사들은 대부분 3단계를 거치고 있지만, 국내 제약회사는 현재 1,2단계에 머물고 있어 약간 아쉽다고 생각합니다. 하지만 반대로 초반에 잘 마련된 방역체계와 대부분 시민의 마스크 착용과 같은 노력으로 확진자 수가 비교적 적은편인 만큼, 큰 피해 없이 코로나 사태가 마무리 되었으면 합니다.
김솔빈	화이자가 개발한 코로나19 백신은 코로나19 병원체 ‘사스코로나바이러스-2’의 유전물질 mRNA를 지질입자로 감싼 뒤 체내에 투여하여 항체를 생산하는 방식을 이용한다. mRNA를 이용한 백신은 최첨단 생명과학기술의 산물로, 화이자 백신이 FDA 승인을 받으면 mRNA 백신의 사상 첫 사례가 되는 것이다. 본 기사를 통해 코로나19처럼 갑작스러운 상황에서 해결책을 내놓기 위해서는 빠르게 발전해가는 기술에 맞춰 늘 준비된 자세가 필요하다는 것을 느꼈다. 화이자가 이렇게 선두로 백신을 개발할 수 있었던 이유도 항상 앞선 대비를 했기 때문이라고 생각한다. 아직 대량생산의 문제와 한국이 이를 보관 및 유통할 능력이 되는 가 등의 문제들이 남아있지만, 화이자의 백신 개발은 매우 혁신적이며 이들의 자세를 본받아야 한다고 생각한다.
김수황	백신을 만들 때는, 임상시험에 있어 신중하고, 오랜기간 임상시험을 진행해야 합니다. 브라질에서 아스트라제네카 코로나 백신 임상시험 참가자가 사망했다는 비보가 전해졌습니다. 이는 서로 백신을 빠르게 만들기 위해 정확성은 확실하게 보지 않는 백신 생산 국가에게 큰 교훈을 주었다고 생각합니다. 향후 백신이 만들어지기까지 시간이 조금 걸리더라도 효과가 고도로 검증된 한국의 백신이 만들어져 우리나라의

	기술력을 세계에 알리고 코로나19도 물리칠 수 있는 좋은 계기가 만들어지면 좋겠습니다.
박윤진	러시아에서는 자체 개발한 코로나19 두 번째 백신의 3상 시험이 시작되었다. 또한, 당국은 지난달 에피박 코로나를 공식 승인하고 자원자 3천 명을 선발해 시험을 시행한다는 방침을 가지고 있다고 한다. 이러한 내용을 보니 코로나19의 백신 개발이 점차 다가오고 있다는 생각이 들며 임상시험을 모두 통과하여 사용되면 좋을 것 같다. 러시아 뿐 아니라 우리나라도 최대한 노력해서 백신을 개발하는데 힘을 써야 한다는 것이 느껴졌으며 여러 나라가 같이 힘을 합쳐서 개발하면 더욱 더 도움될 것이라고 생각된다.
설지윤	코로나19 사태가 처음의 예상과는 다르게 장기전이 되어 감에 따라 전 세계적으로 많은 피해를 보고 있다. 기사에 따르면 화이자에서 백신을 개발해 FDA 승인을 받기 직전이라고 하지만 우리나라뿐만 아니라 전 세계에 보급되기까지는 아직 많은 시간이 걸릴 것으로 예상된다. 바이러스가 이렇게 퍼지기 전에 빠른 대처를 하지 못한 것이 너무 아쉽다고 생각한다. 앞으로 모든 사람들이 방역 수칙을 잘 지켜서 더 이상의 확산이 발생하지 않았으면 좋겠다. 또한, mRNA 백신과 같은 기술 분야에 많은 연구가 이루어져 다음의 바이러스 습격에는 신속한 대처가 이뤄질 수 있었으면 좋겠다.
손혜림	최근 국내의 셀트리온에서 코로나 19 치료제를 만들 수 있을지 관심이 쏠리고 있다. 현재 치료제 생산에 이미 들어갔으며 임상 2상을 통과하고 글로벌 임상 3상을 개시한다고 한다. 셀트리온에서 만들고 있는 치료제가 큰 문제 없이 잘 완성이 되어 하루 빨리 코로나 사태가 종식되었으면 좋겠다. 국내에서 코로나 치료제를 만들 수 있다면 큰 도움이 될 수 있을 것 같다. 아직 확실히 보장되는 코로나 치료제가 없는 현 상황에서 방역을 더욱 철저히 하며 치료제가 나오는 날까지 확진자 수를 더 늘리지 않는 것이 중요하다고 생각한다.
송윤석	작년 전공 수업을 들으면서 신약이 개발되는 과정이 굉장히 어렵고, 특히 바이러스는 돌연변이가 자주 일어나 더욱 어렵다는 것을 알게 되었다. 그렇기에 이런 상황이 끝나지 않을 것만 같았다. 그러나 전 세계 각국의 연구원 분들이 노력을 기울이고 있고 국내의 셀트리온에서도 치료제를 개발하여 임상시험을 진행하고 있다고 하니 희망이 보이는 것 같다. 빨리 코로나 백신이 완성되어 마스크를 벗어 던지고 외출할 수 있는 세상이 오면 좋겠다. 코로나 백신을 개발하기 위한 연구원 분들의 노력이 빨리 결실을 맺길 바랍니다.
양지원	코로나백신과 관련한 뉴스를 읽게 되었습니다. 코로나 백신이라는 것은 빠르게 상용화되기 어려운 막연한 것이라고 생각했는데 벌써 여러 나라에서 백신을 확보중이고 또 긴급사용신청까지 했다는 내용들을 통

