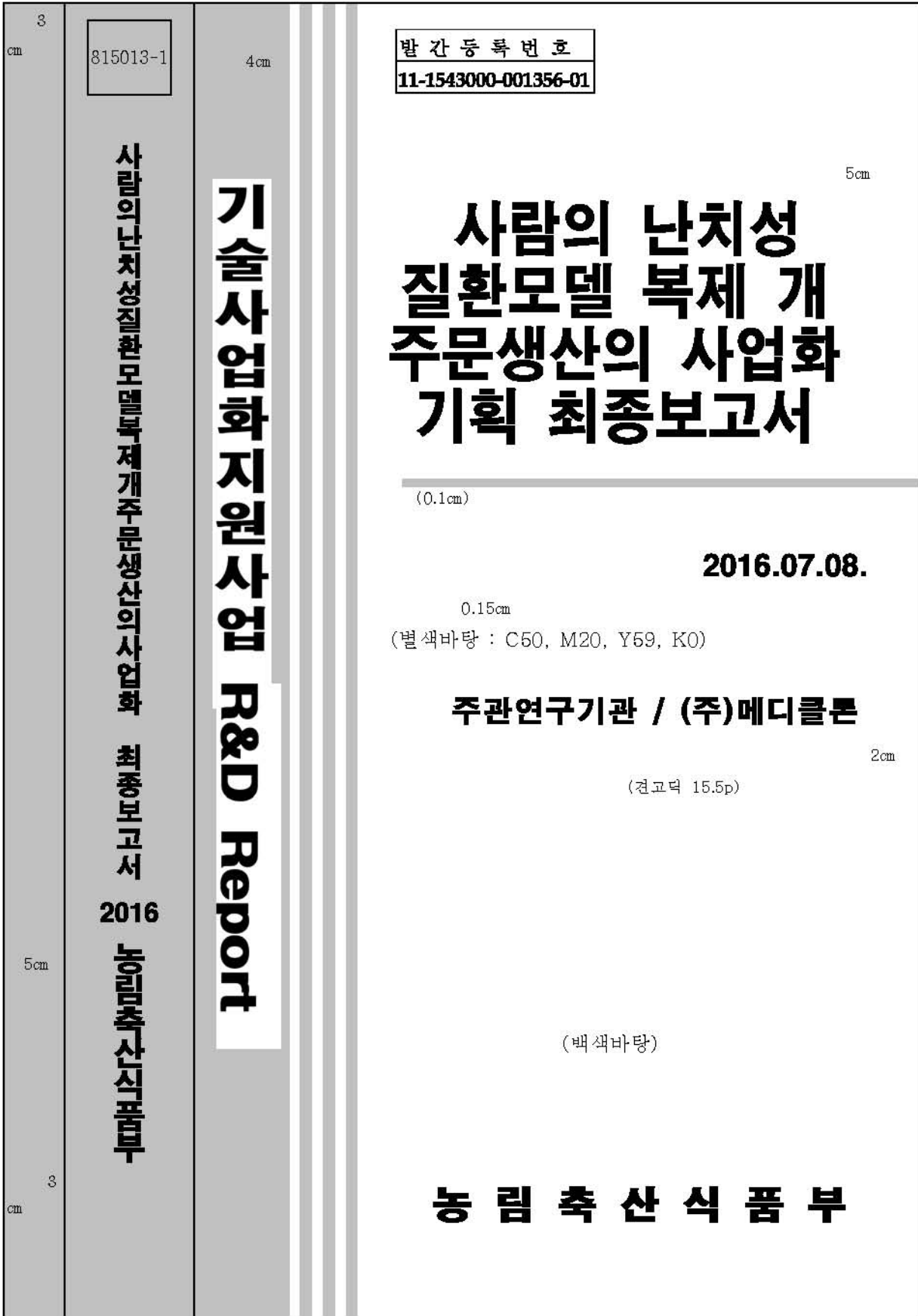


(뒷면) (옆면)

(앞면)



3

cm

815013-1

4cm

발간등록번호  
11-1543000-001356-01

5cm

# 사람의 난치성 질환모델 복제 개 주문생산의 사업화 기획 최종보고서

(0.1cm)

2016.07.08.

0.15cm

(별색바탕 : C50, M20, Y59, K0)

주관연구기관 / (주)메디클론

2cm

(견고덕 15.5p)

사람의 난치성 질환 모델 복제 개 주문 생산의 사업화  
최종 보고서

2016

농림축산식품부

기술사업화 지원 사업  
R&D Report

5cm

3

cm

농림축산식품부

## 제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “사람의 난치성 질환모델 복제 개 주문생산의 사업화 기획”  
(개발기간 : 2015. 12. 23 - 2016. 05. 22)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2016. 07. 08.

주관연구기관명 : 메디칼론

(대표자) 김 현 주

세부연구기관명 : 메디칼론

(대표자) 김 현 주



주관연구책임자 : 김 현 주

세부연구책임자 : 김 현 주

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의  
합니다.

## 보고서 요약서

과제고유번호	815013-1	해당 단계 연구 기간	15.12.23~ 16.05.22	단계 구분	
연구사업명	중사업명				
	세부사업명	기술사업화지원사업			
연구과제명	대과제명				
	세부과제명	사람의 난치성 질환모델 복제 개 주문생산의 사업화 기획			
연구책임자	김헌주	해당단계 참여 연구원 수	총: 5 명 내부: 5 명 외부:   명	해당단계 연구개발비	정부: 20,000천원 민간:       천원 계: 20,000천원
		총연구기간 참여 연구원 수	총: 5 명 내부: 5 명 외부:   명	총연구개발비	정부: 20,000천원 민간:       천원 계: 20,000천원
연구기관명 및 소속부서명	메디클론			참여기업명	
위탁연구	연구기관명:			연구책임자:	
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 사람의 DJ-1 유전자가 과발현되는 파킨슨 질환 모델개의 생산 및 확인</li> <li>2. 파킨슨 질환 모델개의 후대생산을 통한 생식선전이 확인</li> <li>3. 파킨슨 질환 모델개의 행동학적, 영상의학적 검증을 통한 전 임상자료 활용성 검토</li> <li>4. 사람의 APP mutant 유전자가 과발현되는 알츠하이머 질환 모델개의 생산 및 확인</li> <li>5. (주)메디클론의 사업성 및 수익성 분석</li> <li>6. (주)메디클론의 제품 경쟁력 분석</li> </ol>				보고서 면수 : 48	

## < 요약 문 >

		코드번호	D-01			
연구의 목적 및 내용	<p>체세포 복제기법을 이용하여 사람의 난치성 신경질환모델의 대표적인 질환인 알츠하이머병(Alzheimer`s disease, AD)/파킨슨병(Parkinson`s disease, PD) 과 유전적 운동부조화증(Ataxia) 등 3종이상의 질병모델 복제개를 생산하고, 복제개의 검증을 통한 전임상자료 활용성을 검토하여 질환 모델개의 사업화를 이루는 것이다.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. DJ-1등의 유전자조절을 통한 파킨슨 질환 모델개의 생산</li> <li>2. 단일 및 다중 유전자를 삽입한 알츠하이머 질환 모델개의 생산</li> <li>3. 후대생산을 통한 생식선전이 확인 및 대량생산</li> <li>4. 병리학적 검증을 통한 신약생산 전임상자료 활용성 검토</li> <li>5. 국제적 제약사 및 국내 제약사와 CRO 대상의 사업화 모델 구축</li> <li>6. (주)메디클론의 사업성 및 가치평가</li> </ol>					
연구개발성과	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 사람의 DJ-1 유전자가 과발현되는 파킨슨 질환 모델개의 생산 및 확인</li> <li>2. 파킨슨 질환 모델개의 후대생산을 통한 생식선전이 확인</li> <li>3. 파킨슨 질환 모델개의 행동학적, 영상의학적 검증을 통한 전임상자료 활용성 검토</li> <li>4. 사람의 APP mutant 유전자가 과발현되는 알츠하이머 질환 모델개의 생산 및 확인</li> <li>5. (주)메디클론의 사업성 및 수익성 분석</li> <li>6. (주)메디클론의 제품 경쟁력 분석</li> </ol>					
연구개발성과의 활용계획 (기대효과)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 난치성질환모델 개의 생산으로 신약개발에 따른 전임상 실험 및 치료제 개발에 이용</li> <li>2. 난치성 신경질환의 진단 및 치료장비 개발에 활용</li> <li>3. 난치성질환 병인 기전연구에 활용</li> <li>4. 세계적 제약그룹과의 연계를 통한 맞춤형 질환모델 개의 생산 및 사업화</li> <li>5. 양견 농가의 활용에 따른 축산업 발전 기여 약 60억/년</li> <li>6. 관련기술의 타 축종(돼지 및 토끼 등)에 적용하여 동물바이오 시장 확대 약 6,000억/년</li> <li>7. 원천기술 확보 및 독점체제 구축을 통해 국가적 위상 및 대한민국 이미지 제고</li> </ol>					
중심어 (5개 이내)	난치성 질환	질환모델	복제 개	전임상실험	신약개발	

## < SUMMARY >

		코드번호	D-02		
Purpose & Contents	<p>To develop more than three canine disease models by using somatic cell nuclear transfer technique for Alzheimer`s disease (AD), Parkinson`s disease (PD) and Ataxia etc.</p> <p>To industrialize canine disease models by pre-clinical application of cloned canine disease models after confirmation.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Generation of Parkinson`s disease canine model by using DJ-1</li> <li>2. Generation of Alzheimer`s disease canine model by inserting single or multi-genes</li> <li>3. Verification of germ line transmission and mass production</li> <li>4. To investigate the possibility of pre-clinical application by pathologic verification</li> <li>5. To establish the industrial model of CRO with International and domestic pharmaceutical companies</li> <li>6. To analyze the profitability and business value of Mediclone Inc.</li> <li>7. To analyze product competitiveness of Mediclone Inc.</li> </ol>				
Results	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Generation and confirmation of Parkinson`s disease canine model with overexpression of human DJ-1</li> <li>2. Verification of germ line transmission of Parkinson`s disease canine model</li> <li>3. Investigation of the possibility of pre-clinical application of Parkinson`s disease canine model by ethological and imaging analysis</li> <li>4. Generation and confirmation of Alzheimer`s disease canine model with overexpression of human APP mutant gene</li> <li>5. To analyze the profitability and business value of Mediclone Inc.</li> <li>6. To analyze product competitiveness of Mediclone Inc.</li> </ol>				
Expected Contribution	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. To develop new medicines and pre-clinical application by generation of incurable disease canine models</li> <li>2. To develop disease diagnostic and treatment equipments of incurable neurological diseases</li> <li>3. To investigate the mechanism of incurable diseases</li> <li>4. To generate and develop customized disease canine models by cooperation with an international pharmaceutical company</li> <li>5. To contribute livestock industry by application of dog farms (60 million/year)</li> <li>6. To contribute the market of animal biotechnology by applying the technique to other animals. (6,000 million/year)</li> <li>7. To enhance the image and status of south Korea by acquisition of its source technology and establishing exclusive system</li> </ol>				
Keywords	Incurable disease	Human disease model	Cloning dogs	Preclinical test	Drug discovery

## < CONTENTS >

I. Purpose of the study .....	6
II. Current level of domestic and foreign technical development .....	13
III. Contents and Results .....	18
IV. Achievement of the goal and Contribution to the related research field .....	29
V. Future plan of the results .....	31
VI. Scientific and technical information gathered from oversea during the progress of research .....	33
VII. Security Level of research outcome .....	34
VIII. Research facility · Equipment .....	35
IX. Safety performance measurement .....	36
X. Major Research achievements .....	37
XI. Others .....	38
XII. Reference .....	39

<Separate attachment> Self-assessment report

## < 목 차 >

제 1 장. 연구개발과제의 개요 .....	6
제 2 장. 국내외 기술개발 현황 .....	13
제 3 장. 연구수행 내용 및 결과 .....	18
제 4 장. 목표달성도 및 관련분야 기여도 .....	29
제 5 장. 연구결과의 활용계획 .....	31
제 6 장. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보 .....	33
제 7 장. 연구개발성과의 보안등급 .....	34
제 8 장. 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비현황 ...	35
제 9 장. 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적	36
제 10 장. 연구개발과제의 대표적 연구실적 .....	37
제 11 장. 기타사항 .....	38
제 12 장. 참고문헌 .....	39

<별첨> 자체평가의견서

## 주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 기술사업화지원사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 기술사업화지원사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.



