

細胞融合技法을 利用한 Monoclonal Antibody生産 및 利用

安壽煥*

1. 서론

요즘 유전공학이란 단어처럼 매력과 시사성을 주는 낱말은 그리 흔하지 못할 것 같다. 자연 수 많은 과학자들이 이 분야 연구에 몰두하고 있는 실정이다. 유전공학이란 정의를 음미해 보면 매력의 원천이 한결 분명해지는 것 같다. 즉 유전공학이란 '생명체의 기본단위인 세포내의 유전정보를 인공적으로 조작 내지는 개조하는 학문'이라 할 수 있는데 이중 인공적이라는 단어가 매력의 핵심이 됨은 의심할 여지가 없는 것 같다. 지구에 생명체가 존재한 이래 오늘날까지 자연의 섭리에 따른 유전정보관리가 상당히 오묘하여 인간이 자연 앞에 숙연해질 수밖에 없었다. 그러나 인간의 본능중 '자연을 인공적으로 개조하고 싶은 모험심'이 그것 때문에 유전공학이란 이토록 시사성이 있는 것이 아닐까 한다.

유전공학은 크게 나누어 유전자 조작 및 재조합 연구와 세포융합 및 대량배양 분야로 구별할 수 있으나 필자는 세포융합에 대한 연구동향과 또한 세포융합 기술을 이용한 단클론성항체(Monoclonal antibodies) 생산과 응용에 국한하여 최근 참고문헌을 고찰해 봄으로써 이 분야의 무한한 실용성을 제시하고자 한다.

2. 세포융합

두 세포의 인공적 융합에 의한 유전자 교환 및 發現이 미생물에서 성공을 거둔 것은 1976년 Schaeff 및 Fodor등이 Bacillus 屬菌의 세포막을 제거하여 Protoplast化하고 融合하여 다시 세포막을 재생하는 방법을 發見하면서 부터이며 이후 여러가지 原核微生物에 응용되어지고 있다. 한편 眞核細胞에서도 많은 연구가 수행되어 수 많은 雜種細胞株(Hybrid line) 들이 作成되고 있다.

식물세포나, 原核細胞(Mycoplasma 등 제외) 融合의 기본 단계로서 細胞膜을 제거하여 protoplast化하여야 하며 이 과정에 細胞壁分解酵素인 Lysozyme, Cellulase, Cytolisin, Chitinase 및 Sulfatase 등 각종 加水分解酵素가 使用되고 있다.

세포의 융합을 인공적으로 유도하기 위하여 PEG(Polyethylene glycol), 植物性凝集劑, 細胞膜修飾藥劑 등 여러가지 融合促進劑를 使用하고 있다. 最近의 研究報告에 依하면 Protoplast化를 보다 쉽게하기 위하여 培養細胞를 低溫處理하거나 Corynebacterium과 같이 細胞壁을 加水分解하기 어려운 것은 細胞膜合成을 阻止하는 抗生劑(바시트라신, 페니실린G, 그리세오폴빈 등)를 處理하는 方法도 實施되고 있으며 아울러 細胞培養 條件에 따른 酵素效果를 增進시키는 方法도 강구되고 있다.

細胞融合技術은 農業分野에서 改良品種 육성에 활발히 利用되고 있으며 國內에서도 버, 버

* 가축위생연구소

섯, 마늘, 유채등에 많은 研究가 進行되고 있다. 이외에도 효모의 Protoplast와 眞核細胞의 미토콘드리아를 PEG로 融合하여 미토콘드리아 유전자를 효모에 導入하려는 研究와 耐鹽性, 酵母와 耐糖性 酵母를 融合하여 간장 및 된장製造에 適合한 高發酵性 酵母育成도 日本에서 시도되고 있다.

또한 細胞融合技術은 医学分野에서도 상당한 貢獻을 하고 있다. 즉 各種 ฮอร์โมน生産, 抗生物質 開發 및 單크론성 抗体 生産이 중요한 위치를 차지하고 있다.

이중에서도 單크론성 抗体研究의 일부는 이미 상업적으로 가능성이 실현되기 시작했으며 수년내에 질병진단체 및 치료제 등으로 美国에서만 10~20억불 판매고를 예측하고 있는 실정이다. 국내에서도 간염바이러스, 일본뇌염바이러스, 중앙 특이항원, α -fetoprotein, 닭 마라병 바이러스 등에 대한 수 많은 연구가 진행되고 있으며 구체적인 결과가 기대된다.

