

尖端技術 어디까지

生物工學 關聯發명의 技術 및 出願

1. 머리말

生物工學은 20世紀 후반에 와서 新素材·電子工學등과 함께 3大 尖端技術(HIGHTECH) 産業의 하나로 先進國을 비롯하여 世界的으로 관심이 집중되어 있다. 또한 生物工學分野의 特許出願은 2000年 까지는 급격히 增加되며, 그 이후에 가서는 일정 增加의 均衡을 이루리라 예상되고 있다.

生物工學의 定義는 一定한 해답은 없으나 OECD(經濟協力과 開發을 위한 機構)에 의하면 生物學的 要素(AGENTS)에 의해 商品과 서어비스를 위한 物質(MATERIALS)의 프로세싱에 대한 技術의이고 科學的인 原理의 응용이라고 定義하고 있다.

여기서 生物學的 要素(AGENTS)라 함은 生物種매·微生物·효소 그리고 動植物細胞를 포함한다. 物質(MATERIALS)이란 有機的·無機的 物質을 모두 포함한다. 따라서 生物工學이란 用語는 生命있는 物質에만 한정되는 것이 아니고 動植物 細胞·動植物의 세포주(CELL LINES)·酵素·플라스미드·바이러스와 같은 生體物質의 넓은 範圍를 포함한다.

生物工學 技術分野로서는 遺傳子 操作(GENE MANIPULATION)·細胞 融合(CELL FUSION HYBRIDOMA)·細胞(株) 培養(CELL(LINE) CULTURE)·酵素 및 菌體 固定化(ENZYME & CELL FIXATION)·단백질工學(PROTEIN ENGINEERING)·바이오 메스(BIOMASS)·釀酵工學(FERMENTATION TECHNIQUE)·生體物質의 케드(COMPUTER AIDED DESIGN OF BIOMATERIAL)·바이오센서(BIOSENSOR) 등을 포함하고 있으며 그 응용분야는 매우 넓다고 할 수 있다.

그리고 生物工學 分野 發明을 經濟的 重要성으로 보면 藥品; 조절단백질·혈액산물·백신·抗生劑·單一抗體·DNA 하이브리드 표식자 등.

動植物 分野; 動物의 진단·예방 그리고 질병의 조절·動物營養과 成長促進·種子繁殖에서의 遺傳的인 改善·作物增産을 위한 외래유전자(특히 미생물)의 使用으로 特定植物의 特徵改善.

水産業; 魚類의 增植·魚類疾病의 調節 및 예방·特殊能力 갖는 海洋微生物의 使用.

特殊用度 化學物質과 食品添加劑; 아미노산·酵素·단세포단백질(S.C.P)·復合지질·스테로이드·芳香性 物質·다당류 生體폴리머.

環境에의 應用; 公害 調節과 毒性 廢棄物의 處理·微生物의 鑛業에 利用·廢油處理 등.

日用商品과 에너지 生産; 바이오스 資源·生物傳子學-바이오센서(BIOSENSOR)·바이오칩(BIOCHIPS) 등으로 나누어 볼 수 있다.

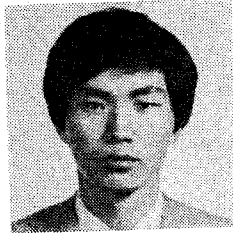
現在 그 開發 順位는 일정치 않으나 藥品·農水産分野·化學·環境 分野로 그 順位가 결정되고 있다.

먼저 治療藥으로 再組合 DNA 技術을 이용해서 1983年 이래로 人間 인슐린을 비롯하여 成長호르몬이 市販되고 있으며 現在 매우 많은 수의 α 와 β 인터페론이 再組合 技術로 開發되어 임상 실험 중이다.

世界的으로 관심의 焦點이 집중되어 있는 生物工學 分野는 遺傳子工學 이며 遺傳工學에서도 再組合 DNA 技術(RECOMBINANT DNA TECHNIQUE)이 대표적인 分野가 되고 있다.

따라서 遺傳工學 技術 分野의 技術 內容 및 그 特許性을 再組合 DNA 技術을 중심으로 알아보고 아울러 우리의 特許 審査基準에 나와있는 微生物 利用 發明의 特許性的 基準을 알아보도록 한다. 계속해서 공

왔나 動向(1)



朴炳錫
<特許廳 審査官>

開된 遺傳子分野 特許出願의 技術的인 內容 및 奇託 (DEPOSITARY)에 관한 事項과 明細書 記載時 유의 사항 및 植物 特許와 그 展望을 살펴 보고자 한다.

