

## 생물공학기법에 의한 수의과학활용현황

안수환 · 강문일\*

생물분야의 눈부신 발전이 지난 수십여년간에 이루어져 왔고 특히 면역학 및 세포와 분자생물학의 발전속도는 하루가 다르게 변하고 있는게 작금의 현실이다. 이러한 학문적 진전은 과거에 도저히 알수 없었던 여러가지 생명현상은 물론 질병발생의 기전들을 설명해주고 있고 우리 수의사들의 관심사인 정확한 질병진단 및 예방부분에 있어서도 상당한 진보적 성과를 거두기 시작하고 있다. 최근 일련의 생물공학기법에 의한 개발품으로서 우리가 사용할 수 있는 것으로는 인슐린, 소나 돼지의 성장호르몬, 돼지오제스키병예방약 등을 쉽게 들 수 있다. 이들 개발품들은 여러가지 생물공학기법에 의해 만들어지고 있고 앞으로 개발중인 것들도 수의사의 입장에서 보면, 어떠한 기법이던간에 이들 개발품들의 효능이나 안전성 등의 검사가 결국 동물들에서부터 시작되기 때문에 우리의 책임이 상당하다고 아니할 수 없다. 본 글에서는 세계적으로 현재 사용되고 있는 수의분야의 생물공학기법에 의한 예방 및 진단법의 활용현황을 간략히 조망해보고자 한다.

우선 질병진단부분에서 이들 기법의 응용방향은 첫째 기존진단법의 개선을 들 수 있다. 생명공학적 진단기법은 특이적인 감수성을 가지고 있다. 예를들면 가축이 어떤 바이러스감염병에 걸렸을 경우 그 병원체에 선택적으로 반응하는 항체나 핵산탐색자(뉴클레오타이드)를 가지고서 이 질병을 쉽게 진단할 수 있다. 또한 유전자나 각종 생물공학적 조작을 통해 백신에 의해 형성된 항체와 야외감염에 의해 만들어진 항체와의

감별을 비롯, 돼지오제스키병의 병원체인 허피스바이러스나 소바이러스성설사증을 일으키는 페스티바이러스 등에 의한 잠복성숙주동물(병원체를 옮기는 숙주동물)의 검색이나 바이러스분리를 위한 새로운 잠복세포주를 만들어 내는데 응용되고 있다. 결국 생물공학기법의 질병진단을 위한 응용은 진단목표가 가축질병의 어떤 세균, 기생충 혹은 바이러스항원의 검색에 있거나 또는 감염병원체에 대응하는 항체를 찾으려고 하던간에 기존의 진단법보다는 훨씬 가성양성을 줄일 수 있을 뿐만아니라 높은 특이진단효율이 있다. 이미 80년대 초부터 가축위생연구소에서 개발(그림 1)하여 국내 야외질병진단에 사용중인 단크론항체(표 1)는 가검물(혈액, 조직 등)에 존재하는 병원체를 간단하게 찾아낼 수 있으므로 신속하고도 정확한 감별진단에 기여하고 있다. 이 단크론항체에 의한 가검물의 양성결과(발병축내 병원체의 존재를 의미)는 이들 항체에 형광색소, 방사선동위원소 또는 여타 효소들을 결합시켜 실험실에서 편리하게 사용할 수 있다. 또한 이 단크론항체는 플라스틱이나 종이스트립에 결합시켜 항원(병원체)을 찾아내기도 하는데, 이 진단기법을 소위 효소표지면역흡수분석법(Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)이라고 한다. 이 기법은 바로 단크론항체를 사용함으로써 고도의 진단특이성을 지니도록 한 것이다. 최근의 추세는 이들 단크론항체를 보다 용이하게 사용가능토록 키트로 만들어 상품화를 추진중이거나 이미 시판중이기도 한데 예컨대 질병진단용으로는 소의 백혈병, 구제역, 말 전염성빈혈, 돼지 오제스키병, 개 파보바이러스감염증 및 심장사상충증, 고양이 범발성백

