

< Original Article >

## 자돈에서 *Sus scrofa* ferritin Heavy-chain 생산 재조합 효모의 효과

최영준<sup>1</sup> · 임 환<sup>1,2</sup> · 김현철<sup>1</sup> · 김종택<sup>1</sup> · 이기종<sup>3</sup> · 정배동<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>강원대학교 수의학대학, <sup>2</sup>(주)에드바이오텍, <sup>3</sup>연세대학교 보건과학대학 임상병리학과

### Effect of recombinant yeast producing *Sus scrofa* ferritin Heavy-chain on piglets

Young-Jun Choi<sup>1</sup>, Hwan Lim<sup>1,2</sup>, Hyeon-Cheol Kim<sup>1</sup>, Jong-Taek Kim<sup>1</sup>,  
Ki-Jong Rhee<sup>3</sup>, Bae-Dong Jung<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>College of Veterinary Medicine, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

<sup>2</sup>ADBIOTECH Co., LTD, Chuncheon 200-883, Korea

<sup>3</sup>Department of Biomedical Laboratory Science, College of Health Sciences, Yonsei University at Wonju, Wonju 220-710, Korea

(Received 24 July 2012; revised 26 July 2012; accepted 3 August 2012)

#### Abstract

Iron deficiency anemia is also recognized as a serious disorder in many livestock, especially, piglets. We previously studied that the iron-fortified yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) producing *Sus scrofa* ferritin heavy-chain (FER) was bioavailable to mice with iron deficiency. In this study, we determined whether FER could improve iron deficiency in piglets. The bioavailability of FER was examined by measuring body weight gain, hemoglobin concentration and hematocrit value in suckling and weaning piglets. We found that FER significantly increased hemoglobin value and the hematocrit ratio in suckling piglets ( $P < 0.05$ ). Furthermore, FER treatment significantly enhanced body weight gain in both groups of the suckling and weaning piglets ( $P < 0.05$ ). These results suggest that the iron-fortified recombinant yeast strain is helpful in iron absorption in piglets.

**Key words :** Ferritin, Iron, Piglet, *Sus scrofa*, *Saccharomyces cerevisiae*

## 서 론

빈혈의 가장 주된 원인은 철분의 결핍으로 알려졌다(Clark 2009; Gasche 등, 2004). 철분은 적혈구의 혈색소를 구성하는 성분으로 산소 운반을 담당한다. 체내 철분량의 부족은 철분결핍성 빈혈을 일으킨다(Bermejo와 García-López, 2009). 사람에서 철분결핍에 의한 빈혈은 성장 지연, 행동 이상 그리고 학습 능력 저하 등의 장애를 일으키고 철분결핍의 여성에서 조산과 사산 등이 나타날 확률이 높은 것으로 알려졌다

(Leung과 Chan, 2001). 철분결핍에 의한 빈혈은 동물에서도 그 정도에 따라 위험성을 가지고 있는데, 특히 포유 자돈과 이유 자돈에서 철분의 결핍에 의한 빈혈은 체중 증가율 저하를 일으켜 심할 경우는 폐사를 유발할 수 있다(Svoboda와 Drábeck, 2005; Venn과 McCance, 1947). 철분결핍의 원인으로는 위·장관 질환, 과다 출혈 그리고 감염에 의한 철분 흡수 저하가 있다(Rockey, 2005). 이외에도 철분 저장 단백질인 ferritin의 조직 내 부족으로 인한 저장철의 감소는 적혈구의 생성과 기능 저하를 유발하여 빈혈을 일으킨다고 보고되었다(Harrison과 Arosio, 1996).

