

소변으로 EPO를 분비하는 형질전환 돼지생산

박진기, 이연근, 민관식, 임기순, 성환후, 양병철, 이창현, 이향훈, 김진회*장원경, 김경남
축산기술연구소 유전공학과, 경상대학교*

Erythropoietin(EPO)는 적혈구 세포 증식, 분화 및 생존에 있어서 가장 중요한 요인이 다. 또한, 빈혈성저산소증에 있어서도 EPO가 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. 태아에서 EPO 생산부위는 간이라고 알려져 있으나, 임신 120-140일에 신장으로 이동하기 시작하여 출생 후 약 40일경 이후에는 완전히 신장에서만 분비한다. EPO단백질의 분비는 오전 8시에 가장 낮고 오후 8시에 가장 높은 2중 리듬의 형태로 발현되어진다. EPO는 27개의 leader sequence와 165개의 아미노산으로 총 193개의 아미노산으로부터 분비된다. EPO단백질의 분자량은 18 kDa이나, 약 40%의 당쇄가 첨가되어있는 당단백질로서 분자량은 30 kDa이다. N-linked 당쇄 3개(Asn-24, 38 및 83)와 O-linked 당쇄 1개(Ser 126)의 첨가부위가 존재하며, 2개의 disulfide bridges(7-161번, 29-33번)를 형성하고 있다. 이러한 당쇄의 수식은 EPO의 대사에 있어서 매우 중요하다.

EPO를 가축의 소변으로부터 생산하기 위하여 생쥐의 3.6 kb UII promoter 하류에 genome hEPO와 SV 40 poly A를 연결하여 형질전환용 발현 벡터를 구축하였으며, 과배관 유기로 채란되어진 돼지의 1-세포기 수정란의 응성전핵에 유전자를 미세주입기로 주입 후 즉시 대리모에 이식하였다. 66두에 미세주입된 1572개의 수정란을 외과적 방법으로 이식, 평균 23개의 수정란을 이식하였다. 생산된 자돈 112두중 2두(3-5, 3-15번)에서 PCR양성반응(304, 567bp)을 나타내어, 2두의 돼지로부터 소변을 회수하였다. 회수된 소변을 이용 Elisa방법으로 EPO를 분석한 결과 3-5번 돼지에서만 분만 후 지속적으로 EPO농도가 증가되었다. EPO의 최고농도는 1.1 IU/ml였으며, 이러한 결과는 CHO 세포에서의 500-1000 IU/ml의 생산량보다도 약 500-1000배정도 낮은 수준이었다.

이상을 종합하여보면, 1) 가축에서도 생리활성물질을 소변에서 생산할 수 있는 UII promoter의 활용가능성을 제시하였으며, 2) 현재로서는 EPO의 발현량이 너무 낮아, 사용된 생쥐의 promoter를 보완할 필요성이 있다고 사료된다. 그러나, UII promoter를 이용하여 생리활성 물질을 생산할 수 있는 형질전환 돼지 생산의 성공은, 앞으로 형질전환 가축을 이용하는 활용 면에서도 더욱 더 활발할 것으로 기대된다.

(Key words) 형질전환, EPO, UII promoter