\* 가축위생연구소

표 1. 생물공학적인 기법에 의한 가축질병진단법 및 예방약 개발현황

방 법	대 상 질 병
○ 단크론 항체법	톡소플라즈마, 부루셀라병*, 피사간균병, 파스튜렐라증, 마이코플라스마병, 결핵, 구제역, 일본뇌염*, 소바이러스성설사증*, 주육포자충증, 전염성위장염*, 오제스키병*, 전염성비기관염*, 전염성후두기관염*, 마레병*, 뉴캐슬병*, 돼지콜레라*, Border병, 광견병*, 돼지파보바이러스감염증*, 살모넬라병*, 랩토스파이라병*, 전염성비기관염*, 닭레오바이러스감염증*, 터키허피스바이러스감염증* 등
○ 제한효소 분석법	오제스키병, 소전염성비기관염, 랩토스파이라병, 결핵, 파스튜렐라증, <i>Yersinia enterocolitica</i> , <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> 등
○ 핵산탐색자	아나플라즈마증, 바베시아증, 결핵, 사상충, 광견병, 우역, 캠페일로박터증, 살모넬라증, 리스테리아증, 랩토스파이라증, 대장균증, 마레병, 조류클라미디아증, 전염성비기관염, 돼지파보바이러

방 법	대 상 질 병
	스감염증, 로타바이러스감염증, 마이코플라스마병, 알파바이러스감염증, 불루팅, 코로나바이러스감염증, 전염성위장염, 밍크알류산병, 감보로병, 소전염성바이러스설사병, 돼지콜레라, 소아테나바이러스감염증, 소백혈병, 아프리카돼지콜레라, 개파보바이러스감염증, 구제역, 개디스토펙과, 메기바이러스감염증 등
○ Subunit백신	구제역, 알파바이러스감염증, <i>Eduadsella tarda</i> 감염증 등
○ 일부유전자 삭제백신	오제스키병
○ DNA재조합 백신	대장균(K88과 K99), <i>Boophilus microplus</i> (진드기일종), 바베시아증, <i>Taenia ovis</i> , 코로나바이러스감염증, 감보로병, 소바이러스설사병, 소전염성비기관염, 폐염쌍구균증, 광견병, 로타바이러스감염증; 연구중인것- <i>Coccidia</i> , <i>Echinococcus granulosus</i> , <i>Toxocara</i> , <i>Salmonella</i> 등

\* 1990년도말 가축위생연구소에서 개발가능할만한 단크론항체(16종)

혈병, 광견병 등이 있으며 프로세스테론과 같은 호르몬의 검색 및 역가측정이나 항생제, 설파제와 같은 화학적 잔류유해물질검사용도 있다. 이외에도 단크론항체는 세균이나 바이러스의 백신주와 야외주(株)간의 구별에 매우 유용하며 근자에는 이들을 이용하여 어떤 특정병원체(항원)에 노출된 결과 가축의 혈액이나 우유내 자연적으로 생긴 항체를 찾아내는 기법들의 응용이 활발하다. 둘째로 새로운 기술개발분야이다. 각개병원체들의 특이적인 “유전자제한지도(restriction maps)”는 여러가지 유전자 제한효소들로 그 병원체들의 핵산을 소화(消化)시킨 다음 전기영동으로 절단된 유전자 단편의 이동상황을 분석하여 결정할 수 있다. 이러한 생물공학적 진단기법을 소위 “제한효소분석법”(혹은 DNA fingerprinting)이라는 진단법(표1)이다. 이 방법은 흔히 바이러스를 동정하기 위해서 사용하고 있는 기존의 혈청학적방법이 매우 유사한 특정 바이