Ferritin은 사람뿐만 아니라 각종 동물, 식물, 그리

\*Corresponding author: Bae-Dong Jung, Tel. +82-33-250-8647,  
Fax. +82-33-244-2367, E-mail. bdjung@kangwon.ac.kr

고 미생물 등에 존재하는 중요한 철분 저장 단백질로써 필요에 따라 생체 대사 반응에 철분을 공급해준다(Theil, 1987). 한 분자당 최대 4,500개의 철분 원자를 저장할 수 있고 철분을  $Fe^{3+}$  상태로 보유하여 유리된 철에 의한 세포 파괴로부터 세포를 보호할 수 있다(Baynes와 Bothwell, 1990; Theil, 1990). 사람의 ferritin은 2종류의 subtype이 있는데 heavy(H)-type과 light(L)-type이다(Drysdale 등, 1977). 이 두 종류는 조직에 따라 그 조성 비율이 다르다. 돼지에서도 ferritin은 사람에서와 같이 두 종류가 존재하는데 H-type과 L-type으로 나뉜다. H-type은 성장기에 따라 혈장 및 조직 내 조성 비율이 다르며 포유 자돈에서는 H-type ferritin 농도가 감소되어 있는 것으로 확인되었다(Furugouri 등, 1983; May와 Fish, 1977).

자돈은 발육속도가 매우 빨라서 출생 시 체중은 1.0~1.5 kg에 불과하지만 1주령에는 약 2배, 3주령에는 약 4배가 되며, 따라서 각 장기 및 신체 조직도 급속도로 발육하게 된다. 이때 외부로부터 공급받는 철분의 함량이 부족하게 되면, 적혈구의 구성성분인 헤모글로빈 생성이 감소하여 자돈의 체중 증가율을 따라잡지 못하고 생후 3주령 이내에 생리적 빈혈이 발생한다(Furugouri 등, 1983; Svoboda와 Drábeck, 2005; Venn과 McCance, 1947). 자돈의 혈액 중 헤모글로빈 양이 감소하게 되면 질병에 대한 감수성이 높아져 호흡기 또는 대사성 질병이 발생하여 발육, 성장이 늦어지는 허약돈이 되기 쉽고 결국 폐사에 이르는 원인이 되기도 한다. 현재 자돈의 철 결핍증을 예방하기 위하여 철분첨제를 근육 주사하고 있다(Egeli와 Framstad, 1999; Lipinski 등, 2010). 그러나 철분의 근육 주사 투여는 조직 괴사, 근육 변색 등을 일으킬 수 있고 고농도의 철분 투여는 대사과정의 교란을 가져올 수 있다. 철분의 경구 투여는 위·장관 장애를 일으킬 수 있다고 보고되었다(Baynes와 Bothwell, 1990).

최근 우리는 빈혈을 유도한 mouse에 돼지 유전자 유래 재조합 ferritin (*Sus scrofa* Heavy-ferritin subunit protein)을 생성하는 효모를 제작하여 철과 반응시킨 FER [iron-fortified yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) producing *Sus scrofa* ferritin heavy-chain]의 경구 투여는 mouse의 철분결핍성 빈혈을 억제한다고 보고하였다(Lim 등, 2012). 이번 연구에서는 FER을 혼합한 포유 자돈과 이유 자돈용 경구 첨가물과 사료를 제조하였다. 그리고 각각의 목적 동물에 급여하여 체중 증가율 및 혈액 내 WBC, RBC, hemoglobin (Hb) 그리고 hematocrit (Ht) 수치를 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 실험동물 및 경구 투여용 첨가물 제작

생후 3일령 포유 자돈 20두를 구입하여(3원 교잡종 <Yorkshire×Landrace>×Duroc, 정진농장, 황성, 한국) 대조군으로 10두, 실험군으로 10두를 사용하였다. 대조군 중 5마리에는 생리식염수를 주사하고 나머지 5마리에는 철분 주사제 글렙토실(씨티씨바이오, 한국)를 각각 3일과 10일에 하루에 한 번 총 2회 근육 주사하였다(100 mg/kg). 실험군 10두에도 대조군과 같은 방법으로 5마리에는 생리식염수를 주사하고 나머지 5마리에는 철분 주사제를 주사하였다(100 mg/kg).

실험군의 포유 자돈에는 돼지 유전자 유래 ferritin을 생산하는 효모와 철분을 반응시켜 제작한 첨가물을 채혈 전 7일간 하루에 한 번 10 ml씩 경구 투여하였다. 포유 자돈은 각각의 실험돈방에 넣어 사육하였으며 사양 실험 기간은 16일간 실시하였다. 16일째 체중을 측정하였고, 채혈을 하였다. 실험 기간에 시판되고 있는 대용유(큐업프리1, 대한사료, 한국)를 제조사의 권장 사항에 따라 급여하였고, 음수는 자유롭게 섭취하도록 하였으며, 자돈사 주위는 정기적으로 소독하였다. 포유 자돈용 경구 투여용 첨가물은 FER 20 g, 프락토올리고당 240 g 그리고 비타민 B<sub>6</sub> 0.4 g을 정제수 150 ml에 혼합하여 제작하였다. 대조군의 경구 투여용 첨가물은 FER을 혼합하지 않은 것을 사용하였다.

