

遺傳工學技術을 이용한 가축질병의 診療와 豫防

全 茂 炯*

1. 머 리 말

우리나라에서 1981년에 遺傳工學(Genetic engineering) 또는 生命工學(Biotechnology)이란 말이 학계와 매스컴에서 본격적으로 거론된 지 불과 몇년 사이에 국민학교 학생들의 입에도 유전공학이란 말이 오르내릴만큼 이 학문 분야는 尖端科學振興이라는 정부의 적극적인 육성책에 힘입어 이에 대한 기초연구가 활발히 진행되고 있으며, 獸醫學分野에서도 관심이 점점 증대되고 있는 실정이다.

우리가 통상적으로 쓰고 있는 유전공학이란 용어에 대한 정의는 학자들이나 나라에 따라 다소 차이가 있으나 우리나라 遺傳工學育成法에는 “유전자再組立, 細胞融合, 核置換 등의 기술과 세포배양 및 발효기술 등을 사용하여 生命科學 분야 산업발전을 도모하기 위한 학문과 기술이다”라고 정의하고 있다. 또한 國際獸疫會議(OIE)의 유전공학 실무자팀 세미나에서는 유전공학이란 세포나 바이러스의 유전자를 조작하여 사람이나 동물의 질병을 치료하기 위한 遺傳物質, 즉 단백질을 생산해 내는 것을 말하고 여기에서 유전자조작이란 것은 遺傳子再組合, 유전자클론닝(cloning), 유전자注入 또는 傳達, 細胞融合 그리고 遺傳形質의 導入기술 등을 지칭하였다.

이와같은 새롭고 혁신적인 尖端技術이 있기까지는 특정한 소수의 학문분야의 발전에 연유했다기 보다 生化學, 分子生物學, 遺傳學, 有機化學, 微生物學, 免疫學 및 細胞生物學 등 기초 생명과학분야의 학문이 고도로 발전하여 축적된 지식과 기술을 종합적으로 조화시켜 응용하므로 꽃피우게 된 것이다.

거슬러 올라가 유전공학기술의 발전과정을 살펴보면 1953년에 James D. Watson과 Francis Crick가 유전자인 DNA의 구조와 複製原理를 확립하고 1961년에 Nirenberg 및 Khorana가 遺傳暗號를, 볼란서의 Jacob과 Monod가 유전자 발현원리를 규명하므로 黎明期를 맞게 되었다. 1970년에는 미국에서 H. Temin과 D. Baltimore박사가 逆製酵素를 발견하여 고등생물의 mRNA로부터 DNA를 合成하는 길을 터놓았고 1971년에 D. Nathans는 DNA를 자유자재로 切斷할 수 있는 制限酵素의 사용원리를 확립하므로 실체화 되었다. 그후 1973년에 스탠포드대학의 Stanelly Cohen교수팀이 항생제 저항유전자와 대장균 plasmid를 시험관내에서 再組合하여 이것을 대장균에 삽입, 대장균에 항생제 저항성을 전달시키는 遺傳子再組合기술을 처음 성공함으로써 유전공학에 대한 연구는 급템포로 발전하게 되었다. 오늘날 선진제국에서는 수십억 불의 막대한 연구비를 매년 투자하고 있고 이에 부응하여 많은 학자들이 이 분야연구에 전념하

*忠南大學校 農科大學 獸醫學科

게 되어 유전공학은 그야말로 科學의 노다지 (scientific goldrush)로 각광을 받고 있다. 이에 우리나라에서도 遺傳工學有成法을 제정하여 반도체, 컴퓨터산업과 더불어 尖端産業技術의 일환으로 유전공학연구에 매년 투자를 증가하고 있는 실정이다.

1975년 이후 미국, 유럽국가, 일본 등 선진국가에서 유전공학기술은 급격히 발전하여 이제는 醫藥品分野뿐만 아니라 농축산, 식품, 화공업, 환경 및 에너지 분야 등에서 광범위하게 연구되고 있으며 그중 일부는 실제 사용이 구체화 되어가고 있는 것도 있다. 특히 의약품분야에는 쏘마토스타틴, 인슈린, 성장호르몬 및 인터페론과 같은 生物學的製劑 생산, 肝炎 및 인플루엔자와 같은 바이러스성 질병에 대한 백신개발과 각종 診斷法 개발이 활발히 진행되고 있다.

