SL 806

형질전환동물생산 기법에 의한 유용생리활성물질의 대량생산

생명공학연구소 이 경 광

인체 유용단백질을 우유 중으로 대량생산할 수 있는 형질전환동물을 "동물 생체반응기 (Animal Bioreactor)"라 한다. 유용 생리활성물질 생산에 있어서 동물 생체반응기는 1) 기존 미생물이나 동물세포를 이용한 유용단백질 생산 시스템보다 대량생산이 가능하여 획기적인 생산비 절감 효과가 있고, 2) 형질전환유전자는 자손에 유전되기 때문에 유용단백질의 지속적 생산이 가능하며, 3) 생산된 유용단백질은 생리활성이 뛰어나고 인체에 매우 안전하며, 4) 우유로부터 유용단백질의 분리·정제 공정은 단순하고 회수효율이 높은(60%이상) 장점들이 있다. 이러한 동물 생체반응기를 개발하기 위해서는 유선조직 특이적 발현을 위한 전사조절부위 및 유용단백질의 구조유전자를 필요로 한다. 본 연구실에서는 이러한 연구를 목표로 소 베타 카제인 프로모터 부위, 사람 락토페린 cDNA 및 게놈 유전자를 클로닝하였으며, 먼저 소 베타 카제인 프로모터와 cDNA를 재조합한 발현벡터를 이용하여 형질전환동물을 개발하였다. 이들 재조합 유전자가 도입된 형질전환 생쥐들은 유즙 중으로 1~200 ug/ml의 사람 락토페린을 발현하고 있음이 확인되었다. 일반적으로 형질전환동물에 있어서 cDNA보다는 게놈의 유전자를 이용하는 것이 발현양을 높일 수 있는 것으로 알려져 있다. 본 연구실에서도 약 40Kbp의 게놈 락토페린 유전자를 클로닝하여 형질전환생쥐를 개발한 결과, 게놈 유전자가 도입된 형질전환생쥐는 cDNA 경우보다 훨씬 높은 발현양을 나타내었다. 이러한 형질전환생쥐의 결과를 바탕으로 형질전환젖소의 개발이 시도되었다. 상기 재조합 유전자가 도입된 소 체외수정란을 이식 가능한 배반포기까지 발달시키기 위하여 생쥐 배아 섬유아세포와 공배양을 실시하여 체외배양성적을 향상시켰다. 한편 유전자가 주입된 체외수정란의 이용효율을 높이기 위하여 수정란 동결보존을 실시하였는데, 배반포기의 질적상태와 발달정도가 동결·융해 후 생존율에 미치는 중요한 요인이라는 것이 본 연구를 통하여 밝혀졌다. 그 동안 약 680개의 유전자 주입된 소 체외수정란을 510마리의 대리모에 이식하여 74마리의 송아지가 태어났다. 이들 송아지들의 혈액 및 귀조직으로부터 DNA를 분리한 다음 Southern blot을 실시한 결과, 2마리가 형질전환된 것으로 판명되었다. 형질전환송아지가 성성숙에 도달한 후 정액을 채취하여 형질전환정자의 존재여부를 PCR로 확인하였다. 또한 형질전환젖소의 생식능력 및 외래유전자가 생식세포를 통하여 자손으로 전달될 수 있는지의 여부를 조사한 결과, 형질전환젖소의 정액과 체외수정된 수정란들 중 일부 수정란에서 사람 락토페린 유전자의 존재가 발견되었다. 이러한 결과는 본 연구에서 개발된 형질전환젖소가 생식능력 및 형질유전능력을 보유하고 있다는 것을 시사하고 있다.