이유 자돈 실험은 경기도 양주에 있는 양돈 농장에 의뢰하여 실시하였다. 실험동물은 생후 39일령 된 자돈을 이용하였으며, 사양 시험 기간은 40일간 실시하였다. 이유 자돈 실험에서는 철분 주사를 한 군을 대조군(5마리)으로 하였고 실험군(5마리)에는 FER 20 kg를 일반 사료에 톤당 0.2%로 혼합하여 급여하였다. 대조군의 사료는 일반적으로 시판되는 자돈 사료(큐업프리2,3, 대한사료, 한국)를 급여하였으며, 사료와 물은 자유롭게 먹도록 하였다.

### 유전자 재조합 및 재조합 유전자 형질전환 효모 배양

돼지(*Sus scrofa*)로부터 H-type ferritin 유전자를 추출하기 위해 돼지 간에서 정제된 total mRNA에 ferritin-F-EcoR1 (aattgaattcatgacgacctctgtctcc)과 ferritin-R-Xho1 (aattctcgagtagctctcactgctcccca) primer (Bioneer, Korea)를 이용하여 RT-PCR (Takara, Japan)하였고 생성된 ferritin

cDNA (*Sus scrofa* ferritin H-chain)를 yeast shuttle vector인 p426 GAL 1 vector에 삽입하였다. 재조합된 p426- GAL1-Fe vector는 증폭을 위해서 TOP10 competent cell에 heat shock 방법을 통해 형질전환하였고 8시간 배양 후 picking하여 miniprep하고 전기영동으로 재조합 vector를 gel extraction하여 수거하였고 sequencing을 통해 ferritin cDNA 유전자 서열을 확인하였다. *Sus scrofa* ferritin H-chain유전자(sfH)의 이형접합형 발현을 위해서는 숙주세포로 효모(*Saccaromyces cerevisiae*) BY4742를 사용하였다. P426-GAL1-Fe vector는 lithium acetate를 이용하여 *S. cerevisiae* BY4742 wild type yeast에 형질전환을 하여 ura-배지에서 selection하였다(Lim 등, 2012).

세포배양은 재조합효모의 배양을 위한 일반배지로 영양배지인 1% yeast extract, inducer로 2% galactose가 함유된 2% peptone을 사용하여 30°C, 200 rpm으로 교반하면서 12시간 배양하였다(Lim 등, 2012). 내용물은 5,000×g, 10분(4°C)에서 원심분리하여 회수하였고 세포들은 20 mM 3-(N morpholino) propane sulfonic acid buffer (pH 6.5)에서 1회 세척하였다. 5% (w/v) 포도당 함유완충액에서 30분간 preincubating후 효모세포들은 14.3 mM Fe (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>[FAS]을 30°C 2시간 교반(200 rpm) 반응시킴으로써 철분을 함유한 효모 생산 ferritin (FER)을 완성하였다(Chang 등, 2005; Lim 등, 2012).

Wild type 효모균주의 철분농도는 0.1 µmol/g (wet cell weight)로 확인된 바 있다(Seo 등, 2003). FER의 철분농도는 APO 균주의 철분보다 높아 총 철분 함량의 90% 이상이 철분 결합 단백질로 동정되었고 이것의 철분농도 16.71 µmol/g (wet cell weight)임이 보고되었다(Lim 등, 2012; Seo 등, 2003).

**시료 채취 및 측정**

돼지의 채혈은 경정맥으로부터 실시하였다. 채혈한 혈액은 EDTA 처리된 시험관에 모아 hemoglobin

수치는 hemoglobin reagent (Young-dong, Korea)를 이용하여 흡광도 분석법으로 측정하고, hematocrit (PCV), RBC, WBC는 FORCYTE (Oxford science Inc., USA)을 사용하여 측정하였다.