3. 單크론성 抗体 (Monoclonal antibody)

가. 배경

體細胞유전학(Somatic cell genetics)을 연구하는데 이용된 細胞融合技術(Cell hybridization technique)이 면역분야에 도입된 것은 1975년 Köhler와 Milstein박사의 역사적인 업적이라 평가되고 있다. 이분들의 연구내용을 소개하면 면역 적혈구로 면역시킨 마우스의 비장 림파구와 마우스 유래 형질종양세포(Plasmacytoma 또는 Myeloma)를 融合하여 雜種細胞(Hybrid cell)를 作成하였다. 이 잡종세포는 비장림파구의 형질(면역적혈구에 대한 특이 항체를 생산)과 함께 형질종양세포의 특성(시험관내에서 영구히 증식할 수 있음)을 동시에 소유한 림프잡종세포(Hybrid+Myeloma⇒Hybridoma)이었다. 따라서 림프잡종세포는 특이한 항체를 생산하는 세포株(cell line)이므로 이 세포를 대량배양하여 多量의 단크론성항체를 얻을 수 있게 되었다. 이후 여러학자들에 의해 융합방법이 수정, 보완

되었을 뿐만 아니라 현재까지 수많은 種類의 抗原에 대한 단크론성 항체가 작성되었으며 이중 일부는 상품으로 판매되고 있는 실정이다.

나. 단크론성 항체 생산기법

단크론성 항체를 생산하는데 우선 형질종양세포(이하 종양세포라 함)와 비장림파구를 융합하여 두 세포의 형질을 共有한 림프잡종 세포주를 만들어야 하기 때문에 두가지 세포를 별도 기술하지 않을 수 없다.

① 형질종양세포

체내에 항원이 도입되면 이 항원에 특이한 β 임파구는 분열증식하여 형질세포(Plasma cell)로 최종분화하여 특이한 항체를 생산하게 된다. 그러나 형질세포는 평균수명이 약 3일 정도로 곧 사멸 제거된다. 한편 형질종양세포는 腫瘍화된 형질세포(Transformed plasma cell)로써 시험관 내에서 계속 증식하며 항체도 분비한다. 최근에 사용되어지는 대부분의 종양세포주는 시험관내 오랫동안 배양되는 과정중 항체를 생산하지 않은 변이주이며 또한 8-azaguanine에 내성을 획득한 변이주이다. (표 1)이 8-azaguanine내성 세포 8-AGR는 HGPRT(Hypoxanthine guanine phosphoribosyl-transferase)란 효소가 결핍되어서 핵산합성과정중 구제과정(Salvage pathway)이 결손된 세포이기 때문에 Aminopterin(Folic acid analog)이 첨가된 배지에서 정상핵산합성과정(Classical pathway)마저 방해되면 죽어없어지는 특성(Marker)이 있다.

표 1. 세포융합에 이용되는 종양세포주

유래	세포주명 (약칭)	항체생산 및 분비	약제내성
마우스 (Balb/c)	NS-1	K체인 생산하나 분비못함	8-AG ^R
	P ₃ Ag ₃ V ₆₅₅	항체생산 못함	"
	P ₃ U ₁	"	"
	SP 2/0	"	"
	FO	"	"
Rat	Y ₃	K체인만 생산분비	"

② 임파구

비장(spleen)은 골수와 흉선에서 각각 분화된 B임파구와 T임파구를 수용하는 중요한 면역기관으로서 외부로부터 도입된 항원에 직접 대응하는 방어역할을 수행한다. 마우스와 같이 작은 동물의 임파구는 비장에서 분리하는 것이 편리하다. 단크론성 항체를 작성하기 위해서는 항체를 생산하는 임파구를 대량 필요로 하게 되며 이들 임파구는 마우스를 면역시켜 비장에서 분리한다. 실제로 A항원에 대한 단크론성 항체를 작성하려면 A항원과 면역보강제(Freund's complete adjuvant 등)를 유재하여 Balb/c마우스에 고도 면역시킨 다음 융합시험에 공시하기 전 3~4일에 A항원을 다시 정맥주사하여 면역임파구를 극대화 하여야 한다. 비장내의 임파구는 주로 혈류를 통해서 유입되는 항원에 자극받기 때문에 최종 면역은 정맥주사가 유리하며 면역에 사용된 항원은 순수할수록 좋다.

