

2016. 1. 12.(화) 조간부터(온라인 즉시 활용가능) 보도하여 주시기 바랍니다.

홍보 담당 대외협력팀 자료 문의 뇌질환연구부장 최영식 (053-980-8340)  
뇌질환연구부 정성진 책임연구원 (053-980-8510)

**한국뇌연구원(KBRI), 공동연구를 통한 뇌 발달 원리  
규명을 위한 3차원 진단기술 개발**  
고려대 선웅 교수 연구팀과 공동으로 뇌조직 투명화를 통한  
3차원 조직병리 진단기술 개발



□ 한국뇌연구원(KBRI, 원장 김경진)은 국내 연구진과 공동연구로 뇌 발달 지도 구축을 위한 핵심원천기술인 “초고속 뇌투명화 및 3차원 조직 면역염색기술(ACT-PRESTO)”을 개발, 확립하였다고 밝혔다.

- \*클레어티(CLARITY): 세포막을 이루고 있는 지질을 제거해 조직을 투명하게 만들어 세포나 장기 뒤에 숨어 있는 혈관 등을 고화질로 관찰할 수 있게 하는 기술
- \*ACT (Active Clarity Technique): 조직 투명화 기술로 기존 보고된 방법인 ‘CLARITY’ 보다 최대 30배 이상 고효율로 다양한 크기의 장기 및 개체를 투명화 할 수 있는 혁신적인 기술.
- \*PRESTO (Pressure Related Efficient and Stable Transfer of macromolecules into Organs): 조직의 심부까지 효과적으로 항체를 전달하여 조직 내 항원-항체 반응이 진행될 수 있도록 하는 3차원 면역염색방법.
- \*면역염색: 항원-항체 반응을 이용한 조직염색방법으로 형광 탐침이 부착된 항체를 조직에 반응 시킬 경우 특정항체는 특정항원에 결합하게 되고 형광입자를 통해 특정항원의 분포를 가시화 할 수 있게 됨.

□ KBRI는 2015년도부터 미래창조과학부(장관 최양희)와 한국연구재단(이사장 정민근)의 “뇌과학원천기술개발사업” 지원으로 “뇌발달 장애 진단 및 조절기술 개발(책임자 고려대 의대 선웅 교수)”을 위한 공동

연구를 수행하고 있으며, 금번 연구결과는 뇌과학분야 세계적 권위 학술지인 “사이언티픽 리포트(Scientific Reports)”에 게재되었다.

- KBRI 뇌질환연구부장 최영식, 책임연구원 정성진 박사는 뇌발달 장애 진단 및 조절기술 개발의 세부책임자로 참여, 총괄책임자인 고려대 선웅 교수 연구팀과 더불어 로고스바이오시스템스(대표 정연철), 대구경북과학기술원(DGIST, 총장 신성철) 문제일 교수, 한국과학기술원(KIST, 원장 이병권) 허은미 박사 등과 공동 연구를 수행하고 있으며,

성명	직위/직급	학력사항	주요경력 및 연구실적 등
 최영식	뇌질환연구부장 (책임연구원)	서울대 분자생물학 (이학박사)	<ul style="list-style-type: none"> <li>◦ 캘리포니아대학(연구원)</li> <li>◦ Genentech(Visiting scientist)</li> <li>※ Neuron 2012의 우수논문 29편</li> </ul>
 정성진	뇌질환연구부 (책임연구원)	서울대 분자생물학 (이학박사)	<ul style="list-style-type: none"> <li>◦ 하버드의대 Research Fellow</li> <li>◦ 보스턴어린이병원 Associated Personnel</li> <li>※ PNAS 2011의 우수논문 35편</li> </ul>

- 짧은 기간에 조직 투명화 및 면역염색 기술인 ‘ACT-PRESTO’를 개발한 연구 결과를 자연과학 및 임상과학 분야의 권위적 학술지인 사이언티픽 리포트(Scientific Reports) (1월 11일자) 온라인판에 게재하게 되었다.