**통계처리**

모든 데이터에 대한 각 군간 유의성을 확인하기 위해 one-way ANOVA를 실시 후 유의적 차이가 인정되는 경우 Fisher's PLSD test를 통하여 분석하였다. 통계학적 유의성은 P<0.05, P<0.01 수준에서 검정하였다.

**결 과**

**포유 자돈에서 체중의 변화**

철분과 반응시킨 돼지 유전자 유래 ferritin을 형질전환한 재조합 효모를 포유 자돈에 경구 투여하여 체중 증가에 미치는 영향을 조사하였다(Table 1). 대조군으로 생후 3일과 10일에 철분 주사를 미실시한 군과 실시한 군으로 하였다. 실험군으로 FER을 경구 투여하였고 철분 주사를 미실시한 군과 실시한 군으로 나누어 실험을 하였다. 대조군에서 철분을 주사할 경우 미실시한 군에 비해 통계적으로 유의성이 있는 체중 증가 나타났다(P<0.05). 실험군에서 철분 주사 미실시군에서 대조군의 철분 주사를 미실시한 군에 비해 유의성 있는 체중증가가 관찰되었다(P<0.05). 그러나 대조군의 철분 주사 실시군과 FER의 철분 주사 미실시군 사이에서 유의성 있는 체중증가 변화는 관찰되지 않았다. Empty vector만을 가진 효모로 첨가제를 만들어 경구 투여하는 군은 이번 실험에 포함되지 않았다.

**Table 1.** Changes in body weight suckling piglets

	Control		Administration with FER	
	No treatment with ferrous sulfate	Treatment with ferrous sulfate	No treatment with ferrous sulfate	Treatment with ferrous sulfate
Body weight at 3 days after birth (kg)	3.0±0.3	2.9±0.2	2.9±0.3	3.1±0.4
Body weight at 16 days after birth (kg)	3.5±0.2	4.4±0.3	4.8±0.3	5.2±0.3
Body weight gain (kg)	0.4±0.3	1.5±0.4*	1.8±0.2*	2.1±0.5*

Each value is the mean±S.E.M. of 5 animals. One-way ANOVA showed significant differences among groups in body weight gain. \*P<0.05 vs. No treatment with ferrous sulfate in control (ANOVA followed by Fisher's PLSD test).

**Table 2.** Changes in WBC, RBC, hemoglobin value and hematocrit ratio in suckling piglets

	Control		Administration with FER	
	No treatment with ferrous sulfate	Treatment with ferrous sulfate	No treatment with ferrous sulfate	Treatment with ferrous sulfate
WBC	12.8±0.5	14.8±0.6	13.1±0.7	14.2±0.6
RBC	4.1±0.6	6.1±0.1*	6.0±0.1*	6.2±0.1*
Hb	90±4	113±3*	118±7*	116±4*
Ht	25.3±0.9	38.3±0.8*	39.9±0.9*	40.9±0.8*

Each value is the mean±S.E.M. of 5 animals. One-way ANOVA showed significant differences among groups in levels of WBC, RBC, hemoglobin and hematocrit. \* $P < 0.05$  vs. No treatment with ferrous sulfate in control (ANOVA followed by Fisher's PLSD test).

### 포유 자돈에서 혈액 수치의 변화

FER를 경구 투여한 포유 자돈의 혈액 성분의 변화를 조사하였고, 그 결과를 Table 2에 나타내었다. WBC의 경우 대조군과 실험군을 포함한 모든 군에서 유의성 있는 변화가 나타나지 않았다. RBC, Hb, Ht 수치는 대조군에서 철분주사 미 실시군에 비교하여 모든 군에서 유의성 있는 증가가 나타났다( $P < 0.05$ ). 그러나 대조군에서 철분주사 실시군과 실험군에서 FER만을 경구 투여한 군 사이의 유의성 있는 차이는 나타나지 않았다.