마우스를 면역시키는 방법은 항원에 따라 차이가 있을 뿐 만 아니라 연구자의 의도에 따라 약간의 차이가 있다. 그러나 근본적으로 방법상의 차이가 중요한 것이 아니라 얼마나 면역이 잘 되었는지가 중요한 것이다. 면역의 정도를 파악하기 위하여 꼬리 또는 안정맥에서 채취한 혈액의 혈청 항체가를 측정하게 되며 측정 방법으로서 효소면역법(Enzyme linked immunosorbent assay:ELISA), 동위원소면역법(Radio immunoassay:RIA) 등이 많이 활용되고 있다.

비장임파구를 분리하는 방법도 주사침을 사용하여 비장을 잘게 세절해서 임파구를 유출시키거나 혹은 스텐레스동맹 사이로 圧出시키는 방법 등 여러가지 방법을 사용할 수 있으나 분리과정중 가장 중요한 것은 비장임파구를 손상시키지 않아야 한다. 이렇게 추출된 비장세포액에는 임파구 외에 다량의 적혈구 및 기타 비장세포가 혼재하여 있다. 임파구를 비롯한 비장백혈구를 분리하기 위하여 Ficoll-Hypaque 밀도배열 원심분리법을 행하거나 또는 저장액(0.84% NH₄Cl)

으로 혼입된 적혈구를 용해하여 제거하는 방법 등을 사용한다. 분리과정중 임파구의 생존율을 높이기 위하여 우발적인 충격을 피하여야 하며 또한 저온(5℃)에서 실험이 이루어져야 한다.

③ 종양세포와 면역임파구의 융합

세포융합은 가장 중요한 실험과정이나 기술 자체는 별로 복잡하지 않다. 필자의 경험으로는 융합 총소요 시간이 약 3시간이면 충분하며 이 방법을 소개하기로 한다.

면역임파구를 무혈청배지(Dulbecco's Modified Eagle's Medium:DMEM)에 원심세척하여 10⁸/ml 되도록 준비하고 왕성하게 자라는 종양세포를 역시 DMEM에 원심세척하여 10⁷/ml 되도록 조정한 다음 면역임파구 1×10⁸개와 종양세포 2×10⁷개를 50ml 용량 시험관(Falcon 제품)에 혼합하여 원심 침전시킨다. 상층액은 버리고 침전된 세포를 충분히 혼합하고 37℃에서 50%의 PEG-4,000용액 0.5ml를 서서히 주입하면서 시험관을 1분간 회전시킨다. 이후 DMEM 10ml을 3분간에 걸쳐 점적하면서 시험관을 서서히 회전시킨다. 이 과정이 끝나면 15% 우태아혈청이 첨가된 DMEM으로 세포를 희석하고 2회 원심 세척(800rpm에서 5분)한 후 선택배지(HAT:Hypoxanthine, Aminopterin, Thymidine) 40ml에 부유시키고 96-well 마이크로 플레이트에 well당 0.2ml(1×10⁵ SP₂ cells/well)씩 분주하여 37℃ 탄산가스 항온기에 배양한다. 이후 매 3일 간격으로 HAT배양액을 3회 갈아주고 다시 3일 간격으로 HT(Hypoxanthine Thymidine) 배양액을 2회 갈아주며 종양세포와 면역임파구의 융합 잡종세포가 집단형으로 증식되는 것을 확인하여 특이한 항체를 배양상층액에 분비하는 잡종세포를 선별하게 된다.

학자에 따라서는 융합실험 전날 마우스 흉선세포, 비장세포 또는 복강마크로페지등으로 미리 Feeder layer를 형성시킨 후 이 위에 융합세포를 배양하여 좋은 결과를 얻을 수 있었다고 한다. 이외에도 사람유래 내피세포 배양상층

액 (Human endothelial cell culture supernatant) 또는 종양세포배양 상층액을 선택배지인 HAT배지에 일정량 첨가함으로써 잡종세포의 발생빈도가 현저히 증가하였다는 보고도 있다.

