

C. elegans, 환상적인 생명공학 모델 동물

최신식 (명지대학교)

월드컵으로 나라 전체가 들썩거렸던 2002년, 그 열기가 식어가던 그 해 가을 노벨상 위원회는 3명의 과학자에게 노벨 생리 의학상을 수여한다. 세 명의 과학자는 입을 모아 이 상은 우리가 받는 것이 아니라, 1 mm의 크기에 1000여 개의 세포를 가지며 박테리아를 먹고 자라는 *C. elegans* 라는 작은 동물이 받는 것이라고 말한다. 그 누가 알았을까? 그 후 이 동물을 다루던 과학자들이 2006년과 2008년에도 노벨상을 받을지름. 그러나 이 동물과 함께 연구하던 사람들은 이러한 사실을 미리 예견했을 뿐 아니라, 앞으로도 더 많은 사람들이 이 동물 덕분에 노벨상을 비롯해서 많은 업적을 쌓을 것이라 이야기한다. 한국미생물생명공학회 e-생물산업의 “국내 바이오 산업동향” 지면을 통해, 필자는 한국 미생물생명공학자에게는 낯설지만, 꼭 알아두어야 할 기술을 소개하고자 한다.

*C. elegans*의 생애와 불로장생 다우어

*Caenorhabditis elegans*는 토양에 서식하는 선충류의 동물로서 기생이나 공생을 하지 않는 독립 생활 개체이다. 자연계에는 주로 암수 한 몸인 자웅동체가 주로 존재하나, 수컷도 있다. 정자와 난자가 수정해서 배아를 형성하고, 배아기, L1, L2, L3, L4의 유충기를 거쳐 3일 만에 성체가 되어 성체초기 3일 동안 약 300개의 수정란을 가질 수 있다 (그림 1). 약 3일이라는 짧은 시간 안에 1000여 개의 세포를 지닌 다세포 동물의 다음 세대를 수백 개체 획득할 수 있는 특징이 유전학적 방법을 동원한 생명과학 연구의 큰 장점으로 작용한 것이다. *C. elegans*의 생애주기에서 매우 흥미로운 발생기가 있는데, 서식 환경이 좋지 않을 때 L1기의 유충은 L2기로 넘어가지 않고 다우어 (dauer) 시기로 들어간다. 다우어는 먹이를 먹지 않고서, 체내에 축적된 지방을 에너지원으로 사용하면서 4개월 정도를 생존할 수 있다. 다우어를 거치지 않는 정상 개체의 수명이 약 30일 이라고 볼 때, 4배 이상을 생존하는 불로장생의 방법이라고 말할 수 있다. 놀라운 것은 이 시기를 거친 후, 다시 생활 환경이 좋아지면 L4 단계로 들어가서 성체가 되어 정상의 삶을 살게 된다.

실험실에서도 잘 자라는 *C. elegans* 와 완전히 밝혀진 세포 계보

자연에서는 토양에서 자라는 *C. elegans*가 실험실로 오면, agar 플레이트 위에서 살아간다. 동물의 먹이에 해당하는 대장균을 agar가 첨가된 고체 배지 위에서 배양을 하기 때문에 *C. elegans* 역시 대장균이 있는 고체 배지 위를 활보하면서 삶을 영위하게 된다. 물론 대장균과 함께 액체 배지 속에서의 배양도 가능하다. 성체의 크기가 1 mm이기 때문에 이들을 관찰하면서 다루기 위해서는 해부현미경 (stereo microscope)이 필요하며, 단일 개체 단위로 생포하거나 운반하기 위해서 백금선 (platinum wire)으로 제작된 picker 또는 pick-wire로 불리는 도구를 사용한다. 이들의 몸은 투명하기 때문에 광학현미경 만으로도 몸의 구석구석을 들여다 볼 수 있다. 주로 노말스키 (Nomarski)라고 불리는 DIC (differential interference contrast) 현미경으로 정밀관찰을 한다. 2002년 노벨상을 받은 John Sulston은 한쪽 눈은 노말스키 접안렌즈를, 한쪽 눈은 자신이 그리는 그림을 보면서 세포의 계보를 일일이 그려 나가서, 1000여 개의 세포가 어디서 나와서 어떻게 성장, 분열, 분화, 사멸되는지를 밝혀 낸 것이다 (그림 2). 이러한 발생에 대한 세포의 시간적 위치적 정보 일체는 발생학 연구용 실험 동물로의 위상을 드높이게 되었다.

