

## 동물 체세포의 복제

정희태교수 <[htcheong@kangwon.ac.kr](mailto:htcheong@kangwon.ac.kr)>  
강원대학교 동물자원과학대학

### 핵이식과 복제동물

복제라는 것은 동일 유전자를 가진 복수의 세포, 혹은 그 세포의 집합체 (개체)를 말한다. 따라서, 복제동물이란 동일 유전자를 가진 동물을 의미하며, 클론 혹은 클론동물(clone animal)이라고도 한다. 예를 들어, 단세포동물의 경우 하나의 세포가 분열하여 개체를 증식하기 때문에 동일 유전자를 가진 클론동물이라 할 수 있다. 일란성 쌍자의 경우도 하나의 핵으로부터 만들어진 것이므로 동일 유전자를 가진 클론이 된다. 그러나 유성생식의 방법으로 자손을 남기는 고등동물은 부모의 유전자를 절반씩 물려받기 때문에 태어나는 자식은 부모와 전적으로 동일한 유전자를 가지는 법이 없다. 이와 같이 유성생식에 의하지 않고 개체를 증식시키는 기술을 클로닝이라 한다. 이 클로닝의 가장 일반적인 기술이 핵이식 (nuclear transfer)이라는 방법으로, 복제하고자 하는 동물의 수정란 또는 체세포의 핵을, 핵을 제거한 별도의 미수정란에 주입 혹은 융합시키는 기술이다. 분열 초기 수정란은 각각의 분할구 세포가 개체로 발달할 수 있는 능력, 즉 전능성 (totipotency)이 있지만, 세포가 분열을 계속하게 되면 특정 세포로 분화를 개시하게 되고, 이 상태에서는 각각의 세포는 전능성을 가지고 개체로 발달할 수 없게 된다. 따라서, 각각의 분화된 세포가 초기 수정란의 세포와 같은 전능성을 가지기 위해서는 이들 개개의 세포를 아직 분화가 시작되지 않은 미수정란 세포질과 융합하여 발육 초기 상태로 복귀시켜주는 재구축 (reconstitution)과정이 필요하다. 이러한 과정을 핵이식이라 하며, 핵이식 후 이식된 핵이 초기 수정란의 핵과 동일한 상태로 재프로그래밍 (reprogramming)되는 과정을 거친 재구축배는 대리모에 이식할 경우 개체로 발달될 수 있게 된다.

### 복제기술의 개요

핵이식에 의한 복제는 복제하고자 하는 동물의 핵을 어디에서 얻느냐에 따라 수정란 복제 체세포 복제로 구분된다. 수정란 복제란 이미 수정되어 분열 중에 있는 수정란의 분할구 세포를 하나씩 분리한 다음 도너(donor) 핵으로 이용하는 것이고, 체세포 복제 동물의 피부, 귀, 유선, 근육 등으로부터 분리된 체세포를 donor 핵으로 이용하는 것이다. 수정란 핵이식에 의해 태어난 개체들은 하나의 수정란에서 유래된 경우 형제간 또는 자매간에는 클론이 될 수 있으나 수정란을 제공한 어미의 클론동물은 아니다. 반면, 체세포 핵이식에 의해 태어난 개체는 세포를 제공한 원래 개체와 유전자가 일치하는 부자간 또는 모녀간 클론이 되며, 복수의 개체가 태어날 경우 형제 또는 자매간 클론이 되기도 한다.

핵이식에 의한 클로닝은 도너 세포 (핵)의 분리, 수핵란 (recipient)의 탈핵 (enucleation), 세포핵의 이식, 도너 세포와 수핵란 세포질의 융합, 세포질의 활성화, 핵이식란의 배양 및 수정란이식 등의 일련의 기술과정이 포함되어 있다 (그림 1). 핵이식에 사용되는 도너 핵은 수정란 핵이식의 경우는 수정란의 분할구 세포를 효소를 이용하여 하나씩 분리하여 사용하면 되나, 체세포 핵이식의 경우는 복제하고자 하는 개체의 조직을 일부 절취하여 트립신등 효소를 이용하여 조직으로부터 세포를 분리해 내고, 이들 세포를 체외에서 일정기간 배양한 다음 동결해 두고 사용한다. 따라서 수정란 세포의 경우는 분열기 수정란을 대상으로 하므로 도너로 사용할 세포의 수가 제한되지만, 체세포의 경우는 배양에 의해 그 수를 증가시킬 수 있으므로 원하는 수의 도너 세포를 확보할 수 있다. 수핵란 세포질은 체내 또는 체외에서 성숙시킨 미수정란을 이용한다. 소나 돼지와 같은 가축에서는 도축장에서 도축되는 암컷의