# 제 1 장 연구개발과제의 개요

## 제 1 절 연구개발의 필요성 및 목적

### 1. 연구개발의 목적

- 체세포 복제를 이용한 사람의 난치성 신경질환모델 복제개 생산
- 사람의 난치성 신경질환모델 동물의 사업화 기획

### 2. 연구개발의 필요성

#### 가. 신경질환의 연구의 필요성

##### (1) 근본적 치료방법 연구 필요

(가) 고도로 발달된 현대사회는 헌팅턴병 (Huntington's disease)이나 파킨슨병 (Parkinson's disease, PD), 알츠하이머병 (Alzheimer's disease, AD) 같은 신경 퇴행성 질환 (neuronal degenerative disease)들이 만연하다. 이는 환자 뿐 만 아니라 가족 및 사회에 대하여 많은 문제를 낳고 있으며, 치료수단을 개발하는 것이 시급한 국가적 과제로 부각되고 있음

(나) 특히 국내 알츠하이머병에 의해 기인되는 노인성 치매의 경우 2005년 6만5천명, 2008년 13만 7천명으로 연평균 25%의 증가율을 보이고 있으며, 특히 80대 이상 연령층의 실진료 환자 수는 연평균 34%씩 증가하고 있는 실정이다. 치매로 인한 건강보험 진료비도 해마다 증가하여, 2005년 872억 원에서 2008년에는 3천817억 원으로 집계되어, 치매 진료환자 1인당 연간 건강보험 진료비가 최근 7년 동안 2.4배나 증가하였음

(다) 이렇듯 치매 등 노인성 질환으로 인한 건강보험 급여비가 30%에 육박하는 등 노인의료비와 함께 커다란 경제 사회적 문제로 야기되고 있다. 특히 대표적 퇴행성 뇌신경질환인 알츠하이머와 파킨슨병은 원인미상의 뇌신경세포의 선택적인 사멸로 발생하는 질환으로 아직까지 질병의 발생이나 진행을 억제하거나 근치적인 치료 방법이 없는 상태고 이에 대한 연구가 필요함

(라) 파킨슨병은 알츠하이머병에 이어 두 번째로 흔한 신경퇴행성질환이다. 국내 유병율은 의료이용 기록으로 60세 이상자에서 인구 10만 명당 1,473명이 발병하고 있다. 2006년 자료에 의하면 환자 수는 만성신부전증 다음으로 가장 많은 수를 차지한다. 의료비는 환자 1인당 1,036천원으로 지난 5년간 70% 증가하는 추세를 보이고 있음

(마) 하지만 현재 50대 미만의 환자에서 유전적 소인에 의해 발병한다는 보고만 있고, 정확한 병인론을 밝히지 못하고 있다. 따라서 현재 밝혀진 질병관련 유전자

의 조절을 통한 병인론의 연구가 절실히

(바) 유전적 운동부조화증(ataxia)는 우리나라에서 최근 3년간 2배의 환자가 증가하고 있으며, 의료비도 3배 이상 증가하고 있는 실정이다. 최근 미국에서도 ataxia 질환은 환자가 크게 급증하며 사회적 관심이 크게 일고 있어 이 질병을 극복하려는 노력으로 National ataxia foundation을 설립하여 질병의 원인구명과 치료 지원을 할 만큼 치료가 쉽지 않은 유전성 질환임

(사) 이러한 노력에도 불구하고 전임상자료가 부족하여 질병의 원인과 치료제가 개발이 상당히 지연되고 있어 이를 충족시킬 질환모델 동물의 개발이 시급함

## (2) 신경계질환모델 연구에 대한 문제점

(가) 현재 다양한 생쥐모델을 통한 질환 모델을 구축하여 인간의 질환을 연구하고 있으나, 뇌질환의 경우 단순히 유전적 defect를 가져 신경발생 문제와 같은 실험만 가능하다. 그러나 인식, 특히 노화에 따른 퇴행성 신경질환 연구는 거의 불가능하다는 한계성을 인식하여 최근 원숭이를 이용한 연구가 시작되었으나, 아직 초기단계이며 그 성공여부가 불투명하다. 현재 사용되고 있는 퇴행성신경질환 모델의 작성은 주로 설치류에서 뇌혈관을 수술 적으로 절찰하거나 특정 receptor를 knockout한 후 제작하고 있으나, 행동학적 관찰이 어렵고 수명이 짧은 마우스에서 질병의 발현을 기대하기에는 어려운 점이 많은 것이 사실임

(나) 마우스에서의 파킨슨 모델동물 연구의 한계점 ; 생쥐에서의 파킨슨 질환 모델 연구만으로는 현재 한계점에 도달하였다. 퇴행성 질환인 파킨슨병은 가계도를 이용한 유전학적 연구로 밝혀진 early-onset 유전자들 Parkin, Pink1, DJ-1등에 의해 유발됨이 알려져 있다. 현재까지는 이어한 유전자들의 기능이나 질병 관련 메커니즘의 연구에 생쥐 파킨슨 질환 모델이 이용되어 왔다. 그러나 생쥐의 파킨슨 질환 모델에서는 사람들에게서 나타나는 발병 증상들이 뚜렷이 나타나지 않았으며 knockout을 시키지 않은 생쥐와 행동 비교실험을 하였을 때도 뚜렷한 차이점을 찾을 수 없었다. 이러한 문제점들은 생쥐에서 파킨슨 질환 연구는 인간의 파킨슨 발병 메커니즘의 규명이나 치료법 개발에 한계를 나타냄

(다) 지난 20년간 유전성 AD 원인 유전자 (Amyloid precursor protein (APP), b-secretase, 등)들의 변화에 의해서 생기는 현상을 in vivo level에서 해석하고, AD관련 인자의 발굴 및 관련 단백질의 in vivo에서의 기능 연구는 AD연구의 큰 흐름으로 되어 있다. 하지만 아직까지 최적의 설치류 동물 질환모델이 확립되지 않아 AD관련 신약개발에서 in vivo 평가방법의 확립 및 신속 정확한 약효 관찰이 불가능하고 식품, 진단시약 개발 등 산업적 효율성이 낮게 평가되고 있음

(라) ATM 결손 마우스를 제작하여 기능을 분석하고자하는 연구가 있기는 하나 질

환 모델동물로써의 한계성이 나타났다. 인간 환자들에게 나타나는 진행성 신경 퇴행증적인 행동들이 ATM결손 마우스에서는 나타나지 않은 것이다. 이런 퇴행적인 행동들에는 팔약근의 실조 (dyssynergia), 의도적인 행동을 하려고 할 때 생기는 경련현상인 기도진전 (intention tremor), 심부반사작용의 감소 (diminution of deep reflexes), 눈 움직임의 행동불능증 (apraxia)을 포함하는 소녀의 근력저하 (hypotonia)와 동안신경의 이상을 반영하는 특징적인 얼굴과 태도의 변화 등이 있다. 의도적 행동을 하려고 할 때 경련이 일어나는 이런 퇴행성 행동들은 마우스 모델로 분석하기에는 한계성이 있기에 유전자 적중 모델건의 확립이 요구됨

(마) Ataxia 모델 마우스가 미국 등에서 개발되었지만 사람과 다른 양상의 형태학적인 특성을 나타내어 증상이 너무 강하여 조기 폐사하거나 증상이 나타나지 않아 마우스모델의 한계를 나타내었음

### (3) 혁신적 질병모델 동물의 필요성

(가) 퇴행성질환의 약물치료나 기전연구를 위한 질병모델로는 대부분 설치류를 이용해 왔으나, 동물 질환모델의 병리양상과 증상이 사람에서 관찰되는 것과 많은 차이를 보이고 있어 동물 질환모델에서 나온 결과를 토대로 임상시험을 시행할 경우 많은 문제점을 안고 있음

(나) 알츠하이머병 관련인자의 *in vivo* 기능 연구를 수행함에 있어서 환자를 대신할 수 있는 알츠하이머병의 최적 실험(모델)동물개발은 필수적으로 기억과 학습뿐만 아니라 인지 및 자기표현이 가능한 개를 이용한 질환모델은 알츠하이머병 연구를 통해 단순히 질병의 원인 및 예방과 치료제의 개발에 큰이바지를 할 수 있을 뿐만 아니라 한국의 알츠하이머병연구 수준을 세계적 수준으로 끌어올릴 것이라 기대 할 수 있음

(다) 적절한 질병 동물 모델을 개발하는 것이 발병 기전의 연구 및 치료제의 개발에 가장 먼저 선행되어야 할 중요한 과제이나 국내외적으로 이러한 환자와 유사한 적절한 질병 동물 모델의 개발은 미진한 상태에 있음

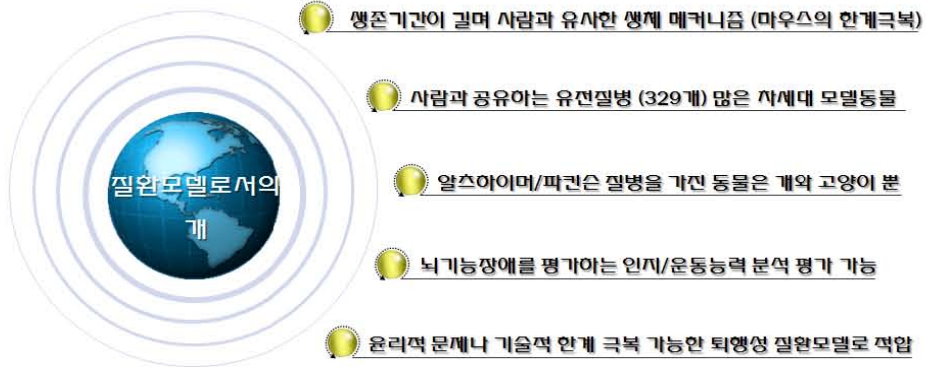
(라) Pfizer 등 글로벌제약사들이 경쟁적으로 신경계질환 치료제를 개발하고 있으나 마땅한 전임상실험동물의 부족으로 임상진입에 많은 어려움을 겪고 있기에 개에서 퇴행성 신경계질환 모델동물이 생산된다면 이들의 치료제개발에 유용하게 활용될 수 있을 것임

○ 7개 주요 제약시장에서 퇴행성신경질환 치료제 시장은 매년 20%이상 고성장을 계속하고 있음

※ 치매 환자 수는 세계적으로 약 5천만 명, 파킨슨 환자 수는 3천만 명으로 의료비용은 300조원 추정(향후 10년간 3배 성장 예상)

- 알츠하이머 시장만으로도 2015년까지 620만 달러의 규모로 성장할 것으로 예상  
(‘10 의약품 파이프라인 분석 및 시장전망 자료)
- ※ 뇌 신경질환의 발병률이 높은 질병으로는 알츠하이머 (34.5%)와 파킨슨 (12.9%)  
이 있음
- 우리나라의 경우 2008년 기준 지난 5년간 파킨슨병 120%, 치매 300%로 등록된 환자  
수 급증 (‘10 건강보험공단 진료 자료)

**적절한 신경질환모델동물을 개발하는 것이 발병 기전의 연구 및 치료제의  
개발에 가장 먼저 선행되어야 할 과제**



## 나. 국가적 연구지원 필요성

### (1) 파급잠재력 높은 대동물 모델 필요

(가) 위의 국내의 연구결과에서 보듯이 설치류 및 비설치류에서의 AD/PD모델은 질병의 발현 및 후성학적 검증에 여러 가지 문제점을 갖고 있어 본 연구과제는 알츠하이머/파킨슨 질환모델의 생산을 위하여 개를 선택하였다. 그 이유로 개는 기존 설치류 모델에 비해 생존 기간이 길며, 인간과 유사한 생체 메커니즘을 지니며, 사람과 매우 친숙하여 행동학적 관찰이 용이하고 생활환경을 공유하고 있다는 장점이 있기 때문임

(나) 인간 질병에 활용 가능한 모델이 329가지나 될 정도로 인간과 유사한 질병 패턴을 지녀 (<http://omia.angis.org.au/>) 차세대 질환모델 동물로 각광받고 있음

(다) 인간의 알츠하이머병/파킨슨병과 닮은 질환양상(뇌에 Plaque)이 자연 유발된 동물을 수년간 찾아온 결과, 오직 개와 고양이에서만 발견 보고되었음(Colle 등, 2000; Manuel 등, 2009)

(라) 특히 개는 뇌기능 장애를 평가할 수 있는 인지/운동기능 분석이 가능하여 사람의 난치성 퇴행성 뇌질환 모델에 바로 적용할 수 있는 장점이 있음

(마) 세계최초의 파킨슨 모델 복제개(미공개)의 경우에도 농림수산식품기술기획평가원(IPET)의 다년간 지원에 의해 이루어진 우리의 연구 성과인 점에서 보듯이 국가적 차원에서 기술개발을 위해 이러한 선도 연구팀을 지원할 필요가 있음

(2) 세계수준의 원천 기술력 확보 분야

(가) 개 형질전환 복제는 우리나라에서만 유일하게 성공한 바 있으며, 본 연구팀이 성공적으로 구성되면 지금까지 불치병으로 알려진 알츠하이머병과 파킨슨병 등의 뇌신경 질환정복을 위한 획기적인 전환기를 맞을 것임

(나) 생명공학, 분자생물학, 수의학, 의학, 동물 심리학 등 학문의 종합적 연구가 필수적인 질환모델복제계의 개발연구는 경제적 보상이 따르지 않는 연구를 수행할 수 있는 곳은 대학의 연구소가 가장 적당하며, 이 분야에 국가적으로 집중하여 육성해야 할 우선 사업임

(다) 퇴행성 신경질환모델 개를 세계에서 처음으로 우리가 개발한다면 질병기전의 규명, 치료물질의 탐색, 진단법의 개발 및 진단장비까지 우리나라가 주도적으로 개발할 수 있으므로 국가적으로도 이 분야 기술을 지닌 핵심연구팀을 구성하여 집중적 지원을 해야 하는 당위성이 있음

(3) 다학제적 핵심기술 집약연구 필요

(가) 인간의 알츠하이머병과 파킨슨병의 발병원인으로 생각되고 있는 유전자들(APP, Tau, PS-1, PINK, Parkin, DJ-1)을 과발현 또는 녹다운/녹아웃 기법을 이용하여 형질전환세포와 녹다운/녹아웃 세포를 유도하고 이를 이용하여 복제개를 생산하여 퇴행성 신경질환모델을 개발 하는 것은 소규모 단위의 개별적인 연구 인프라로써는 수행하기 어려운 연구과제임

(나) 이번 “사람의 난치성 질환모델 복제개 생산연구”는 막대한 가설을 가지고 시작 하는 것이 아니라 이미 시제품에 가까운 “DJ-1 TG dog”을 생산해낸 연구팀을 비롯한 국내 대학 및 연구소에 산재한 관련분야 선도 연구자들이 하나의 목표를 중심으로 집중적이고 유기적인 공동연구를 수행하려 함

