

인류의 미래 재단할 3세대 유전자 가위 CRISPR/Cas9

김은정

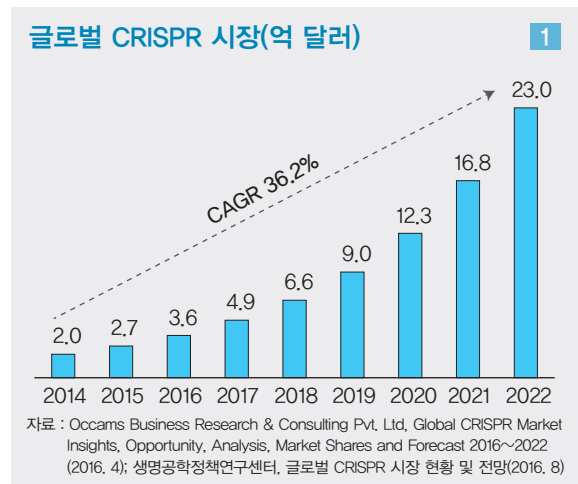
- CRISPR/Cas9 기술은 난치병 혹은 유전병 치료 등에서 미래 의료 분야의 혁신을 일으킬 전망이다. 2015년 Science지 올해의 혁신기술과 2016년 MIT 테크놀로지 리뷰의 10대 기술에 선정되기도 했다.
- 3세대 CRISPR 유전자 가위 기술 관련 시장은 연평균 36.2%로 급속히 발전할 것으로 예상되고 있다. 어려운 기술 설계로 장벽이 높고 시간도 오래 걸렸던 기존의 1세대 ZFN, 2세대 TALEN 기술에 비해, 3세대 유전자 가위인 CRISPR/Cas9 기술은 설계하기 쉽고(설계기간 수개월→하루), 비용도 매우 저렴(수천달러→수십달러)하여 대부분의 연구실에서 쉽게 합성 가능하다.
- 세균의 면역반응 현상에서 기인한 CRISPR/Cas9 기술은 guideRNA가 미리 표적해둔 DNA 염기 서열을 찾아가 Cas9 단백질로 잘라내고 다시 잇거나(NHEJ) 절단부위를 다른 염기 서열로 교체(HDR)하는 형태로 유전자를 변형시킬 수 있다. 최근 활발한 연구를 통해 Cpf1, CasX, CasY 등의 새로운 유전자 가위도 발견되고 있다.
- 질병치료에도 이미 적용되고 있다. 미국, 영국, 스웨덴 등에서 CRISPR/Cas9을 이용한 HIV, 암, 혈우병, 선천성 안질환 등 질병 치료 연구가 활발하다. 중국에서도 이미 배아세포에 빈혈을 일으키는 변이 유전자를 절단하거나, HIV 질환 면역 수정란을 만드는 데 성공했으며, 성인 폐암 환자를 대상으로 임상시험을 실시했다.
- 전세계적으로 글로벌 제약회사와 CRISPR/Cas9 기술을 보유한 벤처 기업들이 활발한 협력을 통해 기술 개발을 주도해 가고 있다. 한국도 CRISPR/Cas9 기술 특허를 보유한 국가로서 계속 관련 기술 수준을 높여가야 할 것이다.
- CRISPR/Cas9 기술은 이제 막 부상하기 시작한 기술이다. 의도하지 않은 부분을 절단할 수 있는 비표적절단의 기술적 문제 개선, CRISPR/Cas9 자체의 충분한 안전성 확보, 인간배아유전자 편집의 윤리적 이슈 등 극복하고 합의를 이루어가야 할 과제가 많다.
- 개별 국가 차원의 유전자 가위기술의 수용 수준에 거의 관계없이 인류의 유전자 가위 관련 기술과 지식은 불가역적으로 확산될 것이다. 기술의 수혜를 높이고 오남용과 폐해를 최소화 하기 위해서 유전자 가위 기술과 유전자, 질병 및 생명 현상에 대한 국가적인 지적 수준과 기술 수준을 높이고 윤리적 이슈에 대해서도 사회적 합의를 마련해야 할 것이다.

1. 유전자 가위 시장

- 유전자 가위란, 유전체를 자르거나 혹은 원하는 서열을 삽입하여 인간 세포 및 동식물 세포의 유전자를 편집하는 데 사용되는 핵산분해효소를 일컫음.
 - 인위적인 유전자 편집에 의해 유전자의 염기 서열을 편집할 수 있음. 즉, 손상된 DNA를 자르거나 정상 서열로 갈아 끼우는 방식으로 질병에 적용 가능함.

□ 유전자 편집 시장 중, 크리스퍼(CRISPR) 시장이 빠르게 성장 중

- 전체 유전자 편집 시장 규모는 2016년 28.4억 달러에서 CAGR 14.3%로 성장하여 2021년에 55.4억 달러에 도달할 것으로 전망됨. 그 중 주목할 3세대 유전자 가위 기술인 CRISPR¹ 기술은 2022년까지 CAGR 36.2%로 매출이 빠르게 성장할 것으로 예상되는 분야임.(차트 1)



- 글로벌 CRISPR 시장은 북미 지역이 2014년 기준으로 46%(0.9억 달러)비중으로 가장 큰 시장 형성. 그 다음으로 유럽 지역이 25%(0.5억 달러)를 차지하며, 아시아-태평양 지역이 19%(0.4억 달러), 그 외 지역이 10%(0.2억 달러) 비중 차지.
- 아시아-태평양 지역이 CAGR('16~'22) 37.1%의 성장률로 가장 급속도로 성장하고 있음. 인도, 중국 중심으로 유전자 편집 분야의 정부 투자가 적극적임.
- 국내 CRISPR 시장은 2014년에 600만 달러에서 2020년 7,000만 달러로 확대될 것으로 예상.
- 2014년 기준, CRISPR 시장은 연구소 35%(0.7억 달러)가 가장 크고, 그 다음으로 바이오 기업 30%(0.6억 달러), 대학 20%(0.4억 달러), 제약사 15%(0.3억 달러) 순으로 형성됨. 하지만 2022년에는 바이오 기업이 32%(7.4억 달러)로 연구소와 동일하게 되며, 대학 20%(4.5억 달러), 제약사 16%(3.8억 달러)로 형성 전망.^{[1][2]}

2. 1·2세대 유전자 가위 (차트 2)

(1) 1세대 징크 핑거 뉴클레아제(ZFNs: Zinc Finger Nuclease)

- 존스홉킨스 대학의 Srinivasan Chandrasegaran 교수가 개구리의 DNA에 결합된 단백질을 이용하여 유전자를 변형시킬 수 있는 1세대 유전자 가위 ZFN를 고안. 이미 상용화되어 치료제로도 임상 시험 중에 있으나, 정확도가 낮고 설계 비용이 비싼 단점
 - 아연-손가락이라고 불리는 징크 핑거 뉴클레아제는 아연(Zn^{2+}) 이온에 의해 구조적으로 안정화되는

1 CRISPR는 Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats의 약자

	1세대 ZFNs	2세대 TALENs	3세대 CRISPR/Cas9
유전자 인식	징크핑거 단백질	TALE(Tal effector) 단백질	가이드RNA
유전자 절단	Fok1	Fok1	Cas9
유전자 절단 성공률	낮음(0~24%)	매우 높음(0~99%)	높음(0~90%)
실제 용이성	복잡함 (months)	복잡함 (months)	매우 간단 (1 day)
가격	높음 (\$5000)	중간	낮음 (\$30)

자료 : Kim, E.J. & Kim, J.S., Genome Editing, IBS 유전체교정연구단, vol. 16 (2015)

DNA 결합 도메인(ZF 단백질)과 DNA 절단 도메인(Fok1 효소)으로 구성됨. DNA 결합 도메인의 단백질이 특정 염기 서열을 인지하면 Fok1이 특정 위치를 절단함.^[3]