□ 논문의 주요 내용으로는

- 기존의 조직투명화기술은 조직을 투명화하는데 속도가 매우 느리고, 조직내 항체침투력이 매우 낮아 3차원적 구조관찰에는 한계가 있었으며, ACT-PRESTO는 기존의 기술보다 30배가 빠른 속도로 조직을 투명화하고, 항체침투력을 극대화 하여 3차원 조직관찰을 가능하게 되었으며,

- 동 기술은 뇌를 비롯한 모든 조직을 단순히 관찰하기 위한 방법으로만 사용되는 것이 아니라, 현재 임상에서 통용되는 2차원적 병리학적 진단으로부터 3차원 병리진단으로 새로운 패러다임의 변화를 주도할 것으로 기대된다.

\*기존의 2차원 병리진단기법 : 진단하고자 하는 인체시료를 약 15마이크로미터의 박편을 제작하여 면역화학적 기법을 통해 진단함. 박편제작을 위한 시간이 소요되고 전체적 구조를 볼 수 없는 한계가 있음

- 뇌연구촉진법에 따라 설립된 뇌연구 전문 국책연구기관인 KBRI는 “뇌의 이해를 기반으로 뇌질환 치료와 진단기술 개발”을 위해 집중적인 연구수행에 박차를 가하고 있으며
  - 금번 KBRI 뇌질환연구부 최영식, 정성진 박사가 고려대 선웅 교수 연구팀과의 공동연구로 짧은 시간에 뇌지도 작성을 위한 핵심원천 기술개발의 연구성과 창출은 그 의의가 매우 크다고 할 수 있다.
- 특히, KBRI는 이번 연구에서 핵심분야인 “조직 이미징화”를 가능케 하기 위해 전문연구, 기술인력 및 첨단 뇌 이미징 장비 등을 투입하여 연구성과 창출에 중추적인 역할을 수행하였으며,
  - 2015년 11월 로고스바이오시스템스와의 업무협약을 통해 “뇌투명화 기술 기반의 진단장비 플랫폼 개발과 뇌연구 전문인력 양성을 위한 R&DT 프로그램”을 본격적으로 추진할 계획이다.
- 또한, KBRI는 뇌투명화 기술을 통해 마이크로(Micro) 수준의 영상을 뇌지도 작성을 구현하는 한편, 연속 블록면 주사전자현미경 등을 이용, 나노(Nano) 수준의 이미징을 확보하는 등 다양한 수준의 뇌지도 작성 기술을 활용함으로써 연구성과 창출에 핵심역할을 수행하고 있다.

\*연속블록면 주사전자현미경 (3-Dimensional Scanning Electron Microscopy<3D-SEM>)  
 -(장비원리) 가속시킨 전자의 충돌로 발생되는 이차 전자 및 여러 성분 검출  
 -(활용분야) 세포구조, 세포소기관 및 세포 간 연결 형태를 나노미터 수준에서 삼차원적으로 재구성하는 자동화 정밀영상분석 장비



- 김경진 원장은 “KBRI가 국내 연구진과의 공동연구로 발달과정의 뇌구조 이해를 위해 짧은 기간에 혁신적 연구성과를 창출에 기여하였다.”라고 말했으며,
  - “KBRI는 국내 뇌연구 역량을 결집하고, 국내 뇌연구기관, 개별 연구자와의 연계를 통한 국가 뇌연구 경쟁력 강화를 선도하고자 더욱더 노력할 것”이라고 말했다.