(다) 현재까지 이러한 연구는 핵심원천기술을 보유(본 연구팀)한 우리나라에서만 가능하며, 개와 같은 대동물 질환모델 개발에 기술력 주도권을 확보하는 것이 시급하므로 국가차원의 지원사업으로 적정함

(4) 연구팀의 역량과 농림수산식품 첨단기술과학의 정합성

(가) 개를 이용한 신경질환모델 동물을 개발하기 위한 필수적 기술인 “세포복제 기술을 이용한 파킨슨병 개 동물모델 및 이의 제조방법 (특허출원 10-2013-0085609)” 기술과 같은 원천기술을 보유한 충남대학교 연구팀을 중심으로 사업화를 모색함

(나) 세계 최초로 DJ-1의 기능을 밝힌 KAIST 연구팀과 퇴행성신경계질환 기전 및 기능을 밝혀 세계적인 연구결과를 발표한 경북대 연구팀이 상호 보완적 관계를 유지하여 사업화를 추진하려 함

- (다) 이는 “동물바이오분야의 산업을 세계적 수준의 선도 산업으로 육성하여 농림수산물 기술강국”을 이룰 사업으로 가장 적절하다고 판단됨

#### 다. 질환모델 동물 시장의 현황

##### (1) 국가경제에서의 중요성

- (가) 바이오산업은 IT분야와 함께 미래 국가경제를 견인할 신성장동력으로 건강(Red), 환경(White), 식량(Green), 삶의 질 향상(QOL) 등 인류 난제 해결에 필요한 기술 및 제품 개발을 통해 고부가가치를 창출하는 미래 신산업으로 국가적인 관심과 지원이 이루어지고 있는 분야임. 특히 바이오제약(자원)·의료 응용영역이 전통적 의약품중심에서, IT·BT·NT 등의 기술을 융합하는 패러다임 변화에 따라 미래 세계시장 선도가능 제품군의 중심으로 급성장 하고 있음

- (나) 이러한 바이오산업의 특징을 바탕으로 유용 유전자의 확보는 바이오산업에서 가치창출을 위한 필수 요소임. 현재 기능이 밝혀졌거나 질병과 연관성이 있는 유전자를 타깃으로 개발된 바이오의약품이 속속 등장하고 인간 유전자들의 기능이 가속적으로 밝혀져 의약품 개발의 대상 유전자들이 급속히 늘어날 것으로 전망됨

- (다) 따라서 질병 치료에 활용될 수 있는 유용 유전자의 발굴을 위한 유전자 분석기술 및 DNA chip 기술과 함께 모델동물 제작기술 등 유전자 기능분석을 위한 각종 생명공학기술의 확보는 고부가가치 바이오 신약개발에 있어 필수적이며, 이들 기술을 활용하여 독점적으로 확보한 유전자 자원은 새로운 경제적 가치를 창출할 수 있을 것으로 전망되며 이에 따른 국가경제에 미치는 영향 또한 상당할 것으로 예상됨

##### (2) 시장의 규모 및 가치 창조

- (가) 유전자이식 및 적중 실험동물의 개발은 유전자에 대한 특허확보와 함께 개발된 질환모델 동물 자체를 상업화 할 수 있다는 점에서 큰 특징이며, 신약개발에 소요되는 개발투여 비용 및 개발기간의 증가에 따라 이를 감소시킬 수 있는 방법에 대한 제약사 요구가 증가하고 있으며, KO/KI/TG 동물 제작기술의 발달에 따른 同 상황에 대한 대응 가능성 증가로 새로운 동물 모델에 대한 수요가 확대될 것으로 예상됨(Bioin, 2010)

- (나) 노인성 뇌질환인 뇌졸중, 치매, 파킨슨병 등의 퇴행성 뇌질환의 연간 시장규모는 미국이 200조원, 한국이 약 10조원에 달하며, 2026년경에는 우리나라도 초고령 국가에 진입하게 되어 시장규모는 최소 2~3배 이상 증가하리라 예상 되고 있다(한국과학기술정보연구원, 2005). 또한 뇌신경계 질환 관련 치료제 시장은 전체 제약 산업의 약 15%를 점유하고 있고, 세계 시장은 2005년 923억 달러에서 2015년에는 2,000억 달러를 넘어설 전망이다. 항우울증 및 안정제 시장을 비롯한 정신질환 약물과 알츠하이머치매 관련 의약품 시장이 빠른 증가 추세를 보이고

있음(전 세계 치료분야별의약품 도매 시장 현황 -'04. 10, IMS)

- (다) 본 과제에서 도출된 질환모델 동물의 시장규모를 최소한으로 산출하였을 경우 뇌신경질환 관련 질환모델개(3년생 정도)를 제약회사에 제공한다면 마리당 최소 500만원 산정하고 미국 FDA통과를 목표로 하였을 때 100마리가 기준이며, 전임상 대상 신약을 Test 하는 것이 국내에서 일 년에 10가지라고 하면, 50억 정도가 우리나라 연간 시장이 됨
- (라) 이후 외국의 Big-Pharm(Glenmark, pfizer) 등에서 요구한다면, 10배의 수요가 예측되며, 이 경우 500억원 정도의 독점시장이 가능함
- (마) 세 가지 이상의 질환모델건의 경우 계산되는 가치를 바탕으로 기술평가 및 기업 가치 평가를 진행하여 세계 유수의 의약학 관련 기업들과 라이선스 계약을 통해 인간질환 모델건 생산기술 관련 로열티 수익을 창출하도록 사업화를 진행하고자 함

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

### 제 1 절 국내외 연구개발 현황

미국에서는 급증하는 뇌질환 연구를 통해 미래를 대비하기 위하여 정부차원에서 「뇌연구 10년 법안(Decade of the Brain)」을 제정하였으며 또한 미국NIH에서는 2004년에 신경과학 연구의 청사진(Blueprint for Neuroscience Research)프로그램, 미국정신건강 연구소의 선도적 뇌질환 연구 프로그램(NIMH Treatment Development Initiative)을 착수하여 뇌질환 관련 유전자분석, 뇌 영상기법개발, 실험동물모델개발, 뇌질환 치료기술 개발을 집중 지원하고 있음

일본에서도 『뇌의 세기(Century of the Brain)』선포로 뇌질환 병인, 조기진단지표 및 치료제 개발에 국가적 역량을 집중하고 있음

#### 1. 인간의 알츠하이머/파킨슨병 메커니즘 및 병인 유전자 동정

대표적인 난치성 퇴행성 뇌질환인 AD/PD는 많은 방법으로 연구되고 있다. 하지만 아직까지 질병의 발생기전이 불명확하여 그 메커니즘 및 병변 유전자를 동정하는 연구가 계속적으로 진행 중에 있으며, 그 연구 현황은 아래에 작성해 두었음

##### 가. 알츠하이머 메커니즘 및 병인 유전자 동정

- (1) 사람과 마우스에서 presenilin1(PS1), presenilin2(PS2)이 AD병인 유발 유전자임을 보고 하였음(1996, Lee 등, J Neurosci.)
- (2) AD 환자의 경우 amyloid precursor protein(APP)이  $\beta$ -secretase에 의해 분해가 되고 PS1과 PS2를 subunit으로 지니고 있는  $\gamma$ -secretase에 의해 분해되어, 분해 산물이 세포외에 축적되어 발병된다고 보고하였음(2002, Hardy, Science. ; 2002, Wilson등, Nat Neurosci.)
- (3) APP, PS1, PS2를 암호화하고 있는 유전자 내에서의 돌연변이에 의해서 알츠하이머가 유발된다고 보고되었음(2004, Selkoe, Nat Cell Biol.)
- (4) 최근 쥐가 알츠하이머병에 안 걸리는 이유를 세계 최초로 국내 연구진이 규명하였다. 뇌 단백질 중 아밀로이드 펩타이드가 축적돼 섬유조직을 형성, 이 섬유조직이 모여 플라크(노인성 신경반)을 만드는 아밀로이드 섬유 침착 현상이 알츠하이머병을 유발하는 주원인으로 알려졌다. 이때 아밀로이드 펩타이드가 플라크를 형성하려면 구리와 결합해야 하는데 쥐의 경우 결합과정에서 섬유화가 일어나지 않아 알츠하이머병에 걸리지 않는다. 전자상자기공명법을 개발하여 인간 뇌에서 아밀로이드 펩타이드와 금속이온의 결합구조를 분자수준에서 규명하고 이를 기반으로 쥐의 결합구조를 분석해 아밀로이드 펩타이드와 금속이온을 결합



해 주는 아미노산이 인간과 다르다는 사실을 밝혀냈음(2015, Kim 등, Angew Chem Int Ed En)

#### 나. 파킨슨병 메커니즘 및 병인 유전자 동정

- (1) PD 환자의 가계도 및 유전자 분석을 이용하여 Parkin gene에의 돌연변이가 유년시기에 발병하는 PD와 관련 있음을 밝혔음(1998, Kitada 등, Nature.)
- (2) PD는 도파민성 신경의 퇴행과 Lewy body라고 알려진 단백질 축적물이 형성되는데, ubiquitin proteasome system(UPS)과 chaperone이 PD와 관련이 있음을 제시하였음(2002, Auluck 등, Science)
- (3) PD 환자의 염색체상에서 PARK6라고 알려진 chromosome 1p36의 좌위를 분석한 결과 PINK1(PTEN-induced kinase 1)에서의 돌연변이가 PARK6와 관련이 있다고 확인하였으며, 이것은 missense mutation과 nonsense mutation으로 나타난다고 보고하였다. 또한 PINK1은 미토콘드리아에 위치하고 있으며 이 유전자에 돌연변이가 생기면 cellular stress에 대한 민감도가 증가함을 밝혀 미토콘드리아와 PD의 관련성에 대해 보고하였음 (2004, Valente 등, Science)

## 2. 설치류에서 알츠하이머/파킨슨병 모델동물생산

AD/PD 관련 연구는 세포수준인 신경세포 위주의 연구에서부터 AD/PD 모델마우스를 통한 질환적용 실험 및 임상에 적용하는 연구들까지 다양한 범주에서 이루어지고 있다. 인간의 치료에 실제적으로 적용하기 위해서는 세포수준을 넘어 질병모델동물을 이용한 질병의 발병기전 연구, 신약의 효능 및 안전성 연구가 필수적으로 이루어져야한다. AD/PD 모델 쥐는 약물주입법과 전핵내 미세주입법으로 생산되고 있으나, 낮은 생산효율과 생산된 질병모델간의 형질차이로 인해 임상실험 시 동등한 결과를 도출하는데 어려움이 있다. 지금까지 보고된 국내외 타 연구 기관의 각 연구개발 현황을 아래에 작성하였음

### 가. 약물 주입을 이용한 알츠하이머/파킨슨병 모델 생산

- (1) lipopolysaccharide를 뇌와 뇌실에 주입하여 질병모델 쥐를 생산했으나, 이 모델은 전체적으로 표준화 작업이 어렵고, 유발 방법과 관련한 모든 것이 구체화되어 있지 않아 모델 동물의 병변의 양상이 완전히 통일되어있지 않다는 단점이 있음(1998, Hauss-Wegrzyniak 등, Brain Res.)
- (2) Tau의 병태생리를 연구하기 위해 APP형질전환 쥐의 뇌에서 추출한 A $\beta$  침전물을 B6/P301L tau 형질전환 개체의 뇌로 주사하였다. 주입한 베타 아밀로이드와 침전된 신경섬유성의 베타아밀로이드가 모두 tau 신경섬유성 병인을 유발함을 보고하였음(2007, Balmont 등, Am J Pathol.)
- (3) 6-hydroxydopamine(6-OHDA) / MPTP (1 - Methyl - 4 - phenyl - 1,2,3,6 -

tertahydropyridine)의 주입으로 PD 모델을 생산하였다. MPTP를 주입한 모델과 달리 6-OHDA를 주입한 모델동물의 lesion은 비가역적인 신경 손상을 유발하였고 일측성 또는 양측성으로 유발된 것을 확인할 수 있었음(2010, Conceicao 등, J Vis Exp.)

#### 나. Microinjection 이용한 알츠하이머/파킨슨병 모델 생산

- (1) pronuclear injection을 통해 사람의 mutant APP gene이 발현하는 형질전환 쥐를 생산하였다. 그러나 NFT, Paired helical filaments(PHF)가 형성되지 않았으며, 이러한 이유는 아직 알려져 있지 않음(2003, Jankowsky 등, J Neuropathol Exp Neurol.)
- (2) Parkin gene의 엑손 3 부위를 targeting하여 Parkin Knockout mice를 생산하였다. 도파민 조절과 nigrostriatum의 기능에 parkin의 역할을 밝힌 첫 결과이며 parkin이 쥐에서 nigral neuron의 생존에 필수적인 역할을 하는 것은 아니라는 사실을 보고하였음(2003, Goldberg 등, J Biol Chem.)
- (3) PINK 1  $-/-$  인 mice를 생산하였고 쥐에서 PINK1 유전자와 미토콘드리아의 기능과의 관련성을 확인하였다. 이를 통해, 포유류의 PINK1 gene이 미토콘드리아의 기능에 중요하며 스트레스에 반응하여 보호 작용을 한다는 것을 보고하였음(2008, Gautier 등, PNAS)
- (4) Human PSM146V, human APPSWE, human tauP301L의 형태를 지닌 triple transgenic mice를 생산하였다. 아밀로이드 플라크 외에도 다른 형질전환 개체에서 발생하지 않았던 Neurofibrillary tangle-like pathology가 형성되었으며, 인간의 AD 질병의 신경학적 이상 위치와 동일 위치에서 나타남을 밝혀, 가장 전임상학적으로 유용한 동물 모델이라 보고됨(2008, Mastrangelo 등, BMC Neurosci.)
- (5) PDAPP mouse model은 돌연변이 된 사람의 APP minigene을 지니는 개체이며, 뇌의 뇌량 부분이 심각하게 위축되어 있고 해마 부위의 부피가 상당히 감소되어 있었다. 그러나 이것은 A $\beta$ 가 축적되기 전인 3개월가량부터 관찰되기 때문에, 발생학적 결함으로 인한 것으로 간주되며 AD와 관련된 연구를 진행하기에는 다소 무리가 있음(2008, Wahrle 등, J Clin Invest.)
- (6) APP/PS1/Tau의 돌연변이형을 지닌 Triple transgenic mice를 생산하였다. NFT가 형성되므로 AD모델에 더 가깝지만 개체 간의 병의 발현 양상에 있어 진행속도가 다른 문제점이 보고되었음 (2008, Bertoni-Freddari 등, Rejuvenation Res.)
- (7) Parkin deficiency가 유도된 mice의 생산하여, 증가하는 도파민 방출의 조절에

parkin이 연관되어 있으며 nigrostriatal의 신경 pathway에 있어서 시냅스의 유연성 또한 관련이 있음을 밝혔다(2009, Kitada 등, J Neurochem.)

