

尖端技術 어디까지

生物工學 關聯發明的 技術 및 出願

4. 公開된 遺傳工學 特許出願의 技術

우리나라에 特許出願된 遺傳工學分野는 대략 1978年 부터 出願되기 시작하여 현재 매년 증가되고 있으며, 1986年 6月말 現在 公開된 遺傳工學 特許을 技術別로 分類해 보면 圖表에서 보는 바와 같이 총 185여건으로 이중 3件정도가 國內出願이며 그 나머지는 美國과 日本이 절반이상을 차지하고 그의 獨逸·스위스·네덜란드·英國·오스트리아등 순으로 特許出願이 이루어지고

〈圖 表〉

公開된 年度	1984. 12 (累計)	1985	1986. 6	1986. 6 (累計)
遺傳子 DNA-벡터	51	14	1	66
造 作 벡터-미생물	12	25	15	52
細胞融合	9	3	1	13
細胞培養·細胞界·酵素·精製 및 백신製造	16	28	10	54
計	88	70	27	185

있다. 本稿에서는 이들 特許出願되어 公開된 技術에서 새롭고 進歩된 技術이라 생각되는 주요 特許出願에 대하여 그 技術의인 特性을 살펴보고자 한다.

圖表에 나타난 바와 같이 技術別로는 재조합된 DNA를 이용한 遺傳子 조작技術이 주류를 이루고 있음을 알 수 있다.

1) 出願 第1981-949號

(트립토판-프로모터 오퍼레이터를 이용

한 박테리아성 폴리펩티드의 製造方法)

(1) 基本 概念

本出願은 트립토판 어텐뉴에이터(attenuator)가 제거된 트립토판 오페론을 사용하여 대장균내에서 특정 호르몬에 대한 遺傳子를 발현 시키는 技術이다. 이 경우에 의해 호르몬의 발현능이 뛰어나다는 장점이 있다.

(2) 技術의 構成

A. 트립토판 Attenuator의 제거 기술

트립토판 오페론 혹은 trp-mRNA는 「...trp-promotor-operator-ribosome 결합부위(AAAAGCGT) ATCG-ATG-LE'-D-C-B-A...」로 구성되어 있으며, 트립토판 오퍼레이터 다음의 트립토판 리더(LE') 서열은 번역개시 암호인 ATG에서 시작하여 162개의 염기로 구성되어 있다. 여기서 114~156 염기순열 사이의 GC와 AT가 풍부한 염기순열이 있다. 이 부위가 트립토판 또는 히스티딘에 의해서 트립토판 오페론의 발현을 억제(Repression)시키는 트립토판 어텐뉴에이터(trp-attenuator)라고 하는 곳이다. 트립토판 어텐뉴에이터의 제거는 람다 엑소뉴클레아제와 클레노우 폴리머라제에 의해서 수행된다.

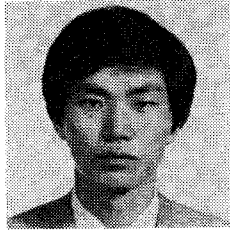
B. 트립토판 어텐뉴에이터 또는 트립토판-구조 遺傳子까지 제거된 「...trp-promotor-operator-(E) D-C-B-A-Hormone(소마토스타틴, 티모신 알파 1)...」 오페론製造.

C. 트립토판 오페론의 구조 遺傳子가 (LE-D-C-B-A)가 모두 제거된 「...trp-promotor-operator-Hormone(인간성장 호르몬)」 오페론의 製造.

D. 상기한 B, C의 오페론을 갖는 플라스미드의 製造.

E. 상기한 D의 플라스미드를 대장균내에서 培養하

왔나 動向(完)



朴炳錫
<特許廳 審査官>

는 技術.

A) 플라즈미드 증식기 : 트립토판을 충분한 농도로 배양배지에 첨가하여 배양시킴으로써 외부 DNA인 호르몬 또는 구조 遺傳子가 융합된 호르몬의 발현이 억제된다. 이때 플라즈미드의 증식이 일어난다.

B) 호르몬 또는 융합호르몬의 발현기 : 트립토판을 제거한 배지에서 培養시켜서 에텐뉴에이터 기능없는 微生物이 배지에서 培養되어 호르몬 또는 구조 遺傳子가 융합된 호르몬의 발현이 증가된다.