융합조작이 끝난 후 HAT배양액에서 융합된 잡종세포만이 선택적으로 증식되며 융합되지 않은 종양세포는 보통 3일 이내에 사멸하게 된다. 이러한 현상을 좀 더 구체적으로 설명하면 HAT성분중의 Aminopterin은 핵산성분중 purine 화합물의 생합성을 억제하므로 비장세포들과 같이 HGPRT란 효소가 있는 정상세포는 구제경로 (Salvage path way)를 통해서 배지중 Hypoxanthine을 이용하여 purine화합물을 통한 핵산합성이 가능하므로 생존에 영향을 받지 않는다. 그러나 종양세포는 배지중의 Hypoxanthine을 利用할 수 있는 HGPRT란 효소가 없기 때문에 HAT배지에서 purine화합물을 생성할 수 없으므로 핵산합성이 장애를 받아 분열할 수 없어서 결국 사멸하게 된다. 한편 면역 임파구는 HGPRT가 있어 HAT배지에서 생존가능하나 최종 단계로 분화된 세포이기 때문에 수일내에 자연히 사멸하게 된다. 반면에 잡종세포는 종양 세포로부터 계속 분열 증식할 수 있는 형질을, 또한 면역임파구로부터는 HGPRT를 생산하는 형질을 동시에 획득한 세포이므로 HAT 배지에서 핵산합성이 지장을 받지않아 분열 증식할 수 있다. 즉 HAT배양액으로 세포융합된 잡종세포만 선택적으로 배양할 수 있는 것이다.

④ 특이항체생산 잡종세포선별 및 특성검사

세포융합후 약 2 주쯤 해서 실험자가 원하는 잡종세포 즉 면역한 항원에 특이한 항체를 생산하는 잡종세포를 선별하는 작업이 이루어지게 된다. 보통 1 회 융합실험후 수백개의 잡종세포가 자라는 것을 확인할 수 있으며 이들이 자란 배양상층액은 상당히 적은 양이므로 배양액에 특이 항체의 존재여부를 검출하는데는 가능한 한 짧은 시간에 손쉽게 많은 재료를 처리할 수 있어야 하며 또한 미량의 항체도 검출할 수 있는 예민한 방법이라야 한다. 이러한 모든 조건에 부합하는 방법중 ELISA법이 가장 널리 응용되고 있다.

일차 검사결과 특이항체를 생산하는 잡종세포집락 (Cell colony) 이 발견되면 되도록 빨리 Cloning하여 특이항체생산 세포를 찾아야 한다. 즉 한개의 잡종세포를 하나의 Micro well내에 증식시키는 한계희석법 (Limiting dilution)과 잡종세포를 Agar plate위에 분산시켜 배양하는 Soft agar cloning법등이 널리 사용되고 있다. 이때 한 개의 세포로부터 분열 증식하여 한 개의 세포집단을 형성하기 위해서는 배양환경조건이 상당히 중요하며, 이러한 요구를 충족시키기 위하여 Feeder layer를 많이 이용하고 있다. Cloning실시 약 10일후 단일 크로니를 형성한 세포군만 다시 특이항체를 생산하는지를 검사하여 특이항체를 분비하는 세포는 증식시킨후 일부는 액체질소 용기에 보관하며 나머지는 항

표 2. 혈중항체와 단클론성 항체의 특징 비교

구 분	일반항혈청	단클론성 항체	
		복 수	배양상층액
특이 항체농도	0.1~1 mg/ml	1~5 mg/ml	5~25µg/ml
비특이 항체농도	8~10mg/ml	0.5~1mg/ml	거의 없다.
항 원 결 합 성	면역에 사용된 항원의 모든 항원기와 반응함.	면역에 사용된 항원의 단일 항원기에만 반응함.	
특이성 및 교차성	항원에 따라 교차성이 인정되는 수가 많음.	거의 교차성이 없다	
항원과 결합하여 침전시키는 능력	있다	없다	
포함된 항체의 종류	IgM, IgG, IgA 등 여러가지가 혼합됨	한가지 항체뿐임	

체생산력 및 안전성 그리고 분비된 항체의 종류 등을 검사하게 된다.