獸醫學은 유기화학, 생화학, 미생물학, 면역학, 약리학의 기초학문과 임상학문을 폭넓게 탐구하는 醫·藥學分野의 하나로써 유전공학의 연구와 응용측면에서 매우 유리한 여건에 놓여 있으며 많은 연구업적이 보고되고 있다. 그동안 유전공학기술을 이용한 수의학분야의 연구동향은 크게 나누어서 백신개발, 진단법 및 치료제의 개발과 가축성장호르몬제와 受精卵移植技術 개발로 대별할 수 있다. 여기에서는 가축질병의 診療와 豫防에 직접 관련이 있는 subunit 백신개발 현황과 단클론성 抗體 (monoclonal antibody) 생산기술을 이용한 가축질병진단기술 연구현황 및 새로운 질병치료제로 대두하고 있는 인터페론의 성장과 연구현황을 재조명해 보고 우리나라의 가축질병에 대한 유전공학 연구실태를 기술하고자 한다.

2. Subunit 백신

현재 사용하고 있는 病原體 전체를 넣어 제조한 生毒백신이나 死毒백신이 여러 질병에 효과적으로 이용되고 있지만 이런 백신들은 가끔 過敏性 副作用이나 급·만성질병을 퍼뜨리는 한 요인으로 작용할 수 있다. 또한 이런 백신은 실은

에서 보관하거나 장기간 냉장보관했을 때 그 力價가 어쩔수 없이 떨어진다. 그리고 과거의 백신생산기술로는 B형간염바이러스, retro 바이러스, 허피스바이러스, AIDS바이러스 등에 대해서는 효능이 높은 예방약을 제조할 수 없는 실정이다. 그러므로 副作用이 없고 安定성과 効能이 높고 1회 접종으로 여러 질병에 効力이 있는 예방약을 값싸게 대량생산할 수 있는 새로운 기술개발이 절실히 요망되고 있는 형편이다. 다행히 이와같은 요구를 충족시켜 줄 수 있는 새로운 백신제조법이 연구개발되고 있다. 즉 遺傳子클론닝 (molecular cloning)이나 有機合成 (organic synthesis) 기술을 이용하여 인공적으로 微生物體의 表面蛋白이나 蛋白分節 (segments)을 생산하여 만든 예방약, 즉 subunit백신이 그것이다.

1970년대에 바이러스나 세균의 표면에서 분리해 낸 단백질을 동물체내에 접종했을 때 中和抗體를 생성하며 동일한 병원체에 대해 방어효과가 있다는 사실이 입증된 바 있다. 예를들면 口蹄疫바이러스의 表面蛋白에서 분리해 낸 짧은 蛋白分節 (segments)은 탁월한 免疫原性이 있다는 사실이 Kaaden 등 (1977)과 Bachrach 등 (1982)에 의해 규명되었다. 또한 Atassi (1980)는 바이러스의 抗原結定期 (epitope)는 6~7개의 아미노산이 길게 계속 연결되어 있거나 단백질연쇄사이 사이에 分節型으로 존재하고 이 分節은 disulfide bond에 의해 결합되어 있으므로 일반적으로 항원결정기는 매우 짧으며, 口蹄疫 바이러스의 抗原構造도 이와 비슷한 것이라 보고하였다. 이와같은 假定과 연구결과에 영향을 받은 많은 학자들이 molecular cloning 기술이나 有機合成方法을 응용하여 口蹄疫 바이러스의 表面蛋白이나 抗原性이 있는 단백분질을 인공적으로 실험실에서 제조하려고 노력하였고, 생산된 subunit백신을 동물에 접종하여 中和抗體生産能이나 방어력에 대한 시험을 실시하였다.

폴리펩타이드나 단백질의 有機合成기술은 有機化學분야에서 오래전 부터 試圖되어 확립된

기술이지만 molecular cloning에 의한 단백질의 생산은 1973년 이후 分子生物學과 生化學의 발전과 더불어 연구 발전된 것으로 최근에 급진전되는 분야라 하겠다.

分子클론닝(molecular cloning)은 遺傳子인 DNA分節을 切斷하고 필요한 단백질을 생산하는 DNA分節을 二重測鎖遺傳子運搬體(double standard DNA vector)인 세균의 plasmid나 바이러스 DNA에 接合시켜 이것을 眞核細胞나 原始核細胞, 즉 細菌에 삽입하여 삽입된 유전자가 增殖하여 필요한 단백질을 생산하게 하는 것이다(그림 1 참조). 이런 分子클론닝기술은 오늘날 선진국가에서는 매우 보편화되어 있어서 여러 실험실에서 응용하고 있으나 그 과정중에서 encoding DNA제조에는 아직도 많은 난관이 있다. 예를들면 RNA바이러스처럼 자연상태에서 단백질생산에 필요한 DNA분자를 가지고 있지

않는 것은 二重測鎖補助遺傳子(double-standard complementary DNA)를 逆轉寫酵素(reverse transcriptase)를 이용하여 바이러스 RNA나 mRNA로부터 시험관내에서 일단 유전자를 合成하여야 한다. 또한 만약 어떤 RNA가 여러 단백질을 동시에 생산할 수 있는 구조, 즉 polycistronic한 것이라면 2 중측쇄보조유전자(dsc DNA)組立에 필요한 分節의 아미노산配列을 찾기 위해 Maxam & Gilbert방법으로 생산하고자 하는 단백질의 아미노산 배열순서를 규명해야 하는 과정이 필요하기 때문이다.