	해 생명공학 분야가 굉장히 많이 발전했구나 생각해볼 수 있었습니다. 아직 백신이 증명되지 않았다는 위험성, 백신이 나와도 백신을 사용하지 않겠다는 등 백신에 대해서는 아직도 이러쿵 저러쿵 얘기가 많지만 코로나 관련 백신이 이정도 단계까지 진행되었고 상용화가 얼마 남지 않았다는 점에서 생명공학 분야의 발전은 앞으로 다양한 바이러스와 질병들로부터 인간을 보호하는데 큰 도움이 될 것이라고 생각했습니다.
이하은	꿈에는 두 가지 뜻이 있다. 하나는 희망 혹은 이상이고 다른 하나는 잠자는 동안에 경험하는 정신적인 현상이다. 후자의 꿈은 과거 어떤 의미를 가진 신비한 현상으로 여겨졌지만 연구를 통해 아세틸콜린과 같은 호르몬의 불균형에도 쉽게 발생할 수 있는 생물학적 기전 중 하나임이 밝혀졌다. 꿈의 발생은 이처럼 미세한 작용에도 촉발되지만 그 결과는 정신과 신체 전반에 걸쳐있으며 때로는 내용에 따라 인간의 몸 전체 컨디션을 좌우할 수 있다는 점에서 영향력이 있다. 코로나19는 중국 우한의 한 바이러스 연구소에서 발생했지만 어느덧 전세계로, 우리의 일상으로 침투하여 개인의 정신적 신체적 건강을 좌우하는 요인으로 작용하고 있다. 꿈에서 보았던 현상들은 그 순간에 현실같이 느껴지고 잠에서 깬 후에도 기억이 되살아나 장면이 생각날 때도 있지만 현재를 살아가는 가운데 결국엔 잊혀지는 것을 볼 수 있다. 코로나19도 이와 같이 시간이 지나 돌아보았을 때 신비의 대상이 아닌 하나의 어떠한 현상으로, 단지 그 순간의 악몽으로 남아 우리가 앞으로 살아갈 현재에서 잊혀질 대상이 되었으면 좋겠다.
한승민	우리 조가 본 기사의 내용은 코로나 19와 꿈과 관련된 내용이었다. 코로나 19로 인한 불안감 때문에 악몽을 꾸는 사람들이 많아졌다고 기사에서 말했다. 코로나 19가 사람들의 비의식적인 부분에서도 영향을 미친다는 것에 놀랐다. 그리고 현재 코로나19 해결하기 위해서 국가적으로 사회적 거리두기 운동을 통하여 예방하고 있지만 코로나 19에 엄청난 전파력으로 인하여 감염확산을 막기 어려워 보인다. 감염확산을 막기 위한 해결책은 백신밖에 없다고 생각한다. 현재 모더나, 화이자 기업이 mRNA 백신을 만들어서 임상3단계로 진입하여 상용화되고 있다는 기사가 나오고 있는데 우리나라도 백신을 빠르게 구해서 코로나 19가 빨리 해결되어 일상생활로 돌아갔으면 좋겠다.
김예인	코로나19 백신 관련 기사를 보며 백신이 보급되더라도 백신의 효과가 잘 나타날지 의문스러웠으며, 믿고 이용할 만큼 안전한지도 조금 의문이 들었다. 코로나19 사태가 지속되어가면서 백신이 정말 필요하다는 것을 체감하고 있지만, 빠른 시간 안에 백신이 많은 사람들에게 보급되기 어렵겠다고 예상된다. 하지만 계속해서 코로나 사태 안정을 위해

