

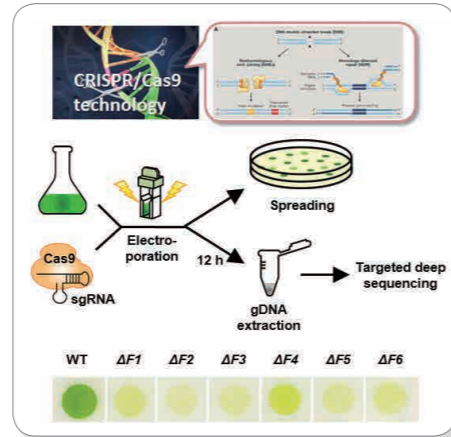
# 크리스퍼 유전자 가위를 이용한 미세조류 형질전환 기술

## 기술 개요

- 세계 최초로 미세조류에서 연속적으로 크리스퍼 유전자 가위를 이용해 두 개의 유전자가 모두 변형된 이중 돌연변이 종을 만드는 기술
- 형질전환 과정에서 외부 DNA를 혼입시키지 않아(DNA free) GMO 논란을 피하면서 대상 생물체의 형질 전환을 유도할 수 있는 매우 획기적인 기술

## 기존 기술의 한계

- 향후 잠재력이 매우 큰 미세조류에 크리스퍼 유전자가위를 적용하고자 하는 시도는 경쟁적으로 진행되고 있는데, 모델종인 클라미도모나스에서는 일시적인 작동만을 확인하였을 뿐 아직까지 성공한 사례가 없음



## 기술의 특징점

### 간편하고 신속한 형질전환 가능

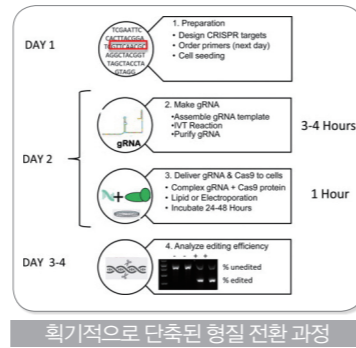
수 개월의 프로모터와 벡터 개발과정, 2~3주 걸리는 형질전환 과정을 1주일로 획기적인 단축

### 높은 표적 지향성과 형질 전환 효율

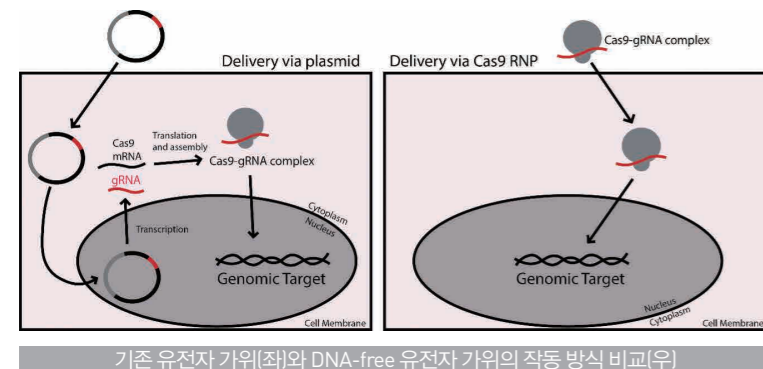
최대 1.3%의 형질전환 효율, 다른 DNA에 손상 없이 오직 표적 유전자에만 작동함을 확인

### Non-GMO 형질전환 미세조류 개발 가능

미세조류 이용산업 분야의 패러다임을 바꿀 수 있을 것으로 기대

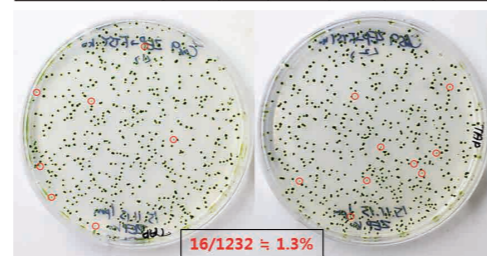


획기적으로 단축된 형질 전환 과정



기존 유전자 가위(좌)와 DNA-free 유전자 가위의 작동 방식 비교(우)

