

Monoclon 항체를 이용한 사람 EPO 형질전환돼지의 유즙내 발현단백질 분석

이연근, 정희경¹, 이현기, 이풍연, 박진기, 민관식², 김진희³, 장원경

축산기술연구소, 성균관대학교¹, 한경대학교², 경상대학교³

Erythropoietin (EPO)는 조혈작용 (erythropoiesis)을 나타내는 호르몬으로서 사람의 빈혈치료제로 사용되며, 포유동물 중 사람, 생쥐 등의 유즙 내에 혈청 EPO와 동일한 크기로 다량으로 존재한다고 보고된 바 있다. 생쥐의 WAP promoter를 이용하여 사람의 조혈촉진제인 EPO를 유즙으로 생산하는 형질전환돼지(새롬이)의 유즙을 분석하기 위해 SDS-PAGE와 Western blotting을 수행하였다. 먼저, 형질전환돼지의 유즙으로부터 원심분리에 의해 지방층을 제거한 후, 16.5% polyacrylamide gel에서 PAGE를 수행하였다. 대조군으로서 지방을 제거한 일반돼지와 젖소의 유즙을 사용하였다. Size marker로는 Kaleidoscope prestained standards(Bio-Rad)를 사용하였다. PVDF membrane으로 blotting을 수행한 후, 1차 항체로서 사람 EPO 특이 mouse monoclon 항체(50 μ g/ml)를 1:1,000으로, 2차 항체로서 goat anti-mouse HRP를 1:10,000으로 사용하여 Opti-4CN Detection Kit(Bio-Rad)으로 15분간 반응하였다. CHO 세포로부터 생산된 재조합 사람 EPO(rhEPO)는 약 40kDa, 사람의 유즙 내에 존재하는 EPO(hEPO)는 약 30kDa의 크기로 보고된바 있으며, Western 결과는 약 30 kDa과 약 70 kDa의 두개의 band를 나타내었다. 이들 band는 형질전환돼지와 일반돼지에서 모두 나타났으나, 형질전환돼지에서 보다 다량으로 나타났다. 이 중 70 kDa의 band는 Immunoglobulin의 heavy chain으로 밝혀졌으며, 30kDa의 band는 hEPO로 보여진다. 이 band에 대해서는 정제 및 아미노산 서열분석을 수행할 예정이다.

Key words) *Transgenic pig, hEPO, porcine milk, monoclonal antibody, Western*