러스의 혈청형이나 변이형을 구별하기 어려운데 비해 이 제한효소분석법으로는 같은 바이러스들의 미세한 유전자변이형도 찾아낼 수 있으며, 역학적연구에도 실용화할 수 있기도 하다. 다음으로 DNA교잡(hybridization)을 이용한 매우 강력한 질병진단법으로 고도의 특이성을 지닌 DNA탐색자이용기법(표1)이 있다. 이 기법에 소요되는 것이 핵산탐색자(nucleic acid probe)로서 이 기법개발(그림2)은 생물공학기법중 가장 괄목할만한 진전이랄 수도 있다. 어떤 DNA탐색자들은 병원성 랩토스파이라의 serovar들처럼 검색하기 어려운 특정한 혈청학적 변이주들도 검색가능하고 또다른 탐색자들은 동정하기 매우 힘든 *Mycoplasma*, *Mycobacterium*, *Chlamydia*, *Brucella*소균의 감별진단에 사용되고 있다. 이외에도 로타바이러스, 코로나바이러스, 돼지콜레라, 우역 및 광견병 등에 대한 탐색자도 선진연구실에서 실험적으로 활용되고 있다(표1). 이 유전자

탐색자진단법은 유전자를 증폭시켜주는 소위 폴리머라제 사슬반응(Polymerase Chain Reaction

표 2. 생물공학기법에 의한 백신생산기법

특수한 순화법	간단한 설명에
○ 세균성 백신 -변이성(대사성 장애이용)	<i>Salmonella dublin</i> 기존백신 접종 시 송아지는 갈락토오스대사 장애유발로 종종 치명적 알러지반응 발생되기 때문에 화학적처리로 새로운 변이백신주 개발
-변이독소(Toxoid) 백신	면역학적 독소활성유전자 제거원리이용 장복형성 대장균의 두 주요독성결정체중 열에 불안정한 장독소를 선별, 두가지 장독소구성 인자중 한가지만 선별
○ 바이러스성 백신 -유전자조작 및 재배열 ( <i>Teassortment</i> )	바이러스유전자는 상호감염 시 자연적 재배열능력이 있음 을 이용 ; 소로타바이러스에 사람 로타바이러스의 표면항원이 재배열시 약한 병원성의 백신주 선별가능
-변이성	바이러스 genome의 일부삭제로 일부 허피스바이러스의 순화주생산에 이용하거나 단크론항체이용 순화주선발(예 : 로타바이러스)
<u>Subunit백신</u>	재조합DNA기법이용 병원체의 유전자를 세균 또는 유핵세포내에서 클로닝하고 발현시키는 원리이용 ; 간염바이러스, 대장균 등
<u>합성 펩타이드백신</u>	실제 면역항원의 적은 부위가 항원결정기로서 면역반응을 유도함을 이용 이 필수부위의 염기서열을 분석인공적으로 방어항원을 합성(예 : 구제역, Cholera등)

PCR)이 도입되어 매우 향상될 것으로 믿어지며 특히 앞으로 이들 기법들의 단점이 되고 있는 방사선동위원소의 표지법이 비방사선동위원소표지로서 대체됨으로써 유전자탐색자를 이용한 검색이 더욱 편리해질 것으로 여겨진다.

다음으로는 가축질병예방부분을 생각할 수 있다. 가장 집중적인 연구가 수행되고 있는 부분은 가축예방측면이며 이 방법으로 개발된 백신의 안전성과 효용성의 검사에 어려운 문제를 안고 있으나 기존 백신생산기법으로는 개발이 불가능한 연충류, 원충류, 리켓차나 몇몇 세균과 바이러스에 대하여 새로운 생물공학적기법에 의한 백신개발(표 2) 전망이 밝다.