난소로부터 회수된 미성숙난자를 체외배양에 의해 인위적으로 성숙시켜 사용할 수 있다. 난자는 세포질 내부에 모체 유래의 염색체 (핵)를 가지고 있으므로 수핵란 세포질로 이용하기 위해 이들 염색체를 제거해 주어야 하는데, 이를 탈핵이라 하며, 현미조작기에 부착된 미세 유리피펫으로 흡인하여 제거하게 된다. 핵의 주입은 순수한 핵만을 분리하여 수핵란 세포질 내에 직접 이식하거나 핵을 포함한 도너 세포를 수핵란의 투명대아래 공간에 주입한 다음전기자극을 주어 수핵란과 핵을 하나로 융합시키게 된다 (그림 2). 융합된 난자는 전기자극이나 화학적 자극에 의해 난자의 세포질을 활성화 시켜주어야 하는데, 이는 수핵란 세포질이 미 활성화 상태의 미수정란이므로 수정 시와 비슷한 자극을 줌으로써 핵이식란이 분열을 진행하도록 하기 위함이다. 이러한 과정을 거친 핵이식 복제란은 체외배양을 거쳐 대리모에 이식하여 복제동물을 생산하게 된다.

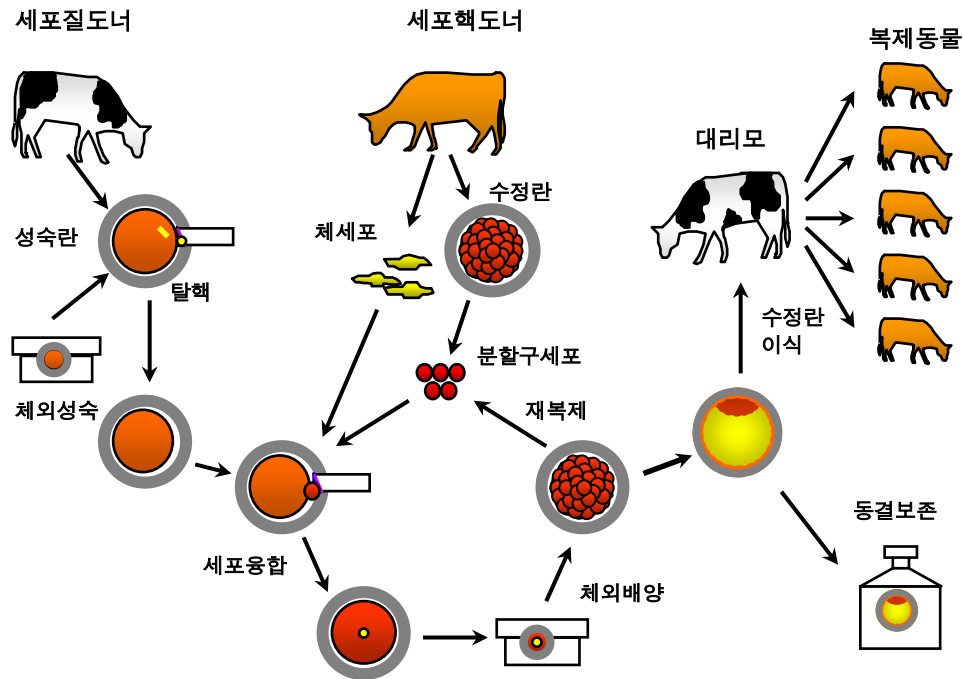


그림 1. 핵이식 기술에 의한 복제동물 생산 모식도

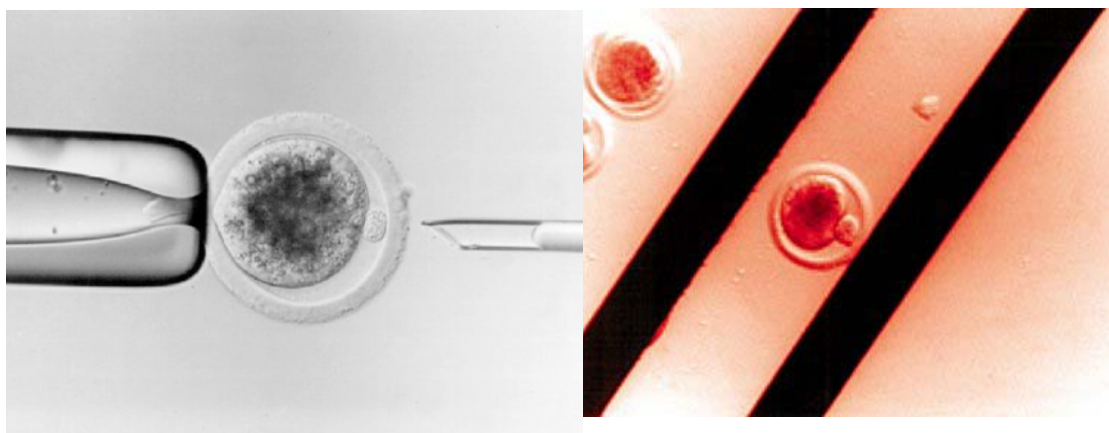


그림 2. 세포핵의 이식 (좌)과 전기융합 (우)

한편, 핵이식기술에 의한 복제동물 생산 효율성을 높이는 방법으로 도너 핵의 이식 전에 핵의 세포주기를 조절하는 방법이 이용되고 있다. 세포의 세포주기에는 G1 기, S 기 (DNA 복제시기), G2 기, M 기 (분열기)로 나누어지는데 수정란세포를 이용한 핵이식의 경우 도너 핵의 세포주기를 G1 기에 맞추어 주게되면 복제란의 발육능이 향상된다. 체세포 복제의 경우도 세포주기를 조절하여 핵이식을 하게 되는데 체세포의 핵을 G1 기 또는 G0 기에 맞추어 핵이식을 하게 된다. G0 기라 함은 G1 기 세포가 배양환경의 영향에 의해 발육을 일시 정지하고 있는 상태인데 G1 기 상태와 비슷하다고 볼 수 있다. 체세포의 세포주기를 G1 기 또는 G0 기에 맞추는 방법으로는 체세포의 배양 시 혈청 등 단백질원의 공급을 최대한 줄이거나 배양접시 내에서 세포를 고밀도로 배양하는 방법이 이용되고 있다.