앞에서 언급했듯이 클론하였거나 合成해서 만들어진 단백질백신 즉 subunit백신은 미생물체를 이용해서 만든 백신에 비해 여러 長點을 지니고 있다. 말하자면 subunit백신은 질병을 퍼뜨릴 염려가 없고, 온도변화에 안정하고 副作用이 거의 없을 것이다. 그러나 이 단백질백신은 그 제조과정상 어려운 점이 많기 때문에 아직도 연구개발단계에 있고 實用化되지 못하고 野外遺用試驗과정을 거쳐 많은 subunit백신이 가축질병예방분야에 사용되기에는 많은 시간이 소요되리라 생각한다. 지금까지 subunit백신에 대한 대부분의 연구가 바이러스성 질병에 대해 수행되었기 때문에 여기에서는 주로 바이러스성 질병에 대해 언급하고 細菌性 및 寄生蟲性疾病에 대해서는 간략히 서술한다.

가. 바이러스성 질병에 대한 Subunit백신

바이러스는 일반적으로 구조의 類似性, 유전적 구조, 바이러스核과 表面蛋白質의 종류와 수에 따라 분류되어 진다. 이중 바이러스성 질병에 대한 宿主의 免疫形成에 가장 중요한 역할을 하는 부분은 表面蛋白質(surface protein)이다. 表1은 동물바이러스를 family별로 분류한 것이며 이 表의 3제항에는 해당 바이러스에서 분리한 표면단백질로써 동물체내에 투여했을 때 中和抗體나 沈降抗體를 生性시켜 바이러스 공격으로부터 동물을 방어하고 試驗管내에서는 同種抗體와 結合反應하는 특성을 가지고 있다. 그리고

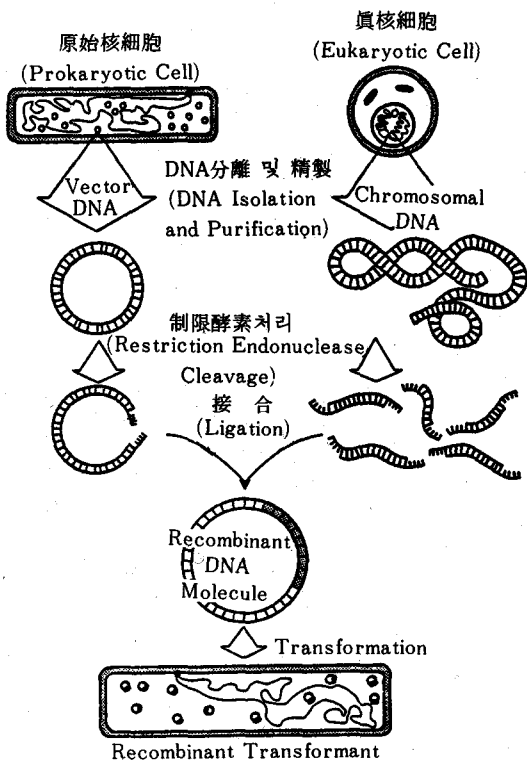


그림 1. 眞核細胞 遺傳子DNA 分節을 대장균에 삽입 遺傳子를 클론닝하는 遺傳子 再組合試驗 模式圖.

표 1. 바이러스성 질병에 대한 Subunit백신 研究現況 (Bachrach. 1983).