돌연변이를 얻기 쉬운 *C. elegans* 와 RNAi (RNA interference)

특정 유전자가 결여되어 있거나, 과발현 되거나 또는 특정 유전자와 형광단백질이 동시에 발현되는 돌연변이나 표지 종을 얻기 가장 쉬운 다세포 동물이 바로 *C. elegans*이다. 우선 남이 만들어 놓은 돌연변이 등이 무수히 많으며, 이 들을 데이터베이스화하고 종을 보관하여 필요한 연구자에게 보내주는 시스템이 매우 잘 구축되어 있다. www.wormbase.org에 들어가서 검색 창에 관심 유전자나 키워드 등을 입력하면, 해당 유전자와 관련 일체의 정보가 모두 나오며, 이 유전자와 연관된 돌연변이의 증명과 보관 여부 등을 알 수 있다. 오래 전부터 *C. elegans* 연구자들은 컨소시엄을 형성하여 EMS (ethyl methanesulfonate)를 처리하는 방법 등으로 계속 돌연변이를 만든 후, 제노타입 (genotype)을 밝혀 동정, 보관, 분양해왔다.

2006년에 노벨 화학상을 받은 Andrew Fire, Craig Mello는 *C. elegans*를 통해 RNAi (RNA interference)를 밝힌 공로로 수상했다. RNAi를 이용해서 하룻밤 안에 특정 유전자가 결여된 돌연변이 *C. elegans*를 만들 수 있으며, 이렇듯 염기서열을 이미 알고 있는 특정 유전자만의 결여 결과로 나타나는 페노타입 (phenotype)을 관찰하여 해당 유전자의 기능을 스크리닝하는 역유전학 기법이 *C. elegans*에서 열리게 되었다. 영국의 Julie Ahringer 박사는 이용하여 *C. elegans*의 유전자에 대응되는 siRNA를 발현하는 대장균 균주 라이브러리를 구축했다. 거의 모든 유전자에 대해 각 유전자마다 하나의 균주를 만들어 -80°C에 보관해 놓아, 이를 해동, 배양하여 *C. elegans*으로 하여금 섭취하는 방법으로 손쉽게 해당 유전자의 발현이 불활성화 된 돌연변이 동물을 생성할 수 있게 되었다 (그림 3).

세포사멸 연구용 동물로서의 *C. elegans*

인간의 여러 질병과 배아의 발생과 같은 현대 의학, 생명공학의 주요 토픽에는 세포사멸이라는 생물학적 기전이 있다. 2002년 노벨상을 받은 세 명의 *C. elegans* 과학자 중 한 명인, MIT 생물학과의 Bob Horvitz 교수는 동물의 발생 단계에서 일어나는 프로그램된 세포사멸의 유전적 기전을 규명한 공로로 수상을 하게 되었다. *C. elegans*에서 일어나는 모든 에이파토시스는 네 종류의 단백질에 의해 조절된다: 사멸하는 세포에서 에이파토시스를 일으키는 세 종류의 단백질에는 CED-3