첫째로 생물공학은 기존백신의 안전성과 면역원성을 개량함으로써 질병방역에 일조함은 물론 다음 두가지 방법으로도 질병예방에 기여할 수 있다. 그 하나는 유전적형질과 질병에 대한 저항성을 예로 들어보자. 실험실이나 야외조건하에서 특정질병에 가장 저항성이 뛰어난 종축을 선정하는 기법은 바이러스질병인 스크래피나 원충성질병인 트리파노조마병 등에 대하여 이미 몇몇 나라에서 실용화단계에 있다. 이러한 질병 저항성종축의 선별은 특정 감염병에 대한 저항인자의 핵산탐색자로 대상가축을 선별함으로써 가능하다. 현재 이와 유사한 시도가 돼지에서 주요한 세균성설사유발 대장균인 K88항원이 부착될 돼지의 소장상피세포 수용체를 유전적조작을 통해 없앤다든가 혹은 양(羊)에서 리스테리아병의 발병과 관계되는 C5a(보체의 일종)가 결손되게 하거나 또는 살모넬라병에 대해 감수성이 높게하는 유전자를 없애버리는 등의 방법으로 진행되고 있다. 또한 소에서 주요조직적합원계(Major Histocompatibility Complex, MHC)에 관여하는 유전자의 역할이 연구중인 바 이들 유전자는 타일레리아증이나 유행성백혈병 등에 대한 저항성을 주는데 관여되는지 주목하고 있고, 가금분야에서도 이들 MHC유전자들이 마래병이나 자가면역홍선염 등과의 관련을 추적하는 방향으로 추진되고 있다. 특히 닭마래병의 경우는 종계의 유전자내에 이 질병의 저항유전자를 삽입시키는데 그 목적을 두고 있다. 이러한 진전은 가축에 대한 질병의 저항성 혹은 감수성에 관계된 분자수준의 지식의 기초하에 이루어지고

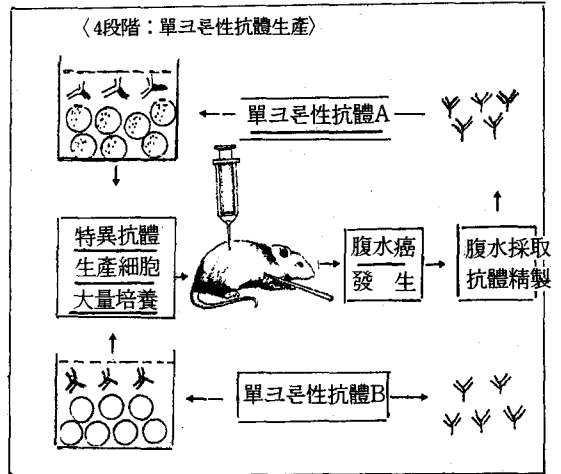
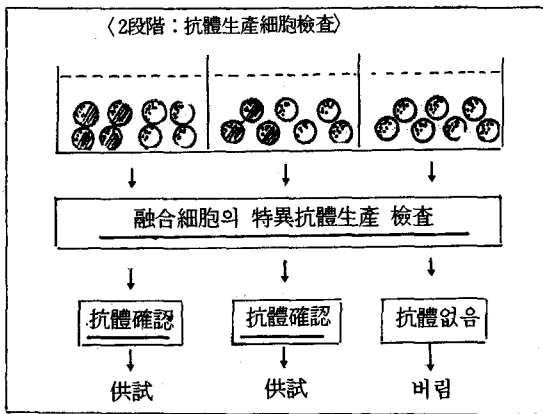
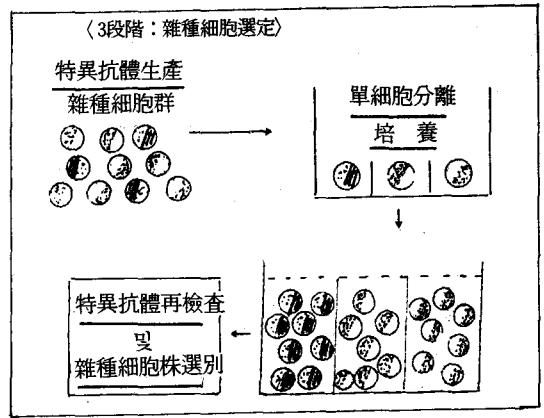
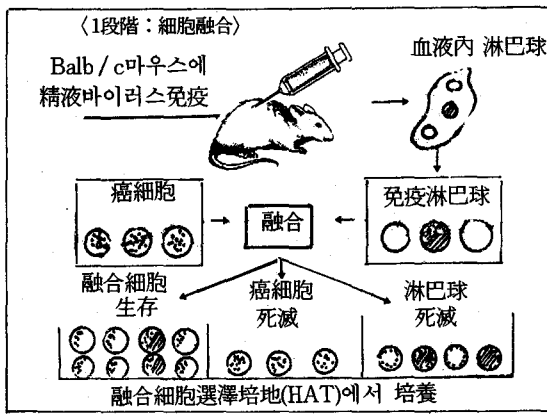