Family	Virus	Immunogens		
		Isolated from virus	Cloned	Synthetic
Papovaviridae	Human papilloma virus (wart)	...	IP	
	Simian virus 40	T (large tumor)	PND	Yes
Adenoviridae	Adenovirus	Hexons, pentons fibers	Yes	
	Marek's disease virus	Two-cell membrane turkey herpesvirus proteins	ND	
Herpetoviridae	Infectious bovine rhinotracheitis virus	Glycoprotein	IP	
	Pseudorabies virus	Glycoproteins	IP	
	Herpes simplex virus	Glycoproteins gC and gD	Yes	
Orthopoxviridae	Rabbitpox virus	Soluble antigens and hemagglutinins from intra- and extra-cellular viruses	ND	
	Vaccinia virus			
Parvoviridae	H-1 virus	Capsid proteins	ND	
	Canine parvovirus	Capsid proteins	Yes	
Reoviridae	Reovirus	$\sigma 1$, $\sigma 3$ and $\lambda 2$ proteins	ND	
Orbiviridae	Bluetongue virus	Protein p2	IP	
Rotaviridae	Simian virus II	Protein p26 and glycoprotein gp34	ND	
	Calf rotavirus	VP 7, 2	ND	
Picornaviridae	Foot-and-mouth disease virus	24-kd surface protein VP ₁ (VP ₃ , VP ₇)	Yes	Yes
	Poliovirus	VP ₁	Yes	
Caliciviridae	Vesicular exanthema virus	Protein p61	ND	
Togaviridae				
Alphavirus	Semliki Forest virus	Split virus E ₁₋₃	ND	
Flavivirus	Tick-borne encephalitis virus	Glycoprotein V3	ND	
Pestivirus	Hog cholera virus, bovine viral diarrhea virus	Split virus E ₁₋₂	ND	
	Rubivirus	Rubella virus	Split virus E ₁₋₂	ND
Coronaviridae	Transmissible gastroenteritis virus	Glycoprotein	ND	
	Human coronavirus	Glycoprotein 190 kilodaltons	ND	
Orthomyxoviridae	Influenza virus	Split virus, hemagglutinin	Yes	Yes
	Fowl plague virus	Hemagglutinin	Yes	
Bunyaviridae	Recombinant viruses, Rift Valley fever virus	Glycoproteins G ₁₋₂	IP	
	Arenaviridae	Lymphocytic choriomeningitis virus; others	Glycoproteins	IP
Paramyxoviridae	Sendai virus, Newcastle disease virus,	Hemagglutinin and neuraminidase	IP	

Family	Virus	Immunogens		
		Isolated from virus	Cloned	Synthetic
	Simian virus 5, parainfluenza-3 virus	Protein F		
	Measles virus	Hemagglutinin and F protein/hemolysin	ND	
Rhabdoviridae	Vesicular stomatitis vesicular	Glycoprotein G	Yes	
	Rabies virus	Glycoprotein G	Yes	
Retroviridae	Friend virus	Glycoprotein gp71	ND	
	Feline leukomia virus	Soluble tumor cell antigen	ND	
	Maloney leukemia virus	...	ND	Yes
Unclassified	Hepatitis B	Hepatitis B surface antigen	Yes	Yes

(註) The split influenza virus and hepatitis B surface antigen(isolated from blood) vaccines in use.

ND=not done to our knowledge. IP=in progress. SYN=chemical synthesis of fragments.

Of the cloned immunogens, only the 24-kd surface protein of the foot-and-mouth disease virus has been reported to protect animals against viral challenge exposure.

4, 5째 항에는 分子클론닝이나 有機合成에 의해 지금까지 제조된 면역원성 물질이나 活性이 있는 分節의 생산현황을 열거하였다. 여기서는 동물바이러스군별로 검토하기로 한다.

Papovaviruses, Adenoviruses나 Herpesviruses의 subunit백신에 대한 연구실태는 이 바이러스들의 增殖過程의 유사성과 분리한 二重鎖遺傳子(dsDNA)가 감염성이 있다는 유사성이 있기 때문에 한데 묶어서 언급한다. Papovavirus군에서는 사람 사마귀바이러스DNA를 클론닝하고자 하는 연구가 진행되고 있고 이것을 이용한 백신개발이 가능하고, Simian virus 40의 폴리펩타이드도 合成되어 이것이 免疫原性이 있는 腫瘍抗原으로 이용될 수 있으며 中和抗體도 생산한다고 보고된 바 있다(Walter 등, 1980).

허피스바이러스군에서는 칠면조허피스바이러스에 감염된 세포의 細胞質膜에서 분리한 二種의 단백질을 분리하여 닭에 2회 접종했을 때 마라크병에 방어효과가 있었다는 보고가 있었고 또한 소전염성비기관염바이러스에서 추출한 subunit백신은 IBR바이러스의 공격으로부터 동물을 방어하였다. Lupton과 Reed(1980)는 IBR 바이러스에서 분리정제한 일종의 糖蛋白(glyco-