- 1985년 아프리카 발톱개구리의 유전자를 연구하던 과학자들은 개구리의 DNA에 결합해 있는 단백질을 발견. 손가락 모양의 고리가 개구리 유전자에 단단히 결합해 있는 형태이며 그 중심에 아연(Zn) 이온이 있기 때문에 아연-손가락(Zinc finger)이라고 명명.^[4]
- Chandrasegaran 교수는 징크핑거 단백질이 유전자를 인식하고 변형시킬 수 있도록 고안함. ZF 단백질 1개가 3개의 연속된 염기를 인식함.² 이는 특정 유전자를 인식하기에 너무 짧기 때문에 징크핑거 단백질을 연결하여 잇게 하여 통상적으로 18개의 염기를 인식하게 함.³
- Fok1은 세균들이 바이러스의 침입에 방어하기 위해 자신의 유전자에서 바이러스를 자르는데 쓰는 제한 효소(restriction endonuclease)임. Fok1은 DNA를 절단하기 위해 사용되고, hetero dimer를 형성하였을 때 작동함.⁴ 이때, ZFN의 말단에 위치한 Fok1의 절단기능이 작동하여 DNA의 이중나선을 절단하게 됨.^{[3][5][7]}
- 하지만 이론상으로 3개의 ZF가 연결되면 9개의 염기 배열을 인식하지만, 여러 개 ZF 모듈을 연결할 때 서로가 염기 인식에 간섭을 일으켜 모든 codon을 정확히 인식하는데 한계가 있으며 설계가 어려움. 또한 건당 5000달러로 설계 비용이 높음.^{[5][9]}

(2) 2세대 탈렌(TALENs: Transcriptor Activator-Like Effector Nuclease)

- 2010년 1세대 유전자 가위 ZFN의 DNA 결합 도메인 부분을 ZFN 대신에 TALE 단백질로 대체한 TALEN이 개발됨. 1세대에 비해 더 정교해 졌으나, 크기가 커서 세포내 주입이 어려운 단점
- 2009년, TALE는 식물병원세균인 Xanthomonas에서 발견되었으며, TALE 단백질 1개가 1개의 염기를 인식하기 때문에 좀 더 정교하게 인식이 가능함. 1개의 TALE는 33~35개의 반복되는 아미노산 서열로 구성됨.⁵ DNA에 결합 시, 한 개의 모듈이 한 개의 염기를 인식하기 때문에 연속적으로 연결하더라도 간섭을 일으키지 않는 장점을 지님. 통상적으로 17개 모듈을 연결하여, 쌍으로 총 17×2=34염기의 목적 배열을 인식하게 함.^{[3][4][11]}

2 ZF 단백질은 1개가 3개의 염기를 인식하므로 원하는 DNA 염기 서열에 맞춰 조립식으로 설계 가능함.

3 염기 인식 수가 많아질수록 정확도가 높아짐.

4 Fok1은 2개의 monomer가 1쌍으로 작용하기 때문에 ZFN은 항상 짝을 이루어야 작동함. 보통 각각의 monomer는 3~6개 징크핑거단백질로 구성되어 9~18개의 염기서열을 인식함. 즉, 1쌍의 ZFN은 약 18~36개의 염기서열을 인식하여 자름.^[4]

5 33~35개의 아미노산 서열 중, 12, 13번째 아미노산 서열이 RVDs(repeat variable diresidues)라 불림. 이는 특정 1개의 염기 서열을 인식하기 때문에 RVD 염기가 각각의 G,A,C,T 염기를 인식하여 원하는 DNA 염기 서열에 맞춰 조립 가능함. ^{[10][5]}

- 세포내에서의 의도하지 않은 재조합의 가능성이 높기 때문에 이를 막기 위해 다양한 합성법이 개발됨.^{[5][12]}
- 1세대 ZFN은 5'-GNGGNGGNN-3'와 같은 서열에만 잘 작동하는 제한이 있는 반면 TALEN은 결합 부위가 T 염기로 시작해야 함. 또한 메틸화 cytosine에 작동하지 못하는 한계를 가짐. 그리고 ZFN 보다 크기가 커서 세포 속에 넣기가 어려움.^[5]

3. 3세대 유전자 가위, CRISPR/Cas9

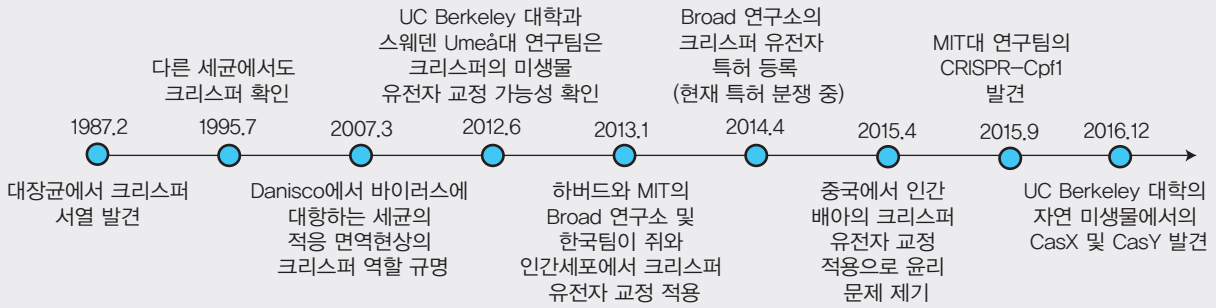
- 기존 1, 2세대보다 정확도와 효율성이 획기적으로 높은 3세대 유전자 가위인 CRISPR/Cas9(CRISPR; Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/CRISPR-associated protein9)의 등장으로 유전자 가위 기술은 본격적인 도약기에 진입
 - 크리스퍼는 미생물에 존재하는 반복된 서열을 가리키는 것으로 박테리아 면역 체계에서 유래한 제한효소임.
 - 크리스퍼 이전 세대인 1세대와 2세대 유전자 가위는 비효율적이었음. 인공 유전자를 수천 개 이상 삽입하면서 ZF와 TALE단백질을 만들어야 함. 설계 자체가 어렵고 결합하는 단백질을 길게 만들기 어려워 정확도를 높이기 어려웠음. 그리고 단백질이 지나치게 커서 세포 안으로 전달하는데 어려움.^[13]
 - CRISPR/Cas9 기술은 2015년 12월에 Science지가 선정한 올해의 혁신기술(Breakthrough of the year 2015)로 선정됨. MIT 테크놀로지 리뷰도 2016년도 10대 기술로 생명과학 분야의 두 가지를 선정했는데, 면역 엔지니어링(Immune Engineering 항암치료)과 식물 유전자 편집 기술(Precise Gene Editing in Plants)의 CRISPR/Cas9 유전자 가위 기술을 선정.^[6]

(1) CRISPR의 역사^[9] (차트 3)

- 1987년, Escherichia coli(대장균)에서 크리스퍼 서열 발견
 - 오사카대학 요시주미 이시노 교수가 대장균 등 미생물의 DNA 서열을 결정하다가 우연히 염기 21개마다 회문 구조(palindromic)⁶가 반복됨을 발견함. 이에, '일정 간격으로 분포하는 짧은 회문 구조 반복서열(Clusters of Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats)'이라는 이름을 사용하게 됨.^[14]
- 1995년, 다른 세균에서도 공통적으로 크리스퍼 서열을 확인
 - 모든 유전체에서 규칙적으로 반복되는 짧은 염기서열임. 하지만 당시에는 서열의 기능을 알지 못했음.^[15]
- 2007년, 덴마크 요구르트 회사 다니스코(Danisco)⁷ 연구진이 최초로 크리스퍼가 세균의 면역반응 현상에서 기인한다는 것을 밝힘.^{[16][18][9]}
 - 요구르트 제조 시, 유산균을 배양할 때 박테리오파지에 감염되면 유산균은 죽게됨. 일부 생존하는 유산

6 회문구조란, DNA상에서 염기 서열이 역방향으로 반복됨으로써 왼쪽, 오른쪽 방향이 똑같이 읽힘.

7 현재 Dupont에 피인수



료: Ledford, H., CRISPR, The Disruptor, Nature, vol. 522 (2015,6)

균을 분석한 결과, 크리스퍼가 작동하여 파지에 내성을 갖도록 면역이 발생한 것을 발견함. 그 유산균은 과거에 침입했던 파지의 DNA를 미리 잘게 잘라 자신의 유전자에 붙여 기억해 둠으로써 동일 파지가 침입하게 되면 과거의 ‘안좋은 기억’을 활용하여 대응.

- 당시에는 크리스퍼가 어떤 기제로 바이러스를 격퇴하는 지에 대한 구체적 메커니즘은 밝히지 못했음.

□ 2012년, 크리스퍼의 미생물 유전자 편집 가능성을 확인함으로써 본격적으로 3세대 유전자 가위 시대 가 열림.