(캐스페이즈, caspase), CED-4 (척추동물의 Apaf-1과 ortholog), EGL-1 (BH3 도메인 단백질)이 있으며, 생존 세포의 에이파토시스를 억제하는 단백질에는 CED-9 (척추동물의 Bcl-2와 ortholog)이 존재한다 (그림 4). 모든 세포의 계보가 밝혀졌기 때문에, 발생 과정에서 세포사멸에 의해 사라지는 세포의 위치 및 시기를 알고 있다. 특히, *C. elegans*에서 일어나는 에이파토시스의 후기 단계에서 세포는 corpse라고 불리는 특정한 모양을 가지면서 사멸되며, 이러한 corpse는 현미경에서 쉽게 관측할 수 있다 (화살표, 그림 5). 배아 발생 단계 중, 코마 (comma) 단계에 사멸되는 세포인 corpse를 관측할 수 있으며 (그림 5a), 만약 앞서 언급한 유전자 중 세포사멸을 억제하는 과정에 관여하는 유전자가 결여되었을 경우, 이 시기에서 사멸되는 세포를 훨씬 더 많이 관찰하게 된다 (그림 5b). 세포사멸은 생명과학 분야의 오랫동안 뜨거운 이슈였으며, 많은 생명과학자들이 이러한 세포사멸을 조절하는 공학적인 접근을 많이 시도하고 있기에, 이 동물은 이러한 연구에 널리 쓰여질 수 있다고 전망한다.

미생물·생명공학자에게 *C. elegans*

필자는 나노재료나 미세유체 칩 등을 *C. elegans*동물에 적용하여 생명현상을 이해하거나 인간 질병을 진단, 치료하는 기법이나 도구를 개발하는 연구를 수행하고 있다. 식용 나노입자에 질병을 일으키는데 핵심적인 역할을 하는 유전자의 siRNA를 결합시켜, 본 동물로 하여금 이를 섭취케 한 후, 체내에 확산된 나노입자 중 원하는 위치에서만 레이저를 조사해서 입자로부터 siRNA를 분리시켜 목적 기능을 발휘하게 하는 연구를 수행 중이다. 미세유체 칩을 응용한 연구로는, 동물을 칩 위에 올리고 후각이나 미각을 자극할 수 있는 화학물질을 흘려 주면서 생성되는 신경물질의 양이나 경향을 형광현미경으로 관측하는 연구 등이다.

단순히 다른 동물에 비해 경제적으로 저렴하게 키울 수 있어서가 아니라, 생명공학적인 응용 연구를 뒷받침 할 수 있는 생명과학적인 기초 연구가 매우 잘 이루어져 있고, 단순하면서도 해부학/발생학/생태학/유전학적 정보는 완벽히 갖추어진 이 동물은 생명공학자들에게 더할 나위 없이 좋은 모델 동물이 될 수 있기 때문에, 앞으로 한국미생물·생명공학회에서 이 동물을 이용한 많은 연구 발표가 나오기를 기대한다.

참고문헌

1. <http://www.wormatlas.org/ver1/handbook/fig.s/IntroFIG6.jpg>
2. http://www.wormbook.org/chapters/www_organformation/organopharynxfig3.jpg
3. http://www.natureprotocols.com/2008/02/12/rnai_vector_feeding_protocol_f.php
4. Guillaume Lettre, Michael O. Hengartner, *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **7**, 97-108
5. Tim A. Bloss, Eric S. Witze, Joel H. Rothman, *Nature* **424**, 1066-1071

그림 1.