⑤ 단클론성 항체생산

선별된 특이항체분비 집중세포주는 언제든지 시험관내에서 배양하면 원하는 항체를 생산하게 된다. 그러나 배양상층액에 분비되는 항체량이 적기때문에 Balb/c 마우스에 특이집중세포를 접종하여 원하는 항체를 대량으로 얻을 수 있다. 즉 Pristane으로 미리 처리한 Balb/c 마우

스 복강에 특이집중세포를 주사하고 약 2주후 복부가 팽만해지면 복수를 채취하고 항체를 분리제거하게 된다. 복수 1ml당 보통 5mg 이상의 항체가 있어 이 방법이 경제적이다. 표 2에서 기존 면역방법으로 얻은 항체 (polyclonal antibody)와 단클론성 항체의 특성을 약술하였으며 표 3에서는 지금까지 기술한 단클론성 항체의 작성기법 전반에 관하여 단계별로 정리하였다.

표 3. 단클론성 항체생산 기법요약

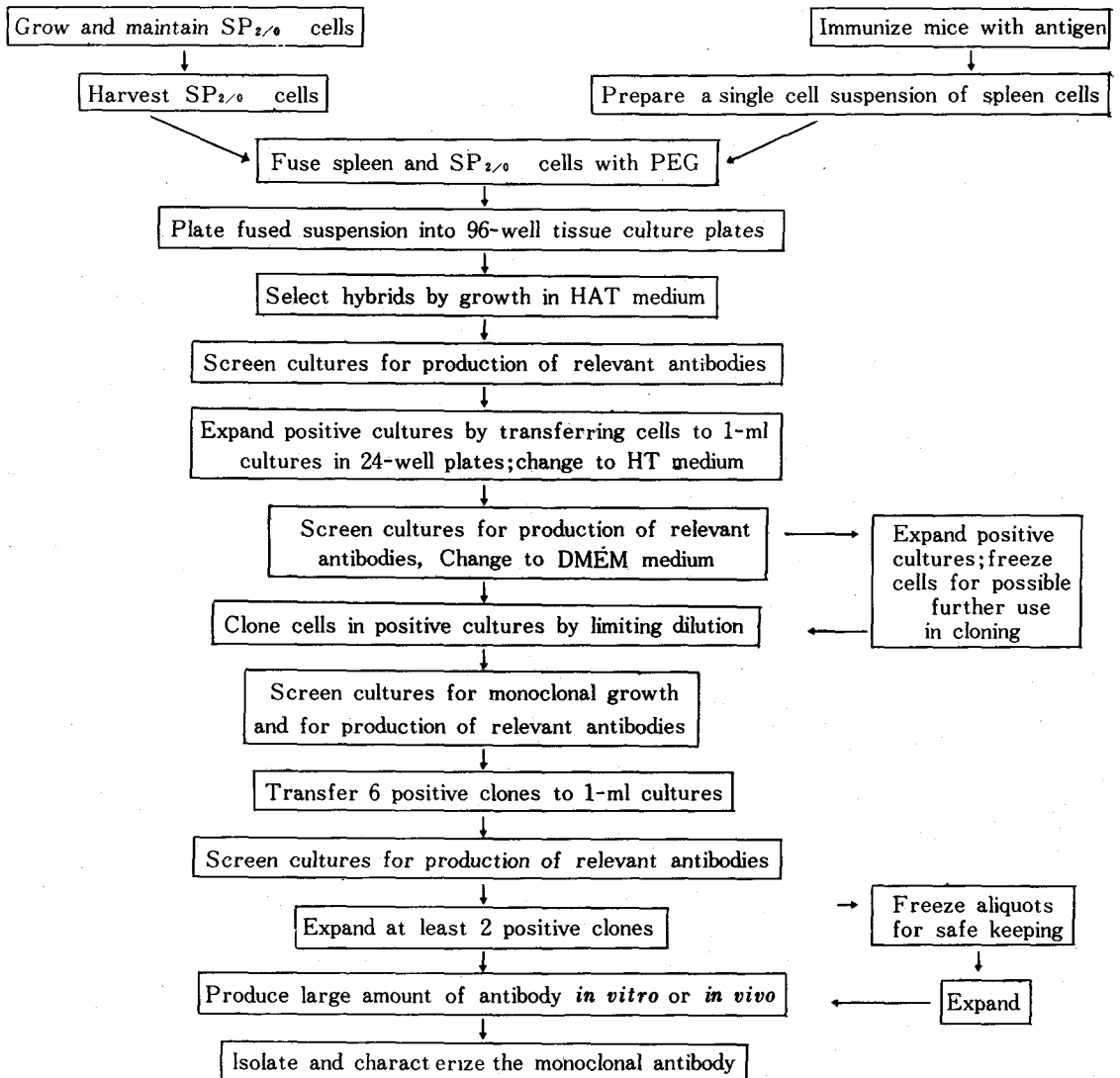


표 4. In Vitro Monoclonal Antibody Diagnostic Products Approved in the United States*

Manufacturer	Analyte	Date approved
Hybritech Inc.....	IgE	5/29/81
Hybritech, Inc.....	PAP	9/1/81
Hybritech, Inc.....	HCG	10/13/81
Hybritech, Inc.....	T Cell	7/26/81
Hybritech, Inc.....	Ferritin	10/11/81
Abbott.....	PAP	1/19/82
Abbott.....	CEA	3/3/82
Abbott.....	CEA	3/29/82
Ortho Ill.....	OKT-11	4/6/82
Centocor.....	Anti-Rabies	4/16/82
Hybritech, Inc.....	HCG	4/23/82
Hybritech, Inc.....	HGH	6/8/82
Mallinckrodt, Inc.....	Total T ₄	6/9/82
Hybritech, Inc.....	Prolactin	6/10/82
Clinical Assays.....	¹²⁵ I-1gE	6/18/82
Biogenex Laboratories.....	β -HCG	7/13/82
Hybritech, Inc.....	HCG (EIA)	7/22/82
New Horizons.....	Gonogen	8/4/82
Monoclonal Antibodies, Inc.....	UCG	9/24/82
Hybritech, Inc.....	TSH	10/8/82
