

## P 4

## hGM-CSF Production from Transgenic Tobacco

Han Yeul Byun\*, Sang Yo Byun

Cell culture and Proteomics Lab, Ajou University, Suwon, Gyeonggi-do 442-749, Korea

## Objectives

형질 전환된 식물의 기관배양을 통해 유용단백질을 생산하였다. 기관배양에서의 재조합단백질 생산패턴을 알아보고 다양한 permeabilizing agents를 첨가하여 재조합 단백질 생산을 증가시킨다.

## Materials and Methods

1. Materials: hGM-CSF 유전자가 도입된 형질 전환된 *Nicotiana tabacum*.
2. Methods: 형질전환된 담배 seed를 sucrose-3%, agar-0.8%, kanamycin-100 ppm을 포함하는 MS고체배지에 치상하여 담배 seed를 발아시켜 45일 후 성숙한 담배 식물체를 얻는다. 형질전환된 담배 식물체를 White액체 배지에 치상하여 25°C, 80rpm, sucrose-2%의 조건으로 현탁배양하였다. permeabilizing agent로는 Pluronic F-68, TritonX-100, PEG 8000, DMSO를 사용하였다. hGM-CSF 단백질의 정량분석

방법으로 Pharmingen Inc.의 ELISA kit를 사용하였으며, ELISA kit 제작회사의 표준방법을 사용하여 분석하였다. hGM-CSF의 정량에 표준물질로 사용한 hGM-CSF는 대장균에서 생산된 hGM-CSF를 사용하였다.

## Results and Discussion

기관 배양은 재조합 단백질의 안정성이 크다는 장점이 있지만 세포내에서 배지내로의 단백질 분비가 다른 식물세포 배양 시스템에 비해 적다는 단점이 있다. 실제로 기관배양을 하면서 배지내로 분비되어지는 재조합 단백질 양은 보통 0.03 ng/ml 정도이다. 이를 극복하기 위해 기관배양에서 형질 전환된 담배세포의 permeability를 증가시키기 위하여 다양한 permeabilizing agents를 micro filtration 시켜 멸균된 상태로 투여하였다. 그 결과, Pluronic F-68과 PEG8000을 첨가한 경우 담배세포에서 배지내로의 단백질 분비가 원활해졌음을 확인할 수 있었다. 또한, 일반적으로 permeabilizing agents는 cell의 viability를 떨어뜨리는 단점을 갖고 있지만 Pluronic F-68과 PEG8000은 cell의 viability에 큰 영향을 주지 않았다.