2) 出願 第1981—3751號

(재조합 DNA를 함유한 숙주세포를 安定化 및 選別化 시키는 方法

Stabilizing and selecting Recombinant DNA Host Cell).

(1) 基本 概念

재조합 DNA를 폴리펩티드로 발현시킬 수 있는 숙주내에 함유시키고 이숙주를 安定化와 選別化 하는 方法이며, 또한 세포내에서 발현된 산물을 정제키 위한 숙주세포 分解에 있어 簡便하고 값싼 方法을 提供한다. 이 技術은 과거의 플라즈미드 培養을 위해 값비싼 抗生劑사용 및 사용된 抗生劑의 培養液내에 함유로 인해서 최종산물인 특정 호르몬 및 化學物質의 분리에 난이점을 해결하는 장점을 제공한다.

(2) 技術의 構成

A. 다음 (A)—(B))으로 구성된 형질 전환된 숙주세포 製造.

A) 재조합 DNA 벡터 製造

rep gene(억제 遺傳子)와 functional gene(機能 遺傳子) 모두 함유해야 한다. 그리고 복제원(Replicon)과 억

目 次

1. 머리 말
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. 맺 는 말

(고딕은 이번號, 명조는 지난號)

제 遺傳子에 의해 둔감한 프로모터를 갖는다.

B) 염색체상의 표식 물질(Chromosomal maker) : 숙주세포는

치사(lethal) 또는 조건부치사(conditional lethal) 해야하고 크로모솜말 마커는 정상시는 재조합 DNA 벡터내에 함유된 억제 遺傳子(rep gene)에 의해 억제되어져야 한다.

B. Suicidal 세포의 製造

숙주세포의 크로모솜상에는 세포자체를 용해하는 치사인자(lethal marker)를 갖고 숙주내의 재조합 벡터는 치사인자에 대한 억제자(Repressor) 또는 상호보충적인 遺傳子를 갖는다. 따라서 벡터를 제거한다면 세포는 자체적으로 용해되어 죽게된다. 여기서 치사인자(lethal marker)는 람다파아지를 사용하며, 크로모솜 상에서 용균화(lyticstage)와 용원화(lysogenic stage) 性質을 이용한 것이다.

따라서 배양 공정이 끝나는 산물을 분리할 때 재조합 벡터내의 억제 遺傳子가 기능을 못하도록 온도를 높히던가 혹은 타의 수단으로 하여 숙주세포의 크로모솜내에 있는 람다파아지를 活性化시켜 세포를 용균화시켜 分解한다.

3) 出願 第1981—2120號

(비글리코실화된 인체인터페론의 제조방법)

(1) 基本 概念

과거에는 인체세포 培養 추출물에서 얻어진 글리코실화된 인터페론은 매우 희귀하고 비싸며 그 용도가

극히 제한 되었었다. 따라서 本 出願은 비글리코실화된 人間 섬유아세포 프리 인터페론 또는 완전히 성숙된 인터페론 遺傳子를 각각 플라즈미드 104R과 117R로 구성하여 대장균에 형질전환 시키는 것이다. 또한 백혈구 프리인터페론 유전자도 PBR 322를 사용하여 PLG 300로 구성하여 대장균에서 발현시킬 수 있다. 여기서 말하는 프리인터페론이란 21개의 아미노산로 구성된 리더서열이 더불어 있는 것을 말한다. 本 發明에서는 리더서열이 있는 프리비글리코실화된 인터페론과 리더서열이 없는 비글리코실화 인터페론의 경우 둘다 활성 비글리코실 인터페론이 대장균에서 발현된다. 아마도 대장균이 21개의 아미노산 서열을 함께 잘라버리는 것으로 보인다.

(2) 技術의 構成

A. 플라즈미드 104R 製造

104R는 락토 프로모터(Shine-Dalgarno 서열갖는 이동성 프로모터 함유), 7개의 염기쌍으로된 번역 시작 부위 및 비글리코실 인간 섬유 아세포 프리 인터페론 遺傳子로 이루어진 융합 遺傳子를 함유한다. 여기서 Shine-Dalgarno 서열과 번역개시암호 ATG 사이에는 2~14염기쌍이 존재하는 것이 적당한 발현을 위해 사용된다. Shine-Dalgarno 서열이란 공통적으로 나타나는 라이보솜 결합부위이다. 그래서 104R는 다음과 같은 구성을 이룬다.