### 이유 자돈에서 체중의 변화

돼지 유전자 유래 ferritin을 형질 전환한 재조합 효모를 철분과 반응시켜 이유 자돈을 위한 경구 투여용 사료(FER)를 제작하였다. FER을 이유자돈에 급여한 후 체중 변화 및 사료 섭취 효율에 대하여 조사하였다(Table 3). 이유 자돈 실험에서는 철분 주사를 하고 FER를 첨가하지 않은 정상 사료를 급여한 군을 대조군으로 하였고 FER를 섞어 만든 사료를 급여한 군을 실험군으로 하였다. FER 사료를 급여시킨 실험군에서 유의성 있는 체중 증가가 나타났다( $P < 0.05$ ). 또한, 대조군보다 실험군에서 사료를 적게 섭취하는 것으로 나타났다( $P < 0.05$ ). 그러나 두 군 사이의 사료 효율성을 조사한 결과, 사료 효율이 높아진 것으로 보이나(1.94±0.07 vs. 1.68±0.04) 두 군 간의 통계적 유의성은 없었다.

### 이유 자돈에서 혈액 수치의 변화

철분을 투여한 이유 자돈과 FER 사료를 급여시킨 이유 자돈간의 혈액성분의 변화를 조사하였다(Table 4). 철분을 주사한 대조군과 비교하여 FER사료를 급여하

**Table 3.** Changes in body weight weaning piglets

	Control	FER treatment
Body weight gain (g)	434.8±12.3	486.3±9.7*
Volume of Feed intake (g)	843±8	821±3*
Efficiency of Feed intake (feed/gain)	1.94±0.07	1.68±0.04

Each value is the mean±S.E.M. of 5 animals. One-way ANOVA showed significant differences among groups in body weight gain, volume of feed intake and efficiency of feed intake. \* $P < 0.05$  vs. Control (ANOVA followed by Fisher's PLSD test).

**Table 4.** Changes in WBC, RBC, hemoglobin value and hematocrit ratio in weaning piglets

	Control	FER treatment
WBC	16.7±0.5	16.2±0.6
RBC	7.0±0.2	6.9±0.4
Hb	118±5	120±7
Ht	39.1±0.5	40.7±1.2

Each value is the mean±S.E.M. of 5 animals. One-way ANOVA showed significant differences among groups in levels of WBC, RBC, hemoglobin and hematocrit.

더라도 WBC, RBC, Hb, Ht 수치의 특별한 변화는 나타나지 않았다.

## 고 찰

이번 연구에서 우리는 돼지 유전자 유래 H-chain ferritin 발현 효모에 14.3 mM 철분을 반응시킨 FER Lim 등, 2012)를 철분 결핍성 포유자돈과 이유 자돈에 투여하여 체중 증가 정도와 WBC, RBC, Hb 그리고 Ht 수치를 측정하여 FER의 투여가 자돈의 성장에 실질적인 효과가 있는지 검토하였다. 포유 자돈에서 FER의 경구 투여는 철분 주사와 비교하여 유사한 체중 증가 효과를 보였으며 RBC, Hb 그리고 Ht 수치에

서도 유사하게 나타났다. 이유 자돈을 이용한 실험에서 FER을 급여한 군과 철분을 주사한 군에서 혈액의 RBC, Hb 그리고 Ht 수치가 유사하였다. 그러나 FER의 급여는 철분만을 주사할 때 보다 체중을 유의성 있게 증가시키는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 자돈에서 FER의 급여는 철분 주사를 대체하는 방법임을 나타낸다.