- (참고자료) 1. 논문의 주요 내용  
 2. 연구결과 개요  
 3. 용어설명  
 4. 그림설명

## 참고 1

### 논문의 주요 내용 (요약)

#### 1. 연구의 필요성

- 조직 투명화 기술(CLARITY, CUBIC, iDISCO 등)은 뇌세포와 여러 분자들의 3차원 분포를 관찰 가능하게 하므로, 뇌지도 작성 및 뇌질환 연구에 기여 할 수 있는 획기적 기술로 평가된다.
- 기존에 발표된 조직 투명화 기술은, 뇌(생쥐)를 투명화 하여 단백질 분포를 확인하기까지 수개월의 오랜 시간이 소요되는 만큼, 연구에 활용하거나 임상 진단 기술로 발전시키기에는 문제점이 있었다.

#### 2. 발견 원리

- 연구팀은 2013년 재미 한국인 과학자인 정광훈 박사(현 MIT 교수)가 개발한 연구기술인 ‘CLARITY’ 조직투명화 기술을 기반으로 하되, 조직-폴리머 형성 조건을 최적화 하였으며, 고효율 조직 투명화 장비를 세계 최초로 개발하였다.
- 투명화 이후에도 단단한 조직의 경우 항체가 조직 깊이까지 침투하지 못하는 문제가 있어, 효과적인 면역염색 방법의 개발이 필요하였다. 면역염색 시 양압 또는 음압을 조직에 가하는 것이 효과적으로 항체를 조직 깊숙히 침투하게 만들 수 있음을 발견하여, 이를 조직투명화 기술과 접목하였다.

\* 면역염색 : 항원-항체 반응을 이용한 조직염색방법으로 형광 탐침이 부착된 항체를 조직에 반응 시킬 경우 특정항체는 특정항원에 결합하게 되고 형광입자를 통해 특정항원의 분포를 가시화 할 수 있게 됨.

#### 3. 연구 성과

- 기존의 보고된 조직 투명화 기술과 비교할 때 ‘ACT’ 기술의 조직 투명화 속도는 최소 30배 이상 빠르며 생쥐 뇌 투명화에 국한 되지 않고 중대 동물의 뇌, 장기(臟器) 또한 투명화가 가능하여 여러 범주의 연구에 적용 가능한 기술로 뇌지도 구축 및 뇌질환 연구에 기여할 것으로 기대된다.
- ‘PRESTO’ 면역염색 기술의 효과는 기존 기술 대비 동일 시간동안 염색 시 최소 5배 이상 깊이, 10배 이상 빠르게 염색되는 혁신 기술로 면역염색의 적용 한계를 뛰어 넘을 수 있는 해결책으로 제시 될 수 있을 기술이다.
- 로고스바이오시스템즈와의 공동연구를 통해 어느 연구실에서 수행하여도 동일한 결과를 얻을 수 있고 손쉽게 사용할 수 있는 조직투명화 장비로 개발하여 제공 가능하게 하였다.

## 참고 2

### 연구결과 개요

#### 1. 연구배경

- 그동안 뇌 속의 세부 구조와 신경망을 밝히는 해부학적 연구는 뇌 조직을 매우 얇게 박편으로 잘라 신경세포 연결망을 하나하나 파악한 뒤에 수많은 박편들의 정보를 다시 종합해 뇌 세포와 분자 분포의 전체 그림을 그리는 방식으로 주로 이뤄져 왔다.
- 조직 투명화 기법중 하나인 ‘CLARITY’ 방법은 뇌 조직에 손상을 가하지 않으면서 그 안의 신경세포 연결망을 거시적으로 또는 분자 수준에서 투명하게 관찰 할 수 있는 새로운 길을 제시했다.
- 조직 투명화 기법의 원리는 다음과 같다. 아크릴아마이드(acrylamide)라는 화학 물질이 뇌 속 곳곳에 스며들게 한 후 온도를 높이면 이 작은 분자들이 서로 연결돼 뇌 속에서 마치 그물망 같은 구조를 형성하게 된다. 이 때 뇌 세포와 분자들은 그물망에 붙들려 고정되지만, 지질 성분만은 이런 그물망과 결합하지 못한 상태로 남게 된다.
- 그러나 CLARITY 기술을 사용할 경우 생쥐 뇌 조직 투명화에 소요되는 시간이 2 주에서 4주가량 요구되며 장비를 설치하는 방법에 따라 결과가 일정치 않고 투명화 된 조직을 얻기 어려운 점이 있었다.