	보다 효과적인 백신 개발이 활발히 이루어지는 기사를 접하며 빠른 시간 안에 보다 안전성이 점검된 백신이 나오길 기대해본다.
김흥기	현재 중국과 미국, 러시아 등의 나라에서 개발한 백신들이 임상시험을 거치고 있으며 효과 또한 90% 이상으로 매우 높다는 기사를 여러 건 보았습니다. 이 백신이 부작용이 없고 임상시험을 모두 통과할 수 있을지, 또한 전 세계로 배포되어 코로나 사태를 잠재울 수 있을지는 아직 모르지만 코로나 종식에 대한 희망이 생겼으며 연구원을 비롯한 백신 개발에 힘써주고 계신 전 세계의 많은 분들에게 감사하다는 생각이 들었습니다. 또한 나 역시도 훌륭한 연구원이 되어 세계가 처한 여러 문제를 풀어 가는데 이바지하고 싶다는 생각이 들었습니다.
선유나	화이자와 바이오엔텍, 모더나는 최근 임상 중인 mRNA 코로나19 백신에 대한 95%의 효능을 보인 긍정적 데이터를 발표했다라는 내용의 기사를 읽었다. mRNA 백신 개발이 희망적인 소식을 가져다 줄 가능성이 있다는 소식이 정말 반가운 말이지만, 임상 실험을 모두 거쳐 백신이 투여되기까지는 아직 더 많은 과정과 시간이 필요할 것이라 생각한다. 따라서, 요새 다시 확진자가 늘어나고 있는데, 끝까지 긴장의 끈을 놓지 않고 모두가 개인 생활 방역에 힘써서 다같이 이겨내고 다시 마스크를 벗는 날이 왔으면 좋겠다. 그래서 가능한 21학번 신입생들과는 마스크를 벗고 만나고 싶다.
유호인	올해는 코로나와 관련된 많은 기사들을 접할 수 있었는데, 특히 우리나라에 대한 기사가 많았습니다. 왜냐하면 다른 나라들보다 초반에 방역을 철저히 해서 'K-방역'이 집중 받았고, 성능 좋은 코로나 감염 진단 키트도 빨리 만들었습니다. 이를 보고, 우리나라의 생명공학 분야가 세계적인 수준에서 뒤처지지 않고, 나도 빨리 생명공학을 공부하여 사회에 기여하고 싶다는 생각이 들었습니다.
이가빈	기사에서는 코로나 19와 꿈과의 관계를 말하고 있다. 하버드 대학 심리학과 조교수인 디어드레 배럿 박사 등이 2,888명의 참가자를 대상으로 한 국제 연구 결과, 특히 여성들의 꿈이 남성들보다 코로나 19에 크게 영향을 받는 것으로 나타났다고 한다. 이들은 코로나 19 이후 불안, 슬픔, 분노, 건강, 죽음에 대한 꿈을 더 많이 꾸는 것으로 밝혀졌다. 기사에서 가장 흥미로운 것은 코로나 19로 인해 렘수면이 증가했다는 것이다. 특히 수면시간이 늘어날수록 코로나 19로 인한 불안감이 더 많이 꿈에 반영된다는 내용을 보면서 확실히 이번 연도 4월부터 매일 꿈을 꾸고 있다는 것을 체감했다. 심지어 실제로 코로나 19로 집에 머무는 시간이 늘어나면서 수면 시간이 5시간에서 7~9시간으로 약 2배 정도 증가하게 되었는데, 같은 비율로 악몽을 꾸는 횟수도 증가하는 경험을 했다. 이러한 실제 경험과 기사 내용의 일치는 이미 코로나 19로 인해 일상생활에 많은 변화를 경험하고 있음을 분명하게 느끼게