2. 遺傳工學 技術發明의 카테고리 (CATEGORY OF INVENTION IN GENETIC ENGINEERING)

1) 遺傳工學(GENETIC ENGINEERING)의 國際特許分類 (INTERNATIONAL PATENTS CLASSIFICATION)

遺傳工學(GENETIC ENGINEERING)은 數年前에는 遺傳子 操作(GENE MANIPULATION)이라고도 불리어졌다. 일반적으로 遺傳工學이라하면 再組合 DNA 技術(RECOMBINANT DNA TECHNOLOGY)·세포융합에 의한 單一抗體 技術(MONO CLONAL ANTIBODY TECH) 및 세포의 조직배양·醱酵工學(FERMENTATION TECH)을 기본으로 하여 다음 세대로 계속적으로 遺傳되는 형질을 갖는 이미 自然에 存在치 않는 새로운 遺傳物質로의 變化를 일으키게 하는 技術 領域이다.

1985年 부터 施行되고 있는 國際分類表인 IPC⁴ (INTERNATIONAL PATENTS CLASSIFICATION 4th)에 따르면 C12N 15/00에 遺傳子 工學 또는 변이 (MUTATION OR GENETIC ENGINEERING), C12N 5/00에 미분화 動植物 세포, 즉 세포주(CELL LINES)의 조직 배양 技術로 하이브리도마에 의해 생성되는 單一抗體(MONO CLONAL ANTIBODY)技術이 분류되어 있다.

目次

1. 머리말
2. 遺傳工學 技術 發明의 카테고리
3. 奇託 및 微生物 利用 發明의 審査 基準
4. 公開된 遺傳工學 特許出願의 技術
5. 明細書 記載時 留意事項
6. 植物特許와 그 展望
7. 맺는말

(고딕은 이번號 명조는 다음號)

2) 遺傳工學 技術 分野 發明의 카테고리 (CATEGORIES OF INVENTION OF GENETIC ENGINEERING)

(1) 숙주/벡터 시스템(CHOICE OF HOST/ VECTOR RELATIONSHIP)

이는 再組合 DNA 技術에 있어서 기본적 시스템의 선택에 관한 문제로 安定性(STABILITY) 또는 특별한 容易性(ESPECIAL CONVENIENCE)에 따라 그 시스템이 결정 될 수 있다. 즉 特定の 플라미드와 特定の 숙주세포와의 관계 이므로 이에 관한 技術은 그 進歩 함에 따라 特許性을 갖는다고 보여진다¹⁾. 現在 사용되는 벡터(VECTOR)로서는 플라즈미드(PLASMID)·람다파아지(λ SYSTEM)·코스미드(COSMID)·단일쇄 DNA 파이저인 M₁₃ 등이 있으며 이들 벡터(VECTOR)의 크기 및 特性에 따라 선택되어지는 적합한 숙주는 달라질 것이다.

(2) 플라즈미드 分離方法(ISOLATION OF PLASMIDS)

플라즈미드(PLASMID)란 細胞內 存在하는 自體염색체 DNA 외에 따로 存在하는 복제가능한 遺傳物質로서 그 크기가 대략 10⁶내지 10⁸ 달톤이고 소수의 遺傳子(GENE)를 함유하는 원형의 DNA 物質이다.

플라즈미드 分離技術은 일반적으로 잘 알려져있고 효과적인 方法이 나와 있기 때문에 이 分野에서는 새로운 特許性있는 方法이 나올것으로는 기대되지 않는다.²⁾

(3) 制限酵素와 連結酵素(ENZYME FOR CLEAVING AND SEALING)

制限酵素(RESTRICTION ENDONUCLEASE)란 遺傳物質을 特定部位에서 자르는 가위와 같은 技能을 지닌 단백질이다. 連結酵素(LIGASE)는 대개 T₄ DNA LIGASE가 사용되며 遺傳子의 構成要素인 뉴클레오티드와 뉴클레오티드 간의 結合을 시키는 酵素이다. (註 뉴클레오티드(NUCLEOTIDE)란 아데닌(A)·구아닌(G)의 퓨린염기와 시토신(C)·티민(T) 또는 우라실(U)의 피리딘염기를 합쳐서 4가지 염기(BASE)가 각각 5탄당인 펜토오스(PENTOSE)와 포스페이트인산에 結合하여 이루어지며 하나의 뉴클레오티드는 AMP·GMP·CMP·TMP(UMP IN RNA)의 4가지가 存在하게 된다.)

즉, 制限酵素와 連結酵素를 비롯한 遺傳子 조작에 필요한 酵素들 폴리머라제(POLYMERASE)·종말 酵素(TERMINAL TRANSFERASE)·역전사 酵素(REVERSE TRANSCRIPTASE)·포스파타제(PHOSPHATASE) 등의 酵素들이 새로이 發見되는 경우는 特許의 對象이 된다. 이들 研究分野에서 이들 酵素는 당연히 市場性을 갖게되고 特許保護에 필요한 비용을 충분히 산출해 내기 때문이다. 이들 새로운 酵素는 IPC(國際特許分類)의 C12N9/00에 分類되어 있다.