#### 2. 연구내용

- 위의 기본 원리를 활용하여 본 연구진에의해 개발된 ACT 기술은 기존 환경보다 좀 더 성긴 그물망이 뇌 조직 내부에 형성되도록 하여 좀 더 지질이 뇌에서 잘 씻겨나갈 수 있도록 하는 조건을 확립 하였다. 그 결과 2주가량 요구되는 조직 투명화 시간을 6시간으로 단축시키는 기록적인 성과를 얻게 되었다.
- 기록적인 성과를 얻을 수 있었던 다른 요인으로 조직 투명화 챔버의 새로운 설계를 들 수 있다. 조직 투명화 과정 중 전기영동 장치를 사용하여 지질을 뇌에서 제거하게 되는데 이 때 백금 선 대신 충분한 전류의 양이 안정적으로 흐를 수 있도록 백금판을 도입하였다. 또한 전기영동 시 버퍼로 사용되는 용액에서 거품이 많이 발생하게 되는데 이 거품들은 전류의 흐름을 방해하여 결국 조직에

손상을 주게 된다. 이에 연구진은 조직과 백금판의 거리, 챔버의 높이 등을 꼼꼼히 분석하여 조직 투명화에 최적화된 새로운 장비를 개발하게 되었다.

- 투명화 된 견고한 조직 (신장, 간)의 경우 면역염색이 조직 심부까지 이루어지지 못해 조직 투명화 이후에도 깊이 정보를 획득하기 어려웠다. 이를 극복하고자 효과적인 면역염색 방법의 개발이 필수적이었고 다양한 물리적 화학적 요소를 가미해가며 실험 해 본 결과 면역염색 시 일정 수준의 압력을 조직에 가하면 조직 심부까지 항체가 전달됨을 확인 할 수 있었다. 이는 기존 기술 대비 5배 이상의 깊이 효과를 보이는 혁신기술로 투명화조직(CLARITY) 및 일반 조직에서도 겪고 있는 면역염색의 한계를 뛰어 넘을 수 있는 해결책으로 제시 될 만한 기술(PRESTO)이다.

### 3. 기대효과

- 연구진이 확립한 기술을 기존에 알려진 조직투명화 기술들 보다 더 빠르고 안정적으로 투명화를 진행하며 투명화 시료의 제약이 크지 않다는 장점이 있어 다양한 연구 분야에 적용가능하다.
- 각각의 재료를 구입해서 설치해야하는 기존 기술들의 번거로움 없이 세팅되어있는 장비를 제공 가능하기 때문에 어느 연구실에서든 본 연구진이 도출한 결과의 결과 같은 투명화 조직을 얻을 수 있어 실패 확률이 적어 더욱 재현 가능한 기술이며 시간적 노동적인 면에서도 경제적이기 때문에 활용 가능성이 매우 크다.
- 뇌지도 작성 및 뇌질환 연구에 적용하여 뇌질환 원인을 규명하는데 기여할 것으로 기대된다.
- 다양한 조직 투명화 방법이 제시되었으나 쉽게 재현가능한 면을 고려할 때 조직 투명화 방법의 보편화를 이룰 수 있는 기술이 될 것으로 예상된다.

## 참고 3

## 용어 설명

### 1. 사이언티픽 리포트 (Scientific Reports) 誌

- 사이언티픽 리포트 (Scientific Reports)는 자연과학 전 분야와 임상 과학 분야를 아우르는 학술지로 Nature지의 자매지중 하나이며, 학술지표 평가기관인 Thomson JCR 기준 영향지수 (impact factor 5.578)를 가지고 있다.