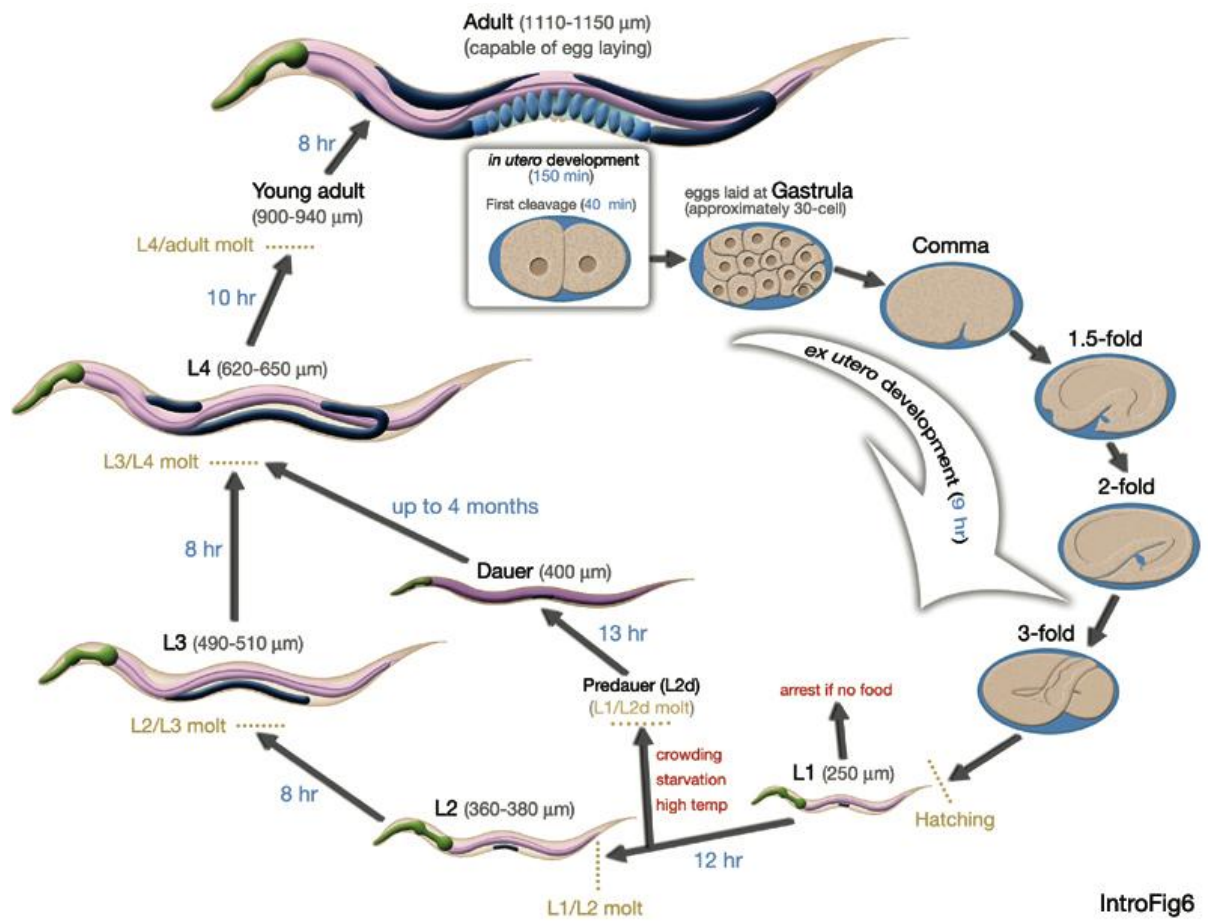


그림 1. *C. elegans*의 생애 주기 [1]

그림 2.

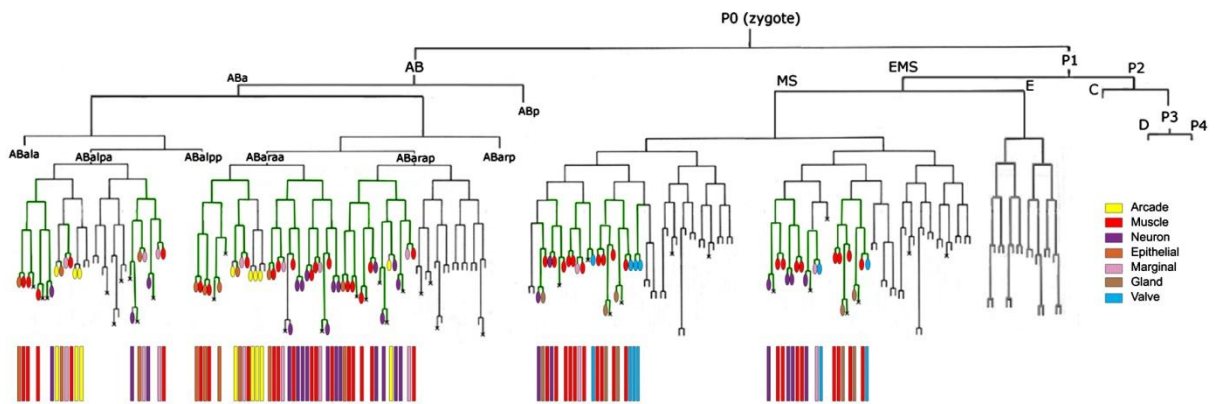


그림 2. *C. elegans*의 세포 계보 [2]

그림 3.