### 포유류에 있어서 핵이식의 역사

1981 년 미국의 Illmensee 와 Hoppe 가 생쥐에서 핵이식에 성공하였다고 보고하였으나, 현재와 같은 세포융합방법에 의한 핵이식은 1983 년 McGrowth 와 Solter 에 의해 생쥐에서 개발되었다. 이들은 융합방법으로 전기자극 대신 불활성화 된 Sendai virus 를 이용하여 산자를 생산하였으나, 가축에서는 전기융합법이 일반적으로 채택되고 있다. 가축에 있어서는 1986 년에 면양에서, 1987 년에 소에서 8-16 세포기 수정란의 분할구를 핵이식하여 각각 산자를 생산하는데 성공하였다. 이 후 많은 연구자에 의해 다양한 동물, 다양한 발육단계에 있는 수정란의 핵을 이식하여 산자를 생산하였고, 1991 년에는 Bondioli 등이 수정란 핵이식 후 발육 중인 핵이식란의 분할구 세포를 다시 핵이식에 이용하는 반복 핵이식 방법으로 11 두의 클론 송아지를 생산하기도 하였다. 한편, 1996 년에는 Campbell 등에 의해 태아로 분화되기 직전의 배양세포를 핵이식하여 면양을 생산함으로써 체세포복제의 가능성을 시사하였다. 최초의 체세포 복제는 1997 년 영국의 Wilmut 박사 팀에 의해 생산되었는데 그것이 유명한 복제양 “Dolly”이다 (그림 3). 연구팀은 6 년생 암양의 유선세포를 배양한 다음 화학적인 방법으로 세포가 휴면 상태 (G0 기)로 들어가도록 한 후 핵이식에 사용함으로써 복제면양 생산에 성공하였다. ”Dolly” 탄생 이후 복제연구는 체세포 복제에 초점이 맞춰져 1998 년에 소 복제 성공을 시작으로, 생쥐, 돼지, 산양, 고양이, 토끼, 랫드, 당나귀, 개 등에서도 체세포 복제의 성공이 보고되었다.