- 미국 UC Berkeley대학 J. Doudna 교수와 스웨덴 Umeå대학 Charpentier 교수는 세균 속 크리스퍼 시스템에서 바이러스를 공격하는 Cas9 절단 효소를 발견하면서 그 기제를 밝히고 미생물 유전체 교정 가능성 확인.^[17]
- CRISPR/Cas9은 화농연쇄구균(*Streptococcus pyogenes*)의 면역체계에서 유래. 세균은 자신의 유전자에 바이러스 침입을 받게 되면, 바이러스 DNA를 잘게 조각으로 자름. 이를 스페이서(Spacer)라고 함. 스페이서를 자신의 유전체에 삽입하여 DNA 서열 중 21개만 뽑아내 기억을 해둠. 스페이서를 기억한 곳에서 RNA가 만들어지고 이는 Cas9과 결합하여 크리스퍼/Cas9 복합체 형성. 그 후에 동일한 바이러스가 다시 세균에 침입하게 되면, guideRNA(gRNA)가 동일한 바이러스 DNA를 찾아내어 결합한 후 Cas9이 다시 잘라내어 바이러스를 차단하게 됨.^[13]
- Cas9에 결합하는 RNA를 바꾸면 파지 유전자가 아닌, 전혀 다른 유전자 서열도 절단 가능. 즉, Cas9에 공격할 세포 속 염기 서열 20개를 미리 알려주고 사람 세포에 주입하면, 지정한 부위를 gRNA로 인식하여 찾아가서 정확하게 잘라냄.^[18]

□ 2013년, 크리스퍼의 인간세포 유전자 편집 가능성 확인

- 브로드연구소(Broad Institute of MIT and Harvard)의 Feng Zhang 교수 연구팀이 실험용 쥐에 CRISPR/Cas9을 적용하는데 성공함으로써 인간을 포함한 살아있는 진핵 세포에서도 작용 가능하다는 것이 확인됨. 또한 같은 해 한국에서도 벤처기업 툴젠이 인간 세포에 CRISPR/Cas9을 적용.^{[19][20][9]}
- 인간의 DNA는 동식물 혹은 미생물과 달리 히스톤(histone)이라는 단백질에 엉켜 말려있기 때문에 CRISPR/Cas9의 역할이 불확실했지만 국내에서 최초로 인간세포에 유전자 편집을 적용.^{[18][21]}

- 2015년부터 중국에서 인간 배아에 CRISPR/Cas9을 적용하여 윤리 논쟁 이슈화
- 3세대인 CRISPR/Cas9보다도 정확도가 높아진 3.5세대 크리스퍼 가위 등장
 - Cas9 단백질 대신 크리스퍼-Cpf1 단백질 이용. 2015년 MIT의 Feng Zhang 교수 연구진이 크리스퍼-Cas II의 gRNA 제한효소인 Cpf1 발견. 박테리아인 Prevotella와 Francisella에서 발견되어 약자를 따 Cpf1이라고 불림. ^{[18][22]}
 - Cas9에 비해 분자 크기도 작고 효용성이 큼. 톨젠 중심으로 크리스퍼-Cpf1 단백질을 이용하여 크리스퍼-Cas9 단백질 보다 정확도가 높음을 입증. 다른 FAM site를 인지하고 Cas9에 비해 오류 확률이 낮아 더 정밀함.
- 2016년 12월 미국 UC Berkeley대 연구진이 자연 미생물에서 새로운 Cas 단백질 CasX, CasY 발견^[8]
 - 기존 Cas9 시스템은 배양균에서 찾아낸 것이라면, CasX와 CasY는 자연상태의 미생물 자체에서 발견했다는 것에 의의가 있음.
 - 기존의 화농연쇄구균의 Cas9 아미노산이 1,368개였던 반면, CasX의 아미노산은 980개, CasY는 1200개 아미노산으로 구성되어 Cas9에 비해 작기 때문에 세포 안으로 이동이 쉬워 유전자 편집에 활용도가 더욱 용이함. 현재까지는 대장균에 적용됨.

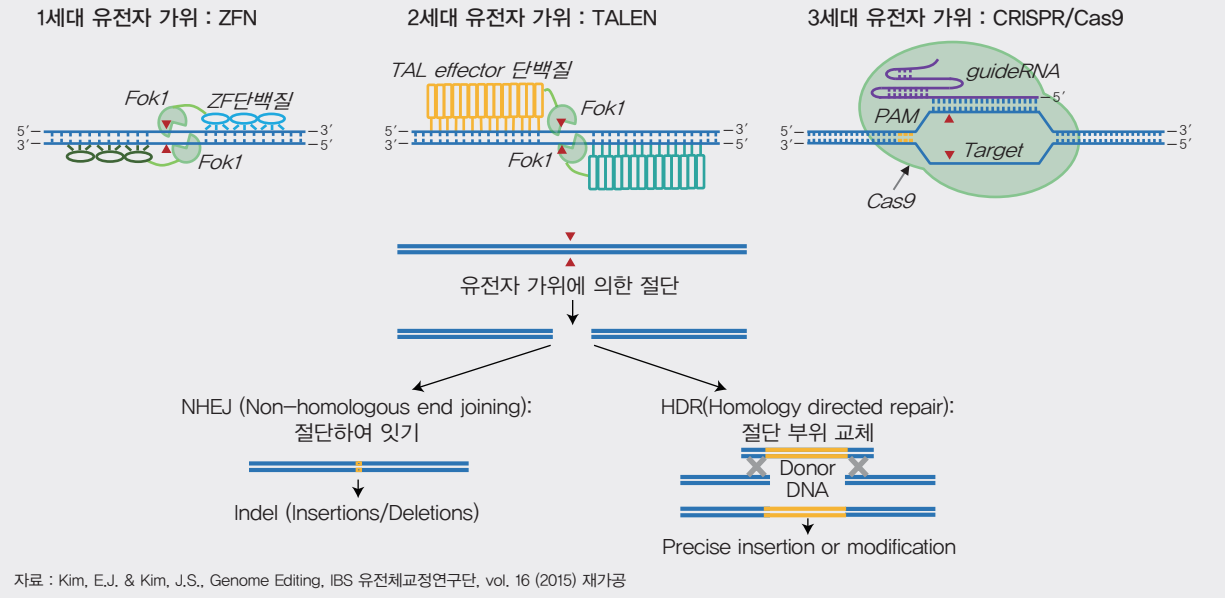
(2) CRISPR/Cas9 작용 기작 (Molecular Mechanism) ^{[3][5]}

- CRISPR/Cas9는 결합 도메인인 RNA(guide RNA)와 특정한 염기 배열을 자르는 가위 역할인 Cas9 절단 효소로 구성
 - 키메라 단백질 타입의 1, 2세대와 달리, RNA 유도형 절단 효소임. 1, 2세대 유전자 가위는 단백질이 DNA를 인식해서 잘랐다면, 3세대인 크리스퍼는 유전물질인 gRNA가 DNA 염기 배열을 인식하여 자동적으로 찾아가서 Cas9 단백질이 자름. 1, 2세대는 쌍으로 존재할 때 절단 기능이 작동하지만, CRISPR/Cas9은 한 개의 gRNA가 DNA를 표적하여 절단 기능이 일어남.⁸ CRISPR/Cas9은 표적 배열에 맞추어 매번 인공 뉴클레아제 융합 단백질을 설계할 필요가 없음. 지금까지 개발된 유전자 가위 중 가장 설계가 용이하고 가격이 제일 저렴하며 효율성이 높음.
- CRISPR/Cas9로 절단된 염기서열은 DSB(double strand break)⁹가 일어난 후, 크게 NHEJ(non-homologous end joining) 혹은 HDR(homology directed repair) 두 가지 형태로 만들 수 있음(차트 4).
 - NHEJ는 절단된 염기서열이 복구되는 과정으로, 특정 유전자 기능을 완전히 억제하는 knock-out 가능.¹⁰ 즉, 유전자 기능을 상실하는 것임. 다른 하나인 HDR은 donor DNA를 함께 도입하면 새로운 염기서열을 만들 수 있음. 즉, 잘못된 염기 서열의 교정이 가능함. 따라서 염기 서열의 순서가 뒤바뀌어 발생하는 혈액병의 경우, 염기 서열 순서를 재조합하는 것도 가능.

8 주로 5'-NGG-3' 염기 배열을 인식하며, 인식된 염기 배열은 Protospacer adjacent motif(PAM)이라고 부름.

9 세포 분열시 DNA 나선가닥이 분리

10 Genomic DNA가 절단되면, 세포내에서 이를 회복하기 위해 재조합 등의 기작 발생. 한번 절단된 부위의 염기 서열이 indel(첨가/소실) 되었기 때문에, DNA의 프레임 변화가 발생하여 단백질 아미노산 염기 서열 발현에 영향을 미쳐, 단백질의 제 기능을 하지 못하게 되는 것을 knock out이라고 부름.