	해주었다.
정민영	코로나19로 인해 사람들이 간병과 실직 등의 이유로 부담감을 많이 느끼게 되며, 집에서 머무르는 시간이 많아지고 야외활동의 횟수가 줄어들다 보니 스트레스를 받는 경우도 많다. 또한 코로나19로 사람들의 수면시간이 증가하기도 했다. 이렇게 수면시간이 증가하면 사람들이 꾸는 꿈의 수도 많아지게 되며 렘수면 또한 증가하게 된다. 그리고 늦게 자고 늦게 일어나는 수면패턴으로 바뀌게 될 경우 악몽을 더 자주 꾸는다고 한다. 현실이 꿈에도 반영이 되며, 수면패턴과 악몽이 관련이 있다는 기사를 보고 스트레스와 수면패턴 관리의 중요성을 다시 한 번 느끼게 되었다. 사람들이 코로나19 시대에 스트레스를 관리할 수 있는 자신만의 방법을 찾아 줄여 나갈 수 있으면 좋겠고, 코로나도 하루 빨리 종식되었으면 좋겠다.
진예솔	"코로나 19 환자 심각성 · 사망 예측 모델 개발"이라는 기사를 읽었습니다. 이 연구는 C-반응성 단백질, LHD 수치 등의 주요 요소로 코로나 19 환자들의 특성을 분석해 환자 치료의 개선을 목표로 하고 있습니다. 많은 의료진들이 활용할 수 있는 건강 표지 식별법이 될 것이라 전망되며, 효율적인 병원 운영 및 환자 관리에 필수적이라고 생각됩니다.
홍유진	최근 코로나19로 인해 전세계가 큰 혼란을 겪고 있다. 이에 많은 국가, 많은 연구 기관들이 코로나19의 백신 연구에 뛰어들었는데, 현재 1,2차 임상 실험은 많은 기업들이 성공한 것으로 알려져 있다. 최근에는 골다공증 치료제인 ‘랄록시펜’이 코로나19 억제에 도움이 된다는 것이 밝혀져 임상 실험에 도입하기도 했다. 이렇듯 코로나19의 백신 및 치료를 위한 많은 노력들이 진행되고 있으니 우리는 우리가 할 수 있는 노력을 다 해 개인 방역에 신경 쓰며 기다리다 보면 코로나19가 만연하던 시기 이전으로 돌아갈 수 있을 것이라고 믿는다.
홍지예	코로나 사태는 분명히 좋지 않은 일이지만, 우리나라의 방역 시스템이 전체적으로 개선되고 효율적인 시스템을 마련했다는 것에 의의가 있다는 생각이 든다. 2015년 메르스 사태 때는 발생국가에 이어 2번째로 확진자 수가 많았고 심지어는 병원 내 감염으로 세계적인 비판을 받았었는데 이번 코로나 사태에는 외신들의 극찬을 받았기 때문이다. 워싱턴 포스트에선 유일한 희망은 한국이라고 보도했으며 세계 각국에서는 한국의 코로나 방역 시스템을 벤치 마킹하고 있다고 한다. 팬스레 어깨가 으쓱해진다.

