

식물세포배양을 통한 Human Interleukin-12의 생산

서조은, 이재화, 권태호, 장용석, 양문식
 전북대학교 생물과학부, 전북대학교 기초과학연구소
 전화 (063) 270-3339, FAX (063) 270-4334

ABSTRACT

We produced human IL-12, which is consisted of p35 and p40 subunits through tobacco cell suspension culture. In batch culture, the maximum hIL-12 production of 180.5 μ g/L was obtained in 5days after inoculation. The effect of gelatin on the production of hIL-12 was also tested.

서론

식물세포배양을 이용하여 유용한 외래 단백질을 생산하는 방법은 미생물이나 동물 세포를 이용하는 것과 비교하여 여러 가지 장점을 지니고 있다¹⁾. 본 연구에서는 heterodimeric 단백질인 hIL-12²⁾의 p40과 p35 유전자를 식물체에 각각 형질전환 시킨 후 두 식물체를 교배하여 각각의 유전자를 모두 포함하는 식물체를 얻었고, 이 담배세포의 세포배양을 통하여 고부가가치 의료용 단백질인 hIL-12를 생산하고자 실시하였다.

재료 및 방법

1) 담배세포의 형질전환 및 세포배양

hIL-12의 subunit인 p35와 p40의 cDNA를 담배에 도입하여 각각의 형질전환체 중에서 Northern blot analysis의 결과 각각의 유전자 발현이 높은 개체를 선발하고 이를 교배하여 각각의 유전자를 모두 포함하는 F2식물체를 선발하였다. F2의 식물체 잎을 1 mg/L 2,4-D가 첨가된 MS배지에서 callus를 유도 한 후에 동일조성의 액체배지를 이용하여 현탁배양하여 hIL-12의 생산을 유도하였다.

2) 세포농도 측정

세포의 증식은 세포 생체중량(fresh cell weight, FCW), 세포 건조중량(dry cell weight, DCW)의 측정을 통해 관찰하였다. 생체중량 측정과정을 거친 세포를 60 $^{\circ}$ C로 유지된 dry oven에 넣어 시간에 따른 무게변화가 없을 때까지 건조시켜 측정된 중량은 세포 건조중량으로 사용하였다.

3) hIL-12 정량분석

hIL-12에 특이적인 항체를 이용하여 ELISA assay로 정량분석을 하였다.

결과 및 고찰

플라스크 배양을 실시한 결과 배양 10일만에 세포건조중량이 10 g/L에 달하였고 (Fig. 1), 이때 hIL-12의 생산은 5일째에 최대치인 180.5 $\mu\text{g/L}$ 을 나타냈다. 또한 hIL-12의 세포내외에 존재하는 단백질 양을 측정하여 분비되는 정도를 관찰하였다 (Fig. 2). 세포배양시에 1%와 2%의 gelatin을 첨가하였을 경우에는 최대 약 720 $\mu\text{g/L}$ 의 hIL-12의 생산이 가능하였다(Fig. 3). 형질전환 식물세포배양을 통하여 생산된 hIL-12의 생리활성을 확인 한 결과 CHO 세포에서 생산된 hIL-12에 비해 형질전환 된 식물세포에서 생산된 hIL-12가 1.9배정도의 높은 활성을 나타내었다(Fig. 4).

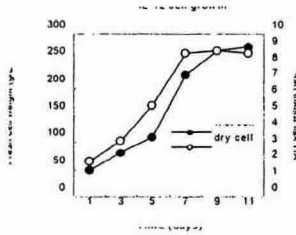


Fig. 1 Time course of cell mass

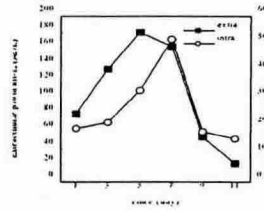


Fig. 2 production of hIL-12

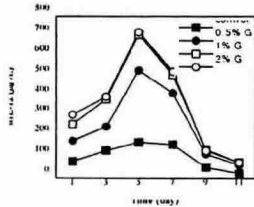


Fig. 3 Effect of gelatin on the hIL-12 production

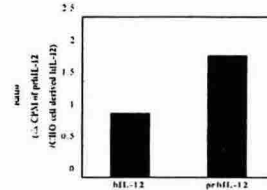


Fig. 4 Biological assay hIL-12

감사의 글

본 연구는 과학기술부의 국가지정연구실 사업(2000-N-NL-C-212)의 연구비 지원에 의하여 수행되었습니다.

참고문헌

1. Kazuaki Takehora, Tomoshi Nagata, et al. "Expression of a bioactive bovine interleukine-12 using baculovirus", Veterinary Immunology and Immunopathology 77(2000):15-25
2. Ikuo shirator, Misako matsunato, et.al. "Molecular cloning and functional characterization of guinea pig IL-12, International Immunology 13(9) 1129-1139