protein)을 이용, 토끼와 소에 접종했을 때 중화항체가 형성됐었다고 했다. 이와 비슷하게 가성 광견병바이러스에서 추출한 糖蛋白으로 돼지에 2회 접종했을 때 중화항체가 형성되었고 鼻腔을 통해 強毒을 공격했을 때 방어되었다. 그러나 허피스바이러스중에 subunit백신기술이 가장 발달된 것은 herpes simplex virus I이다. 허피스바이러스의 glycoprotein이 중화항체를 생산할 수 있다는 Dix 등(1981)의 보고에 이어 HSV-1의 유전자로 클론닝 대장균이 HSV-1과 HSV-2를 동시에 중화시킬 수 있는 抗體를 생산할 수 있는 폴리펩타이드를 생산했다는 연구결과가 Watson 등(1982)에 의해 밝혀져 관심을 끌게 했다. 이 연구는 사람 性病의 원인이 되는 허피스바이러스에 대한 subunit백신 생산 가능성을 암시할 뿐만 아니라, 사람과 동물에 감염되는 여러 허피스바이러스성 질병을 동시에 예방할 수 있는 어떤 단백질백신의 생산가능성을 강력히 시사한 것이라 생각된다.

Orthopoxvirus군의 바이러스는 다섯 가지의 주요 表面抗原을 가지고 있다. 세포내에 기생하고 있는 rabbit pox 바이러스나 백신니아바이러스에서 얻어진 抗原은 동일한 바이러스에 대해

서는 중화항체를 생산하나 세포밖에 존재하는 바이러스에 대해서는 전혀 방어력이 없었다. 이 경우에는 효과적인 subunit백신이 생산된 적은 없지만 백시니아바이러스는 동물이나 식물의 眞核細胞에 外部遺傳子를 삽입할 때 사용되는 運搬體로 널리 응용되고 있다(Mackett 등 1982 ; 金1985). 즉 세포내에 백시니아바이러스와 허피스바이러스의 thymidine kinase 생산유전자를 갖고 있는 플라스미드를 동시에 감염 삽입했을 때 세포내에서 백시니아바이러스의 유전자가 再組合되어 thymidine kinase를 생산하는 새로운 再組合백시니아바이러스가 만들어진다. 이와같은 원리에 의해 인프루엔자바이러스, B형간염바이러스, 單細胞瘡疹바이러스, malaria 및 세균 등에 대해 효과가 있는 再組合백시니아바이러스를 이용한 백신제조가 가능하게 되어, 천연두퇴치에 공헌한 백시니아바이러스와 遺傳子再組合기술을 응용한 새로운 형태의 백신 개발 가능성이 엿보인다(Paoletti 등, 1984 ; 金, 1985).

Parvovirus속은 분자량 $1.4 \sim 1.7 \times 10^6$ 의 single stranded DNA 유전자를 가지고 있으며 virion은 3종의 폴리펩타이드를 가지는 바이러스들로 구성되어 있다. 쥐나 개파보바이러스에서 분리한 表面蛋白質은 기니픽에서 중화항체를 생산하였고, 유전자클로닝에 의해 생산한 개파보바이러스 표면단백은 마우스에서 中和抗體를 생성한다는 사실이 보고된 바 있어서 subunit 백신에 대한 연구가 착실히 진행되고 있다.

Picornavirus속중 subunit단백백신 개발에 가장 많은 발전을 보인 것은 口蹄疫바이러스이다. 이 바이러스 virion에는 VP1, VP2, VP3, VP4라고 불리워지는 4개의 캡시드단백이 있는 것으로 알려져 있다. 口蹄疫바이러스의 A형과 O형에서 분리한 24,000MW의 表面蛋白質(VPI과 VP3)로 2종의 단백질백신을 제조하여 소와 돼지에 접종했을 때 고도의 中和抗體가 생성되었고 強毒바이러스로 공격했을 때 소와 돼지를 잘 방어하였다고 보고된 바 있었다(Laporte 등, 1973; Bachrach 등, 1975). 또한 O형바이러스의 표면단백에서 추출하여 얻어진 펩타이드는 기니픽에서 중화항체를 생산하였고 強毒으로 공격했을 때 부분적으로 방어가 형성된다는 사실도 규명된 바 있다. 그리고 A형바이러스의 표면단백 아미노산중 55에서 179번 아미노산을 함유하는 13,000M.W.의 cyanogen bromide 分節을 돼지와 소에 접종했을 때 강독공격을 잘 방어하였다는 사실이 Bachrach 등(1979, 1982)에 의해 보고되었다. 이와 유사한 결과가 大腸菌을 이용하여 遺傳子再組合技術로 생산한 A형 바이러스 표면단백으로 구성된 백신에서 얻어졌으며(그림2), 遺傳子再組合技術로 생산한 O형 표면단백을 山羊에 접종했을 때 中和抗體가 생산되었고 強毒공격시 대조군에 비해 바이레미나 發熱症狀이 현저히 낮았다고 Hofsheider 등(1981)이 보고하였다.

