

**P4**

## **hGM-CSF Production from Transgenic Tobacco**

**Han Yeul Byun<sup>\*</sup>, Sang Yo Byun**

*Cell culture and Proteomics Lab, Ajou University, Suwon, Gyeonggi-do 442-749, Korea*

### **Objectives**

형질 전환된 식물의 기관배양을 통해 유용단백질을 생산하였다. 기관배양에서의 재조합단백질 생산패턴을 알아보고 다양한 permeabilizing agents를 첨가하여 재조합 단백질 생산을 증가시킨다.

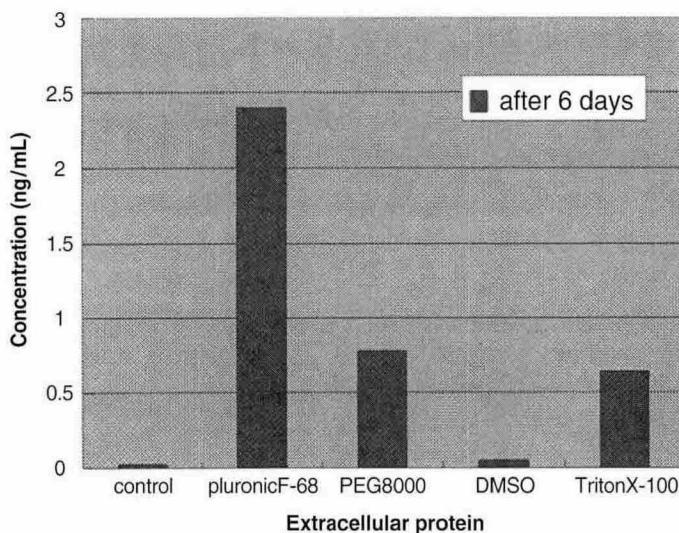
### **Materials and Methods**

1. Materials: hGM-CSF 유전자가 도입된 형질 전환된 *Nicotiana tabacum*.
2. Methods: 형질 전환된 담배 seed를 sucrose-3%, agar-0.8%, kanamycin-100 ppm을 포함하는 MS고체배지에 치상하여 담배 seed를 발아시켜 45일 후 성숙한 담배 식물체를 얻는다. 형질 전환된 담배 식물체를 White액체 배지에 치상하여 25°C, 80rpm, sucrose-2%의 조건으로 혼탁배양하였다. permeabilizing agent로는 Pluronic F-68, TritonX-100, PEG 8000, DMSO를 사용하였다. hGM-CSF 단백질의 정량분석

방법으로 Pharmingen Inc.의 ELISA kit를 사용하였으며, ELISA kit 제작회사의 표준방법을 사용하여 분석하였다. hGM-CSF의 정량에 표준물질로 사용한 hGM-CSF는 대장균에서 생산된 hGM-CSF를 사용하였다.

### **Results and Discussion**

기관 배양은 재조합 단백질의 안정성이 크다는 장점이 있지만 세포내에서 배지내로의 단백질 분비가 다른 식물세포 배양 시스템에 비해 적다는 단점이 있다. 실제로 기관배양을 하면서 배지내로 분비되어지는 재조합 단백질 양은 보통 0.03 ng/ml 정도이다. 이를 극복하기 위해 기관배양에서 형질 전환된 담배세포의 permeability를 증가시키기 위하여 다양한 permeabilizing agents를 micro filtration 시켜 멀균된 상태로 투여하였다. 그 결과, Pluronic F-68과 PEG8000을 첨가한 경우 담배세포에서 배지내로의 단백질 분비가 원활해졌음을 확인할 수 있었다. 또한, 일반적으로 permeabilizing agents는 cell의 viability를 떨어뜨리는 단점을 갖고 있지만 Pluronic F-68과 PEG8000은 cell의 viability에 큰 영향을 주지 않았다.



\*Corresponding author. Tel 031-219-2457 E-mail hyzzang80@nate.com