- (8) PD에서 열성으로 유전되는 병인유전자인, parkin, DJ-1, PINK1의 3가지를 모두 불활성화시킨 mice모델을 생산하였다. 비록 신경 말단 부분에서 방출된 도파민 양의 감소와 시냅스 연결성부위의 tsh상이 나타났으나, substantia nigra 신경세포의 퇴행은 나타나지 않았음(2009, Kitada 등, J Neurochem)
- (9) 최근에는 Parkin과 PINK 유전자 기능의 상관관계에 관한 연구가 활발하다. Parkin knockout mice model에서와 같이 PD와 관련된 toxin에 노출시킨 rat model에서 용해성, 비용해성 PINK의 생성 증가와 함께 parkin aggregate가 나타나, PINK1과 parkin이 Lewy body 형성에 중요한 역할을 함을 밝혔다(2010, Um 등, Biochem Biophys Res Commun.)

### 3. 비설치류에서 AD/PD 모델 동물 생산

설치류에서 AD/PD 모델을 생산하여 질환연구를 진행하고 있으나, 인간의 질환과 유사한 병적 증상과 병리병변을 보여주지 못하고 있다. 따라서 이러한 한계를 극복하기 위하여 비설치류에서도 AD/PD 모델 동물을 생산하고 있으며, 초파리에서 그 연구가 활발히 진행되고 있다. 관련한 국내외의 연구 현황은 아래의 목록과 같음

- (1) 인간의 APP 유전자를 과발현시켜 초파리를 이용한 AD 모델을 생산하였다. 결과 초파리의 날개에서 비정상적인 변화와 뇌의 Kenyon cell에서 퇴행성 변화, 그리고 아밀로이드 plaque와 유사한 산재된 축적물이 형성되었음(2004, Iijima-Ando 등, PLoS One.)
- (2) 독성이 있는 beta-amyloid peptide를 발현시켜 AD 모델 초파리를 생산하였고, 형질전환 초파리의 신경이 퇴행성 변화를 보였으며, 생후 며칠이 지나지 않아 운동 기능이 저하되고, 후각 기억력이 손상되었으며 수명이 짧아지는 등의 AD의 분명한 표현형을 보였음(2004, Crowther 등, Curr Opin Pharmacol.)
- (3) 초파리를 이용하여 PD 질환 모델 동물을 정상적인 사람의 a-synuclein과 두 개의 돌연변이 형으로(A30P, A53T)을 생산하였다. 뇌 조직에서 육안적인 형태학적 변화를 유발하지는 않았으나 성체 시기가 되었을 때 tyrosine hydroxylase의 손상이 일어났으며, 사람과 유사하게 lewy body와 같은 축적이 일어났고, 운동 기능 손상도 유발되었음(2000, Feany 등, Nature)
- (4) 초파리에서 Parkin gene의 기능 손상을 유발하여 PD 질병모델을 생산하였다. 결과 초파리의 산화적 손상에 대한 민감도의 증가와 날개의 표현형이 달라졌다. 시간의 경과에 따라 운동 기능에서도 퇴행성 변화가 나타났고, 그 구조적인 변

화에는 미토콘드리아의 기능 결핍 및 조직학적 비정상이 관찰되었음(2003, Greene 등, PNAS; 2004, Pesah 등, Development)

- (5) 초파리를 이용하여 Pink1 유전자가 Parkin과 유전적으로 상호작용하여 mitochondria의 function과 관련있다는 것을 밝혀냈다. 초파리의 PINK1의 유사체를 제거한 결과, 수컷의 불임, 근육조직의 괴사성 퇴화, 미토콘드리아 형태의 이상을 유발하고 산화적 스트레스를 포함한 여러 스트레스에 대해 민감도가 증가하였다. 미토콘드리아의 기능을 조절하는데 있어서 pink1-parkin의 역할은 PD의 병인의 중추적인 메커니즘 보고하였음(2006, Clark 등, Nature)
- (6) 자연발생학적 동물 모델로 알츠하이머와 유사한 증상을 나타내는 노령의 침팬지를 이용한 연구도 진행되고 있다. 신경학적 plaque의 형성과 NFT 및 Filament의 형성이 알츠하이머 질병 양상과 동일하였으나 실험동물 모델로 사용하기 위해서는 대량 생산이 필요하며 자연발생학적인 무작위적으로 발생하기 때문에 실험동물 모델로는 적합하지 않음(2008, Rosen 등, J Comp Neurol.)
- (7) 콜레스테롤이 풍부한 식이를 공급받은 토끼를 동물 모델로 사용하여 베타아밀로이드의 침전이 완만하게 나타나는 것을 확인하였다. 그러나 콜레스테롤 식이 방법이 표준화되지 않았고 베타아밀로이드의 침전 양상은 개체에 따라 조금씩 변이가 있어 실험동물로 적절히 활용되기에는 무리가 있음(2008, Sparks 등, J Alzheimers Dis.)

### 제 3 장 연구수행 내용 및 결과

#### 제 1 절 DJ-1 유전자조절을 통한 파킨슨 질환 모델개의 생산 및 검증

##### 1. 사람의 DJ-1(hDJ-1)유전자가 과발현되는 복제개 생산

###### 가. hDJ-1 유전자가 과발현되는 세포주 구축

(1) DJ-1 형질전환 복제개를 만들기 위해 사람의 DJ-1 유전자를 가진 레트로바이러스 벡터를 구축하고 이를 세포주에 transfection시킨 후 레트로바이러스를 생산하였다. 레트로바이러스를 개의 배아섬유아세포에 감염시킨 후, 감염 효율성을 알아보기 위해 Fluorescence Activated Cell Sorting (FACS) 실험을 수행하였다. 그 결과 97% 이상이 바이러스를 가지고 있음을 알 수 있었다. 아울러 사람의 DJ-1이 개의 배아 섬유아세포에서 단백질을 발현시키는지 알아보기 위해 웨스턴 블랏(Western blot)을 수행한 결과, 사람의 hDJ-1이 정상적으로 발현되고 있다는 것을 관찰할 수 있었음

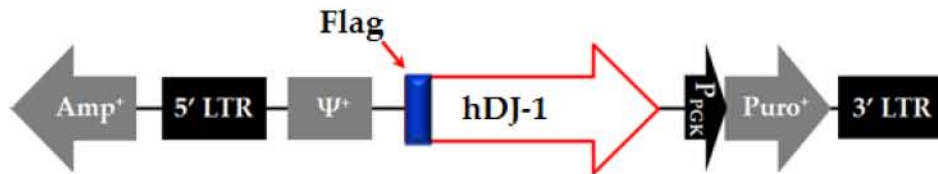


그림 1. 개와 사람 DJ-1이 클로닝된 레트로바이러스 벡터의 구축

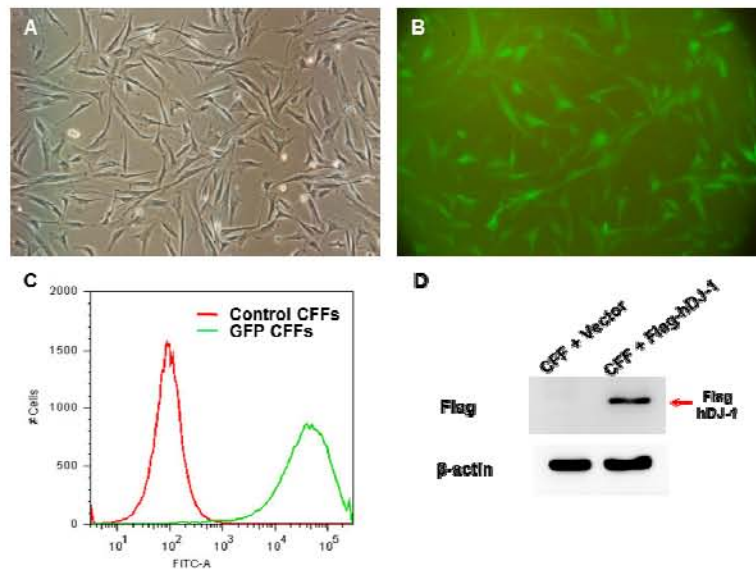


그림 2. 개의 배아섬유아세포에 대한 레트로바이러스의 감염 효율성과 DJ-1 단백질의 발현정도 확인

나. hDJ-1 유전자가 과발현되는 세포를 이용하여 복제개 생산

- (1) 이렇게 만들어진 세포주를 이용하여 41개의 복제란을 생산하여 총 5마리의 대리모에 이식을 하였다. 그 중 1마리가 임신에 성공하여 복제개 1마리가 태어났음



그림 3. 임신 47일령(좌)의 초음파 사진과 태어난지 3주된 복제견(우)의 모습

- (2) 복제견에서 hDJ-1의 단백질 발현을 확인한 결과 대조견에는 발현되지 않는 hDJ-1이 형질전환 복제견에서는 정상적으로 발현됨을 확인하였음

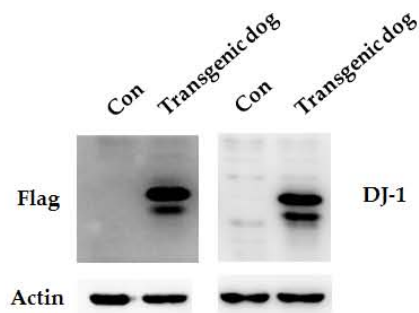


그림 4. 양막세포에서 hDJ-1 단백질 발현 확인

- (3) hDJ-1이 개의 chromosome 상에 integration된 곳을 결정하기 위해 inverse PCR을 수행한 결과 lag tagged hDJ-1이 총 5군데인 chromosome 2번, 9번, 11번(2군데), 26번에 integration 되어있었음을 확인하였음

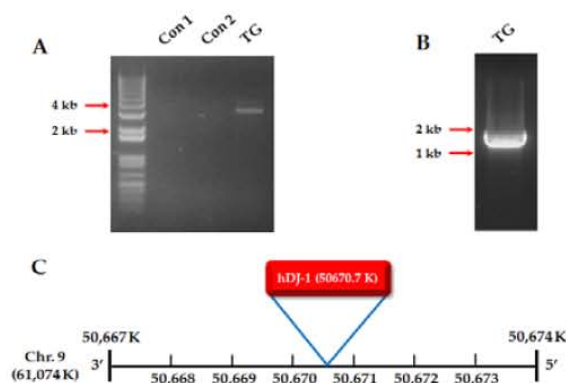


그림 5. Mapping for integrated hDJ-1 gene

## 2. hDJ-1 형질전환 복제개의 행동학적 분석

가. Wendy Volhard' Puppy Aptitude Test를 통한 행동학적 분석 결과, social attraction, following, restraint, social dominance, elevation dominance과 같은 성격을 보여주는 지표에서는 DJ-1 형질전환 복제견과 일반견의 차이는 나타나지 않았으나, 물체 및 감각에 대한 반응을 보여주는 retrieving, touch sensitivity, sound sensitivity, sight sensitivity, stability 항목에서는 형질전환 복제견과 일반견에 대한 차이를 확인 할 수 있었으며, 특히DJ-1 형질전환 복제개에게서 touch, sound, sight sensitivity test 에서 반응에 대한 흥분 및 예민성을 관찰 할 수 있었다.일반적인 보행 테스트를 통해 실험 한 결과 몸을 지탱하는 힘과 지구력이 일반견에 비해 부족한 것을 알 수 있었음

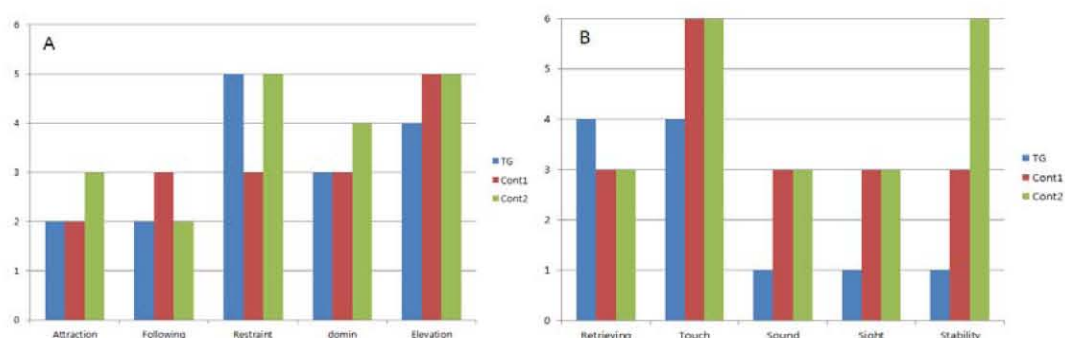


그림 6. Wendy Volhard' Puppy Aptitude 테스트

나. 태어난 지 7개월째부터 depression(우울)증상이 나타났다. 매우 침울하며 행동이 느리며 뛰거나 점프를 하지 못했으며 밥도 잘 먹지 않고 뒷다리 근육이 떨리는 것을 볼 수 있었다. 또한 서 있을 때 항상 뒷다리를 구부정하게 딛고 있으며 목 가누는 것을 힘들어 하며 너클링(knuckling) 시 원래대로 발을 펴지 못했음