그림 3. 최초의 체세포 복제양 “Dolly”

## 핵이식 복제기술의 이용

핵이식에 의한 복제기술은 일차적으로 가축의 생산성증대에 기여할 수 있다. 젓소나 고기소 등에서 유전적으로 우수한 엘리트 가축의 수정란이나 체세포를 도너로 이용하여 복제가축을 생산한다면 이들 복제가축은 세포를 제공한 모 개체의 유전능력을 그대로 이어받게 되므로 젓이나 고기의 양적, 질적 생산성이 증대될 수 있다.

두 번째로는 멸종위기에 있는 희귀동물들을 보존, 증식시키는 수단으로 이용될 수 있다. 팬더곰이나 백두산 호랑이 등 멸종위기에 직면한 동물들의 세포를 떼어내어 복제함으로써 자연번식이 불가능한 상황에서도 개체를 만들어낼 수 있게 된다. 최근 미국의 한 생명공학회사에서 만들어낸 "Noah"라는 야생들소는 비록 태어난 후 사망하기는 했지만 Gaur 들소의 체세포를 소의 난자에 핵이식하여 복제에 성공한 경우이다. 중국에서도 팬더곰의 복제를 위한 노력을 계속하고 있는 것으로 알려져 있다.

세 번째로는 체세포 복제를 이용한 형질전환동물의 생산을 들 수 있다. 기존의 형질전환기술은 난자의 핵 속에 외래 DNA 를 직접 주입하는 방법을 사용함으로써 효율성이 극히 저조하였으나, 체세포 복제기술을 이용하면 핵이식 전에 미리 donor 세포에 전기자극 등으로 유전자를 도입하고 유전자가 도입된 세포만을 선발하여 핵이식하여 복제를 생산하는 방법이므로 태어나는 모든 복제 개체가 형질전환동물이 된다.

다음으로는 장기이식용 동물의 생산에 이용될 수 있다. 인간의 장기와 비슷한 장기구조를 가진 돼지를 이용하여 체세포를 회수하여 인간에게 불리한 유전자, 예를 들어 장기이식 시 거부반응을 일으키는 유전자를 제거 (knock-out)한 후 핵이식하면 태어난 복제돼지의 장기를 거부반응 없이 인간에게 이식할 수 있게 된다. 2000 년대초에 미국과 영국에서 거부반응 원인유전자를 제거한 복제돼지 생산에 성공한 바 있다.

마지막으로 체세포복제기술을 이용하면 세포치료용 특정세포를 만들어낼 수도 있다. 예를 들어 파킨슨씨병에 걸린 환자의 체세포를 이용하여 핵이식 후 만들어진 복제수정란으로부터 몸의 어떤 세포조직으로도 분화할 수 있는 줄기세포 (stem cells)를 만들면 이 세포에서 신경세포를 만들어내고 이를 이용하여 환자의 뇌 조직에 건강한 세포를 주입하여 질병을 치료할 수 있게 된다. 최근에 우리나라의 황우석 교수팀에 의해 인간의 체세포복제기술에 의한 인간 복제배아의 배아줄기세포를 생산하는데 성공하여 배아줄기세포를 이용한 난치병의 치료 가능성이 한층 높아지고 있다. 그러나 이 분야는 인간배아 복제와 직접 관련된 문제로 사회적 논란이 되기도 한다.