(3) CRISPR/Cas9 특징

- CRISPR/Cas9의 gRNA는 단백질보다 훨씬 만들기 쉬워서 대부분의 연구실에서 쉽게 합성 가능. 1, 2세대처럼 단백질을 연결할 필요도 없음. 이는 유전자 편집의 설계 시간(수개월→하루)과 비용(수천달러→30달러)을 절감시킴.
- ZFN 설계에 성공한 곳은 전 세계에 5~6개에 불과하고 TALEN은 그보다 많지만 여전히 수십 여 곳에 불과함. gRNA의 경우 어느 실험실에서나 20nt(염기)정도만 교체하면 누구나 새로운 유전자 가위를 한번에 대량으로 손쉽게 만들 수 있음. 비싼 비용이 들어가는 1, 2세대와 달리 크리스퍼 기술은 건당 30달러에 저렴하게 구입이 가능하여 범용성이 큼.^{[22][9][23]}
- ZFN이나 TALEN의 경우 새로운 단백질을 설계하는데 수개월이 걸린다면, 크리스퍼 기술은 하루 만에 설계 가능. 일례로, 32억 개가 넘는 DNA 염기 서열 중 폐암을 일으키는 유전자만 ZFN 혹은 TALEN으로 절단하기 위해서는, 수천 개마다 한번 씩 반복되는 염기 서열에 새로운 단백질 구조를 각각 설계해야 함. 반면, 크리스퍼 기술은 표적 DNA와 상보적인 RNA만 만들면 됨.^[24]
- gRNA는 다른 것과 물리적 결합이 없기 때문에, 여러 개의 gRNA를 동시에 세포에 전달하여 유전체 여러 부분을 동시에 인식하고 절단 가능. 기존 1, 2세대 기술보다 다양한 생물의 유전자 편집이 가능하여 연구 모델 생물 종류를 다양하게 확장 가능.^[13]
- 현재 크리스퍼 기술은 빠른 속도로 기존 1, 2세대를 대체하며 여러 분야에 응용 중. 2014년 크리스퍼 기술 특허 출원 건수 대폭 증가함. 또한 미 국립보건원(NIH)에서 크리스퍼를 다른 프로젝트에 지원하는 연구비가 급격히 증가함.^[2]
 - 크리스퍼 관련 논문은 2012년 127편에서 2015년 1,141편으로 3년 간 10배 급증함. 크리스퍼 관련 특허는 2013년 기준 375건이 출원 및 등록되었음.^[1]

4. 유전자 가위의 의료 분야 적용

- HIV치료: CCR5를 제거하면 HIV를 치료할 수 있음. CCR5는 HIV 에이즈 바이러스의 수용체 역할을 하는 유전자로서, CCR5 유전자가 없는 사람들은 HIV가 발병하지 않음.
 - 이미 미국 생명공학 기업인 '상가모 바이오사이언스(Sangamo BioScience)'에서 1세대 유전자 가위인 ZFN으로 에이즈 환자의 면역세포에서 CCR5 유전자를 제거한 후 다시 체내에 투여한 방식으로 임상 시험을 통해 검증함. 그 결과 환자 체내에서 HIV 번식과 저장소 둘 다 감소하게 됨.^[25]
 - HIV의 유전자 가위 치료는 환자의 CD4+ T Cell을 분리하여 ZFN를 통해 유전자를 편집하고 세포를 증식하여 환자에게 다시 넣어주는 ex vivo 유전체 교정 형태임. CCR5가 절단된 CD4+ T Cell은 환자 몸에 생착하여 최소 수 개월에서 1년 이상 체내에서 생존 가능함. 현재까지는 CCR5 유전자 편집으로 부작용이 나온 사례는 없음. 하지만 ZFN에 의한 CCR5 제거 효율성은 (5~20%)로 낮았음.^{[5][46][47]}
 - 중국 광저우대 연구팀에서 2016년 4월, 배아세포에 CRISPR/Cas9을 이용하여 HIV 바이러스가 침입할 수 없는 면역 수정란을 만들. 기증받은 16개 배아에 CCR5 유전자 제거를 시도하여 4개 성공함.^[26]
- 암 치료: 암 환자의 혈액에서 면역세포 유전자를 편집하여 암세포 공격능력을 높이는 방식으로 암 질환 치료 가능
 - 면역세포인 림프구의 한 종류인 T세포의 PD-1 수용체를 CRISPR/Cas9 기술을 통해 제거하면 암세포 면역 회피 작용을 차단하여, T세포가 암세포를 인지하여 공격하는 능력을 강화시킬 수 있으며 결과적으로는 기존의 항암치료 없이 암을 치료할 수 있게 됨.¹¹

유전자 가위 치료 방식 : ex vivo와 in vivo

유전자 가위를 질병에 적용하는 경우 환자의 몸에서 세포를 떼낸 후 유전자 가위로 유전자를 편집하고 다시 환자 체내에 주입하는 방식(ex vivo: 체외에서 교정 후 주입)과 체내에 유전자 가위를 정확한 위치에 직접 삽입하는 방식(in vivo: 체내에 유전자 가위 주입)이 있다.^[50]

질병별 치료 방식

5

질병	치료 방식	치료 유전자	관련 기업
에이즈	ex vivo	CCR5	Sangamo BioSciences
빈혈	ex vivo	BCL11a	Sangamo BioSciences
암	ex vivo	TCR α	Collectis
레버 선천성흑암시	in vivo	CEP290	Editas
유전성 아밀로이드증	in vivo	ATTR	Intellia
혈우병 A	in vivo	F8	ToolGen

자료 : 세계지식포럼 발표, 유전자가위가 가져올 DNA혁명, Fight against Angiogenesis-related blindness; In vivo genome editing beyond anti-VEGF inhibitors, 김정훈 (2016, 10) 재가공

11 T세포는 암으로 전환될 가능성이 있는 비정상적 체세포나 암세포를 공격하여 파괴할 수 있음. 활성화된 T세포 표면에 나타나는 PD-1 단백질은 암세포 표면의 PD-L1, PD-L2와 결합하여 T세포가 암세포를 공격하지 못하도록 방해함.

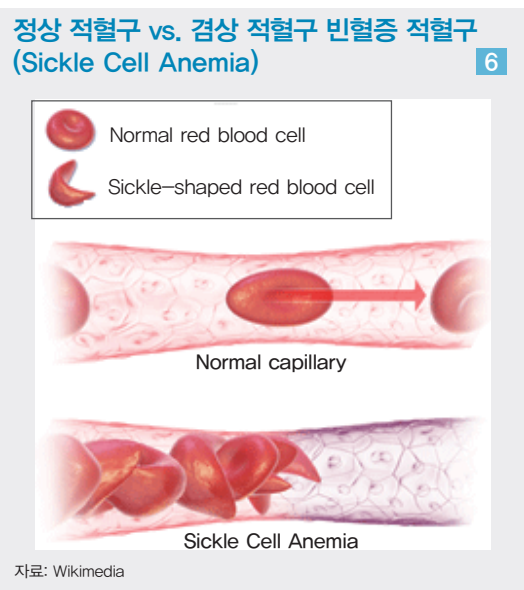
- 암 환자의 혈액에서 면역세포 유전체를 교정하여 암세포 공격 능력을 높인 후 배양하여, 다시 환자의 골수 등을 통해 체내에 다시 집어넣는 방식으로 치료.¹²
- 미 국립보건원(NIH)의 자문위원회는 2016년 6월 미국 펜실베이니아대 연구진에게 골수종(myeloma), 흑색종(melanoma), 육종(sarcoma) 등 암 치료를 위해 18명의 환자를 대상으로 한 CRISPR/Cas9 임상시험 연구를 권함. 암 환자 몸에서 T세포 유전자를 편집하여 복원하고 다시 주입하는 방식으로 임상시험이 실제 이루어지기까지 FDA의 승인 필요.^[27]
- 2016년 10월, 중국 쓰촨대 병원 루 유(Lu You) 연구진이 CRISPR/Cas9를 활용하여 비소세포 폐암(NS-CLC) 환자 10명을 대상으로 임상시험 실시함.^[28]
- 전 페이스북 사장 셀 파커(Sean Parker)의 파커암면역요법연구소(Parker Institute for Cancer Immunotherapy) 재단에서 유전자 교정을 이용한 암치료 연구를 위해 2억 5천만 달러 자금 조달. 스탠포드대학, 캘리포니아대학, 샌프란시스코대학, 펜실베이니아대학, MD앤더슨암센터, 메모리얼 슬론 케터링 암센터 등 6개 연구소 과학자가 참여하고 있음.^[29]