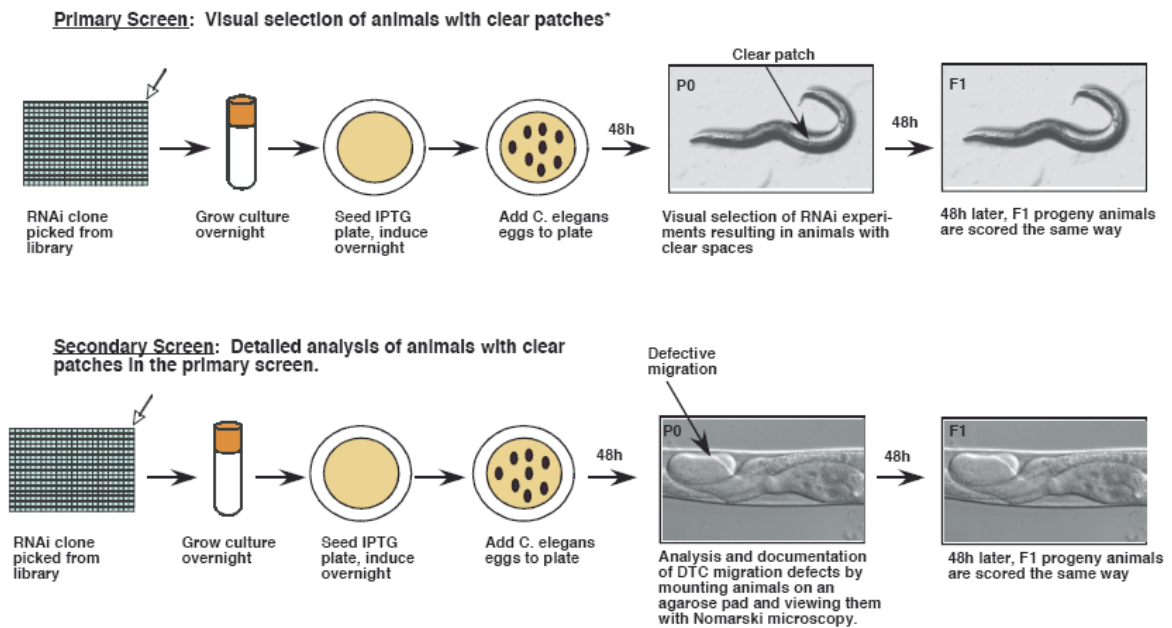


그림 3. *E. coli* RNAi feeder strain으로 *C. elegans*에서 유전자 결여 돌연변이를 만드는 방법 [3]

그림 4.