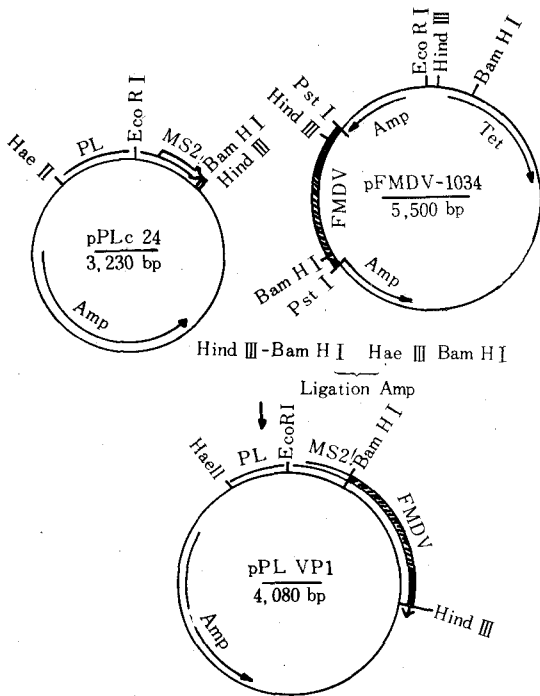


그림 2. 口蹄疫바이러스 캡시드단백 VP1遺傳子를 가진 pPLVP 플라스미드作製 模式圖 (Kupper 등, 1981)

한편 有機合成技術에 의한 口蹄疫백신 개발에 대한 연구도 수행되었다. Bittle 등(1982)은 구제역바이러스의 표면단백중 141에서 160번의 아

미노산殘基를 함유하는 合成펩타이드를 運搬蛋白에 부착하여 토끼에 접종했을 때 고도의 中和抗體가 생성되고 강독공격에 대한 방어효과가 있었다는 사실을 보고했고, Pfaff 등(1982)은 144에서 159번의 아미노산殘基를 合成한 펩타이드로 이와 비슷한 결과를 얻었음을 보고하였고, 토끼뿐만 아니라 자연숙주인 소나 돼지에서 도 방어효과가 있음을 입증하였다. 이런 일련의 시험결과로 최근에는 遺傳子再組合이나 有機合成技術에 의해 口蹄疫바이러스 감염으로부터 동물을 방어할 수 있는 subunit백신 개발이 낙관적이고 실제 이용될 가능성이 높다.

Togavirus속도 表面蛋白質을 이용한 subunit백신 생산이 시도되었다. Semlikiforest virus와 진드기매개뇌염바이러스를 洗滌劑로 처리하여 表面glycoprotein을 분리 마우스에 접종했을 때 기존 바이러스백신보다 더 강한 중화항체가 형성된다는 사실이 competition radioimmunoassay方法에 의해 입증되었고 強毒 공격에 대한 방어효과도 인정되었다.

Dalsgaard와 Overby(1976)는 돼지콜레라바이러스를 洗滌劑로 처리분해하여 E₁, E₂, glycoprotein분획을 제조하여 돼지에 접종한 바 中和抗體가 형성되었고 強독바이러스로 공격했을 때 방어력이 있었다고 보고했다. 그리고 Bovine Viral Diarrhoea(BVD) 바이러스를 이와 비슷하게 처리하여 단백백신을 제조하여 돼지에 접종한 뒤 돼지콜레라바이러스를 공격하여 방어효과를 시험한 바 効力이 높지 못했다고 보고된 바 있었다. 이와같은 시험성적을 미뤄 볼 때 돼지콜레라용 subunit백신의 개발가능성도 있다고 하겠다.

Orthomyxovirus, Bunya virus 및 Arenavirus군도 subunit백신으로 이용할 수 있는 表面糖蛋白을 가지고 있다. 예를들면 현재 市販되고 있는 바이러스分節로 제조한 인플루엔자백신은 바이러스전체로 만든 백신보다 혈청의 陽轉率이 높고 부작용도 적다. 그러나 2회 접종해야 하는 불편한 점도 있다. 또한 닭페스트바이러스의

가장 중요한 表面抗原인 血球凝集素를 클로닝한 대장균에서 생산할 수 있고 사람 인플루엔자 바이러스 단백질유전자도 대장균이나 眞核細胞에 클로닝한 바 있고 여기에서 생산한 hemagglutinin分子는 subunit백신으로 이용 가능성이 높은 것으로 밝혀졌다(Green 등, 198).