□ 안질환 치료: 크리스퍼 기술을 이용하여 안질환 치료에 in vivo 방식으로 적용 가능

- 망막색소변성증 치료 가능성
 - 미국 솔트 연구팀은 이미 세포 분열이 끝난 망막세포에 유전자 가위를 in vivo 방식으로 삽입하여 망막색소변성증을 가진 동물모델의 시력 회복에 성공함.^[49]
- 레버 선천성흑암시(Leber congenital amaurosis) 치료 가능성
 - 에디타스 메디슨(Editas Medicine)도 크리스퍼 기술을 이용하여 레버 선천성흑내장이란 희귀 안질환의 치료에 대한 임상시험 신청을 준비 중임.^[30]

□ 겸상 적혈구 빈혈증 치료

- 겸상 적혈구 빈혈증은 헤모글로빈 단백질을 만드는 유전자 돌연변이 때문에 정상적인 동그란 모양의 헤모글로빈이 아닌, 낫 모양의 헤모글로빈이 생성되면서 발생함. 스탠포드 대 포르티우스 박사에 따르면 병든 세포 중 10%의 변이만 교정해도 치료효과를 나타낸다고 함.^{[31][32]} (차트 6)



- 혈우병 치료: 대다수 혈우병은 혈액응고인자 8번의 일부가 뒤집어져서 혈액응고인자가 제대로 생성되지 못해 발병함. 기존 1세대 기술을 적용한 성공 사례가 있기 때문에 CRISPR/Cas9을 활용한다면 더욱 정밀하게 치료 가능할 것으로 보임.

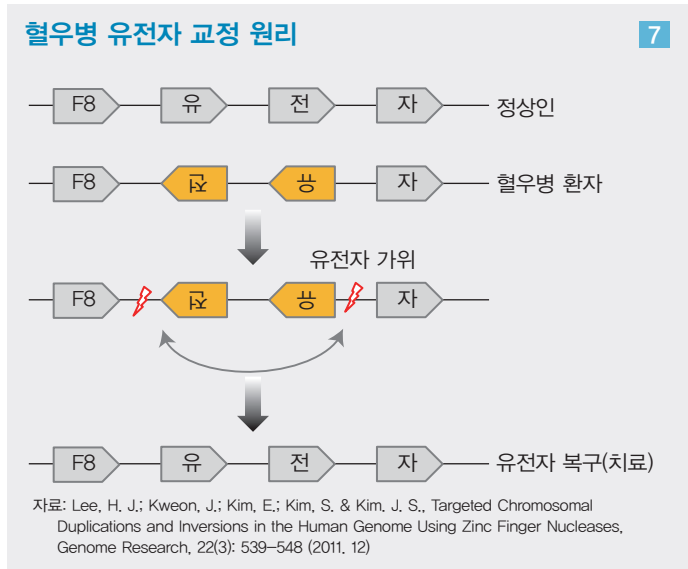
- IBS 유전체 교정 연구팀은 환자의 소변에서 세포를 채취

12 질병마다 효과적인 체내 주입 방식은 다양함.

하여 역분화시켜 역분화줄기세포(iPS cell)를 만든 후, 1세대 기술로 교정하여 정상으로 되돌리는데 성공함. 정상으로 교정한 줄기세포를 혈관 내피세포로 분화시켜 재이식할 수 있음.^[33](차트 7)

- 미국 상가모 바이오사이언스에서 이미 FDA승인을 받아 1세대 기술을 적용하여 혈우병 환자 대상으로 골수에 정상 유전자를 주입하는 방식으로 임상 시험 진행.^[34]

□ 그 외, 헌팅턴 무도증, 색맹, 낭포성 섬유증, 혈액 관련 질병 등에 적용 가능.



5. CRISPR/Cas9 관련 기업 현황 및 특허^{[35][36][2][9]}

- CRISPR/Cas9 기술을 개발한 연구자들을 중심으로 글로벌 제약회사와 CRISPR/Cas9 기술을 보유한 벤처기업간의 활발한 협력이 이뤄짐 (차트 8).
- Caribou Biosciences: UC Berkeley대의 J. Doudna 교수가 2011년에 설립함. 1천 백만 달러의 자금을 조달 받음. 그 후, 2012년에 UC Berkeley대의 J. Doudna 교수와 스웨덴의 E. Charpentier가 팀을 구성하여 CRISPR/Cas9을 미생물인 원핵 세포에 적용하여 유전자 편집 가능성을 확인시키면서 특허를 신청함. 미국 DuPont은 Caribou Biosciences와 농업 분야에 CRISPR/Cas9 적용하기 위해 공동 연구 협약 맺음.
- Editas Medicine: 2013년에 J. Doudna 교수가 MIT와 하버드의 Broad Institute의 Feng Zhang 교수와 조지 처지(George Church)와 함께 공동 설립. 설립 당시 4천 3백만 달러의 자금을 조달받음. 2013년 Broad Institute의 Feng Zhang 교수 연구팀이 생쥐와 인간세포와 같은 진핵 생물에 CRISPR/Cas9을 적용했고 2014년에 특허를 받게 됨. J. Doudna 교수는 한달 후에 Editas를 떠나 Caribou Biosciences와 Intellia Therapeutics에 집중. 최근 Editas Medicine은 암 세포 치료 스타트업 Juno Therapeutics와 협력하기로 결정함. 빌게이츠과 구글 벤처로부터 약 1.2억 달러(1400억 원) 투자 받음. 2016년 2월 9천 4백만 달러 규모로 IPO 마침. Monsanto는 Broad연구소의 CRISPR 시스템을 이용한 농업 작물 개발 적용을 허가함.^[37]
- CRISPR Therapeutics: J. Doudna와 함께 연구했던 E. Charpentier가 2014년 스위스에서 설립. 8천 9백만 달러의 자금을 조달받음. 독일 제약사 Bayer은 CRISPR Therapeutics와 합작법인을 설립하여 5년간 3억 유로(약 3,800억 원) 투자.
- Intellia Therapeutics: Caribou Biosciences와 Atlas Venture가 함께 설립한 벤처회사로 2014년에 1천 5백만 달러를 조달받음. Caribou Biosciences는 Intellia에게 인간 유전자 및 세포를 치료하도록 기술 개발과 상업화의 독점적 권리 제공. 2016년 5월 1억 8백만 달러 규모로 IPO 마침.
 - 2015년 스위스의 제약사인 Novartis는 Intellia Therapeutics, Caribou Biosciences에 170억 원을 투입. 조혈모줄기

회사명	국가	주요 제품	최근 동향
ToolGen	한국	CRISPR	<ul style="list-style-type: none"> • CRISPR 유전자 가위 기술 국내 특허 2건 등록 • 미국, 유럽을 비롯해 9개국에서 추가로 출원 심사 중
Editas Medicine	미국	CRISPR, TALENs	<ul style="list-style-type: none"> • 43백만 달러 자금 조달 받아 설립됨 ('13.11) • (IPO) 미국 나스닥에 기업 공개 ('16.2) • 1.2억 달러 시리즈 B펀딩 확보 ('15.8) • Juno Therapeutics와 차세대 면역치료제 공동개발 발표 ('15.5) • Monsanto와 농업 작물개발 라이선스 계약 체결 ('17.1)
Caribou Biosciences	미국	CRISPR	<ul style="list-style-type: none"> • 11백만 달러 자금 조달 받아 설립됨 ('11.10) • Caribou, Integrated DNA Technologies와 크리스퍼 라이선스 체결 ('16.2) • DuPont 종자사업부 Pioneer에서 CRISPR/Cas9으로 종자 개량 시작 ('15.10)
CRISPR Therapeutics	스위스	CRISPR	<ul style="list-style-type: none"> • 89백만 달러 자금 조달 받아 설립됨 ('13.11) • Bayer와 합작 법인을 설립하여 5년간 3억 유로 (약 3,800억 원) 투자 • 미국 매사추세츠 R&D 본부 설립 계획 ('15.4)
Intellia Therapeutics	미국	CRISPR	<ul style="list-style-type: none"> • Caribou Biosciences와 Atlas Venture가 함께 설립한 벤처기업 • 15백만 달러 자금 조달 받아 설립됨 ('14.11) • (IPO) Intellia 미국 나스닥에 기업 공개 ('16.5)
Sangamo BioSciences	미국	ZFN	<ul style="list-style-type: none"> • HIV, 혈우병, 헌팅턴 병 등 ZFN 등으로 치료 중 • 제약 회사 Shire와 공동 개발 발표 ('15.10)
Transposagen Biopharmaceuticals	미국	NextGEN CRISPR	<ul style="list-style-type: none"> • Broad Institute와 CRISPR 유전자 가위 라이선스 계약 체결 ('15.12)
Thermo Fisher Scientific	미국	GeneArt CRISPR	<ul style="list-style-type: none"> • 크리스퍼 등 유전자 편집 기술 보유한 국내 기업 톨젠과 협업 체결 ('15.3) • 톨젠의 크리스퍼 기술 라이선스 확보
Horizon Discovery	미국	CRISPR, ZFN, rAAV	<ul style="list-style-type: none"> • 유전자 편집 역분화 줄기세포(iPSCs) 개발 위해 Axol Bioscience와 협업 체결 ('15.11)
Precision BioSciences	미국	ARCUS	<ul style="list-style-type: none"> • CART 면역항암제 개발 위해 Baxalta 와 17억 달러 규모 협약 체결 ('16.2)
Cellectis	미국	UCART19	<ul style="list-style-type: none"> • CART-cells 면역치료제 개발 위해 MabQuest SA와 협약 체결 ('16.3)
GenScript	미국	GenCRISPR	<ul style="list-style-type: none"> • (IPO) 미국 나스닥에 기업 공개 ('15.12) • 호모(yeast)에서 맞춤형 유전자 편집 서비스 출시 ('16.2)