철분은 동물에서 성장에 매우 중요하다. 사람뿐만 아니라 동물에서 철분의 이용률은 적혈구 생성, Hb 수치 등에 영향을 미칠 수 있고 그 이용률은 섭취한 철의 종류와 함량 그리고 철분 흡수 촉진제 투여 여부 등 여러 요인의 영향을 받는다(Mahoney와 Hendricks 1984; Murray-Kolb 등, 2002; Strube 등, 2002). 우리는 이전의 연구에서 철분이 결핍되면 마우스의 체중 증가율이 감소하고 이 철분결핍 마우스에 FER을 경구 투여하면 체중의 증가율이 개선되고 이 결과는 철분만을 투여한 마우스보다 높다는 것을 알았다(Lim 등, 2012). 다른 연구에서 철분결핍 흰쥐(rat)의 경우에서도 체중 증가율이 감소하는 것으로 나타났고 사람 ferritin H-chain 유전자 발현 효모를 철분과 반응시킨 후 이것을 철분결핍 rat에 투여하면 체중 증가율이 개선되는 것으로 나타났다(Chang 등, 2005). 이것은 철분결핍 때 철분이 있어야 하는 세포가 효모와 함께 공급된 철분의 생체 이용률을 증가시켰을 뿐만 아니라 효모가 생산한 ferritin의 섭취로 인한 실험 동물 조직 내 ferritin의 생성 증가가 철분 공급 확대해 가져온 결과라고 생각되었다(Lim 등, 2012). 이번 실험에서 포유자돈의 경우 실험군에서 FER만을 경구 투여한 군과 대조군에서 철분만을 주사한 군사이의 결과가 상당히 유사하게 나타났다. 또한, 이유 자돈에서 체중의 증가량은 철분을 주사한 대조군보다 FER를 투여한 군에서 컸다. 통계적으로 유의성 있는 결과는 아니지만, 사료 효율에서도 FER를 투여한 군에서 효과적인 것으로 나타났다. 이번 실험을 통해서 는 분명치 않으나 이번 실험에서 사용한 식이성 효모 *Saccharomyces cerevisiae*가 생산한 돼지 유전자 유래 ferritin이 철분의 조직 내 흡수를 증가시켜 철분을 주사하지 않았음에도 포유 자돈과 이유 자돈의 체중을 증가시켰으리라 생각된다. 이유 자돈을 이용한 실험에서 철분을 주사한 대조군보다 FER를 투여한 실험군에서 체중 증가율이 높은 것은 지속적인 FER의 급여는 효모의 ferritin이 철분의 이용률을 높였을 뿐만 아니라 사료에 포함된 효모가 에너지원으로 이용되었을 가능성이 있다고 생각된다. 이에 대해서는 좀

더 다양한 연구가 필요하다.

철분의 근육주사는 포유 자돈에게 상당히 큰 스트레스를 주고 주사한 부분에 괴사 등을 일으켜 심하게는 폐사될 수 있고 주사하기 위해 많은 노동력이 필요하다라는 단점이 있다. 그뿐만 아니라 실험동물에서의 결과로 철분만을 경구투여는 철분의 이용에 효율적이지 못하다(Chang 등 2005; Lim 등 2012). 이번 실험의 조건에서는 포유 자돈에게 철분을 근육 주사한 경우에 괴사 등의 소견은 나타나지 않았고 혈액 내 WBC의 수치도 정상이었다. 또한, 포유 자돈의 혈액 내 RBC, Hb 그리고 Ht 수치도 철분을 투여하지 않은 대조군과 비교하여 통계적으로 유의성 있는 결과가 나타났기에 주사를 통한 철분의 이용도 효율적인 것으로 보인다. 이유 자돈의 실험에서는 철분을 주사하지 않은 대조군이 없어 분명히 알 수 없으나 FER을 급여시킨 군에서 RBC, Hb 그리고 Ht 수치가 철분을 주사한 대조군의 결과와 차이가 없는 것으로 보아 두 군에서 모두 철분을 효율적으로 이용한 것으로 생각한다. 실험동물에서 FER의 식이 급여를 통한 철분의 유용성은 철분결핍 마우스에서 경우 조직 내 철분저장과 ferritin 생성증가에 있음이 확실하게 규명되었다(Lim 등, 2012). 이는 위·장관 내로 철분이 잘 흡수되었음을 가리킨다.

이번 실험의 결과로는 포유 자돈과 이유 자돈의 조직 내 철분 농도와 ferritin 생성 정도는 알 수 없지만, 혈액 성분과 체중의 변화를 통해 철분 회복에서 FER의 급여는 자돈에서 철분 결핍성 빈혈을 예방하고 포유 자돈과 이유 자돈의 체중 증가에 효과적인 방법으로 생각된다.

## 결 론

이번 실험은 FER의 빈혈 개선 기능에 대한 연구로 포유 자돈과 이유 자돈을 이용하여 그 효과를 알아보았다. FER의 급여는 자돈의 철분의 생체 이용률을 높여 성장을 촉진함으로써 철분 공급원으로 임상적 가치가 있다고 할 수 있다.