그림 1. 單크론抗體生産體系圖.

있으며 머지 않아 소의 특정핵산 전구물질 합성 효소의 결핍과 같은 선천적인 유전성결손도 진단이 가능하게 될뿐만 아니라 한 종(種)에서 다른 종(예컨대 인플루엔자바이러스감염증에 저항성이 있는 쥐유전자를 돼지에게 옮기는 등)에게 저항 유전자를 옮겨주거나 혹은 잘못된 유전자를 건강한 유전자로 바꾸어 주는 것 등이 가능하게 될 것이다. 나머지 다른 한 방법은 예방접종이 대표적인 후천적면역에 관련된 것으로서 실제 여러 생물공학적이법은 백신을 개선하는데 응용되고 있다. 예를들어 약독화백신이나 가토화돼지콜레라바이러스, 닭마래병에 대한 칠면조바이러스 혹은 여우에 사용키 위해 햄스터세포에 계대시킨 광견병바이러스와 같은 순화주 또는 인공변이주에 대한 특이 포식자(maker)로서 단크론항체가 사용가능한데 그 활용의 종류를

보면 백신주(株)를 다른 변이주나 야외주와의 구별, 확실한 항원부위의 변이로서 얻어진 백신주의 더욱 합리적인 선별 그리고 특정조건하에서 고도의 면역성과 병원성이 적은 백신변이주의 선별 등을 생각할 수 있다. 현재 개발중에 있는 백신들 중에는 백신접종동물의 생활적정도하에서 증식이 잘 안되는 열에 감수성이 있는 백신주로부터 열에 저항성이 있는 등 다양한 성질의 변이주로 만드는 백신개발이 활발하다. 이러한 예로서 송어 라브도바이러스성 패혈증에 대한 백신은 열저항성변이주로 만든 것이고 클라미디아병, 돼지콜레라, 오제스키병에 대한 백신은 열에 감수성이 있는 변이주를 사용하고 있다.