그림 7. 구부정한 뒷다리의 모습(좌)과 너클링 시 발을 원래대로 펴지 못하는 모습(우)

다. 10m 거리에서 먹이를 두고 유인했을 때 일반견은 3초만 달려오는 것을 볼 수 있었으나 파킨슨 질병개는 17초 걸렸으며 길의 중앙에서 실험을 실시하였음에도 불구하고 벽 쪽으로 이동하여 벽에서 약 10cm정도 떨어져서 벽을 따라 걸어왔음



그림 8. 벽을 따라 천천히 걸어오는 DJ-1 형질전환 복제개의 모습

라. 이러한 depression 증상이 7일 정도 유지되다가 다시 보통 일반견과 같은 stable한 상태로 돌아왔으며 stable 상태가 15일정도 유지되었다. 그리고 다시 depression 상태가 10일 유지되다가 stable 상태가 11일정도 유지되기를 반복하였음

### 3. hDJ-1 형질전환 복제개의 생식선전달 확인

가. 형질전환 복제 개의 정자를 채취하여 인공수정을 통해 태어난 강아지들에게서 사람의 *DJ-1* 유전자가 생식선전달이 되었는지를 확인하기 위해 각 샘플들의 genomic DNA을 추출한 후 PCR을 수행하였다. 그 결과, Control에서는 1번을 제외한 나머지 PCR set에서 증폭된 결과를 얻을 수 없었으며, 형질전환 복제 개와 그 자식들을 모두 사람의 *DJ-1* 유전자를 가지고 있다는 것을 확인할 수 있었음

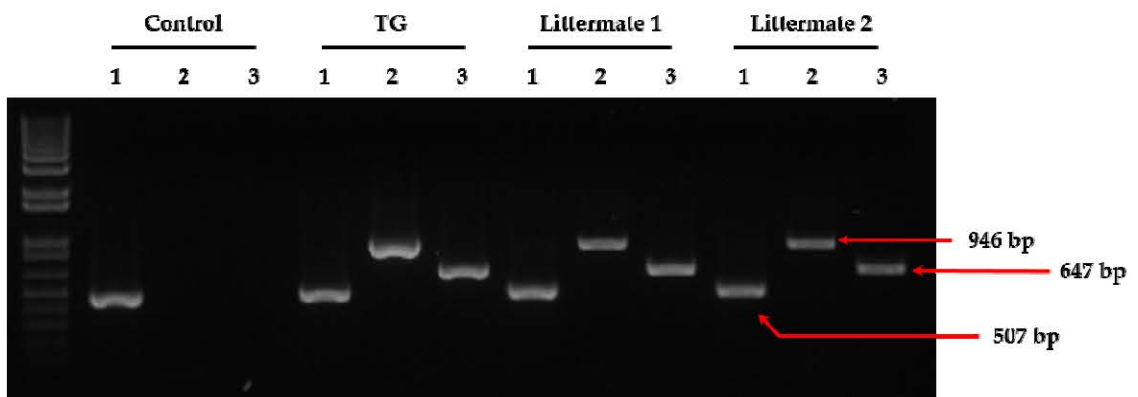


그림 9. 형질전환 복제 개의 생식선전달 확인

### 4. 영상학적 분석을 통한 신약생산 전임상자료 활용성 확인

가. 3T MRI(또는 7T MRI)를 이용한 뇌 MRI 영상 연구

(1) 3T 또는 7T MRI(research prototype) (Magnetom: Siemens, Erlagen Germany) 를 이용하여 two-dimensional gradient echo(GRE) 기법으로 일반견과 질환모델 견의 뇌영상을 촬영하였음



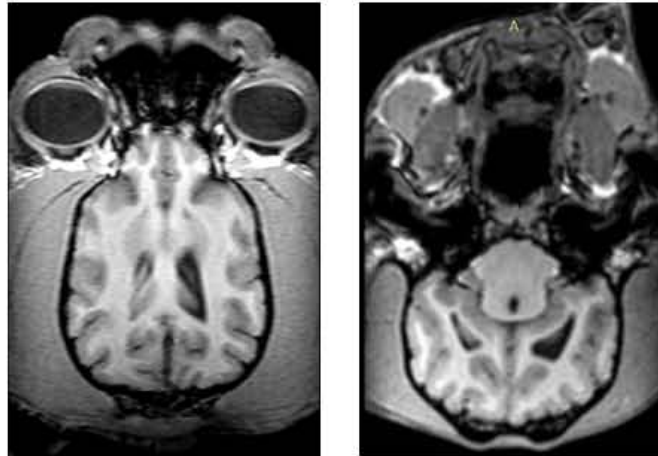


그림 10. 3T MRI를 이용한 뇌 MRI 영상 확인  
일반견(좌)과 질환모델견(우)

- (2) 일반견의 경우 양쪽의 cerebral ventricle의 크기가 비슷한 반면, 질환모델견의 경우 좌우 크기가 다를 수 있음을 확인하였다. 이는 사람의 파킨슨병의 증상과 유사함

#### 나. 18F FDG PET scan (HRRT)를 이용한 뇌 PET 영상 연구

- (1) High resolution research tomography(HRRT)-PET(Siemens Medical Systems and CTI, Inc)를 이용하여 일반견과 질환모델견의 뇌 18F-FDG PET 영상을 촬영하였음

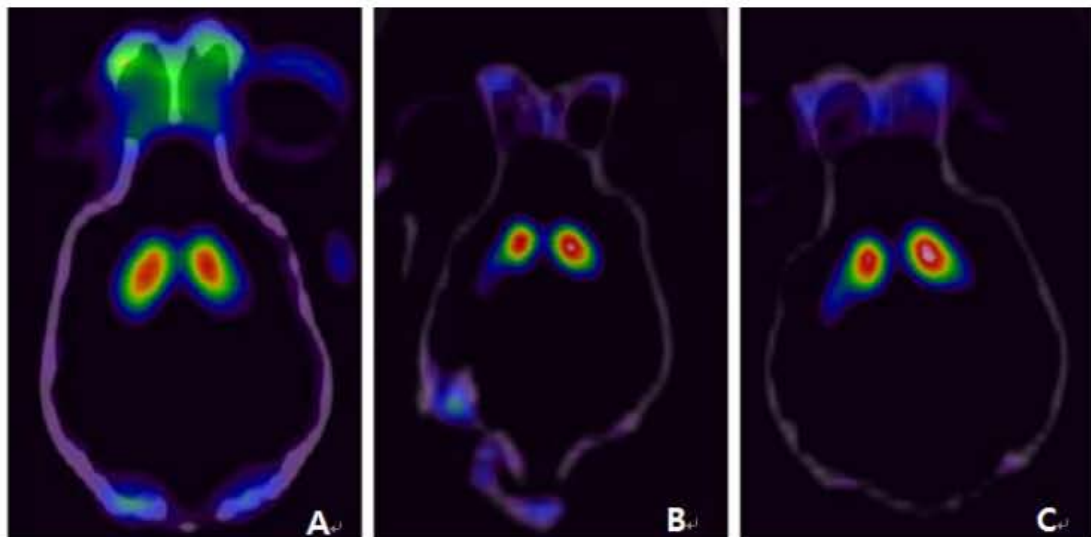


그림 11. 18F-FP-CIT PET 영상  
일반견(A)과 질환모델견(B, C)

- (2) 질환모델견의 선조체에서 비대칭적인 FP-CIT uptake를 보였으며, 좌우 선조체의 크기도 다를 수 있음을 확인하였다. 이는 도파민 분비의 이상을 보여준다. 그러나 일반견은 선조체의 크기가 비슷함을 확인하였음

## 제 2 절 단일 유전자를 삽입한 알츠하이머 질환 모델개의 생산

### 1. 알츠하이머 mutant APP (swedish type, APP<sub>swe</sub>)가 과발현되는 세포주 구축

- 가. 알츠하이머병과 관련된 APP<sub>swe</sub> 유전자가 삽입된 렌티바이러스벡터를 클로닝하였다. 이 벡터를 이용하여 개 태아 섬유아세포주에 감염시킨후, blasticidine 항생제를 이용하여 APP<sub>swe</sub> 유전자가 발현되는 세포주를 선별하였음

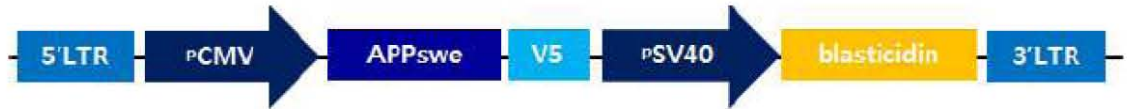


그림 12. APP<sub>swe</sub> 유전자가 삽입된 렌티바이러스벡터 모식도

### 2. APP<sub>swe</sub>가 과발현되는 세포를 이용하여 복제개 생산

- 가. 체내에서 성숙된 난자를 회수하여 핵과 제1극체를 제거하고, 이 난자에 형질전환된 세포주를 주입하여 전기자극을 통해 난자와 세포질을 융합한다. 융합된 난자는 화학적 활성화 후 대리모에게 이식하였음
- 나. 3마리의 대리모에 28개의 체세포란을 이식하여 1마리의 대리모가 임신하여 4마리의 복제개가 생산되었음



그림 13. APP<sub>swe</sub> 형질전환 복제개의 초음파 사진  
좌: 이식 35일령(3개의 임신낭), 우: 이식 47일령(두개골과 척추 관찰)



그림 14. APP<sub>swe</sub> 형질전환 복제개 4마리

다. 생산된 4마리 중 3마리가 형질전환 복제견이며 1마리는 일반 복제견임을 genotyping 을 통해 확인하였다. 이는 행동학적, 영상의학적, 병리학적 분석 중 비교 실험이 가능함

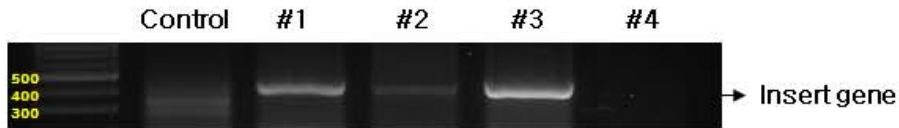


그림 15. 태어난 APPswe 유전자 형질전환 개의 genotyping 결과

### 제 3 절 (주)메디클론의 사업화 분석 및 가치평가

#### 1. 기술성 분석

<대상기술과 경쟁기술의 비교표>

	대상기술	설치류 모델
축종	개(비글견)	마우스 및 랫트 등 설치류
질환 발현 유무	표현형 및 병리학적, 영상의학적 발현 확인 및 검증	표현형 발현 안됨
질환 유도 방법	질환모델 유전자 삽입 형질전환 통한 체세포 복제	약물주입/형질전환/전핵내미세주입법 등 다양
사람 질환과 유사도	유사함	유사함
사람의 발병기전과의 비교	유전자들의 기능 및 질환 발병 메커니즘이 인간과 유사	진화·발생적으로 거리가 있으며, 특히 노화에 따른 퇴행 연구는 거의 불가능
행동학적 관찰	비교적 수명이 길며, 인지 및 자기표현이 가능하고, 인간과의 친밀함에 따른 행동학적 관찰이 용이함	크기가 작고 수명이 짧으며 인간을 따르지 않아 행동학적 관찰이 어려움
뇌의 크기	72g	2g
판매 가격	500-1000만원	80-100만원

가. (주)메디클론에서 개발 중인 '사람의 퇴행성 질환 모델 복제 개 생산 기술'은 형질전환 및 체세포복제를 이용하여 퇴행성 신경 질환 모델 개를 복제하는 기술로써 부작용이 적고 기존 기술 대비 차별성이 높은 기술이며, 기존의 마우스나 토끼 질환 모델이 사람의 퇴행성 뇌 질환 발병 기전과 상이하여 증상의 치료제 및 메커니즘 규명에 어려움이 있던 것에 비해, 본 기술은 인간과 유사한 생체 메커니즘을 지닌 개를 사용함으로써 기존 질환모델동물 대비 차별성 및 경쟁력이 있는 것으로 보여짐

나. 또한 다른 유사기술과 비교했을 때 질환 및 축종의 종류뿐만 아니라 제조 방법에 차별되는 부분이 있어 우수성이 있다고 보여지며, 시장에서 유사 관련 기술의 수가 많지 않고 기술 구성 및 단계에서 차별화되는 부분이 있기 때문에 경쟁성이 있다고 판단됨

다. 그러나 제3자가 본 기술을 모방하고자 할 때, 각 단계의 특징요소 중 일부를 변경하여 회피설계가 가능한 여지를 내포하고 있다고 판단됨

## 2. 권리성 분석

### 가. 권리 범위

#### (1) 권리범위의 광협

#### <출원특허의 개요>

항목	내용	비고
출원번호(출원일)	10-2013-0085609(2013.07.19.)	
등록번호(등록일)	10-1433049(2014.08.18.)	
특허권자(출원인)	충남대학교산학협력단	
발명의 명칭	세포복제 기술을 이용한 파킨슨병 개 동물모델 및 이의 제조방법	
진행상황	출원 특허	
존속기간(예정만료일)	2033년 7월 19일	