AMP 활동 후기

이름	내용
장희준	처음에 AMP에 들어올 때는 주도적으로 실험을 진행하고 실험에 필요한 스킬들을 숙련시키기 위한 마음이 컸다. 하지만 코로나로 인해 불가피하게 실험은 진행할 수 없어 조금 아쉬웠다. 하지만 리뷰논문을 작성하면서 실험적인 스킬 외에 많은 것을 배울 수 있었다. 조원들과 소통하면서 관심분야에 대해 깊이 있게 탐구할 수 있었다. 특히 처음엔 낯설고 어렵기만 했던 논문공부에 대한 거리감이 줄었고, 리뷰논문 작성을 통해 조원들과 하나의 결과물을 완성시켰다는 점에서 상당히 의미 있었다.
김민하	이번 해 초기에 갑자기 발생한 코로나 사태로 인해 학교 각종 행사를 활동적인 생활이 거의 불가능한 상태에서 어찌어찌 동아리 소개부터 신입부원 모집을 진행하고, 비록 작년과 같은 실험 활동은 하지 못했지만, 각자 관심있는 분야를 탐색하고 해당 분야에서 주제를 선정하고 리뷰 논문을 작성했다는 점에서 매우 생산적인 동아리 활동을 했다고 생각합니다. 이번 해 AMP를 경험한 20학번 친구들한테는 일만하는, 공부만하는 보람 있지만 재미는 없는 동아리로 느껴졌을 것 같아 조금 아쉽습니다. 내년에는 코로나 사태가 조금이나마 완화되어 AMP가 보다 더 재미있고 활기찬 동아리로 자리 잡았으면 합니다.
김솔빈	5개월이라는 시간동안 많은 양의 논문을 읽고 정리하다 보니 요령이 생겼다. 이 전의 내 과제물을 보면 정말 많이 성장했다는 것을 느낀다. 특히 우리 줄기세포는 영어 논문의 자료가 풍부하여 공부하다 보니 어느새 영어 논문이 무섭지 않게 되었다. 학교 수업 과제에 좀 더 유용한 정보를 쓸 수 있게 되어 정말 뿌듯하다. 이번 활동에서 조장으로서 팀을 이끌고 완성도 높은 결과물을 낼 수 있을지에 대해 많은 부담감을 가지고 있었는데 팀 모두가 함께 고민하고, 힘을 내준 덕분에 활동을 잘 마무리할 수 있었던 것 같다. 작년 AMP 선배님들의 조언들이 매우 큰 도움이 되었다. 올해 우리의 경험도 내년 AMP에게 유용한 정보가 되었으면 좋겠다. 팀원들 개개인의 장점을 보고, 많은 걸 배운 시간이었다. 내년엔 꼭 실험을 할 수 있었으면 좋겠다.
김수황	작년 AMP활동 때는 선후배간의 교류가 활발하고 실험 또한 진행하였기에 보다 폭넓은 사고와 실험수행능력을 직접 길러봄으로써 느낀 바가 많았는데 그에 비해 올 한 해는 코로나19로 인해 그런 활동들을 하지 못해서 아쉬웠습니다. 하지만 Prime editing이라는 새로운 기술에 대해 심도 깊게 알아봄으로써 현 유전공학의 기술력이 어디까지 왔는데 글로나마 느껴볼 수 있었습니다. 내년에는 조금 더 상황이 나아져 서로 깊은 상호작용이 가능한 동아리 활동이 되었으면 좋겠습니다.