...lac p—Shine—Dalgarno—2—14b. p—ATG(pre IF)—lac i—lac z...

B. 플라즈미드 117R 製造

플라즈미드 104R이 프리인터페론을 사용하는데 비해 117R는 성숙된 인터페론 번역 시작부위에 lac-promotor를 결합시켜서 프리 부위가 제거된 인터페론 遺傳子로 構成되어 있다.

C. 발현 공정

대장균에 A, B의 플라즈미드로 형질전환시키고 생성된 산물이 베타갈락토시다제를 함유하므로 특정염색약을 이용하여 발현을 검색하여 선별한다.

또 人間 백혈구 프리 인터페론 遺傳子를 PBR 322에 삽입시켜서 PLG300으로 구성된 다음 대장균 K-12에서 발현에 사용될 수 있다. 여기서도 앞의 경우와 같이 Shine-Dalgarno 서열과 번역개시 신호인 ATG사이 가 2—14염기쌍이 적당하다.

4) 出願 第1980—2658號

(복제 가능한 클로닝 비클의 製造 方法)

(1) 基本 概念

지금까지는 目的하는 호르몬을 실질적으로 절단할 수 없는 생체비활성 접합생성물의 微生物學的 생산만이 가능했다. 따라서 本 出願은 힌이드는 완전 유기합성법에 의하지 않고서도 역전사에 의해 유전암호 서열의 상당한 부분을 제공하고(즉 c DNA를 합성), 나머지 유전암호서열은 합성하여 생체비활성 리더서열 또는 외태성 단백질이 포함되지 않은 목적 폴리펩티드를 발현시킬 수 있는 완전한 遺傳子를 수득 하는 類似 遺傳子 합성(Quasi synthetic gene) 및 발현방법이다.

(2) 技術 構成

人間 성장호르몬(HGH) 1~24 염기까지는 유기 합성하고 PHGH3를 구성한다.

또 HGH의 24—191까지는 mRNA에서 부터 REVase(역전사 효소)로써 복제하여 클레노우 DNA 폴리머라제로 d.s.C DNA를 형성하고 HaeIII로 절단하여 GC배일링 한후 PBR322에 삽입시켜서 PHG31을 구성한다.

또한 A의 PHG3과 B의 PHG31의 삽입물인 HGH의 1—24와 24—191 서열을 각각 분리해서 접합시킨 후 완전한 HGH(1—191)을 갖는 PHGH 107을 형성하여 E.coli×1776과 K-12에 형질전환 시킨다.

5. 明細書 記載時 留意 事項

明細書의 發明의 詳細한 說明에는 그 發明이 속하는 技術分野에서 通常의 知識을 가진자가 容易하게 實施할 수 있도록 그 發明의 目的, 構成, 作用 및 效果를 記載해야 한다. 그리고 特許請求의 範圍는 明細書에 記載된 發明의 構成에 없어서는 아니되는 事項중 保護를 받고자 하는 事項을 明確하고 간결하게 기재해야 한다고 우리의 特許法에 明示되어 있다.

1) 微生物 관련 發明에 있어서

일반적으로 그 請求範圍는 遺傳子 및 벡터의 경우 그 취득方法, 제한효소부위지도 및 遺傳子의 염기배열을 한정해야 한다. 다만 특정한 경우에 염기 배열로 한정키 곤란한 경우는 遺傳子의 크기, 분자량을 비롯한 上記 遺傳子를 特定할 수 있는 理化學的인 性質을 記載해야 한다.

微生物인 경우는 속명(Genus) 증명(Species)을 기재

하고 特定の 形質轉換株를 표시해야 한다. 예를 들면 대장균 ×××(Escherichia coli×××)로 원명과 함께 명기하여 표시한다.

明細書에 있어서는 本發明에 사용된 微生物의 入手處 또는 寄託을 하고 寄託番號를 기재하여야 하며, 당해 기술분야의 통상인에 의해 실시 가능하도록 發明의 목적과 구성 및 효과를 명확하게 분자적 수준으로 기재해야 할 것이다.