자료 : 생명공학정책연구센터, 글로벌 CRISPR 시장 현황 및 전망 (2016. 8)

세포 교정으로 혈액질환 약품, 의약품 단백질, CAR-T세포 (암세포의 특이 항원을 인식하여 합성된 수용체를 발현해 암세포를 파괴하는 T세포) 개발을 목표로 하고 있음.

- 그 외에, 영국 제약사인 Astrazeneca는 Wellcome Trust Sanger 연구소, Innovative Genomics Initiative, Broad Institute/Whitehead 연구소, Thermo Fisher Scientific 등 영국과 미국의 연구소 4곳과 CRISPR/Cas9 기술 개발 계획.^[38]

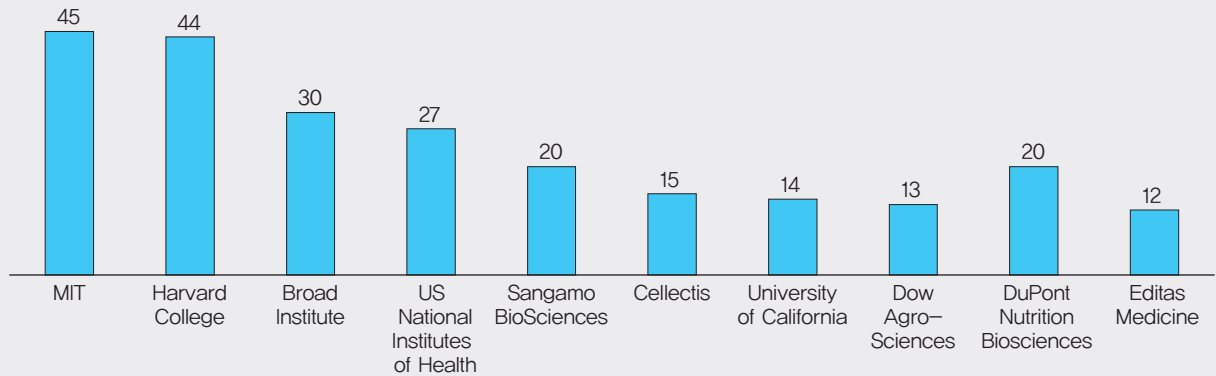
□ 원천 기술에 대한 특허 분쟁이 활발함. 현재 원천 특허 분쟁은 F. Zhang, J. Doudna, E. Charpentier 세 명의 교수들 중심으로 다양한 회사와 연맹을 맺어 활발하게 진행 중(차트 9 10)

- 2012년 CRISPR/Cas9의 미생물 유전자 편집을 밝혀낸 J. Doudna 교수와 스웨덴의 E. Charpentier 교수, 2013년 진핵 생물의 CRISPR/Cas9을 적용한 Broad 연구소의 Feng Zhang 교수 간에 분쟁. Feng Zhang 교수팀이 미국에서 2014년에 Berkeley 팀보다 특허를 일찍 받게 되면서 UC Berkeley가 이의 제기. USPTO에서 특허권 중재 중에 있음.

연구팀	소속	설립 회사	주요 협력사
Feng Zhang	Harvard Medical School, MIT, Broad Institute	Editas Medicine ('13)*	Juno Therapeutics, Monsanto 등
Jennifer Doudna	UC Berkeley	Caribou Biosciences ('11) Intellia Therapeutics ('14)	Novartis, Dupont 등
Emmanuelle Charpentier	Umeå universitet	CRISPR Therapeutics ('13)	Bayer 등

* F. Zhang, J. Doudna, G. Church 교수와 공동 설립

주요 기관의 크리스퍼 시스템 특허 출원 수



자료 : Knut et al., The emerging patent landscape of CRISPR-Cas gene editing technology, Nature Biotechnology 34(10): 1025-1031 (2016, 10)

6. CRISPR/Cas9의 과제와 이슈

□ 비표적절단(Off-target cuts)의 기술적 문제 개선

- CRISPR/Cas9은 인류의 질병을 쉽고 빠르게 치료해주기도 하겠지만 의도하지 않은 부분을 절단할 수 있는 비표적절단(off-target)의 위험성을 동시에 갖고 있음. 최근 활발한 연구를 통해 항-CRISPR 시스템을 밝혀내는 등 극복 방안을 마련하고 있음.
- Cas9의 비표적절단 빈도는 세포와 염기 서열에 따라 다양하게(0.1~60%) 나타나지만, 비표적절단이 낮다고 해서 없는 것은 아님을 명심해야 함. 자칫 절단된 유전자가 세포 증식을 억제하는 유전자일 경우 오히려 없던 질병을 발생시킬 가능성도 있음.
- 유전자 드라이브가 무분별하게 작동하거나 Cas9이 타깃하지 않은 유전체를 절단(off-target cuts)하는 것을 막을 오프 스위치(off-switch)가 필요함. 이와 같이 Cas9의 오작동에 대비하려는 움직임이 활발하게 이뤄지고 있고 극복방안이 제시되고 있음.
 - 2016년 12월 15일 메사추세츠 의과대학 에릭 손테이머(Erik J. Sontheimer) 박사 연구진은 수막염균(Neisseria Meningitidis)에서 Cas9을 저해하는 단백질 3개를 발견함. 수막염균의 항크리스퍼단백질 Anti-CRISPR(Acr)는 Cas9이 타깃하지 않은 유전체를 절단하는 것을 제어할 수 있는 오프 스위치(off-switch)의 역할을 함. 하지만 다른 세균인 수막염균(N. Meningitidis)에서 유래한 3개의 단백질들은 흔히 쓰이는 화농연쇄구균(Streptococcus pyogenes)의 Cas9을 차단할 수 있는지는 알 수 없음.^[39]

- 하지만 2016년 12월 29일 캘리포니아대 샌프란시스코 팀은 리스테리아균(*Listeria Monocytogenes*)에서 발견한 4개의 Type II Anti-CRISPR-Cas9 단백질 중 2개가 화농연쇄구균의 Cas9을 차단함을 발견. 이를 Acr II A2와 Acr II A4라고 명명했고, 대장균 뿐만 아니라 인간세포에서도 적용되기 때문에 크리스퍼 시스템의 비표적 절단 문제가 개선될 수 있음을 보여줌.^[48]

□ CRISPR/Cas9 자체의 충분한 안전성 확보

- 크리스퍼 시스템의 유전자 편집 메커니즘을 밝혀낸 J. Doudna 교수조차도 인간 배아의 유전자 치료는 필요하지만, 여전히 안전성이 확보되지 않았다고 주장.^[40]
 - 과거에도 유전자 치료 과정에서 환자가 사망한 바 있음. 당시에는 바이러스를 이용한 유전자 치료였는데, 1999년 펜실베이니아 대학의 유전자 치료 임상 시험에 참가한 19세 제시 겔싱어(Jesse Gelsinger)는 아데노바이러스 유전자 편집 중 사망함.¹³ 그 후, 유전자 치료 중 백혈병에 걸리는 환자들이 발생하여 2003년 1월 FDA는 유전자 치료 잠정 중단함.^[41]
- 인간배아에 대한 유전자 편집은 효과도 평생 나타나고 유전까지 될 수 있지만, 부작용도 마찬가지로 평생 나타나고 유전될 수 있기 때문에 최대한 신중해야 할 것으로 보임. 충분한 연구가 진행되어야 하며 안전성 검증을 위한 새로운 규제 체계 마련 필요.