(2) 평가대상 특허 10-2013-0085609는 서열번호 1의 유전자를 도입하여 형질전환된 개의 수정란 자체를 권리범위로 청구하고 있으며, 이와 동시에 체세포 복제된 수정란인 것을 특징으로 하는 개의 수정란에 대한 권리범위를 청구하고 있음

(3) 앞서 기술성에서 분석한 결과 신경 퇴행성 동물 모델 생산의 기술은 관련 유전자를 레트로바이러스 벡터에 도입하는 단계, 레트로바이러스 벡터를 이용하여 동물세포를 형질전환시키는 단계, 형질전환된 세포를 탈핵시킨 수정란에 도입하여 복제된 수정란을 제조하는 단계, 복제된 수정란을 대리모에 이식하는 단계를 포함하며, 이는 본 특허의 청구범위의 핵심 사항이 세부적으로 묘사되어있어 특허의 청구범위가 좁고 보호될 수 있는 부분이 적다고 판단됨

### 나. 권리의 차별성

(1) 기존 신경 퇴행성 질환 모델 동물 생산은 생쥐 모델을 주로 사용하였으며, 개를 이용한 형질전환 복제 개 생산 기술에서도 파킨슨병 관련 유전자 및 제조합 벡터 사용 기술은 없기 때문에 선행기술에 대비하여 본 특허는 차별성이 인정된다고 판단할 수 있음

#### 다. 회피설계 가능성

- (1) 본 특허의 청구항은 서열번호 1의 유전자를 레트로바이러스 벡터에 도입하는 단계, 상기 레트로바이러스 벡터를 이용하여, 개의 배아섬유아세포를 형질전환시키는 단계, 형질전환된 배아섬유아세포를 탈핵시킨 수정란에 도입하여 복제된 수정란을 제조하는 단계, 상기 복제된 수정란을 대리모에 이식하는 단계 등 기술에 대한 세부적인 요인 변동을 포함하고 있어 제3자가 본 특허를 모방하고자 할 때, 각 단계의 특징 요소 중 일부를 변경하여 다양한 회피설계가 가능할 여지를 내포하고 있다고 판단됨

#### 라. 권리의 안정성

##### (1) 권리의 안정적 유지 가능성

- (가) 선행기술과의 비교에서 설명한 바와 같이 조사된 어떠한 선행기술도 본 특허의 '세포복제 기술을 이용한 파킨슨병 개 동물모델 및 이의 제조방법'을 위한 기술 단계를 개시하지 못하고 있어 유사한 기술로 판단하기는 어려움

- (나) 또한 조사된 특허 모두 구체적인 기술 요소 및 구성이 상이하기 때문에 평가대상 기술의 등록 특허는 기술적 진보성이 있다고 판단됨. 따라서 평가대상 등록 특허의 권리의 안정성은 높다고 볼 수 있음

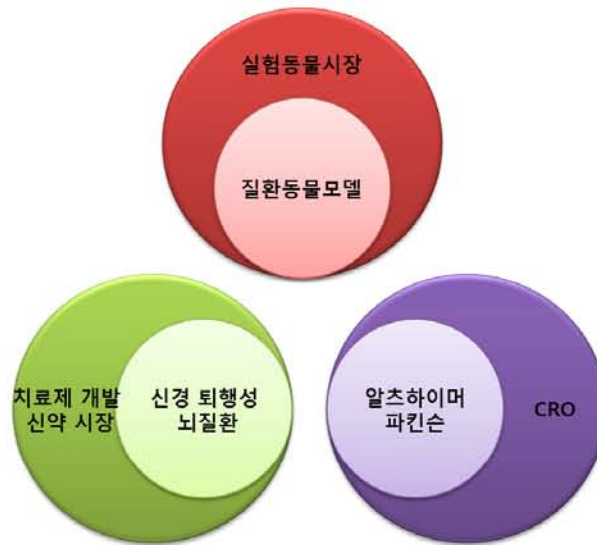
##### (2) 추가 권리 확보 가능성

- (가) 본 기술의 기본 단계 구조 하에, 알츠하이머 등 다른 신경 퇴행성 뇌질환 관련 유전자 재조합 벡터를 제조하여 질환을 차별화하거나, 또는 토끼, 원숭이 등 축종을 차별화 한 다른 기술을 후속 출원하여 추가 권리 확보 가능성이 열려 있다고 판단됨

##### (3) 사업 연관성

- (가) 사업화 추진 시 시장에서 독점적 지위를 확보한다는 측면에서 등록특허는 회피가 용이하지 않아 경쟁업자의 시장진입을 효과적으로 차단할 수 있어야 할 것인데, 본 등록특허는 각 단계의 특징 요소 중 일부를 변경하여 다양한 회피설계가 가능할 여지를 내포하고 있다고 판단되나, 다만 다른 유전자, 다른 축종에 대한 후속출원을 통해 추가 권리를 확보한다면 시장선점 및 독점지위 유지에 긍정적인 역할을 기대할 수 있을 것으로 판단됨

### 3. 시장성 분석



- 가. 평가대상 기술이 적용 가능한 시장은 실험동물 시장, 질환동물모델 시장, 신경 퇴행성 질환 R&D 시장, CRO 시장 등을 고려할 수 있으나, (주)메디클론은 질환동물모델 시장의 진입을 주 타겟으로 하고 있는 것으로 조사됨
- 나. 상기의 조사 내용과 같이 국내 및 해외시장이 매우 높은 성장률을 보이는 것은 아니나 시장의 수요는 비교적 일정한 안정적인 시장이라고 볼 수 있음
- 다. 2010년을 기준으로 신경 퇴행성 뇌질환이 급격하게 증가하고 있어 총 시장규모가 약 10조원을 상회하고 있으며, 이와 관련된 치료제 연구개발에 전 세계 제약사들이 박차를 가하고 있지만 그에 따른 적절한 신경질환 동물모델을 개발하는 것이 발병기전의 연구 및 치료제 개발에 가장 먼저 선행될 필요가 있고, 많은 제약사들이 이를 인지하고 있어 평가대상 기업의 시장진입 가능성은 긍정적인 것으로 나타남
- 라. 기존시장에 축종 변화(개)를 적용하여 기존시장의 기본 프로세스 및 유통채널을 이용하면서 새로운 모델에 대한 차별화 요소를 강조할 경우, 비교적 시장진입이 수월하다는 장점이 있을 수 있음
- 마. 다만 기존시장의 시장구조가 국내외 모두 다소 독과점 형태를 띄고 있어 유통채널 확보에 어려움이 있을 수 있으나, 알츠하이머 및 파킨슨 질병을 가진 동물은 개와 고양이 뿐이라는 질환 차별화 전략을 이용하면 시장 진입 가능성은 긍정적이라고 볼 수 있음
- 바. 마우스에 비해 생산기간이 길고, 마우스를 주로 사용하던 기업들이 누적된 데이터의 유지를 위해 쉽게 축종을 바꾸지 못한다는 장벽이 있을 수 있으나, 개를 이용했을 때 오히려 개체의 수와 전임상기간의 단축 및 비용절감이 이루어 질 수 있고, 대동

플 실험동물을 요구하는 연구자 및 기업이 증가하고 있어 시장진입 가능성은 있음

사. 또한 평가대상 기업은 형질전환 세포주 관련 전문가와 질환모델 유전자 분석 및 평가 전문가, 동물복제 전문가 등을 확보하고 있어 생산체계를 견고히 갖추고 있다고 판단되나, 뚜렷한 유통체계는 아직 미흡한 것으로 나타남

아. 전 세계 동물모델 시장이 지속적으로 성장하고 있고 필요성이 증대되고 있을 뿐만 아니라, 평가대상 기업이 확실한 차별성을 보유하고 있기 때문에 시장진출 가능성은 높게 점쳐지나, 글로벌 시장을 향한 적극적인 마케팅 전략이 요구되며 내수 및 수출 경로 개척, 홍보 및 판매 전략 강화 마련이 필요함

#### 4. 사업성 분석

가. (주)메디클론은 2013년 설립 이후 지속적으로 우수한 연구 성과를 이어오고 있으며, 아직 사업화 단계에는 이르지 못해 뚜렷한 사업화 및 판매 실적은 없으나 연구개발, 생산, 유통 과정에 있어 역량이 양호한 것으로 판단됨

나. 아직 매출액은 없으나 기술 자체가 경쟁력이 있는 것으로 분석됨으로써, 평가대상 기술에 대한 기술완성 역량과 사업화 역량이 충분할 것으로 판단됨

다. 당사의 대표연구자 및 경영진은 평가대상 기술에 대한 이해도가 상당히 높고, 연구개발 전문 벤처 기업으로써 보유인력의 100%가 생물학 또는 생명공학 분야의 석사급 이상 전문 인력임

라. 또한 관련 시장의 파생적 매출의 측면에서 보면 인간과 유사한 기전을 보이는 개를 이용하여 신경 퇴행성 질환의 치료제가 개발되면 신약시장의 엄청난 수요와 매출을 기대할 수 있음

마. 기술의 수요성 측면에서 보았을 때, 본 기술이 사업화가 되면 제약회사 등 관련 연구기관들의 대동물 수요가 꾸준히 있을 것으로 예상되나, 마우스 등 설치류와 비교했을 때 원가가격에 다소 부담이 있을 수는 있음

바. 평가대상 기술은 상당히 까다로운 검증 과정을 거쳐야하고, 생명공학 기술 개발의 특성상 안전성과 일관성이 검증되어야하기 때문에 대량생산에 있어 초기에는 시간이 소요될 것으로 보이나, 원재료인 정상 비글견의 가격이 안정적이며 확보가 용이하고 국내외 다수의 공급지가 존재하기 때문에 생산 용이성이 높고, 독자적인 유통 및 마케팅 전략을 갖추고 있어, 상용화 및 사업화에 어려움이 없을 것으로 보여짐

## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야 기여도

### 제 1 절 연구개발의 목표달성도

목표	달성도
<ul style="list-style-type: none"> <li>○ DJ-1등의 유전자조절을 통한 파킨슨 질환 모델개의 생산</li> <li>○ 단일 및 다중 유전자를 삽입한 알츠하이머 질환 모델개의 생산</li> <li>○ 후대생산을 통한 생식선전이 확인 및 대량생산</li> <li>○ 병리학적 검증을 통한 신약생산 전임상자료 활용성 검토</li> <li>○ 국제적 제약사 및 국내 제약사와 CRO 대상의 사업화 모델 구축</li> <li>○ (주)메디칼론의 사업성 및 수익성 분석</li> <li>○ (주)메디칼론의 제품 경쟁력 분석</li> </ul>	100%

### 제 2 절 연구개발의 관련분야 기여도

#### 1. 경제·산업적 측면

##### 가. 조기진단 키트 대량생산 및 산업화

- (1) 본 연구를 통하여 발굴한 임상에 적용 가능한 파킨슨병 조기진단 바이오마커들의 전임상시험을 통해 유효성과 안전성을 확인한 다음 기업적 차원에서 파킨슨병 조기진단 키트를 대량생산하여 이를 산업화할 수 있을 것으로 기대됨

##### 나. 알츠하이머병과 파킨슨병 신경보호 치료제 대량생산 및 산업화

- (1) 질환유전자를 지닌 질환 모델 복제개가 생산된다면 대부분 치료제 개발 연구에 쓰일 것이며 그로 인해, AD/PD 질병진행을 막을 수 있는 신경보호치료제를 전임상시험을 통해 그 유효성과 안전성을 확인한 다음 기업적 차원에서 이를 대량생산하여 산업화할 수 있을 것으로 기대됨
- (2) 인구 노령화로 인해 그 규모가 기하급수적으로 증가하고 있는 알츠하이머 치료제 시장에 큰 파급효과를 가져올 것으로 판단됨

##### 다. 알츠하이머병과 파킨슨병 조기진단 및 신경보호 치료제 평가의 새로운 방법을 제시하여 국제 시장 진출

- (1) 현재까지 미국에서 승인받은 알츠하이머 치료제는 미약하거나 중간단계 정도의 알츠하이머병에 대한 치료제로 전체 알츠하이머병의 20%에 달하는 심각한 중증의 환자는 현재 승인된 약물 치료법으로 처치 받지 못하는 것이 현실임
- (2) 제한적인 상황이지만 알츠하이머 치료제 시장은 그 규모가 2009년에도 \$2,000백만에 달하며 앞으로의 알츠하이머 내 틈새(niche) 시장 및 최초 시장 진입의 이점 등 그 가능성을 생각한다면 무궁무진하다 할 수 있음



- (3) 따라서 본 연구를 통하여 개발된 복제개를 이용한 AD/PD 모델 복제개를 통하여 발굴한 임상에 적용 가능한 AD/PD 조기진단 키트 및 질병진행을 막을 수 있는 신경 보호 치료제를 기업적 차원에서 산업화한다면 AD/PD 진단 및 치료제의 세계시장에 진출하여 막대한 외화 획득이 가능할 것으로 기대됨

## 2. 사회적 측면

### 가. 건강수명연장

- (1) 특히 퇴행성 뇌질환의 경우 개인뿐만 아니라 가정과 사회에 미치는 영향은 매우 크다. 우리나라와 같이 가족을 중시 여기는 문화에서 필연적으로 발생하는 환자는 가정에 큰 부담이고 형제자매간의 유대감 파괴 및 사회적 손실로 이어짐은 당연한 현실임
- (2) 본 연구를 통해 이러한 문제가 다소라도 해결된다면 사회적으로 삶의 질 향상을 위한 큰 영향이 기대되며, 선도연구센터의 육성 목적과도 부합될 것임