### 2. 조직 투명화 기술

- 조직내부, 조직과 조직의 외부환경 사이 빛의 굴절률을 맞춰주는 것을 기본 원리로 하여 화학약품을 이용하여 빛의 굴절률을 맞춰주는 방법과 조직 내 지질을 제거한 후 빛의 굴절률을 맞추는 방법이 있다.

### 3. 전기영동 (Electrophoresis)

- 전해질 중에 존재하는 하전(荷電) 입자에 직류전압을 걸면 정의 하전 입자는 음극으로, 부의 하전 입자는 양극으로 향하여 이동한다. 이 현상을 전기영동이라고 한다.

### 4. 면역 염색

- 항원-항체 반응을 이용한 조직 염색방법으로 형광 탐침이 부착된 항체를 조직에 반응 시킬 경우 특정 항체는 특정 항원에 결합하게 되고 형광입자를 통해 특정항원의 분포를 가시화 할 수 있는 조직 염색방법이다.

## 참고 4

## 그림 설명

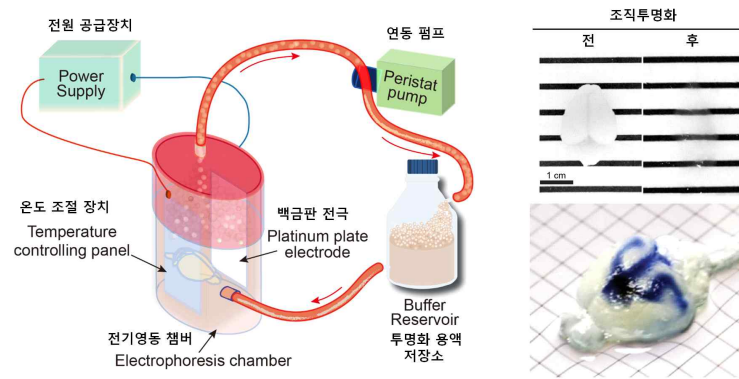


그림 1. 개발한 조직투명화 장비의 모식도 (좌) 및 이를 이용한 생쥐 뇌 조직의 투명화(우).

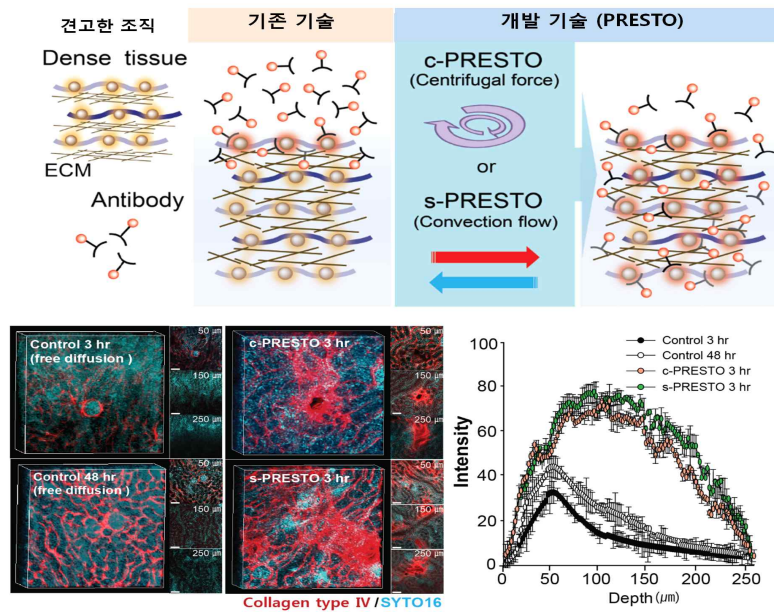


그림 2. 개발한 면역염색 방법 'PRESTO' (위) 및 이를 이용한 신장 (kidney) 조직 콜라겐(collagen) 면역염색 결과 (아래).