□ 인간 배아 유전자 편집의 윤리적 이슈

- 인간 배아를 생명으로 간주하는 지의 여부 등 생명 존엄 논란이 뜨거움.
- 인간 배아에 대한 유전자 편집을 허용할 것인지, 허용한다면 어느 정도 범위까지 허용해야 하는 지 사람들마다 견해가 다름. 유전 질환을 갖고 태어나는 아이의 부모 입장에서 유전 질환을 갖고 평생 살아가는 것보다, 배아 단계에서 유전자를 편집하는 것을 원할 것임. 비용 측면에서도 평생 동안 아이의 유전 질환을 치료하는 비용과 고통을 겪어야 하는 것을 고려한다면 그에 비해 유전자 편집 비용은 비교도 안될 정도로 작을 것임.
- 반면, 인간 배아를 생명으로 간주하는 사람들 입장에서는 인간 배아에 유전자 편집을 적용하는 것은 아직 그 안전성이 검증이 되지 않았을 뿐 아니라, 자칫 비윤리적 목적으로 배아를 다루게 될 가능성을 우려함.
- 인간 배아의 유전자 편집은 우성 형질의 맞춤형 아기 출산, 빈부 격차에 따른 치료 수혜 불평등 발생 등 사회 경제적 이슈화 될 수 있음.
- 부유층이나 중산층은 배아 초기 단계부터 유전자를 검사하고 문제가 있을 경우 편집을 할 수 있음. 나아가 부모의 요구에 따라 인간 배아에 유전자 편집 기술을 적용하여 우성 형질의 맞춤형 아기를 낳게 될 수도 있음. 영화 가타카(1997)처럼 사회적으로 우생학을 조장할 수 있음. 부모가 원하는 대로 지능뿐만 아니라 건강, 피부 색, 외모 등 모든 인간 형질에 영향을 주는 유전자를 편집할 수도 있음.

□ 대체로 전세계적으로 인간배아에 대한 연구를 금지하거나 제한적으로 일부만 허용함. 하지만 난치병

13 당시 겔싱어는 유전질환인 ornithine transcarbamylase (OTC) 결핍증(신체에 암모니아를 증가시키는 질병)을 앓음. OTC 결핍증은 식이요법으로도 생명을 유지할 수 있으나, 겔싱어는 유전자치료 임상시험에 자원함. OTC 유전자가 포함된 아데노 바이러스를 이용하여 치료를 받던 중 치료시작 후 4일만에 호흡곤란으로 사망. 사망 원인은 아데노 바이러스 과다 투여에 의한 면역독성 가능성으로 추정됨. 목표 장기뿐만 아니라 다른 장기에도 아데노 바이러스가 침투함. 면역성이 증가되고 염증 반응을 보이며 섭씨 40.3도까지 체온이 올라간 후 혼수 상태로 빠짐. 폐에 흉수가 차면서 혈액을 산화시키지 못해 사망함. 해당 사건은 우선 환자 동의절차가 적절하지 않았다는 점이 문제였음. 그리고 동물 모델 임상실험에서 두 마리 원숭이가 죽었음에도 환자에게 알리지 않음. 또한 임상 연구 계획을 사전 승인 없이 변경하면서 겔싱어에게 과도한 양의 바이러스를 투여함.

치료를 위해 일부 국가는 조심스럽게 허용하고 있는 추세

- 중국, 영국, 스웨덴, 일본은 인간 배아 시험 허용함. 미국은 성인에 대한 임상 시험 준비 활발함. FDA의 임상 허가를 기다리는 중임.
 - 2015년 4월에 중국 중산대학 준주황(Junjiu Huang) 연구팀은 인간 배아에 빈혈을 일으키는 변이 헤모글로빈 베타(HBB) 유전자를 CRISPR/Cas9을 활용하여 절단함. 불임 클리닉에서 기증받은 수정란 86개에서 해당 유전자를 잘라내고, 48시간 뒤 71개 수정란이 살아남았고, 그 중 28개가 정상 유전자로 바뀜.^[42]
 - 2016년 2월 영국 인간생식배아관리국(HFEA)은 인간배아에 대한 유전자 편집 실험 허가함. 영국 프랜시스 크릭 연구소의 캐시 니아칸 연구팀은 난임 연구를 위해 수정후 1주일 이내의 배아줄기세포(embryonic stem cell)를 대상으로 한 유전자 편집 연구를 승인.^[43]
 - 스웨덴은 아예 배아줄기세포뿐만 아니라 완전한 인간 배아 유전자 편집을 2016년 4월 허용함. 현재 스웨덴 연구팀은 완전한 인간이 될 수 있는 인간 배아에 대해 유전자 편집을 실험 중임.^[44]
 - 일본은 2016년 3월 인간 배아에 대한 유전자 편집을 허가하지 않았다가, 일본 학계의 요구로 4월에 기초연구에 한해 인간 수정란 편집을 허용함.^[45]
 - 우리나라의 경우, 생명윤리법 47조에 의거해¹⁴, 유전자 치료는 암, 유전 질환, 에이즈와 같은 난치병이면서 동시에 유전자 치료 외에 마땅히 치료할 수 없는 질병을 위한 연구에만 적용 가능하고, 인간 배아와 태아를 대상으로 치료하는 것은 금하고 있음. 즉, 인간 배아, 태아의 유전자 편집은 전면적으로 금지하고, 성인 인간의 난치병에 대해서만 허용하는 수준임.
- 성인 환자의 질병을 위한 유전자 편집은 윤리적인 문제가 크지 않기 때문에 앞으로 안전성과 효능이 입증되는 대로 점차 허용해 나갈 것으로 보임. 하지만 배아 단계의 유전자 치료에 대해서는 안전성, 생명의 존엄과 사회경제적인 문제 등과 관련하여 사람들마다 견해가 다르기 때문에 향후에도 지속적으로 찬반이 갈릴 것임.
- CRISPR 기술은 인간의 질병 치료뿐만 아니라, GMO 규제를 받지 않는 작물 개발 등 농업 영역으로 더욱 활발히 확장되고 있음. 중국에서는 양의 유전자를 편집하여 양모가 빨리 자라는 양을 개발하는 한편, 영국에서는 바이러스에 저항성을 지닌 돼지, 호주에서는 알레르기가 없는 달걀 등을 개발함. 최근 국내 기업 툴젠에서는 과일 유전자 편집에 성공하기도 함.
- 유전자 가위는 인류가 오랫동안 극복하지 못했던 많은 질병치료의 길을 열어줄 혁신적인 기술이지만 그 이면으로 다양한 리스크와 생명윤리적 논란을 야기할 여지를 갖고 있음.
- 비표적 절단에 의한 위험성뿐 아니라, 제한적 지식 혹은 생명현상을 총체적으로 보지 못하는 부분적 지식을 베이스로 한 연구와 시도에 의한 리스크가 있을 것임. 이로 인한 예상치 못한 결과, 당대에만 머물지 않고 세대를 걸쳐 지속될 결과를 초래하거나 세균 동식물 등에 적용되는 경우 치명적 종의 출현을 초래하는

14 제47조(유전자치료) 인체 내에서 유전적 변이를 일으키는 일련의 행위에 해당하는 유전자 치료에 관한 연구는 유전질환, 암, 후천성면역결핍증, 그 밖에 생명을 위협하거나 심각한 장애를 불러일으키는 질병의 치료를 위한 연구, 현재 이용 가능한 치료법이 없거나 유전자치료의 효과가 다른 치료법과 비교하여 현저히 우수할 것으로 예측되는 치료를 위한 연구에 해당하는 경우에만 할 수 있다. 유전물질 또는 유전물질이 도입된 세포를 인체로 전달하는 일련의 행위에 해당하는 유전자치료에 관한 연구는 제47조 제1항 제1호 또는 제2호 중 어느 하나에 해당하는 경우에만 할 수 있다. 유전자치료는 배아, 난자, 정자 및 태아에 대하여 시행하여서는 아니 된다.

등의 다양한 위험 요인을 내재하고 있음.