Allergenics (Div. of Axonics).....	IgE-Fast ^o (Specific IgE)	11/10/82
Becton Dickinson & Co.....	T ₄	12/7/82
Syva Co.....	Chlamydia	12/10/82
Miles Laboratories.....	Gentamicin	12/14/82
Allergenics (Div. of Axonics).....	Total IgE-FAST	1/13/83
Carter-Wallace, Inc.....	β -HCG	1/20/83
Hybritech, Inc.....	Tandem-E ^o Ferritin	2/24/83
Ortho.....	Rubella	3/15/83
PCL-RIA.....	HCG	4/5/83
Quidel Home.....	HCG ^b	4/14/83
Ventrex Labs, Inc.....	Enzyme TSH	4/26/83
Quidel Home.....	HCG ^b	4/26/83
Dlagon.....	Ferritin	4/28/83
BTC Diagnostice.....	HCG	4/28/83
Immunlok.....	Chlamydia	4/29/83
Monoclonal Antibodies.....	HCG	5/25/83
Ventrex Labs., Inc.....	IgE (total)	5/25/83
Organon Inc.....	HCG	5/26/83
BloGenex Laboratories.....	RIA Gen β -HCG RIA Kit	5/26/83
Micromedia System, Inc.....	Micromedia β -HCG RIA	6/1/83
Organon Inc.....	Neo-Pregnosticon Duoclon Tube Kit	6/ 3/83

*As of 6/14/83.

^oThese kits are for home use.

SOURCE:U. S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, National Center for Devices and Radiological Health, 1983.

다. 단클론성 항체의 응용실태

단클론성 항체는 각종 항원의 분석 및 정제, 각종 질병의 진단, 암의 진단 및 치료, 조직적합항원의 식별등 여러 분야에 사용될 수 있으며 구체적인 응용분야를 간추려 보고자 한다.

① 질병진단분야

현재까지 전염병을 진단하는데는 원인체를 추적 분리 동정하거나, 원인체에 특이한 항체를 검사함으로써 가능했었다. 그러나 이와같은 실험실내의 작업은 상당히 복잡하여 고도의 기술을 요할뿐만 아니라 시간과 물자면에서 비경제적이다.