	니다.
박윤진	이번 코로나19에 의해 실험실이 개방 불가능하여 실험을 시행하지 못하였지만 같은 조 구성원들끼리 여러 논문들을 재구성하여 새로운 논문을 만드는데 힘을 썼다. 이 과정 속에서 팀워크를 배웠고 여러 지식들을 습득하였으며 어느 것 하나 쉬운 것 없다는 것을 느꼈다. 1학년 친구들은 논문을 읽는 것이 처음일 텐데도 찬찬히 노력하며 따라와 주는 것이 매우 뜻깊었다. 부족한 팀장 역할을 옆에서 많이 도와준 민하와 1학년 친구들에게 많이 고마웠다.
설지윤	올해는 AMP 활동이 코로나로 인해 리뷰논문을 작성하게 되었지만, 나는 원래 리뷰논문 작성팀으로 들어갈 생각이었기 때문에 오히려 좋았다. 리뷰논문을 작성하며 많은 논문들을 읽고 정리하고 나의 문장으로 재해석하며 많은 공부를 할 수 있었고 이 활동들 덕분에 논문에 대한 어려움과 거리감을 상당 부분 줄일 수 있었다. 처음 논문을 접했을 때는 워낙 방대한 양의 정보와 전문적인 단어들이 섞여 있어 활동들이 힘들기도 했지만, 그 힘든 과정을 이겨내고 결과물을 만들어 냈다는 것이 더 큰 뿌듯함으로 다가오는 것 같다.
손혜림	올해 코로나 때문에 실험실에서 실험활동을 하지 못한 것은 정말 안타깝다고 생각한다. 작년 AMP에서 기초적인 실험 활동을 해보았던 것이 좋은 경험으로 남았기 때문이다. 하지만 올해 리뷰 논문 활동을 하며 많은 논문들을 읽어 볼 수 있었고 이 역시 도움이 되었던 것 같다. 내년에 코로나가 종식되어서 기존 AMP 활동을 이어나갈 수 있다면 좋겠지만 올해처럼 불가능할 경우 리뷰 논문 활동을 이어서 하는 것도 좋다고 생각한다.
송윤석	올해에는 COVID 19로 인해 작년과 달리 온라인으로 동아리 활동을 진행하다보니, 동아리원들을 직접 보고 교류하지 못해 아쉬웠습니다. 작년에도 리뷰 논문을 작성했었기에 선배들에게 들은 조언을 바탕으로 올해의 리뷰 논문 활동을 진행했고 팀원들과 이를 나누며 같이 공부하고 성장했습니다. 논문을 읽는 것이 익숙하지 않을 1학년 친구들도 한국어 논문, 영어 논문 가리지 않고 열심히 공부하고 따라와 주어 너무나도 고마웠고, 이렇게 한 해의 결실을 맺게 되어 정말 기쁩니다.
양지원	작년에 이어 AMP 동아리 활동을 진행했습니다. 작년에는 실험 위주의 활동이었기 때문에 올해 처음해보는 리뷰 논문 활동이 쉽지 않을 것이라는 생각도 했습니다. 하지만 리뷰논문 활동은 작년 실험과 크게 다르지 않았고 오히려 조원들과 의견을 나누고 생각해보기 더 좋은 활동이었습니다. 조원들끼리 각자 관심 있는 분야에 대해 이야기하고 논문을 선택해 가는 과정에서 생명공학 관련 분야를 넓게 더 알아볼 수 있었고 논문을 해석하고 알지 못했던 어려운 부분을 새롭게