## 감사의 글

이 논문은 중소기업청의 지역연구지원사업 지원을 받아 작성되었습니다.

## 참 고 문 헌

- Baynes RD, Bothwell TH. 1990. Iron deficiency. *Annu Rev Nutr* 10: 133-148.
- Bermejo F, García-López S. 2009. A guide to diagnosis of iron deficiency and iron deficiency anemia in digestive diseases. *World J Gastroenterol* 15: 4638-4643.
- Chang YJ, Jo MY, Hwang EH, Park CU, Kim KS. 2005. Recovery from iron deficiency in rats by the intake of recombinant yeast producing human H-ferritin. *Nutrition* 21: 520-524.
- Clark SF. 2009. Iron deficiency anemia: diagnosis and management. *Curr Opin Gastroenterol* 25: 122-128.
- Drysdale, JW, Adelman TG, Arosio P, Casareale D, Fitzpatrick P, Harzard JT, Yokota M. 1977. Human isoferritins in normal and disease states. *Semin Hematol* 14: 71-88.
- Egeli AK, Framstad T. 1999. An evaluation of iron-dextran supplementation in piglets administered by injection on the first, third or fourth day after birth. *Res Vet Sci* 66: 179-184.
- Furugouri K, Miyata Y, Shijimaya K, Narasaki N. 1983. Developmental changes in serum ferritin of piglets. *J Anim Sci* 57: 960-965.
- Gasche C, Lomer MC, Cavill I, Weiss G. 2004. Iron, anaemia, and inflammatory bowel diseases. *Gut* 53: 1190-1197.
- Harrison PM, Arosio P. 1996. The ferritins: molecular properties iron storage function and cellular regulation. *Biochim Biophys Acta* 1275: 161-203.
- Leung AK, Chan KW. 2001. Iron deficiency anemia. *Adv Pediatr* 48: 385-408.
- Lim H, Kim JT, Kim MD, Rhee KJ, Jung BD. 2012. Iron-fortified recombinant *Saccharomyces cerevisiae* producing *Sus scrofa* ferritin heavy-chain recovers iron deficiency in mice. *Korean J Vet Res* 52: 263-268.
- Lipinski P, Starzyński RR, Canonne-Hergaux F, Tudek B, Oliński R, Kowalczyk P, Dziaman T, Thibaudeau O, Gralak MA, Smuda E, Wolinski J, Usińska A, Zabielski R. 2010. Benefits and risks of iron supplementation in anemic neonatal pigs. *Am J Pathol* 177: 1233-1243.
- Mahoney AW, Hendricks DG. 1984. Potential of the rat as a model for predicting iron bioavailability in humans. *Nutr Rec* 4: 913-922.
- May ME, Fish WW. 1977. The isolation and properties of porcine ferritin and apoferritin. *Arch Biochem Biophys* 182: 396-403.
- Murray-Kolb LE, Takaiwa F, Goto F, Yoshihara T, Theil EC, Beard JL. 2002. Transgenic rice is a source of iron for iron-depleted rats. *J Nutr* 132: 957-960.
- Rockey DC. 2005. Occult gastrointestinal bleeding. *Gastroenterol Clin North Am* 34: 699-718.
- Seo HY, Chung YJ, Kim SJ, Park CU, Kim KS. 2003. Enhanced expression and functional characterization of the human ferritin H- and L-chain genes in *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl Microbiol Biotechnol* 63: 57-63.
- Strube YN, Beard JL, Ross AC. 2002. Iron deficiency and marginal vitamin A deficiency affect growth, hematological indices and the regulation of iron metabolism genes in rats. *J Nutr* 132: 3607-3615.
- Svoboda M, Drábeck J. 2005. Iron deficiency in suckling piglets: etiology, clinical aspects and diagnosis. *Folia Vet* 49: 104-111.
- Theil EC. 1987. Ferritin: structure, gene regulation, and cellular function in animals, plants, and microorganisms. *Annu Rev Biochem* 56: 289-315.
- Venn JA, McCance RA, Widdowson EM. 1947. Iron metabolism in piglet anemia. *J Comp Pathol Ther* 57: 314-325.