최근들어 각종 세균, 바이러스, 기생충 등에

특이한 단클론성항체가 많이 개발되고 있으며 이 개발된 항체에 각종 효소나 형광색소등을 결합시켜 병원체를 신속 정확하게 검출할 수 있게 되었다.

1983년까지 단클론성 항체를 이용한 진단제로 미국에서 허가된 것을 대강 종합해 보면 표 4 와 같다. 이외에도 인플렌자바이러스, 허피스바이러스, 간염바이러스 등에 대한 단클론성 항체가 실용화 단계에 있다.

농촌진흥청 가축위생연구소에서도 닭마렙병 바이러스등 수종의 바이러스에 대한 단클론성 항체를 개발하여 간이 진단법에 응용하기 위한 연구를 진행중이다.

표 5. Immunotoxins used to Kill Target Cells in vitro

Toxin moiety	Antibody*			Target cell
	Heterologous	Mono-clonal	Specificity	
Ricin (R)		+ Mouse T cells (Thy-1.2) + Rat T cells (W 3/25) + Mouse T cells (Thy-1.1)		EL-4, WEHI-7 T cells T cells (AKR SL3)
R-A chain	+ + +	DNP Mouse μ chain Mouse B cell leukemia (BCL ₁) idiotype		TNP-HeLA B cells BCL ₁
	F(ab)' F(ab)', F(ab)' ₂	Mouse B cell leukemia Human Ig + IgD allotypes + Human colorectal cancer cells + Human leukemia (CALLA)		L120 Daudi B cells SW1116, SW948 Nalm-1
Diphtheria toxin(DT)+and DT-A chain	+ F(ab)'	Human lymphocytes Con A Mouse B cell leukemia (L1210) + Human colorectal cancer cells + mouse T cells (Thy-1.2)		Daudt 3T3-ConA L1210 SW1116 T cells
Abrin	+	Human lymphocytes		Daudi
Gelonin		+ Mouse T cells (Thy-1.1)		T cells (AKR-A, BW5147)

*Plus signs indicate the antibody is intact. (Science 219:645, 1983에서 인용)

② 암의 진단 및 치료

체내에 생기는 종양성 질병의 종류는 상당히 다양하며 또한 종양의 구성세포와 특성에도 많은 차이가 있다.

최근들어 수많은 연구결과 종양세포는 종양세포가 가지지 않는 종양특이항원 (Tumor specific 또는 Tumor associated antigen)을 가지고 있다는 것이 밝혀졌고 이에 대한 단클론성 항체가 개발되어 진단 및 치료에 일부 응용되기 시작하고 있다. 이외에도 각종 백혈구 (B-림파구, T-림파구 Monocyte, Macrophage)에 대한 여러가지 단클론성 항체가 만들어져 림파구성 종양인 각종 백혈병 감별진단에 이용되기도 한다.

종양성 질병의 치료를 위한 수단으로 단클론성 항체에 여러가지 독소나 방사선동위원소 등을 결합하여 투여함으로써 종양세포만을 파괴하려는 연구가 진행되고 있다. 이러한 목적으로 항체와 결합되어 사용되는 독소를 Immunotoxin이라 부르며 지금까지의 연구를 종합해 보면 표 5와 같다.

③ 항원분석 및 정제

단클론성 항체는 단일 항원기에 대응하는 항체이기 때문에 특이성이 높을뿐만 아니라 단백질 분자의 한 부분을 해석할 수도 있다. 예를들면 광견병 바이러스의 여러 항원중 방어에 직접 관여하는 항원을 이에대한 특이한 단클론성 항체로 찾아낼 수 있을뿐만 아니라 순수하게 정제도 할 수 있어 Subunit vaccine 개발에 이용될 수 있다. 이외에도 인터페론등 유용물질을 정제하는데도 단클론성 항체가 효과적으로 이용

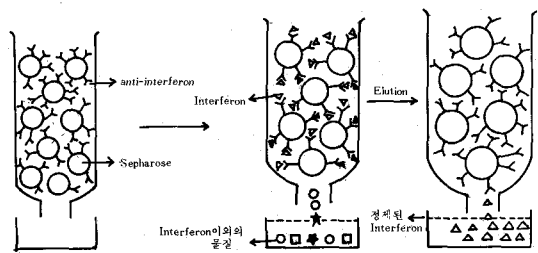


그림 1 단클론성 항체를 이용한 인터페론 정제 (Affinity chromatography 법)