Paramyxovirus 및 Rhabdovirus군처럼 分節되지 않는 negative-stranded RNA virus의 表面糖蛋白의 抗原성은 많은 학자들에 의해 연구되었다. paramyxovirus는 2種 즉 hemagglutinin과 hemagglutinin neuraminidase란 표면 당단백과 細胞融合과 溶血作用에 관여하는 F단백을 가지고 있다. 前者는 홍역바이러스, 센다이바이러스, 뉴켓슬병바이러스, 파라인플루엔자Ⅲ 바이러스에서 증명되는 것으로 중화항체를 유발한다. Rhabdovirus에서는 免疫原성을 가지고 있는 glycoprotein G가 있다. Cox 등(1980)은 이 군에서 가축질병에 중요한 광견병 바이러스에서 glycoprotein G subunit를 분리 마우스에 접종하여 중화항체 생성 및 방어효과가 있음을 입증했고, Rose 및 Bergman(1982)은 광견병 바이러스나 水疱性口內炎 바이러스에서 glycoprotein G 생산 유전자를 꺼내 클로닝된 대장균을 작제하고 여기에서 생산된 glycoprotein G가 시험관내에서 沈降反應을 일으킨다는 사실을 밝혔으며, 眞核細胞에 再組合遺傳子를 삽입하여 glycoprotein G를 생산하였다. 일반적으로 바이러스전체로 만든 광견병 백신은 神經系統에 부작용을 일으킬 수 있기 때문에 이와같이 유전공학기술로 제조한 免疫原性 蛋白成分들은 광견병 백신으로 개발되면 유용하리라 생각한다.

Retro virus속은 免疫原성을 보유하고 있는 envelope를 가지고 있다. Ihle 등(1976)은 Friend murine leukemia virus에서 추출해 낸 糖蛋白 g₇₁을 마우스에 접종했을 때 抗體를 형성하였고 고양이白血病바이러스 subunit나 可溶性 腫瘍細胞抗原으로 만든 백신은 바이러스공격에 대해 80%의 방어효과가 있었다고 밝혔다. 이와 유사한 결과가 소백혈병바이러스, 馬傳染性貧血

바이러스 및 사람 T세포백혈병바이러스 연구에서도 입증되어 subunit백신제조에 대한 연구와 더불어 동물과 사람의 癌豫防藥 개발에 획기적인 轉機가 마련될 것 같다.

Dreesman 등(1981)은 Hepatitis B virus 에서 얻어진 表面抗原(HBsAg)을 원숭이에 접종했을 때 免疫이 형성되었고 強毒공격시 방어효과가 있었다고 보고했고 원래 사람혈청에서 얻어진 이 항원은 현재 사람 肝炎백신으로 사용되고 있다. HBsAg은 表面抗原을 가지고 있는 모든 B형간염바이러스에 대해 중화항체를 형성하는 것으로 알려져 있다. 또 한편 HBsAg 생산 유전자 클로닝에 대한 연구가 여러 학자들에 의해 수행되었고 이런 기법으로 생산한 HBsAg이 중화능력이 있는 것으로 밝혀졌다. Rutter(1981)은 酵母에 클로닝해서 얻어진 抗原은 자연상태 抗原과 유사한 22nm입자의 HBsAg을 생산하였다고 했다. 또한 Vaccinia virus에 HBsAg생산유전자를 再組合하는 기법에 의해 이 항원발현이 가능하였다. 한편 Lerner 등(1981)과 Dreesman 등(1982)은 表面抗原의 殘基 138에서 149번의 구조로 된 合成펩타이드를 생산하였고, 이 合成펩타이드 subunit백신은 B형간염바이러스의 envelope에 대해 中和反應抗體를 생산하였다고 보고했다.

나. 細菌性 疾病에 대한 Subunit백신

遺傳工學技術은 세균성질병에 대한 subunit백신 제조에도 효과적으로 응용되고 있다. 초기에는 대부분의 연구가 어린 가축이나 사람에게서 설사병을 일으키는 腸內毒素生産大腸菌의 纖毛(somatic pili)抗原 제조에 집중되어 있었다. 이 抗原은 대장균으로 하여금 腸粘膜에 부착 集落을 형성하게 하는 pilin이라 불리우는 14,000 내지 22,000M.W.의 단백질로써 鞭毛와는 다른 세균세포의 부착물이다. 지금까지 免疫學的으로 성상이 다른 여러가지 纖毛가 장내 독소생산 대장균에서 보고된 바 있었다. 예를들면 돼지에서 분자량 25,000의 K88 및 8979, 소, 면양 및 돼지에서 K99 사람의 CFA/I & II, I형 및 공

