



2021. 11. 11.(목)

연구단장/연구책임자 의과대학 장성호 교수(02-740-8918) / 교신저자
연구단/연구진 나명수 의과대학 대학원생 (02-3668-7659) / 제1저자

10분만에 투명해지는 뇌

- '빠른 3차원 조직 진단' 을 위한 초고속 투명화 기술 개발 -

□ 조직 투명화 기술 한계

- 사람의 뇌/장기 같은 조직들이 불투명하게 보이는 이유는 빛이 조직 내부에서 산란되어 투과를 못하기 때문이다. 빛의 투과를 방해하는 지질을 조직에서 제거하게 되면 조직이 투명하게 보인다. 조직에서 지질을 제거하고 투명화 시킨 뒤 조직의 내부 구조를 3차원적으로 관측할 수 있게 하는 '조직투명화' 기술은 뇌 속의 구조 연구 뿐만 아니라 임상에서의 질병 조기진단을 위한 3차원 진단검사를 가능하게 해주는 획기적인 기술로 각광을 받고 있다.
- 지금까지 개발된 조직투명화 기술들이 다양한 방식으로 발전되어 왔지만, 중요한 부분을 간과하고 있었다. 기존에 개발되었던 투명화 기술들은 SDS (sodium deoxy sulfate)라는 계면활성제에서 벗어나지 못하고 있었다. SDS는 상당히 큰 입자를 만들기 때문에 조직내부로 침투가 어렵고, 더구나 추출된 지질을 둘러싼 SDS입자는 조직 외부로 방출되기 어려워, 투명화기술 발전의 가장 큰 해결 난제였다.

□ 초고속 투명화 기술 개발

- 본 연구진은 SC (sodium cholate)라는 담즙 유래 계면활성제가 조직 투명화에 적합함을 발견하였다. SC는 SDS보다 훨씬 작은 입자를 형성하여 조직에 깊게 들어갈 수 있으며, 지질 제거 능력이 탁월하였다. SC를 조직 투명화 기술에 사용하면 침전물이 형성되고 조직이 갈색으로 변하는 상당히 심각한 문제가 있었으나 연구진은 이온 전도성 막(ion-conductive film)과 최적화된 버퍼조건을 확립함으로써 이러한 문제를 해결하였다. 새로운 조직투명화 기술을 SCARF라고 명명하였고, 다양한 실험을 통하여 SCARF가 획기적인 차세대 조직 투명화 기술임을 증명하였다.

- SCARF는 상당히 빠른 투명화 능력을 보여주었으며, 쥐의 뇌 절편이나 태아를 단 10분만에 완전하게 투명화 시켰다. SCARF는 뇌 조직의 손상이 없었으며, 형광 단백질의 보존이 뛰어났다. 또한 다양한 장기 조직, 나아가 인체 뇌조직의 투명화에도 월등하게 적용됨을 증명하였다. SCARF는 조직투명화 이후 3차원 조직의 면역형체염색도 용이하게 만들어, 차후 임상 의 조직진단에 대한 적용 가능성을 제시하였다.
- 개발된 SCARF의 가장 큰 장점은 투명화 속도와 효율성이다. 뇌조직 절편 경우, 단 10분만에 투명화 되는데 이 속도는 기존 투명화 방법 (1~2일) 보다 약 200배 더 빠른 속도이다. 이러한 SCARF의 초고속 투명화는 신속한 진행이 필요한 조직 진단에 알맞으며, SCARF의 응용은 3차원 조직 진단의 상용화를 앞당기는 것이라 확신한다. SCARF를 통해 다양한 질환 병변의 3차원 조직학적 이해를 연구하고 나아가 질환 원인의 대한 발견을 통해 치료법 개발에도 큰 공헌을 할 것이라 예상된다. 또한 SCARF의 초고속 투명화 및 조직 온정성은 뇌의 구조적 연결성을 시각화한 '뇌 지도' 제작에도 큰 발돋움일 될 것이다.

- 과학기술정보통신부와 한국연구재단이 추진하는 뇌과학원천기술개발사업의 지원으로 수행된 이번 연구 성과는 저명한 국제 학술지 '스몰 메소드 (Small methods, impact factor: 14.188)' 에 지난 11월 5일자 온라인 게재되었다.

[붙임] 1. 연구결과 2. 용어설명 3. 그림설명

연구 결과

Sodium Cholate-Based Active Delipidation for Rapid and Efficient Clearing and Immunostaining of Deep Biological Samples

Myeongsu Na, Kitae Kim, Kyoungjoon Oh, Hyung Jin Choi, Chang Man Ha and Sunghoe Chang*
(Small Methods)

‘조직 투명화’ 기술은 조직 내부 구조를 3차원적으로 관측할 수 있게 하는 차세대 연구 기술이다. 그러나 긴 처리 시간은 큰 해결 난제였다. 이에 기존에 사용하던 계면활성제 (SDS) 대신 입자가 훨씬 작은 Sodium cholate를 이용하여 초고속으로 조직을 투명화시킬 수 있는 기술을 개발하였고, SCARF(Sodium Cholate Assisted Removal of lipid for Fluorescent imaging of deep biological tissues) 라고 명명하였다.