(4) 再組合 DNA(RECOMBINANT DNA)

再組合해서 새로이 生成된 再組合 플라즈미드(RECOMBINANT PLASMID)는 新規한 物質이다. (NEW SUBSTANCES)

이分野는 현재 遺傳工學 特許出願의 核心을 이루고 있다. 外來遺傳子(FOREIGN GENE)을 플라즈미드 벡터 內로 삽입시켜서 대장균·바실러스균을 비롯한 원핵세포(PROCARYOTE)와 효모를 비롯한 진핵세포(EUCARYOTE)에 이르기까지 광범위한 숙주세포내로 形質전환(TRANSFORMATION)시켜서 그 遺傳物質의 發現(EXPRESSION)을 시킴으로써 원하는 物質의 生産이 가능해 졌다.

지금부터 再組合 DNA 技術(RECOMBINANT DNA TECH)에 대해서 지금까지 나와있는 技術을 간략히 살펴보고자 한다. 外來 遺傳子를 운반하는 運搬體인 벡터(VECTOR)로 現在 使用되고 있는 것으로는 플라즈미드(PLASMID)·람다 파이저 시스템(λ SYSTEM)·코스미드(COSMID)·단일쇄 DNA 바이러스인 M₁₃(SINGLE STRANDED M₁₃) 등이 있다.

이들에 대해서 각각의 클로닝 運搬體(CLONING VEHICLE)로 使用되는 特徵을 살펴보자.

A. 플라즈미드(PLASMID)

플라즈미드란 앞에서 定義한 바와같이 자체 염색체 이외에 따로 존재하는 遺傳物質로 대개 抗生劑 抵抗性 또는 抗生劑生成·有機化合物의 分解·毒物物質의 生成·制限酵素와 切斷保護酵素의 生成등의 機能을 각각 수행하는 여러종류가 있다.

遺傳工學이 도래하기전에도 自然的으로 이들 플라즈미드는 細胞와 細胞사이로 전달되어 導入되는 현상을 갖고 있었다.

이를 형질 전달(CONJUGATION)이라 하며, 특히 인위적인 수단에 의한 導入을 형질전환(TRANSFORMATION)이라 한다.

또한 특정 파아지(PHAGE)라든가 바이러스가 導入되는 경우를 형질도입(TRANSFECTION)이라 한다. 遺傳子 조작을 위해서는 플라즈미드의 경우 細胞內에 存在하는 플라즈미드 量이 문제가 되는데 이는 抗生劑인 클로람 페니콜의 배지내의 添加로 플라즈미드의 복제수를 증가 시킨다. 그리고 플라즈미드는 다음과 같은 特性을 갖고있어야 한다.

첫째, 크기가 작아야 한다. 플라즈미드는 꼬여있는 분자구조(SUPERTWIST FORM)를 형성하고 있기 때문에 외부의 조그만 機械的 충격으로 손상을 입을 확률은 플라즈미드 크기에 비례하기 때문이다. 또한 사이즈가 작을수록 제한효소부위를 함유할 확률이 낮아진다. 그리고 플라즈미드의 복제수의 증폭이 사이즈가 작을수록 더커진다.

둘째, 單一種類的 制限酵素부위를 갖는 부위가 여러 개 있어야 한다.

셋째, 하나 또는 두가지 정도의 스크리닝을 위한 표식부위(MARKER)가 있어야한다. 즉 pBR322의 경우 Tet^R와 Amp^R를 갖고 있다. 그러면 플라즈미드 벡터의 경우에 있어서 클로닝 단계를 간략히 살펴본다.

(A)~C))

A). 制限酵素에 의한 절단을 하고 이때 자체적으로 再結合되는 현상을 방지하기 위해서

④ 외래 DNA의 量을 높이거나

⑤ 포스파타제(BAP 또는 CIAP)를 처리한다. BAP(박테리아 알칼린포스파타제)의 경우는 熱에 비교적 안정한 酵素여서 사용후 熱處理로 제거시에 어려움이 있다. CIAP(소의췌장 알칼린포스파타제)의 경우는

熱에 불안정한 효소로 65° C에서 10분간 처리로 변성되어 제거가 가능하다. 한편 日本에서는 1984年 남극 포스파타제 (ANTARCTIC PHOSPHATASE)를 남극에서 분리해냈으나 아직 商業化되지는 않고 있다.

이 酵素의 特性은 55° C에서 5분간 처리로 완전 제거가 된다.

◎ 또 하나의 方法으로는 플라즈미드의 制限酵素 절단부위의 양쪽방향으로 서로 다른 制限酵素로서 처리하여 절단된 플라즈미드의 再結合 防止가 해결되기도 한다.