### 나. 과학기술선도국민으로서 자긍심

- (1) 본 연구를 통하여 임상에 적용 가능한 파킨슨병 조기진단 및 신경보호 치료제를 개발하면 파킨슨 환자당 국가가 지출하는 막대한 단순의료비용, 간접의료비용 및 부대 경제손실을 줄일 수 있고 파킨슨병의 조기 진단을 위한 국가적 차원이 지원 및 관리가 이뤄지게 되면 국가 사회적, 인적, 경제적 손실을 최소화 시킬 수 있다고 기대됨
- (2) 이 연구에서 얻어지는 퇴행성신경계질병 AD/PD의 질환모델 형질전환 복제개는 지적재산권 확보를 통해 산업재산권을 선점하여 대한민국 바이오산업의 독보적인 발달로 인해 국가의 위상 및 국민의 사회적 자긍심을 높일 것으로 기대됨

# 제 5 장 연구결과의 활용계획

## 1. 연구개발의 활용계획

### 가. AD/PD 전임상 실험 및 치료제 개발에 활용

(1) 신약 치료제 개발의 전임상 단계에 적용하여 약물에 대한 부작용이나 독성 반응 예측, 용량과의 상관성, 회복성 여부 등을 평가하여 사람의 반응에 대한 안전성 평가를 실시할 수 있음

(2) 개과 동물은 수명이 설치류에 비해 길기 때문에 만기 독성 시험 등의 평가에도 활용될 수 있음

연매출액 : 2,000억원  
연구비 : 75억원  
Staff : 1,596명

Blue Ocean!!!  
새로운 실험동물 시장 요구

주 메디클론

### 나. AD/PD 진단 및 치료 장비 개발에 활용

(1) 난치병 진단 및 치료 장비는 우리나라와 같이 IT 기술이 발달한 나라에서는 블루오션 분야임

(2) 의료기기 선진국이 마우스 모델로 AD/PD 진단 및 치료 장비를 개발할 때 우리는 사람과 디멘션이 유사한 신경질환 모델 개를 이용하여 동일한 장비를 개발한다면 개발 속도나 활용도 측면에서의 충분히 우위 선점이 가능할 것이며, 이에 활용가능함

**다. AD/PD 임상증상의 신경행동학적 연구의 활용**

- (1) 개는 인간과 생리병리적인 특징과 크기가 근접하고, 의사소통과 명령·복종이 가능한 유일한 동물임
- (2) 기존의 마우스 실험을 통한 기계적 신경행동학적 연구에서 의사소통에 의한 정확한 감성 분석 연구까지도 가능케 되어 현재까지 불가능했던 다양한 정보를 얻는데 활용될 것임

**라. AD/PD 병인의 기전연구에 활용**

- (1) 질환 모델개의 생산은 개의 다산성의 특징으로 인한 질환 모델 동물의 대량 생산가능성을 확인시켜 줄 수 있음
- (2) 암수가 생산되어진다면 그들의 교배를 통해 질병유전자가 안정적으로 발현되는 가계도를 형성, 동일한 유전형질을 지닌 질환모델 복제개 생산할 수 있을 것임
- (3) 이를 통해 산발적으로 나타나는 다양한 AD/PD의 유형들을 반복적으로 생산하여, 병인의 정확한 기전연구에 크게 활용될 것임

**마. 세포복제기술의 bio-reactor로서의 활용 가치 증진**

- (1) 본 연구의 성공적인 결과로 질환 모델이 아닌, 바이오 장기 연구로도 활용이 가능할 것임
- (2) 현재 전세계적으로 장기부족 문제를 해결하기 위한 방안으로 의공학적 접근법에 의한 인공장기의 개발과 형질전환동물의 생산법에 관한 연구가 지속적으로 보고되고 있음
- (3) 인간의 장기이식술은 인간 장기에 관련된 불치, 난치 질환을 치료하는 유용한 수단이나 수요와 공급의 불균형으로 인해 인간의 장기 부족 현상이 초래되고 있는 것이 현실임
- (4) 이와 같이 장기이식 연구분야에 체세포복제과정이 활용된다면 현재 장기이식의 대체동물인 돼지에서도 유용한 기술로 활용될 것으로 사료됨

## 제 6 장 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보

### 1. 파킨슨 질환과 관련된 해외과학기술정보

- 가. 미국의 코넬대학에서 설치류를 대상으로 파킨슨질환모델을 생산한 보고가 있다. 이는 사람의 leucidin-rich-repeat-kinase2(LRRK2) 단백질을 변형시켜 정자매개의 형질전환을 실시하여 N551, I723, R1398, R1441, R1514, P1542, R1628, M1646, S1647, M1869, G2019, G2385, and T2397의 아미노산 그룹을 선택적으로 작동을 불능시키도록 하는 기능을 개발하였다. 하지만 마우스에서는 표현형이 관찰되지 않는 단점을 보였다
- 나. Aarhus University에서는 돼지에서 유전적으로 우성으로 나타나는 퇴행성 신경질환 모델을 개발하였으나 이는 자연적으로 발생하는 신경질환을 발견한 것에 불과하였음
- 다. 또한 Kampavata AB(WO 2006/004552)는 도파민 뉴런의 기능을 상실하게 하여 호흡기능의 퇴화를 유도하였다는 보고가 있었으나 처음 파킨슨모델을 대상으로 한 실험이 호흡변화에 관여한다는 내용이었음

### 2. 알츠하이머 질환과 관련된 해외과학기술정보

- 가. 2011년 Gonzalez-Martinez A가 개에서 자연적으로 발생한 노화 동물모델에서 마밀로이드베타의 종류 및 양에 따른 인지기능 차이를 확인하였다. 이는 알츠하이머 관련 유전자를 인위적으로 발현시킨 것이 아닌 노화된 개에서 실험한 것으로 형질전환 모델이 아닌 것이 차이점임
- 나. 마우스에서 2007년 일본특허에  $\beta$ -amyloid precursor protein ( $\beta$ APP) gene이 포함된 알츠하이머 관련 유전자를 삽입한 형질전환 마우스를 생산하는 방법 및 뇌에서 amyloid가 생성되어 뇌질환을 관찰하는 방법에 대한 출원이 있었다. 이는 본 연구와 목적 유전자가 같으나 퇴행성 뇌질환의 표현형은 관찰되지 않았다는 차이점이 있음

### 3. 형질전환 동물과 관련된 해외과학기술정보

- 가. 그 용이성 때문에 마우스에서 가장 활발하게 이루어지고 있으나, 마우스는 사람과 유전적, 생리적으로 차이가 크다는 단점이 있다. 따라서, 임상목적이 질병 기전연구나 치료연구에 응용하기 위해, 비설치 동물의 형질전환 연구가 필요한 상황임
- 나. 특히, 개와 고양이는 인간의 질병과 유사성이 높은 동물일 뿐 아니라, 유전적으로도 가깝고, 지능이 높고 사람과 친숙하여 실험동물로 다루기 수월한 점 등 여러 가지 장점이 있다. 그러나 해외에서는 아직 해당 동물의 복제 기술이 국내를 따라오지 못하는 상황이기 때문에, 개나 고양이를 이용한 복제 형질전환 연구는 거의 보고 되지 않고 있음

## 제 7 장 연구개발결과의 보안등급

### ○ 일반

## 제 8 장 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

○ 해당사항 없음

## 제 9 장 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적

- 온라인 안전교육 시스템을 통하여 매월 1시간 안전교육 실시함
- 연구 종사자 연1회 건강검진을 실시함
- 연구실 안전점검 및 정밀안전진단을 실시함
- 개를 다루는 과정 중에 인수공통전염병 감염이 우려되는 바, 감염방지를 위해 해당 연구 인력에 대한 전염병 예방주사를 실시함

## 제 10 장 연구개발과제의 대표적 연구실적

번호	구분 (논문/특허/기타)	논문명/특허명/기타	소속 기관명	역할	논문게재지/ 특허등록국가	코드번호		D-12	
						Impact Factor	논문게재일 /특허등록일	사사여부 (단독사사 또는 중복사사)	특기사항 (SCI여부/ 인용횟수 등)
1	논문	Improvement of Porcine SCNT Embryo Development Using Histone Deacetylase Inhibitors	충남대학교	교신 저자	J FAC AGR KYUSHU U	0.255	2016.02.29	×	SCI
2	논문	Effect of acteoside on the re-localization and abnormal morphology of mitochondria in porcine oocytes during in vitro maturation.	충남대학교	교신 저자	J Assist Reprod Genet	1.858	2016.03.17	×	SCI
3	논문	Effect of Acteoside as a Cell Protector to Produce a Cloned Dog	충남대학교	교신 저자	Plos One	3.535	2016.07.15	0	SCI



## 제 11 장 기타사항

○ 해당사항 없음

## 제 12 장 참고문헌

- Expression of presenilin 1 and 2 (PS1 and PS2) in human and murine tissues. Lee et. al. 1996. *J Neurosci.* 16(23):7513-25
- The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. Hardy and Selkoe. 2002. *Science.* 297(5580):353-6; Presenilins are not required for A beta 42 production in the early secretory pathway. Wilson et. al. 2002. *Nat Neurosci.* 5(9):849-55
- Cell biology of protein misfolding: the examples of Alzheimer's and Parkinson's diseases. Selkoe DJ. 2004. *Nat Cell Biol.* 6(11):1054-61]
- Multi-frequency, multi-technique pulsed EPR investigation of the copper binding site of murine amyloid  $\beta$  peptide. (Kim D et al. 2015. *Angew Chem Int Ed Engl.* 54(5):1561-4
- Mutations in the parkin gene cause autosomal recessive juvenile parkinsonism. Kitada et. al. 1998. *Nature.* 392(6676):605-8]
- Mutations in the parkin gene cause autosomal recessive juvenile parkinsonism. Auluck et. al. 2002. *Science.* 295(5556):865-8]
- Hereditary early-onset Parkinson's disease caused by mutations in PINK1. Valente et. al. 2004. *Science.* 304(5674):1158-60]
- Chronic neuroinflammation in rats reproduces components of the neurobiology of Alzheimer's disease. Hauss-Wegrzyniak et. al. 1998. *Brain Res.* 780(2):294-303]
- Induction of tau pathology by intracerebral infusion of amyloid- $\beta$ -containing brain extract and by amyloid- $\beta$  deposition in APP x Tau transgenic mice. Bolmont et. al. 2007. *Am J Pathol.* 171(6):2012-20]
- Murine model for Parkinson's disease: from 6-OH dopamine lesion to behavioral test. da Conceição et. al. 2010. *J Vis Exp.* 35:1376]
- Environmental enrichment exacerbates amyloid plaque formation in a transgenic mouse model of Alzheimer disease. Jankowsky, et. al. 2003. *J Neuropathol Exp Neurol.* 62(12):1220-7]
- Parkin-deficient mice exhibit nigrostriatal deficits but not loss of dopaminergic neurons. Goldberg et. al. *J Biol Chem.* 278(44):43628-35]
- Loss of PINK1 causes mitochondrial functional defects and increased sensitivity to oxidative stress. Gautier et. al. 2008. *Proc Natl Acad Sci USA.* 105(32):11364-9]
- Detailed immunohistochemical characterization of temporal and spatial progression of Alzheimer's disease-related pathologies in male triple-transgenic mice. Mastrangelo and Bowers. 2008. *BMC Neurosci.* 9:81]
- Inhibition of calpains improves memory and synaptic transmission in a mouse model of Alzheimer disease. Trinchese et. al. 2008. *J Clin Invest.* 118(8):2796-807]
- Decreased presence of perforated synapses in a triple-transgenic mouse model of

- Alzheimer's disease. Bertoni-Freddari et. al. 2008. Rejuvenation Res. 11(2):309-13]
- Absence of nigral degeneration in aged parkin/DJ-1/PINK1 triple knockout mice. Kitada et. al. 2009. J Neurochem. 111(3):696-702]
  - Formation of parkin aggregates and enhanced PINK1 accumulation during the pathogenesis of Parkinson's disease. Um et. al. 2010. Biochem Biophys Res Commun. 393(4):824-8]
  - DJ-1 is a redox-dependent molecular chaperone that inhibits alpha-synuclein aggregate formation. Shendelman et. al. 2004. PLoS Biol. 2(11):e362]
  - Therapeutic targets from a Drosophila model of Alzheimer's disease. Crowther et. al. 2004. Curr Opin Pharmacol. 4(5):513-6]
  - Cloned pigs produced by nuclear transfer from adult somatic cells. Polejaeva et. al. 2000. Nature. 407(6800):86-90]
  - Mitochondrial pathology and apoptotic muscle degeneration in Drosophila parkin mutants. Greene et. al. 2003. PNAS 100(7):4078-83; Drosophila parkin mutants have decreased mass and cell size and increased sensitivity to oxygen radical stress. Pesah et. al. 2004. Development. 131(9):2183-94]
  - Drosophila pink1 is required for mitochondrial function and interacts genetically with parkin. Clark et. al. 2006. Nature. 441(7097):1162-6]
  - 2012 보건복지백서. 2013. 보건복지부]
  - 2012년 치매 유병률 조사. 2013. 보건복지부]
  - 고령화와 공공의료비. 윤희숙. 2005. 한국개발연구원]