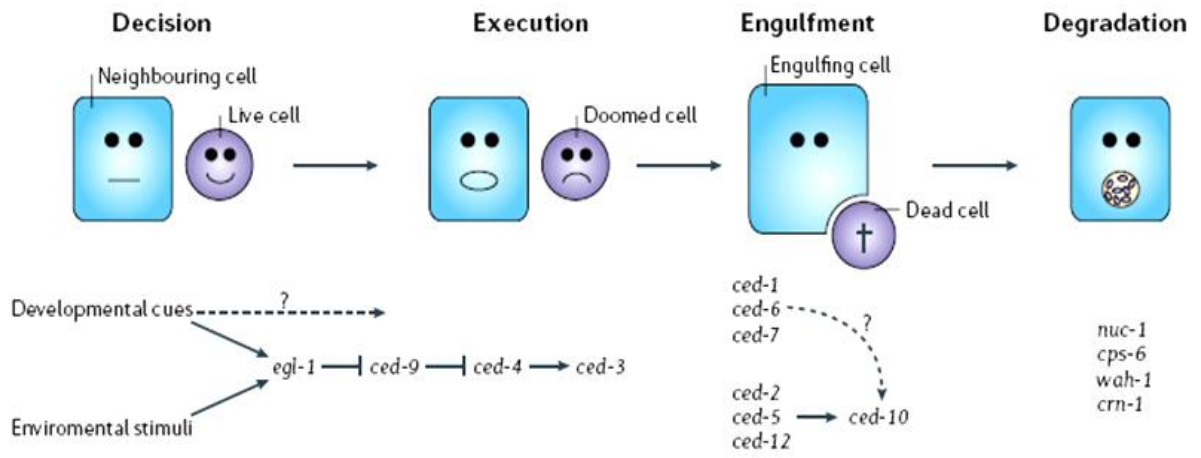


그림 4. *C. elegans*에서 일어나는 세포사멸 (에이파토시스)에 관여하는 유전인자와 경로 [4]

그림 5.

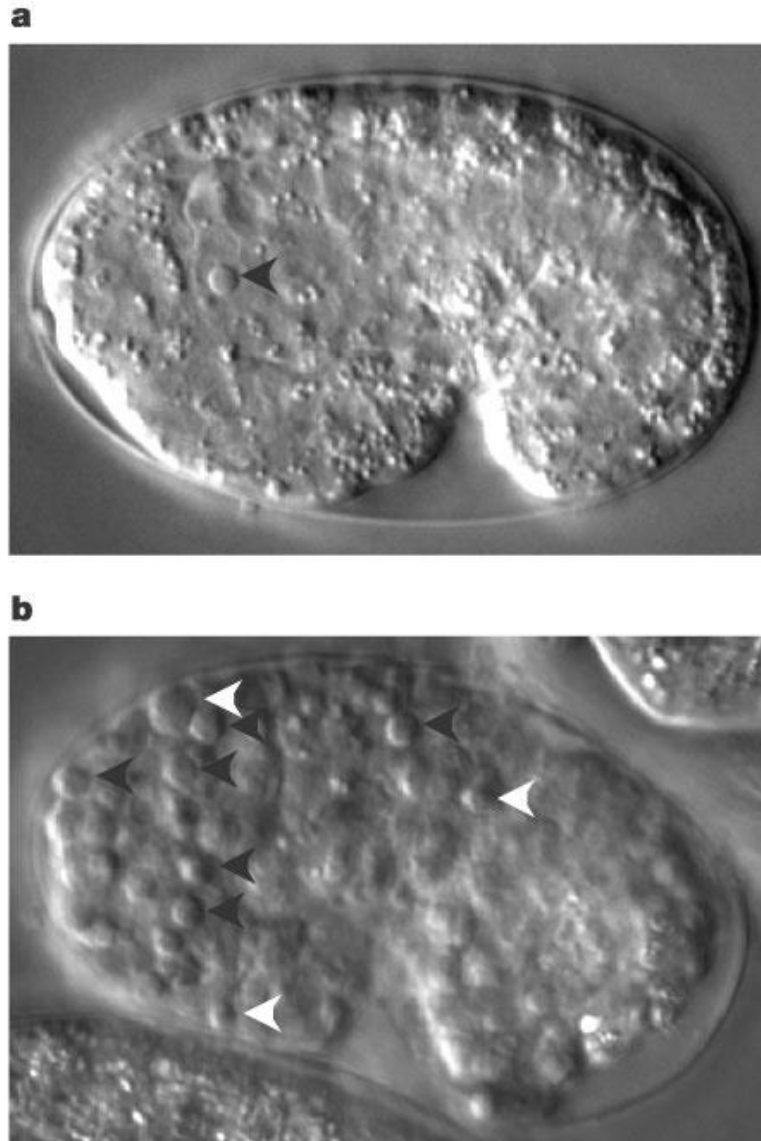


그림 5. *C. elegans*의 배아 발생 중 코마 (comma) 단계의 세포사멸 (에이파토시스)에 의해 발생하는 세포 corpse [5]

집필자 소개:

성명: 최 신 식

소속/직위: 명지대학교 식품영양학과 조교수

Email: sschoi@mju.ac.kr

Web: <http://old.mju.ac.kr/biofood>



학력

1999 서울대학교 공과대학 화학생물공학부 학사

2001 서울대학교 공과대학 화학생물공학부 석사

2005 서울대학교 공과대학 화학생물공학부 박사

경력

2005-2006 서울대학교 초미세생체전자시스템연구센터 박사후연수

2006-2009 University of California, Santa Barbara, Department of MCD Biology, 박사후연수