Target (5' to 3')	Wild type		RGEN-RNPs transfected cells	
	Total reads	Indel frequency (%)	Total reads	Indel frequency (%)
CGATCTTCAGACAGTCCGGGGG	8753	0	45074	502



높은 형질 전환 효율

## 기대효과

- 향후 미세조류의 광합성 및 유용 물질 생합성 관련 유전자 연구 등에 폭넓게 활용될 예정
- non-GMO 방식의 형질 전환을 통해 산업적으로 유용한 고부가가치 물질을 생산하는 미세조류의 개발 가능
- 이산화탄소 포집능력이 향상된 미세조류의 개발을 통해 생물을 이용한 친환경적 이산화탄소 저감 및 탄소 배출권 확보 효과 예상

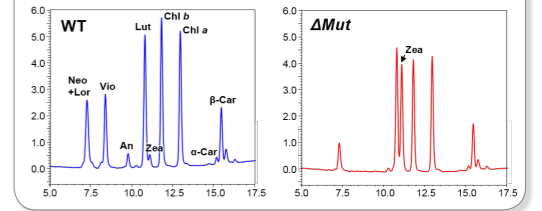
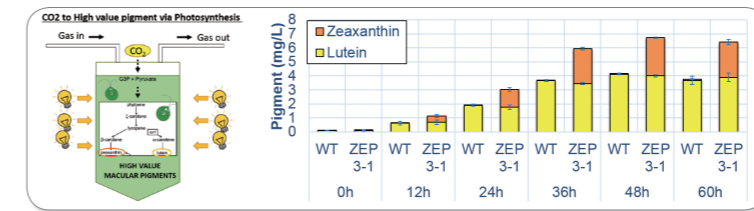
## 기술개발 현황 및 향후 계획

### 기술개발 현황

- 크리스퍼 유전자 가위 기술을 통해 개발된 황반색소 고품량 우량균주를 대상으로 생산성 평가 중(TRL 4-5)
- 광합성 관련 유전자 편집을 통해 이산화탄소 고정 능력이 향상된 미세조류 개발에 대한 연구 수행 중

### 향후 계획

- 황반색소 고품량 균주 상업화 추진(~2018. 5)
- 항산화 미백색소 생산 균주 상업화 추진(~2019. 5)



## 사업화 가능 분야

RGEN Cas9-RNP 기법을 이용한 친환경 CO<sub>2</sub> 저감 및 폐수 정화를 위한 우량 균주 개발 분야  
 +  
 지아진틴 고품량 균주를 이용한 연구/항산화성 기능성 건강식품 및 의약품 원료, 색소 및 항산화기능 향상 원료 생산 분야  
 +  
 색소 고품량 균주를 이용한 양계 및 가축사료 개발 및 색소 추출물의 사료 첨가제 생산 분야



## 특허 및 논문 성과

### 특허 성과

- 국내외 특허출원 31건, 등록 17건

발명의 명칭	국가	특허번호
RGEN을 이용한 미세조류의 유전자 교정 방법	KR	10-2016-0049439

※ 본 기술과 관련된 대표 IP만 기재

### 논문 성과

- "Photoautotrophic production of macular pigment in a *Chlamydomonas reinhardtii* strain generated by using DNA-free CRISPR-Cas9 RNP-mediated mutagenesis.", *Biotechnology and Bioengineering*(2018)
- "Loss of CpSRP54 function leads to a truncated light-harvesting antenna size in *Chlamydomonas reinhardtii*." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*(2017)
- "DNA-free two-gene knockout in *Chlamydomonas reinhardtii* via CRISPR-Cas9 ribonucleoproteins.", *Scientific Reports*(2016)



**기술 문의**  
한양대학교 진언선 교수  
☎ 02-2220-2561 @ esjin@hanyang.ac.kr

**사업화 문의**  
(재)한국이산화탄소포집및처리연구개발센터 유현희 팀장  
☎ 042-860-3683 @ hhyu@krcr.re.kr