둘째로 새로운 기술개발부분을 보면 수많은 신기술들이 생물공학적이법에 의해 개발되고

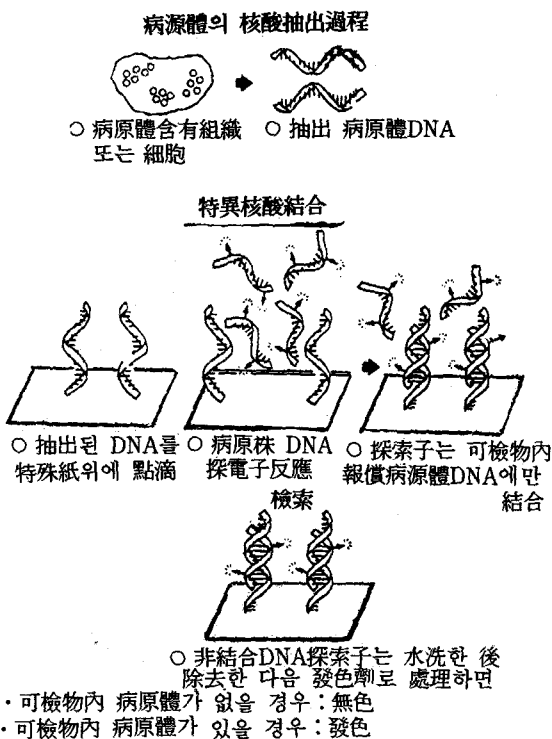


그림 2 病原體 檢出用 DNA探索者利用圖

있다. 앞서의 선천성면역을 이용한 연구로서 질병저항유전자(예, 닭마라병)를 직접 대상 가축에 옮겨 넣어주거나 특정 genome내 특정항원(예: 닭 백혈병바이러스)에 상응하는 염기배열을 찾아내는데 주력하고 있는데 이 기법은 대상 가축이 여러 세대에 걸쳐 지나는 동안 특정 병원체에 대한 선천성저항능력을 획득하도록 하는데 있다. 신기술개발중 후천성면역부분에 대한 주요한 발전은 백신생산에서 이루어지고 있는바 우선 백신접종동물내에서 증식할 수 없는 새로운 종류의 비복제성 백신 등을 들수 있다. 많은 백신들이 병원체중 면역원성을 지닌 부위를 분해서 만든 일종의 합성펩타이드 조작으로 만들어지고 있는데 예컨대 소 로타바이러스, 구제역 바이러스, 광견병바이러스 등에 대한 백신들이 바로 이 종류에 속한다. 하지만 이러한 종류의 백신들은 접종동물에 단지 일차 면역반응만을 일으킴으로 2차 면역반응까지 나타내게 하려면 항원의 입체구조가 재구성되게 하기위하여 지질소포(脂質小胞)와 같은 면역보강제를 사용해야 한다. 특정병원체의 핵산조각도 역시 유전조각에 의해 vector내에 넣어 불활화시킬 수 있어서

결국 돼지장염방제를 위해 K88을 가진 비병원성 *Escherichia coli*에서 시도되고 있는 바처럼 특정병원체의 면역원성조각을 암호화한 DNA들을 비병원성미생물내로 옮길 수 있는 기법이 활용되고 있다. 다른 기법으로는 백신항원에 대한 특이 단크론항체로서 면역시킨 동물에 의해 만들어진 항체를 활용하는 방법으로 이 원래의 항원에 대한 내적인 상(image)인 이 항체를 소위 항(抗)인자형(idiotype)이라 하며 백신으로서도 사용가능하다. 한편 동물체내에서 증식할 수 있는 새로운 복제백신의 기법개발원리를 보면 백신한 동물들에게 이들 개발백신이 해롭지 않게 하기 위해서 그 백신대상병원체의 genome을 변화시켜 주는 것이 그 하나인데 보통 이 기법은 독성과 관련된 특정유전자나 단백질 혹은 펩타이드를 없애주는데 사용한다. 이들 유전자들은 DNA의 직접적인 조각이나 특정 항원결정부위(epitope)가 결손된 변이병원체를 단크론항체를 이용선택함으로써 제거가 가능하다. 다음 응용원리는 어떤 vector내에 병원체의 면역원성을 지닌 조각을 유전자코드를 집어넣는 방법으로 바베시아증과 같은 원충류나 우역, 광견병같은 바이러스질병에 대한 이 종류의 백신개발에 현재 많은 연구가 이루어 지고 있다.

