

\*

분류번호	II-12
------	-------

제 목	재조합 인간 GM-CSF의 정제 및 특성조사
연구자	김 규돈 <sup>0</sup> , 윤 세웅, 이 상미, 권 선훈, 김 범수, 송 지용
소 속	(주) 럭키 바이오텍 연구소
내 용	<p>혈액 세포 형성 과정인 조혈 작용은 콜로니 자극인자 (Colony Stimulating Factor, CSF)라 불리는 몇 종류의 당 단백질에 의해 조절된다.</p> <p>이 들 자극인자 중, GM-CSF는 다계통에 작용하는 조절인자로서 과립구와 거식 세포의 생성을 조절한다고 알려져 있다. 한편 GM-CSF는 생체내에서 백혈구의 형성을 조절하는 인자이기 때문에 골수이식을 한 환자 및 화학요법이나 방사선 치료를 받는 암환자에게서 발생하는 백혈구의 감소현상을 완화 시키는 역할을 한다. 혈액의 보조화와 관련하여 의학적 효능을 나타낼것으로 간주되는 GM-CSF를 유전자 재조합 기술로 효모에서 발현, 정제하여 물리화학적 특성 및 역할을 측정 하는것이 이 연구의 기본목적이다.</p> <p>효모로부터 rhGM-CSF의 발효 생산성 개선을 위한 연구로는 정제후 최종 수율을 높이기 위한 경제적인 발효배지 조성을 찾고자 하였다. 발효 배양액을 적절히 농축하여 에탄올 침전, 음이온교환 크로마토그래피, 소수성 크로마토그래피, 젤 여과 크로마토그래피 등을 실시하여 정제하였다. 정제된 rhGM-CSF는 분자량 측정, Glycosylation정도, 아미노산 조성 등 물리화학적 특성실험을 통해 다른 숙주에서 발현, 정제된 GM-CSF의 성질과 비교하였다. 또한 정제된 rhGM-CSF (LBD005)의 역가를 측정하기 위한 연구를 수행하였는데, 역가 측정 방법에는 첫째, 반고체 배지상에서 골수세포가 colony를 형성하는 정도를 측정하는 방법과 둘째, GM-CSF로 골수 세포를 자극했을때 세포가 <sup>3</sup>H-thymidine을 이용하는 정도를 측정하는 방법 그리고 셋째, 효소면역분석법 (ELISA)등이 있는데 각 방법에는 장.단점들이 존재하나 가장 빠르고 간편한 역가 측정 방법으로 효소면역 분석법을 개발하였다. 본 연구에서 LBD005의 역가를 효소면역 분석법과 티미딘 대사 분석 방법에 대하여 각각 실험하고 두 실험 방법간의 상관 관계를 밝히고자 하였다.</p> <p>본 연구를 통해 최적화된 배지 및 발효방법을 사용하여 발현율을 상승시켰으며 정제된 GM-CSF의 물리 화학적 특성 조사결과 이론치와 거의 일치함을 보여 주었다. 정제된 rhGH-CSF (LBD005)의 specific activity는 <math>3 \times 10^8</math> PFU/mg이었다.</p>