## 연구개발보고서 초록

과 제 명	(국문) 사람의 난치성 질환모델 복제 개 주문생산의 사업화 기획				
	(영문) Commercializing of cloning dogs for human incurable disease model				
주관연구기관	(주)메디클론		주 관 연 구 책 임 자	(소속) (주)메디클론	
참 여 기 업			(성명) 김 헌 주		
총 연구개발비  (천원)	계	20,000	총 연구 기간	15.12.23 ~ 16.05.22 (5개월)	
	정부출연 연구개발비	20,000	총 참 여 연구 원 수	총 인원	5
	기업부담금	0		내부인원	5
	연구기관부담 금	0		외부인원	0
<p>○ 연구개발 목표 및 성과</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 체세포 복제를 이용한 사람의 난치성 신경질환모델 복제개 생산</li> <li>- 사람의 난치성 신경질환모델 동물의 사업화 기획</li> </ul> <p>○ 연구내용 및 결과</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 사람의 DJ-1 유전자가 과발현되는 파킨슨 질환 모델개 1마리 생산 및 확인</li> <li>- 파킨슨 질환 모델개의 후대생산을 통한 생식전전이 확인 : 태어난 2세 20여마리 이상 모두 유전자 확인 및 부견과 유사한 행동 증상 보임</li> <li>- 파킨슨 질환 모델개의 행동학적, 영상의학적 검증을 통한 전임상자료 활용성 검토</li> <li>- 사람의 APP mutant 유전자가 과발현되는 알츠하이머 질환 모델개의 생산 및 확인</li> <li>- (주)메디클론의 사업성 및 가치평가</li> </ul> <p>○ 연구성과 활용실적 및 계획</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 사람의 난치성 신경질환모델 복제개의 전임상자료 활용을 위해 병리학적 검증 등이 요구됨</li> <li>- 난치성질환모델 개의 생산으로 신약개발에 따른 전임상 실험 및 치료제 개발에 이용</li> <li>- 난치성 신경질환의 진단 및 치료장비 개발에 활용</li> <li>- 난치성질환 병인 기전연구에 활용</li> <li>- 세계적 제약그룹과의 연계를 통한 맞춤형 질환모델 개의 생산 및 사업화</li> <li>- 관련기술의 타축종(돼지 및 토끼 등)에 적용하여 동물바이오 시장 확대 약 6,000억</li> </ul>					

## 자 체 평 가 의 건 서

### 1. 과제현황

			코드번호	D-15
			과제번호	815013-1
사업구분	기술사업화지원사업			
연구분야	동물생명공학		과제구분	단위
사업명	기술사업화지원사업			주관
총괄과제	기재하지 않음		총괄책임자	기재하지 않음
과제명	사람의 난치성 질환모델 복제 개 주문생산의 사업화 기획		과제유형	(기초,응용,개발)
연구기관	(주)메디클론		연구책임자	김 헌 주
연구기간 연구비 (천원)	연차	기간	정부	민간
	1차년도	15.12.23~ 16.05.22	20,000	
	2차년도			
	3차년도			
	4차년도			
	5차년도			
	계		20,000	
참여기업				
상대국		상대국연구기관		

※ 총 연구기간이 5차년도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망

2. 평가일 : 2016. 06. 30

3. 평가자(연구책임자) :

소속	직위	성명
(주)메디클론	대표이사	김 헌 주

4. 평가자(연구책임자) 확인 :

본인은 평가대상 과제에 대한 연구결과에 대하여 객관적으로 기술하였으며, 공정하게 평가하였음을 확약하며, 본 자료가 전문가 및 전문가기관 평가 시에 기초자료로 활용되기를 바랍니다.

확 약	
-----	--

# I. 연구개발실적

## 1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : (아주우수)

사람의 난치성 신경질환 모델개 2종이 생산되었으며, 특히 파킨슨 질환 모델개는 최초로 생산되었다. 또한 이 모델개에서 파킨슨 질환과 유사한 행동학적, 영상의학적 증상이 확인되었음  
이는 세계 최초의 결과이며, 신약개발에 전임상자료로 이용할 충분한 가치가 있으며, 메디클론을 통한 사업화가 가능한 연구라 사료됨

## 2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : (아주우수)

본 연구는 기존 설치류 중심의 난치성 신경질환 모델동물의 활용 한계를 극복하기 위해, 인간의 질환과 유사한 병태생리학적인 특징과 행동장애를 보이는 질병모델복제개의 개발을 통해 향후 ① 퇴행성 신경질환 관련 연구에 광범위하게 활용이 기대된다. 개는 ② 인간의 343가지 질병모델동물로 활용 가능한 것으로 보고되었고, 의사소통 및 명령·복종이 가능한 유일한 동물이다. 본 연구에서 제시한 연구 목표는 개 체세포복제 기술을 개발하고 유일하게 보유(First & Only)한 우리나라에서만 성공 가능한 연구로 성공 시 향후 개과 동물 다양한 질병모델 연구에 주도권을 확보가 기대된다. 특히 개 모델은 기존의 마우스 실험을 통한 기계적 신경행동학적 연구에서 의사소통에 의한 정확한 감성 분석 연구까지도 가능케 되어 불가능했던 분야에서 다양한 정보를 얻는데 활용될 것이다. 이 연구에서 얻어지는 질병모델 복제개는 지적재산권 확보를 통해 산업재산권을 선점하고, 질병 기전연구뿐만 아니라 ③ 신약 및 진단장비개발을 포함한 다양한 관련분야에 바이오 자원으로써 활용이 기대됨

## 3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : (아주우수)

생산된 사람의 난치성 신경질환 모델개를 이용하여 신약개발에 따른 전임상 실험 및 치료제 개발에 이용하고, 난치성 신경질환의 진단 및 치료장비 개발과 병인 기전 연구에 활용이 가능함

## 4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : (아주우수)

실험 수행하는 연구원들과 사업화 기획을 하는 연구원들이 각자에게 주어진 역할에 따라 본 연구를 성실하게 수행함

## 5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : (아주우수)

본 과제를 통해 1건의 SCI 논문이 심사를 통과하여 게재를 기다리고 있으며, 1건의 특허출원을 준비 중에 있어 짧은 기간동안 우수한 성과를 나타내었다고 사료됨

## II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
DJ-1등의 유전자조절을 통한 파킨슨 질환 모델개의 생산	20	100	사람의 DJ-1 유전자가 과발현되는 질환 모델개 1두 생산
단일 및 다중 유전자를 삽입한 알츠하이머 질환 모델개의 생산	20	100	APPswe 유전자가 과발현되는 질환 모델개 3두 생산
후대생산을 통한 생식선전이 확인 및 대량생산	20	100	파킨슨 질환 모델개의 생식선전이 확인
병리학적 검증을 통한 신약생산 전임상자료 활용성 검토	20	100	파킨슨 질환 모델개의 행동학적, 영상의학적 증상 사람의 파킨슨과 유사
연구의 사업성 및 시장성 분석을 통한 메디클론의 사업성 분석	20	100	사업성 및 시장성이 충분하다고 판단됨
합계	100점	100	

## III. 종합의견

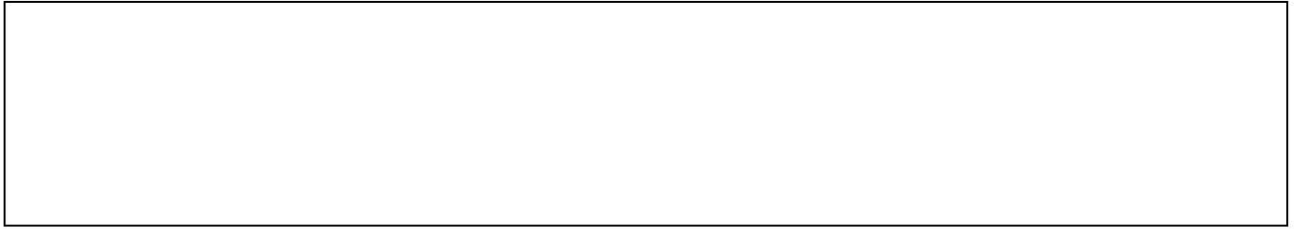
### 1. 연구개발결과에 대한 종합의견

체세포 복제를 이용하여 사람의 난치성 신경질환인 알츠하이머과 파킨슨 질환 모델개가 생산되었으며, 파킨슨 질환 모델개의 경우 행동학적, 영상의학적 증상이 보이고 있어서 신약생산 전임상자료로서의 활용이 가능하다. 또한 이를 사업화로 연계하여 새로운 신약개발 전임상 시장창출 및 신약개발에 충분히 기여할 것으로 판단됨

### 2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

본 과제는 퇴행성 뇌질환 신약개발을 위한 전임상 자료로 활용할 수 있는 고등동물을 생산하고 사업화 할 수 있는 과제로서, 사업화가 진행될수록 시장은 점점 더 확대될 것으로 예상된다. 따라서 본 과제를 통해 신약개발에 박차를 가할 수 있고 바이오산업의 블루오션을 창출할 수 있는 기회를 제공한다 면 세계 최고의 기술을 완성할 것으로 사료됨

### 3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견



#### **IV. 보안성 검토**

- 해당사항 없음



[별첨 3]

## 연구성과 활용계획서

### 1. 연구과제 개요

사업추진형태	<input checked="" type="checkbox"/> 자유응모과제 <input type="checkbox"/> 지정공모과제	분 야	축산생명	
연구과제명	사람의 난치성 질환모델 복제 개 주문생산의 사업화 기획			
주관연구기관	(주)메디클론		주관연구책임자	김 헌 주
연구개발비	정부출연 연구개발비	기업부담금	연구기관부담금	총연구개발비
	20,000			
연구개발기간	15.12.23 ~ 16.05.22			
주요활용유형	<input checked="" type="checkbox"/> 산업체이전 <input type="checkbox"/> 교육 및 지도 <input type="checkbox"/> 정책자료 <input type="checkbox"/> 기타(                      ) <input type="checkbox"/> 미활용 (사유:                      )			

### 2. 연구목표 대비 결과

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
DJ-1등의 유전자조절을 통한 파킨슨 질환 모델개의 생산	개 난자에 사람의 DJ-1 유전자가 과발현되는 체세포를 이용하여 파킨슨 질환 모델 복제개 생산함
단일 및 다중 유전자를 삽입한 알츠하이머 질환 모델개의 생산	사람의 APPswe 유전자가 과발현되는 알츠하이머 질환 모델 복제개 생산
후대생산을 통한 생식선전이 확인 및 대량생산	DJ-1 발현 복제개 후대생산 성공 및 생식선전이 확인
병리학적 검증을 통한 신약생산 전임상자료 활용성 검토	DJ-1 형질전환 복제개의 행동학적, 영상의학적 검증 완료
기술사업화 검토 및 기술가치평가	충분한 수익창출이 가능한 사업으로 평가됨

### 3. 연구목표 대비 성과 (해당사항 없음)

성과목표	사업화지표										연구기반지표							
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술인증	학술성과		교육지도	인력양성	정책 활용-홍보		기타 (타 연구 활용 등)
	특허출원	특허등록	품종등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용창출	투자유치		논문	학술발표			SC I	비 SC I	
최종목표																		
연구기간내																		

달성실적																			
달성율(%)																			

4. 핵심기술

구분	핵심기술명
①	파킨슨질환 모델 형질전환 복제개 생산기술
②	알츠하이머질환 모델 형질전환 복제개 생산기술
③	생산된 형질전환 복제개의 전임상자료 활용성 검토기술
④	메디클론의 기술 사업화를 위한 시장성 분석

5. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)				
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복제	외국기술 소화·흡수	외국기술 개선·개량	특허 출원	산업체이전 (상품화)	현장에로 해결	정책 자료	기타
파킨슨병 질환모델 개발 기술	V					V				
알츠하이머병 모델 개발 기술	V					V				
파킨슨병 검증 기술		V								
개 복제 기술								V		

\* 각 해당란에 v 표시

6. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
파킨슨병 모델 개 생산 기술	도파민 분비관련 영상학적 진단 완료후 최고의 국제 권위학회지 투고 및 기술이전 실시 또는 자체사업화 계획
파킨슨병 모델개 검증 기술	분자생물학적/행동학적 검증 완료후 최고의 국제 권위학회지 투고 및 기술이전 실시 또는 자체사업화 계획
알츠하이머병 모델 개 복제 기술	후속연구 지원

7. 연구종료 후 성과창출 계획

성과목표	사업화지표				연구기반지표				
	지식 재산권	기술실시 (이전)	사업화	기술	학술성과	교육	인력	정책 활용·홍보	기타

	특허출원	특허등록	품종등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용창출	투자유치	인증	논문		학술발표	지도	양성	정책활용	홍보전시	(타연구활용등)	
												SC I	비 SC I							
최종목표																				
연7기간내 달성실적												1								
연7년도후 성과창출 계획	1	1																		

8. 연구결과의 기술이전조건(산업체이전 및 상품화연구결과에 한함)

핵심기술명 <sup>1)</sup>	과킨슨질환 모델 형질전환 복제개 생산기술		
이전형태	<input type="checkbox"/> 무상 <input type="checkbox"/> 유상	기술료 예정액	천원
이전방식 <sup>2)</sup>	<input type="checkbox"/> 소유권이전 <input type="checkbox"/> 전용실시권 <input type="checkbox"/> 통상실시권 <input type="checkbox"/> 협의결정 <input type="checkbox"/> 기타(자체사업화 실시 예정)		
이전소요기간		실용화예상시기 <sup>3)</sup>	
기술이전시 선행조건 <sup>4)</sup>			

- 1) 핵심기술이 2개 이상일 경우에는 각 핵심기술별로 위의 표를 별도로 작성
- 2) 전용실시 : 특허권자가 그 발명에 대해 기간·장소 및 내용을 제한하여 다른 1인에게 독점적으로 허락한 권리  
통상실시 : 특허권자가 그 발명에 대해 기간·장소 및 내용을 제한하여 제3자에게 중복적으로 허락한 권리
- 3) 실용화예상시기 : 상품화인 경우 상품의 최초 출시 시기, 공정개선인 경우 공정개선 완료시기 등
- 4) 기술 이전 시 선행요건 : 기술실시계약을 체결하기 위한 제반 사전협의사항(기술지도, 설비 및 장비 등 기술이전 전에 실시기업에서 갖추어야 할 조건을 기재)