될 수 있다. 그림 1에서와 같이 인터페론에 특이한 단크론성 항체를 생산하여 이 항체를 S-epharose와 같은 기질에 부착시켜 유리관(Column)에 충전시킨다. 여기에다 여러가지 물질이 혼입된 비정제 인터페론을 통과시키면 인터페론은 기질에 부착된 항체와 결합하고 다른 물질은 통과하여 버린다. 그런다음 항체와 결합된 인터페론을 분리시키면 아주 순수한 인터페론을 정제할 수 있다. 지금까지 인터페론을 정제하는데는 High performance liquid chromatography (HPLC) 등이 이용되고 있으나 앞으로는 이미 설명한 선택분리법(Affinity chromatography)이 사용될 것으로 전망되며 이 방법은 유전자 조작기법으로 생산된 인터페론을 배양액으로부터 정제하는데 아주 효과적일 것으로 사료된다.

《参考文献》

1. Kennett, R. H., Mckearn, T. J. and Bechtol, K. B. Ed., 1980. :Monoclonal antibodies, Hybridomas: A new dimension in biological analyses.
2. Mishell, B. B. and Shiigi, S. M. Ed., 1980. :Selected methods in cellular immunology.
3. Fazekas, S. and Scheidegger, D., 1980. :Production of monoclonal antibodies; Strategy and tactics, J. of Immunol. Methods, 35:1-21.
4. Goding, J. W. 1980. :Antibody production by hybridomas, J. of Immunol. Methods, 39:285-308.
5. Bazin, H. *et al.* 1984. :Rat monoclonal antibodies. 1. Rapid purification from in vitro culture supernatants, J. of Immunol. Methods 66:261-269.
6. Buck, D. W. *et al.* 1982. :Monoclonal antibodies Specific for cell culture mycoplasma In vitro 18:377-381.
7. Colcher, D. *et al.* :A spectrum of monoclonal antibodies reactive with human mammary tumor cells. Proc. Natl. Acad. Sci. 78:3199, 1981.
8. Blythman, H. E. *et al.* :Immunotoxin; Hybrid molecules of monoclonal antibodies and a toxin subunits specifically kill tumor cells. Nature 290:145, 1981.
9. Anderson, K.C. *et al.* :Antigens on human plasma cells identified by monoclonal antibodies. J. Immunol. 130 :1132, 1983.
10. Askonas, B.A. *et al.* : Monoclonal antibodies to hemagglutinin and to H-2 inhibit the cross-reactive cytotoxic T cell populations induced by influenza. Eur. J. Immunol. 10:151, 1980.
11. Dillman, R. O. *et al.* :Murine monoclonal antibody therapy in two patients with chronic lymphocytic leukemia. Blood 59:1036, 1982.
12. Smedley, H. M. *et al.* :Localization of metastatic carcinoma by a radiolabelled monoclonal antibody. Brit. J. Cancer 47:253, 1983.
13. Food, K. A. *et al.* :Surface markers on leukemia and lymphoma cells:Recent advances. Blood 60:1, 1982.
14. Goldenberg, D. M. *et al.* :Radioimmuno-detection of cancer with radioactive antibodies to carcino-em-bryonic antigen. Cancer Res. 40:2984, 1980.
15. Hosking, C. S. *et al.* :Application of monoclonal antibodies to the study of human lymphocyte surface antigens, P. 177 in Monoclonal Hybridoma Antibodies; Techniques and Applications, edited by J. G. R. Hurrell, CRC Press Inc. Florida, 1982.
16. Jansen, F. K. *et al.* :Immunotoxin; Hybrid molecules combining high specificity and potent cytotoxicity. Immunol. Rev. 62:185, 1982.
17. Laver, W. G. *et al.* : The use of monoclonal antibodies to investigate antigenic drift in influenza virus, P. 103, in Monoclonal Hybridoma Antibodies; Techniques and Applications edited by J. G. R.
18. Prestka, S. : The purification and manufacture of human interferon. Sci. Am. 249:28, 1983.