생물공학기법의 질병치료부분을 보면 크게 항생제치료, 수동면역 그리고 인터페론과 임포카인의 사용 등 세가지로 나눌 수 있다. 첫째로 세균에 의해 불활화되지 않는 새로운 항생제를 개발키 위한 생물공학기법의 응용은 지금까지 주로 사람의 치료용에 한하여져 왔다. 하지만 수의영역에서의 이 분야의 접근은 매우 유용할 것으로 믿어지며 특히 세균내 저항포식자(marker)를 찾아내기 위해 동물들의 항생제에 대한 저항출현의 감시같은 일의 수행에 도움이 될 수 있으리라 기대된다. 하나의 세균에서 다른 세균으로의 저항성 유전자가 전이되거나 염색체외의 DNA로 구성된 플라스미드는 포함(包含)되거나 전형(轉形)에 의해 추출하여 옮길 수 있는데 바로 이러한 조작을 통해 플라스미드를 동정할 수 있다. 지금까지 사용하고 있는 치료용 고도면역혈청보다도 보다 특이성이 높은 단크론항체를 사용할 시(예, 소의 장염치료) 그 효용성과 경제성분석이 시도되고 있다. 인터페론은 세포

내 항바이러스성 저항을 이끌어내는 단백질인데 반하여 림포카인(인터루킨, 사이로카인)은 세포 면역반응의 조절 또는 매개하는 물질로서 주로 이들 단백질들은 사람의 치료용으로써 실험동물을 모델로 이용하여 연구되고 있다. 유전자재조합을 포함한 새로운 생물공학기법은 경제적으로 수의용의 인터페론과 사이토카인 등의 생산이 가능하게 할 것으로 전망하고 있다. 실제 대장균에 의해 생산되는 알파인터페론이 돼지, 개, 소 및 말 등에 치료용으로 사용되고 있고, 역시 대장균에 의한 감마인터페론도 돼지의 소질병에 사용되고 있으며, 효소에 의해 산생되는 인터루킨 2도 소에 사용되고 있다.

생물공학분야는 날마다 시간마다 유용한 정보를 축적해 나가면서 새로워지고 있다. 이 글에서는 단지 가축질병에 관한 부분만을 간단히 훑어 보았으나 생물공학기법은 실제 훨씬 광범위한 곳에서 개발과 응용 및 실용화되고 있다. 축산분야와 관련된 몇몇 연구를 보면, 첫째 기존의 유전정보를 이용한 기술분야로서 여러동물의 종을 교잡내지 선발된 품종의 증식을 위한 태아이식(embryotransfer)을 한다거나 질병진단, 예방, 치료 혹은 유용물질생성 등을 위한 미생

물의 선정을 하거나, 호르몬을 비롯 각종 단크론항체 및 면역성 펩타이드의 생합성을 위한 세포 혹은 생산물의 선발 등이 그런 예에 속한다. 다음으로 새로운 조합유전자를 만들거나 기존유전자를 변이케 기술로서 특정 실험동물계통의 작출, 생독백신생산용 미생물의 변이주작출, 단크론항체생산을 위한 세포융합, 가축질병진단용 핵산탐식자생산에 사용되는 DNA교잡 등의 기법이 있다. 마지막으로 DNA조작을 통한 새로운 유전자형의 제작기법으로서 생산성을 높이기 위한 이종성 품종(chimera, 예, 양털을 가진 젓소) 작출과 효소, 호르몬, 인터페론, 림포카인 및 백신 등의 실험실생산을 위한 미생물내 이종 유전자의 삽입 내지 유전자의 삭제 등이 있다. 결론적으로 축산 전반은 물론 사람자신과 지구생존환경 등 모든 분야에서 21세기는 생물공학이라는 학문에 의해 엄청난 생물학적 변혁을 격게 되리라고 보아진다.

註: 이 글은 Blancoou박사가 국제수역사무국발간 기술보고잡지(1990년 3호)에 게재한 "수의과학내 생물과학기법의 유용"의 주요부분을 주로 발췌 인용하되 기타 여러 최근 자료를 참고하였음을 밝혀둡니다.

사무실 이전

대한수의사회 고문변호사

朴 商 祺 변호사

이전장소 : 서울 서초구 서초동 1716-10  
(중앙빌딩 3층 302호)

전화 : 594-6124, 6125