용어 설명

1. 조직 투명화

- 사람의 뇌나 장기 혹은 조직들이 우리 눈에 보기에 불투명하게 보이는 이유는 빛이 내부에서 산란되어 투과를 못하기 때문이다. 대부분 조직에서 빛의 투과를 방해하는 물질은 지질로서 지질을 조직에서 제거하게 되면 조직이 투명하게 보인다. 조직에서 지질을 제거하고 투명화 시킨 뒤 조직의 내부 구조를 3차원적으로 관측할 수 있게 하는 기술을 ‘조직투명화’ 라고 한다.

2. 계면 활성제

- 비누나 세제의 주성분이다. 계면 활성제끼리 모여서 입자를 형성하는 이 입자가 지질을 둘러싸아서 제거한다. ‘조직 투명화’에서는 계면활성제가 입자를 만든 뒤, 입자를 통해 지질을 조직 외부로 추출함으로써 투명화시킨다.

3. SDS (Sodium dodecyl sulfate)

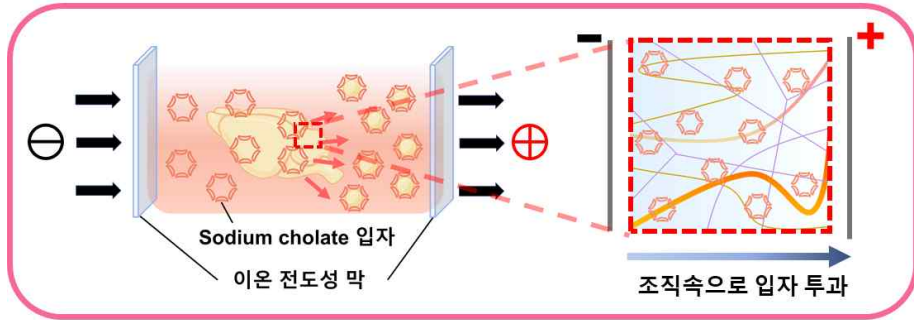
- 실험실에서 가장 많이 쓰이고 있는 계면활성제중 하나이다. 조직 투명화에서 흔하게 사용되고 있으나 SDS는 상당히 큰 입자를 만들기 때문에 조직내부로 침투가 어렵고, 추출된 지질을 둘러싼 SDS입자는 조직 외부로 방출되기 어렵다.

4. SC (Sodium cholate)

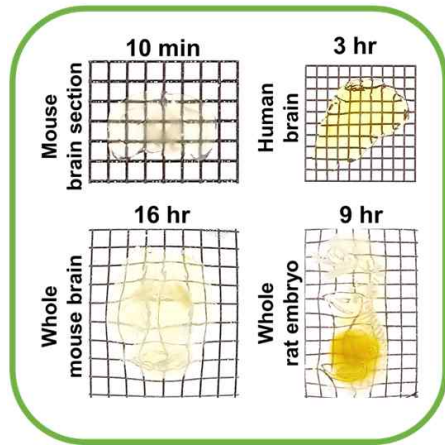
- 담즙 유래 계면활성제 이다. SC는 SDS보다 훨씬 작은 입자를 형성하여 조직에 깊게 들어갈 수 있으며, 지질 제거 능력이 탁월하다.

그림 설명

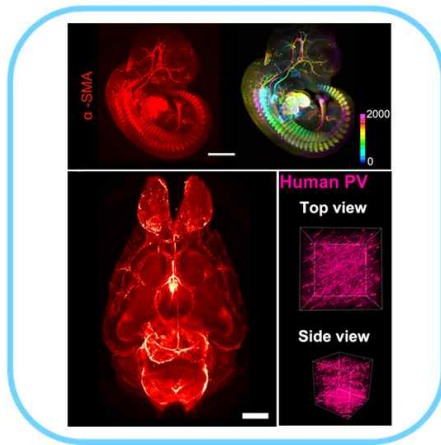
SCARF 개요 및 시스템



초고속 투명화 기술



다양한 샘플 이미징 적용



을 확립함으로써 이러한 문제를 해결하였다. 본 연구진은 이 새로운 조직투명화 기술을 SCARF (Sodium Cholate Assisted Removal of lipid for Fluorescent imaging of deep biological tissues)라고 명명하였고, 다양한 실험을 통하여 SCARF가 기존 조직투명화 기법을 획기적으로 개선한 차세대 조직투명화기술임을 증명하였다. SCARF는 상당히 빠른 투명화 능력을 보여주었으며, 쥐의 뇌 절편이나 태아를 단 10분만에 완전하게 투명화 시켰다. SCARF가 쥐의 뇌 조직뿐만 다양한 조직 그리고 더 나아가 인체 뇌 조직의 투명화에도 월등하게 적용됨을 증명하였다. 또한 SCARF는 조직투명화 이후 3차원 조직의 면역항체염색도 더 용이하게 만들어, 차후 임상적 조직진단에도 적용이 가능함을 보였다.

본 연구진은 SC (sodium cholate)라는 담즙에서 유래된 계면활성제가 조직 투명화에 적합함을 발견하였다. SC는 SDS보다 훨씬 작은 입자를 형성하여 조직에 깊게 들어갈 수 있으며, 지질 제거 능력이 탁월하였다. 그러나 SC를 조직 투명화 기술에 사용하면 침전물이 형성되고 조직이 갈색으로 변하는 상당히 심각한 문제가 발생했다. 이를 해결하기 위하여 본 연구진은 이온 전도성 막(lon-conductive film)과 최적화된 버퍼조건