- 인류의 손에 갑자기 들려지게 된 유전자 가위를 인류의 건강과 미래를 위해 소중하고 요긴하게 사용하고, 잘못 사용되는 경우를 막는 길은 가위의 사용법과 사용처와 사용윤리에 대해 높은 지식과 철학 윤리를 갖추는 길 밖에 없을 것임.
- 개별 국가 차원의 유전자 가위 기술의 수용 수준과 관계없이 유전자 가위 관련 기술과 지식은 불가역적으로 확산될 것임. 기술의 수혜를 높이고 오남용과 폐해를 최소화 하기 위해서는 정부와 기업, 연구자들이 유전자 가위 기술과 유전자, 질병 및 생명 현상에 대한 지식과 이해 수준을 높이고 사회적으로 윤리적 문제에 대한 합의도 형성해 가야 할 것임. www.lgeri.com

〈참고자료〉

- [1] Occams Business Research & Consulting Pvt. Ltd, Global CRISPR Market Insights, Opportunity, Analysis, Market Shares and Forecast 2016~2022 (2016. 4)
- [2] 생명공학정책연구센터, 글로벌 CRISPR 시장 현황 및 전망 (2016. 8)
- [3] 정희진, CRISPR/Cas9을 이용한 혁신적 게놈편집 연구 동향과 윤리적 논쟁, BRIC (2016.1)
- [4] Young, J. et al., Efficient targeted gene disruption in the soma and germ line of the frog *Xenopus tropicalis* using engineered zinc-finger nucleases”. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 108 (17): 7052-7057 (2011)
- [5] Kim, E.J. & Kim, J.S., *Genome Editing*, IBS 유전체교정연구단, vol. 16 (2015)
- [6] Travis, J., Making the cut CRISPR genome-editing technology shows its power, *Science* 350(6267) (2015.12)
- [7] Kim, Y.G.; Cha, J.; Chandrasegaran, S., Hybrid restriction enzymes: zinc finger fusions to Fok I cleavage domain, *Proc Natl Acad Sci.*, 93 (3): 1156-60. (1996)
- [8] Burstein, D. et al., New CRISPR-Cas systems from uncultivated microbes, *Nature*, in press (2016.12)
- [9] Ledford, H., CRISPR, The Disruptor, *Nature*, vol. 522 (2015.6)
- [10] Boch, J. et al., Breaking the Code of DNA Binding Specificity of TAL-Type III Effectors. *Science*. 326 (5959): 1509-12 (2009. 12)
- [11] Boch, J. & Bonas, U., *Xanthomonas AvrBs3 Family-Type III Effectors: Discovery and Function*, *Annual Review of Phytopathology*. 48: 419-36 (2010. 9).
- [12] 성상현, ZFN, TALEN, 그리고 CRISPR/Cas 기반의 유전체 편집 방법들, BRIC (2014. 9)
- [13] 심혜린, 과학 기술에 윤리를 묻다: 인간 유전자 편집 논쟁, 카이스트신문, vol. 415 (2016.2)
- [14] Ishino, Y. et al., Nucleotide sequence of the *iap* gene, responsible for alkaline phosphatase isozyme conversion in *Escherichia coli*, and identification of the gene product”. *Journal of Bacteriology*, 169 (12): 5429-33 (1987. 12)
- [15] Mojica, F.J. et al., Long stretches of short tandem repeats are present in the largest replicons of the Archaea *Haloferax mediterranei* and *Haloferax volcanii* and could be involved in replicon partitioning. *Molecular Microbiology*. 17 (1): 85-93, (1995. 7)
- [16] Barrangou, R. et al., CRISPR provides acquired resistance against viruses in prokaryotes, *Science*. 315 (5819): 1709-12 (2007. 5)
- [17] Jinek, M. et al., A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science*. 337 (6096): 816-21 (2012. 8)
- [18] 김명자, [김명자의 과학 오디세이] 크리스퍼 유전자 가위 혁명, 위기인가 기회인가, 중앙일보, 32 (2016. 7)
- [19] Cong, L. et al., Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems. *Science*. 339 (6121): 819-23, (2013. 2).
- [20] Mali, P. et al., RNA-guided human genome engineering via Cas9. *Science*. 339 (6121): 823-6, (2013. 2)
- [21] Cho, S.; Kim, S.; Kim, J. & Kim, J., Targeted genome engineering in human cells with the Cas9 RNA-guided endonuclease, *Nature Biotechnology*, 31(230-232), (2013. 1)
- [22] Zetsche et al., Cpf1 Is a Single RNA-Guided Endonuclease of a Class 2 CRISPR-Cas System, *Cell*, 163, 1-13, (2015. 9)
- [23] 김진수, 인터뷰, '3세대 유전자 가위' 주목, 새로운 게놈편집 기법으로 떠올라, 사이언스온(2013. 12)
- [24] 주간조선, 유전자 편집 외모 성격도 바꿀 수 있나, vol. 2370 (2015. 8)
- [25] Sangamo BioSciences, presentation, 7th International Workshop on HIV Persistence during Therapy, Miami, FL, (2015.12)
- [26] Nature news, Second Chinese team reports gene editing in human embryos (2016. 4)
- [27] Nature news, First CRISPR clinical trial gets green light from US panel (2016. 6)

- [28] Nature news, CRISPR gene-editing tested in a person for the first time (2016. 11)
- [29] Bloomberg Technology, Sean Parker Gives \$250 Million for Cancer Therapy Research (2016. 4)
- [30] MIT Technology review, CRISPR Gene Editing to Be Tested on People by 2017, Says Editas (2015. 5)
- [31] Dever, D. R. et al., CRISPR/Cas9 β -globin gene targeting in human haematopoietic stem cells, *Nature*, 539, 384–389 (2016. 11)
- [32] Reuters, Stanford uses CRISPR to correct sickle cell, human trials planned (2016. 11)
- [33] Lee, H. J.; Kweon, J.; Kim, E.; Kim, S. & Kim, J. S., Targeted Chromosomal Duplications and Inversions in the Human Genome Using Zinc Finger Nucleases, *Genome Research*, 22(3): 539–548 (2011. 12)
- [34] Sangamo Biosciences, Sangamo BioSciences Announces FDA Clearance Of Investigational New Drug Application For SB-FIX, First In Vivo Protein Replacement Platform Program For Treatment Of Hemophilia B (2015.12)
- [35] Bloomberg, How Gene Editing Technique will Change the World (2016)
- [36] Knut et al., The emerging patent landscape of CRISPR-Cas gene editing technology, *Nature Biotechnology* 34(10): 1025–1031 (2016. 10)
- [37] Forbes, Bill Gates And 13 Other Investors Pour \$120 Million Into Revolutionary Gene-Editing Startup (2015. 8)
- [38] AstraZeneca, AstraZeneca announces collaborations to use CRISPR technology for genome editing across its drug discovery platform (2015. 1)
- [39] Pawluk, A. et al., Naturally Occurring Off-Switches for CRISPR-Cas9, *Cell*, 167(7): 1829–1838 (2016. 12)
- [40] Doudna, J., Perspective: Embryo editing needs scrutiny, *Nature*, 538(7580) (2015. 12)
- [41] New York Times, FDA Halts 27 Gene Therapy Trials After Illness (2003. 1)
- [42] Nature News, Chinese scientists genetically modify human embryos (2015. 4)
- [43] Nature News, UK scientists gain license to edit genes in human embryos (2016. 2)
- [44] Nature News, Gene-editing research in human embryos gains momentum (2016. 4)
- [45] Science alert, Japan has approved gene editing using a fertilized human egg (2016. 4)
- [46] Perez, E. E. et al., Establishment of HIV-1 resistance in CD4+ T cells by genome editing using zinc-finger nucleases, *Nature Biotechnology*, 26 (7): 808–816 (2008. 6)
- [47] Urnov, F. D. et al., Genome editing with engineered zinc finger nucleases, *Nature Reviews Genetics*, 11 (9): 636–646 (2010. 9)
- [48] Rauch, B. K. et al., Inhibition of CRISPR-Cas9 with bacteriophage proteins, *Cell*, in press (2016.12)
- [49] Suzuki, K, et al., In vivo genome editing via CRISPR/Cas9 mediated homology-independent targeted integration, *Nature*, 540, 144–149(2016. 12)
- [50] 세계지식포럼 발표, 유전자가위가 가져올 DNA혁명, Fight against Angiogenesis-related blindness; In vivo genome editing beyond anti-VEGF inhibitors, 김정훈 (2016. 10) 재가공



본 보고서에 게재된 내용이 LG경제연구원의 공식 견해는 아닙니다. 본 보고서의 내용을 인용할 경우 출처를 명시하시기 바랍니다.