	배우는 과정을 통해 새로운 지식을 얻을 수 있었습니다. 코로나로 인해 초반 계획대로 동아리 활동이 진행되지는 못했지만 동아리원들 그리고 조원들과 함께 나름의 최선을 다한 의미있던 활동이었다고 생각합니다.
이하은	2020년 AMP 신입생이었지만 임원으로서의 회계로, 조에서는 조장으로 알차게 활동했다고 생각한다. AMP의 강점인 실험을 진행하지 못했던 것은 매우 아쉽지만 보고서를 작성하는 시간을 통해 본인의 실력을 향상하는 데에 도움을 받았다고 생각한다. 올해 활동 중에는 특히 동아리 활동을 하는 동안에 팀원들과 함께 회의하면서 의견을 나눴던 것과 교수님과 독대하여 가르침을 받았던 것이 기억에 남는다. 내년에 실험을 한다면 다시 한 번 참여하여 실험보고서를 작성해 보고 싶다.
한승민	이번 AMP활동을 통해 여러 논문을 공부하니 리뷰논문을 작성해봄으로써 보고서를 쓸 때 큰 도움이 되었고 글쓰기 능력 또한 향상되었다. 그리고 장내미생물이라는 주제에 대해서 처음 공부하게 되었는데 우리 인체 내 장내미생물이 인간의 면역계의 영향을 미쳐 뇌, 심장, 성인병 등 다양한 질병과 연관이 되어있다는 것이 매우 흥미로웠다. 그리고 이번에 코로나 19사태로 인하여 실험을 하지 못한 것은 아쉬웠지만 조원들 모두 AMP 활동을 열심히 하여 조원들에 고마웠다고 즐겁게 활동을 하였다.
김예인	AMP 활동을 통해 처음 리뷰논문이라는 것을 작성해 보았다. 처음에는 출처를 작성하는 것과 같은 사소한 문제까지 너무 어려웠다. 하지만 팀 선배들께 도움을 받으며 리뷰논문을 작성하는 법에 대해 배울 수 있어 좋았고 내가 알지 못하는 보다 전문적인 지식을 팀 선배들과 공유함으로써 배울 수 있어 뜻깊었다. 조금 버겁고 어려웠던 적이 없다면 거짓말이지만 코로나 19로 많은 활동의 제약 받는 지금 학교생활에서 좋은 동아리를 만나 좋은 추억 쌓았다고 생각한다.
김흥기	2020년도에 AMP 활동을 통해 조원들과 prime editing이라는 주제를 정해 해외의 논문을 해석하고 공부하며 리뷰논문을 작성하는 등의 활동을 했습니다. 이 활동을 통해 생명공학, 그 중에서도 prime editing에 대하여 심층적이고 자세히 알 수 있었고 생명공학에 대해 이전까지 보다 더 전문적인 지식을 얻어갈 수 있는 좋은 기회였던 것 같습니다. 올해는 코로나로 인해 본가에 있는 시간이 많았어서 동아리 활동에 많이 참여하지 못한 것이 많이 아쉬웠고 내년에도 더 자주, 더 열심히 동아리 활동에 참여하고 싶습니다.
선유나	이번 학기에는 코로나 때문에 예정대로 실험을 진행할 수 없어서 너무 아쉬웠지만, 그래도 리뷰 논문을 작성하면서 많은 노하우도 얻어가고, 식물 병저항성에 대한 공부할 수 있는 계기가 되어서 의미 있