2) 植物 관련 發明에 있어서

일반적으로 特許請求 範圍는 植物品種 자체의 發明인 경우는 植物自體의 新規한 特徵을 명확히 하기위해 遺傳子의 구성으로써 이것을 特定해서 기재하는 것이 가장 바람직한 것이다. 그러나 현재의 技術水準으로 상기한 바와 같은 기재가 곤란한 경우가 많기 때문에 당해 品種이 기존의 品種과 구별이 되는 형질 즉 特性에 따라 植物品種 自體를 特定해서 기재하는 경우도 있을 수 있다.

6. 植物特許와 그 展望

植物特許는 21世紀를 대비한 식량확보와 生物工學的인 尖端技術의 開發 및 導入으로 인해 植物의 法的인 保護制度 개선이 필요한 때이다.

1930年 美國이 植物의 新品種 育成者를 保護하는 植物特許制度를 채택 운용하게 된것을 효시로 西歐 各국은 1960年 이래 이러한 制度를 채택 운용 중이다. 또한 이들 국가들은 1961年 구라파 各국간에 성립된 植物新品種保護에 관한 國際條約(Upov)의 加盟國으로서 국가 상호간에서도 각각 상대국의 권익을 保護하고 있다. 1961年 UPOV(Union International pour la Protection des Obtentions Vegetables) 條約은 1968年 8月 10일에 발효 되었으며 條約 발효당시 西獨, 네덜란드, 英國의 3各國에서 1980년에는 12個國家에 달했다. 1961年의 本條約은 그 획일성과 탄력성이 결여되어 있는 관계로 해서 서구유럽과 植物保護의 역사적 배경이 다른 美國등과 조화를 이룰수 없는 관계로 1978年 改正되었다. 1983年 10月 15日 現在로 UPOV 동맹국은 17個國으로 벨기에, 덴마크, 프랑스, 스페인, 日本, 英國, 美國, 西獨, 헝가리, 아일랜드, 이스라엘, 이탈리아, 뉴질랜드, 스웨덴, 네덜란드, 남아프리카, 스위스가 포함된다. 이들 17個國중 法體系로서는 헝가리, 이탈리아, 美國을 제외한 14個國은 特許法과는 별도의

法에 의해서 條約에 規定된 植物品種에 대한 育成者의 權利를 保護하는 制度를 갖고 있다. 주요국가별로 法體系를 살펴보면 다음과 같다.

1) 헝가리 및 이탈리아의 경우

特許法중에 植物品種保護를 위한 規定을 설정하여 가맹하고 있다.

2) 美國의 경우

1970년에 유성번식 植物을 대상으로 하는 植物品種保護法(Plant Variety Protection Act)을 정하였으며 特許法下에서 무성번식 植物을 대상으로 하는 2가지法을 가지고서 UPOV에 加盟하고 있다.

3) E P C (유럽特許協力條約)의 경우

特許法의 예외를 規定한 第53條(D)에 不特許 發明으로써 植物品種 및 植物生産을 위한 生物學的 方法을 들어 UPOV조약측에 委託하는 형식을 취하고 있다.

4) 西獨·프랑스의 경우

과거에 일시 特許法下에서의 植物特許를 인정한 실적이 있는 西獨이나 프랑스등에서는 개개 국가의 植物品種保護를 위한 特別法에 保護對象이 되어 있지않은 중간장종등에 대해서는 예외적으로 特許出願 대상으로 배려되어 있다.

5) UPOV 條約에 가맹치 않은 소련등의 社會主義 國家의 경우

植物의 경우 다른 工業的 發明과 마찬가지로 표창 제도적인 發明者證 부여 제도가 있다.

여기 나와있는 UPOV條約은 前文, 本文 42개조로 되어있으며, 保護의 방식, 내국인대우 및 상호주의 保護對象이 되는 植物의 種類, 保護되는 權利 및 保護範圍, 保護의 이익을 받기 위한요건, 保護의 기간, 品種의 명칭보호, 우선권 등에 관해 규정하고 있다.

7. 맺는 말

이상과 같이 遺傳工學 發明의 公開된 技術과 微生物의 寄託制度 및 植物特許에 대해 간략히 살펴 보았다. 앞으로 生物工學 技術의 發達로 微生物 분야나 動物·植物의 特許法的인 保護와 이로부터 발생되는 문제에 대해서 세심한 주의를 기울여야 할 것이다. 本稿에서는 제한된 지면으로 인해 충분한 考察을 하지 못한 것에 대해 양해를 구하는 바이다. <○>