2009-현재 명지대학교 자연과학대학 식품영양학과 조교수

학회활동

한국미생물생명공학회 정회원, 편집간사

한국식품과학회, 정회원, 편집간사

한국생물공학회, 정회원, 평의원

한국화학공학회, 정회원

연구실적

1. **Shin Sik Choi**, Won Jong Rhee, and Tai Hyun Park, "Inhibition of human cell apoptosis by silkworm hemolymph", *Biotechnology Progress*, 18, 874-878 (2002).
2. **Shin Sik Choi**, Won Jong Rhee, and Tai Hyun Park, "Beneficial effect of silkworm hemolymph on a CHO cell system: inhibition of apoptosis and increase of EPO production", *Biotechnology and Bioengineering*, 91, 793-800 (2005).
3. **Shin Sik Choi**, Won Jong Rhee, Eun Jeong Kim, and Tai Hyun Park, "Enhancement of recombinant protein production in Chinese hamster ovary cells through anti-apoptosis engineering using *30Kc6* gene", *Biotechnology and Bioengineering*, 95, 459-467 (2006).
4. **Shin Sik Choi** and Tai Hyun Park, "Enhancement of sialyltransferase-catalyzed transfer of sialic acid onto glycoprotein oligosaccharides using silkworm hemolymph and its 30K protein", *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 43, 128-132 (2006).

5. Jun Geon Park, **Shin Sik Choi**, and Tai Hyun Park, "Enhancement of cell growth and viability of CHO cells in serum-free media by *30Kc6* gene expression", *Process Biochemistry*, 42, 8-15 (2007).
6. Jeong Seok Oh, **Shin Sik Choi**, Jong-Kee Yeo, and Tai Hyun Park, "Construction of various bacteriophage λ mutants for stable and efficient production of recombinant protein in *E. coli*", *Process Biochemistry*, 42, 486-490 (2007).
7. Jeong Seok Oh, **Shin Sik Choi**, and Tai Hyun Park, "Enhancement of bacteriophage λ stability using a λ Q^{-S} mutant in the continuous culture of *Escherichia coli*", *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 33, 1103-1107 (2010).
8. Sun Ho Lee, Yoon-Jung Cha, **Shin Sik Choi**, Sang-Hyub Ha, and Hyun Ho Lee, "Fabrication of nanoparticle-based microneedle for potential drug delivery", *IEEE-Nanomed*, 164-167 (2010)
9. **Shin Sik Choi**, "High glucose diets shorten lifespan of *Caenorhabditis elegans* via ectopic apoptosis induction", *Nutrition Research and Practice*, 5, 214-218 (2011).
10. Sun Ho Lee, Hyun Ho Lee, and **Shin Sik Choi**, "Nanoparticle Popsicle: Transdermal delivery of nanoparticles using polymeric microneedle array", *Korean Journal of Chemical Engineering*, 28, 1913-1917 (2011).
11. Ju Hyun Park, Hee Ho Park, **Shin Sik Choi**, Tai Hyun Park, "Stabilization of enzymes by the recombinant 30Kc19 protein", *Process Biochemistry*, 47, 164-169 (2012).
12. Latif Muhammad, **Shin Sik Choi**, Hern Kim, "Interfacial characterization of coffee mix using dynamic surface tensiometer", *Journal of Food Process Engineering*, in press (2012).
13. Yun Jeong Cha, Jaesang Lee, **Shin Sik Choi**, "Apoptosis-mediated in vivo toxicity of hydroxylated fullerene nanoparticles in soil nematode *Caenorhabditis elegans*", *Chemosphere*, in press (2012).
14. Jong Hyun Yoon, **Shin Sik Choi**, Tai Hyun Park, "The cultivation of *Anabaena variabilis* in a bubble column operating under bubbly and slug flows", *Bioresource Technology*, accepted (2012).