	는 시간이었던 것 같다. 내년에는 여건이 되어서 더 다양한 활동을 할 수 있으면 좋을 것 같다.
유호인	올해 초반부터 코로나 사태가 발생하면서 활동에 제약이 많았습니다. 그중 하나로 직접 만나서 서로 조사한 내용을 공유, 질문하며 함께 공부하지 못한 것이 가장 아쉽습니다. 하지만 그럼에도 매번 zoom 통해 온라인상으로 리뷰 논문을 작성했는데, 대학교에 입학해서 1년 동안 노력한 결과가 완성되자 집에만 있어서 무기력함을 자주 느꼈던 올해를 알차게 보냈다는 생각이 들었습니다. 이번 활동으로 많은 논문들을 검색하고, 읽으면서 ‘생명공학’이라는 전공에 대한 이해도를 키울 수 있었고, 관심 밖에 있던 분야까지 관심을 갖고 공부할 수 있었습니다.
이가빈	여름방학부터 시작된 AMP 활동이 마무리된다는 게 믿기지 않는다. 코로나 19로 집에서만 활동하다 보니 시간이 더 빨리 지나간 것 같다. 여름방학에 시작한 리뷰 논문은 12월이 다 다가와서야 끝이 났는데 지금 다시 그 시간을 돌이켜 보면 “더 잘 쓸 수 있었는데.”라는 아쉬움이 더 크게 남는다. 특히 코로나 19로 활동이 “리뷰 논문 쓰기”에 많이 치우쳐서 아쉬웠다. 그래도 리뷰 논문을 쓰면서 읽게 된 많은 논문 덕분에 관심 두고 있던 내용을 더 많이 배울 수 있어서 지식적으로 뜻깊은 시간이었다.
정민영	한 학기 동안 장내 미생물에 관한 리뷰논문을 작성하면서 많은 것을 배울 수 있었습니다. 평소에는 논문을 읽고 공부할 기회가 많이 없었는데 리뷰논문 작성활동을 통해 주제와 관련된 다양한 논문을 접해볼 수 있어서 뜻깊었습니다. 그리고 논문을 통해서 교과 과정 외의 지식을 얻고, 이를 바탕으로 직접 리뷰논문을 써볼 수 있어 좋았습니다. 온라인으로 동아리 활동을 진행해서 아쉬웠고 한계가 된 점도 있었지만, 이러한 상황에서도 팀을 잘 이끌어주신 선배님들께 감사하고, 팀원 모두 고생 많으셨습니다!!
진예솔	리뷰논문 활동을 통해 기존에 알파하게 알고 있던 프라임 에디팅 기술에 대해서 조금 더 전문적인 지식을 쌓을 수 있어서 좋았습니다. 다만, 코로나 19 사태로 인해 다양한 동아리 활동을 진행하지 못했던 점이 아쉬운 것 같습니다.
홍유진	활동을 시작하고 얼마 지나지 않았을 때는 학교에 입학하고 처음 활동해본 동아리, 처음 써 본 리뷰 논문이 모두 생소하고 어렵게 느껴졌다. 하지만 다 같이 자료조사를 하고, 아이디어를 나누며 활동을 거듭할수록 동아리에 익숙해지고 있다는 느낌을 느꼈고, 마지막으로 논문을 완성했을 땐 굉장한 뿌듯함을 느낄 수 있었다. 올 한 해는 코로나19때문에 많은 활동을 하지 못해서 아쉬웠지만, 그 짧은 활동에도 많은 것을 얻어간 해라고 생각한다.

홍지예	안타깝게도 새내기를 새내기라 불리지 못하고, 코로나 학번이라고 불리게 되었다. 항상 직접 부딪히면서 배우는 게 많은 나는 실험 활동을 해보지 못한 게 너무나도 아쉽게 느껴진다. 그럼에도 불구하고 AMP는 코로나 속에서 나를 한 층 더 성장하게 해주었다. 처음으로 영어로 된 논문을 읽어보았고, 수업 내용에는 없는 다양하고 폭넓은 지식을 쌓을 수 있었다. 게다가 좋은 선배들을 만나고 소소하고도 행복한 추억을 쌓을 수 있었기 때문에 올해 AMP에 함께 할 수 있어서 영광이었다. 내년에는 모두가 함께 실험을 할 수 있기를 바란다. 마지막으로 올해 같은 조로써 이무 것도 모르던 나에게 많은 것을 가르쳐준 윤진 언니와 민하 오빠에게 꼭 감사하다는 말을 전하고 싶다.
-----	---

The CELL Vol. 16

2020학년도 생명공학전공 학술지

학과장 안예진 교수

발행인 안예진 교수

발행일 2020년 12월 8일

발행처 상명대학교 융합공과대학
 생명공학전공 학술동아리 AMP

주소 서울특별시 종로구 홍지문 2길 20 상명대학교 생명공학과 T. 02)2287-5142