

## Monoclonal antibody의 대량 생산을 위한 hybridoma cell의 생존능 증가에 관한 연구

하성진, 임선하<sup>1</sup>, 이종원<sup>1</sup>, 조무환

영남대학교 응용화학부 생물공학실험실, 대구가톨릭대학교 의과대학 생화학교실<sup>1</sup>

전화 (053) 810-3812, FAX (053) 814-8790

### Abstract

Hybridoma cell is very important in point of producing monoclonal antibody(Mab). Producing large quantity of Mab is economically valuable. On this experiment, we used one of hybridoma cell line, 5F12 AD3, and treated various antibiotics such as geneticin(G418), ciprofloxacin and minocycline to improve cell viability and we expect that improving cell viability brings higher concentrations of Mab. The optimum concentration of each antibiotics for improving cell viability were 10ug/ml for G418, 1ug/ml or 10ug/ml for ciprofloxacin, and 1ug/ml for minocycline.

### 서론

1975년 monoclonal antibody(Mab) 생산을 위한 hybridoma cell의 생산이 성공하게 되었다. Mab는 치료용, 진단시약 관련 연구에 많이 쓰이고 있으며 이런 Mab를 진단시약으로 응용함으로써 기존의 방식보다 훨씬 빠르고 정확도가 높아졌다. 이러한 Mab를 대량으로 생산하여 상업적으로 이용하기 위해서 Mab를 생산하는 hybridoma cell의 생존능을 증가시킬 필요가 있다. 본 연구실의 이전의 연구 결과에 의하면 몇몇 항생제가 농도가 낮을 때 hypoxia(1% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>, 94% N<sub>2</sub>) 상태에서 세포의 자살(apoptosis)을 억제 시키는 단백질인 bcl-2의 양을 유지 시킴으로써 항생제를 넣지 않을 때 보다 오히려 생존능을 증가시켰다.1) 따라서 본 연구에서는 hybridoma cell에 여러 가지 항생제를 처리하여 Mab 생산에 저해를 적게 주면서 세포 생존능을 증가시킬 수 있는 최적 조건을 찾고자 한다.

### 재료 및 방법

실험에서 사용한 hybridoma cell은 5F12 AD3이고, 배지는 10% FBS가 첨가된 IMDM(Iscove's Modified Dulbecco's Medium)을 사용하였다. 실험에 사용한 항생제는 aminoglycoside 계열의 대표적인 geneticin(G418), quinolone 계열의 대표적인 ciprofloxacin, tetracycline 계열에 대표적인 minocycline을 사용하였다. 배지에 각각 항생제를 농도별로 넣고 세포를 일정농도(2.5\*10<sup>5</sup>개/ml) seeding 한 다음 1%와 21% 산소농도에서 일정한 시간 간격(24시간)을 두고 trypan blue를 이용하여 세포 수를 측정하였다. Hypoxia와 normoxia(5% CO<sub>2</sub>, 95% air) 상태는 incubator에서 각각의 산소농도를 유지시켜 실험하였다.

### 결과 및 고찰

G418은 10ug/ml(figure 1), ciprofloxacin 은 1ug/ml, 또는 10ug/ml 그리고 minocycline은 1ug/ml 정도에서 가장 효과가 높아보였다. 한 항생제에서 효과가 비슷하게 보이는 농도들에 대해서는 단백질 생산에 영향이 적을 것으로 보이는 저 농도가 최적 조건이고, 산소 농도에 따라 효과가 다른 항생제는 적용하기 쉬운 normoxia 상태에서 효과가 나은 것을 최적으로 본다. 즉, 본 실험에서 사용한 항생제들은 모두 특정농도에서 효과가 있었다. 이들 항생제가 Mab 생산에 저해가 있는지 실험을 통해 확인하여 항생제의 가격 등 여러 가지 요인들을 잘 생각해서 가장 경제적으로 많이 생산할 수 있는 조건을 찾고 실제 생산공정과 비슷한 조건을 만들어 실험하여 실제 사용 가능성이 있음을 확인할 예정이다.

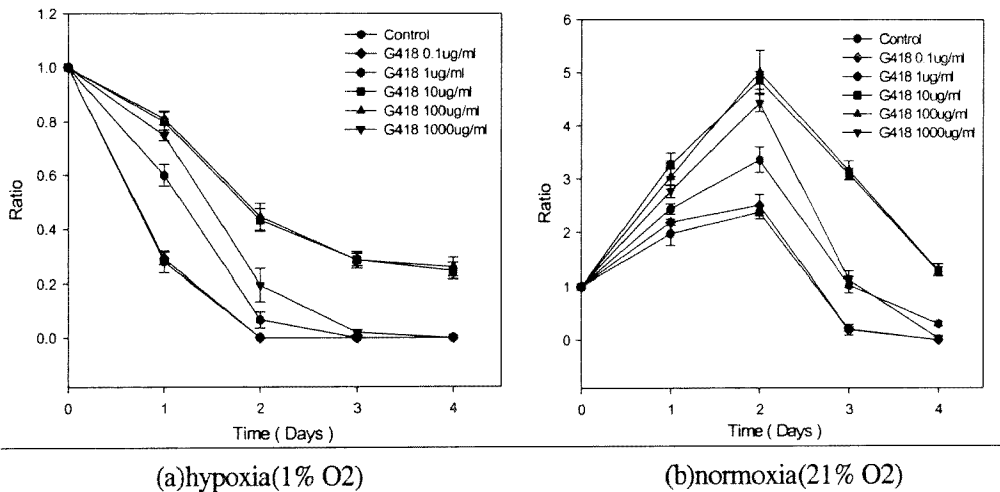


Fig. 1. (a) Effect of G418 on cell viability under hypoxia (b) Effect of G418 on cell viability under normoxia

### 요약

Monoclonal antibody를 대량으로 생산하기 위한 hybridoma cell의 생존능 개선을 위한 실험에서 각각의 항생제에 대해서 G418은 10ug/ml(figure 1), ciprofloxacin 은 1ug/ml 또는 10ug/ml 그리고 minocycline은 1ug/ml 정도에서 가장 효과가 높아보였다. 다양한 산소 농도에서 실험과 각각 항생제의 monoclonal antibody 생산에 미치는 영향을 실험하여서 monoclonal antibody를 가장 경제적으로 대량 생산할 수 있는 조건을 찾을 수 있을 것으로 사료된다.

### 참고문헌

1)한미정, 유전자 조작을 통한 동물세포의 생존능 개선연구, 영남대학교 석사학위논문 (1999)