B) 테일링 (TAILING TDT)

대개 말단전달酵素 (TERMINAL TRANSFERASE)를 이용해서 dGTP 또는 dCTP로 15個 정도의 뉴클레오티드를 부가시켜서 꼬리를 만든다.

C) 連結接合 (LIGATION)

外來遺傳子를 T₄ DNA LIGASE로 결합을 한다.

外來遺傳子가 10kb이상으로 큰 경우에는 형질전환이 (TRANSFORMATION) 플라즈미드 벡터로서는 어렵게 된다. 따라서 람다 시스템 (λ SYSTEM)을 살펴보자.

B. 람다 제 (λ SYSTEM)

람다 파아지 (λ PHAGE)는 이중나선 DNA로 50kb 정도의 크기이며 12개 뉴클레오티드의 스틱키말단 (STICKY END)인 코스사이트 (COS SITE)가 있다.

이 코스사이트는 람다파아지의 패키징 (PACKAGING)에 基本이 된다. 또한 용원화 (LYSOGENIZATION)와 용균화 상태 (LYTIC STATE)가 상호조제하는 박테리아 감염 바이러스이다.

람다 파아지의 경우 50kb의 길이 중에는 중간에 있는 20kb 정도의 완충지대가 존재하는데 이 20kb를 떼어내고 外來 遺傳子를 결합시킨다. 람다파아지 제의 特徵중 하나는 플라즈미드 벡터의 경우와는 달리 형질전환이 試驗管内 (IN VITRO)에서 자체의 코스사이트 (COS SITE)에 의해서 표피단백질내로 패키징 (PACKAGING)이 일어나므로 이를 숙주세포에 감염 (INFECTIION)시키므로써 수행 되어진다.

람다제의 또 하나의 特徵은 外來遺傳子가 결합되었을 때 원파아지 DNA量의 105% 이상이거나 80% 이하이면 패키징 (PACKAGING)이 되지않는데 이런 性質이 항상 10~20kb정도의 外來 遺傳子가 삽입된 再組合파아지 스크리닝의 주요한 점이다. 플라즈미드 벡터계와는 달리 20kb정도의 큰 外來 遺傳子 삽입이 또한 특징이다.

C. 코스미드 (COSMID)

코스미드란 람다파아지의 코스부위 (COS SITE)와 플

라즈미드를 接合시켜 만든 벡터제로 4.5~6.0kb 크기로 40~50kb 정도의 外來 遺傳子를 삽입시킬 수 있는 장점이 있다. 코스미드로는 pJBS가 나와있는데 5.4kb 크기이며 COL EI ORI과 AMP^R, BAM HI, HIND III, COS SITE, SAL I SITE를 갖는다.

D. 단일쇄 파아지 M¹³ (SINGLE STRANDED PHAGE M¹³)

6.5kb크기로 단일쇄 DNA이다. 세포내로 감염되면 이중쇄로서 복제가 되며 이런 이중쇄 DNA는 制限酵素에 의해 대장균이 락토페론 (LAC OPERON)을 조절자로 사용하고 베타갈락토시다제의 유전자를 결합시킨 구조이다. 이런 단일쇄 파아지 벡터의 장점은

첫째, 合成時 合成過程중에 시퀀싱을 할 수 있다 (DIDEOXY SEQUENCING).

둘째, 스크리닝에서 단일쇄 DNA 표식자 使用으로 이중쇄 DNA 표식자 보다 최소한 10배 이상의 효능이 좋다. 왜냐면 이중나선 DNA 표식자 (PROBE)의 경우 自身끼리 結合되어 하이브리드를 형성하는 경우가 발생하기 때문이다.

이상과 같이 대략적으로 살펴본바와 같이 再組合 DNA 技術分野는 좀더 형질전환에 우수한 벡터의 開發에 따라 그 特許성이 擴大될 수 있는 分野이다.

(5) 형질전환 條件 (TRANSFORMATION CONDITIONS)

再組合된 플라즈미드를 導入시킬 수 있는 方法으로 좀더 효과적인 方法일 경우 그 特許성이 있다고 보여진다.

(6) 클로닝의 選別 (CLONING (SELECTION))

클로닝된 細胞를 選別해 내는 과정으로 솟건조작 (SHOT-GUM) 즉 특정의 마커시스템을 사용하는 選別 方法이 새로운 경우 이와같은 실험단계에 대해서는 特許성에 의문의 여지가 있다.³⁾

(7) 새로운 變種

이에 대해서는 3月호에서 살펴 본 바와같이 美國의 大法院의 차크라바티 判決이래 特許請求 範圍에서 가장 일반적인 형태로 나타나고 있다. 물론 우리 特許法 上에는 微生物 自體에 대한 特許條項은 가지고 있지 않다.

(8) 새로 開發된 숙주의 用途

用途에 관한 請求範圍 또한 微生物自體에 대한 중요한 請求範圍가 되고 있다. (계속)