통pili 등이 있다. 菌體에서 분리 정제하여 만든 pili抗原은 사람과 동물에서 病原性大腸菌 感染症에 대한 백신으로 사용된 적이 있다. 한편 分子生物學的 연구에서 pilin을 생산하는 遺傳子는 I형과 897p의 경우는 chromosome에 있고, K88, K99 및 CFA/I & II는 플라스미드에 있다는 사실이 밝혀졌고 플라스미드에 pilin생산 유전자를 再組合하여 만든 대장균클론으로 부터 동물용 subunit백신을 생산하는데 성공한 바 있다(Issacson, 1981). 이와 비슷하게 페니실린에 저항성이 있는 사람 淋菌에 대한 pilus 백신도 유전공학기술에 의해 연구되고 있다. Mayer(1982)는 pili抗原生産遺傳子를 갖고 있는 淋菌의 DNA를 플라스미드에 결합하여 대장균에 삽입했을 때 대장균은 pili항원 단클론성항체에 특이하게 반응하고 淋菌pili 抗原基(epitopes)를 갖는 단백질을 생산한다는 사실을 보고하였고, 이 단백질을 더욱 精製하면 淋菌에 대한 subunit백신을 제조할 수 있다고 시사했다.

다. 寄生蟲性 질병에 대한 Subunit백신

기생충성 질병에 대한 subunit백신을 제조하기 위해 遺傳工學技術을 응용한 것으로는 African sleeping sickness라 불리는 질병의 원인체인 *Trypanosoma rhodesiense*感染症을 들 수 있다. 이 原蟲에 대한 주요 방어항체는 蟲體의 表面糖蛋白에 대한 抗體로써 이 항체는 생체내에서 원충을 죽일 수 있을 만큼 강력한 것이다. 그러나 원충은 계속해서 다양하게 變態하여 表面糖蛋白의 변화와 더불어 이 항체에 대한 저항성 원충이 생기게 된다. 이와같은 免疫形成과 저항성 원충에 의한 再感染은 숙주가 죽을 때까지 수차례 반복된다.

*T. rhodesiense*에 존재하는 모든 surface glycoproteins을 클로닝하기란 매우 어렵겠지만 전혀 불가능한 것은 아닐 것이다. 최근에는 *T. rhodesiense*의 外膜에 있는 phospholipid regions에 대해 2種의 항체가 형성된다는 새로운 사실이 밝혀져 이 원충을 토끼에 실험감염시켰을 때 어떻게 자연치유가 되는지에 대한 설명이

가능해졌다. 그래서 이 원충의 免疫防禦機轉을 이해하고 효과적이고 간단한 기생충용 subunit 백신개발에 한가닥 희망을 안겨주고 있다.

3. 單클론성抗體 (Monoclonal antibody)

단클론성항체 생산기술은 사람과 동물의 질병에 대한 研究, 診斷 및 防疫에 획기적인 轉機를 부여한 유전공학기법이다. 이는 遺傳子再組合技術처럼 최근에 개발된 것으로 1975년 Kohler와 Milstein의 "Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined speci-

ficity"란 題下의 연구보고가 嚆矢가 됐다고 할 수 있다. 이 抗體는 동일한 분자구조를 가진 同質性集團이기 때문에 monoclonal antibody라고 부르고 항체생산능력이 있는 세포 즉 B淋巴球와 腫瘍性 myeloma cell을 融合시켜 만든 雜種細胞(hybridoma)에 의해서 만들어진다(그림3).

雜種細胞를 만들기 위한 실험실작업은 길고 고된 과정이지만 일단 생산하면 이론적으로 영속적으로 細胞培養液에서는 ml당 100 μg, 접종세포를 마우스복강에 접종, 증식시킬 때는 腹腔液 ml당 10mg의 동질의 monoclonal antibody를 생산할 수 있다. 일단 만들어진 雜種세포는 액체질소탱크에 凍結保存하면 훗날에 사용할 수도 있다. 單클론성抗體는 polyclonal antibody보다 特異性이 높다는 장점이 있지만 단점도 있다. 즉 單클론성항체는 抗原을 沈降시키는데 필요한 網狀組織構造를 형성하지 못하고 어떤 경우에는 補體가 결합될 수 없는 때도 있다. 또한 단클론성항체는 초기에 질병을 screening test 하는데는 효과적이지 못하다고 생각된다. 왜냐하면 이 항체가 갖고 있는 고도의 특이성은 變異된 病原體나 類似血清液에 대해서는 작용하지 못할 가능성이 있기 때문이다. 그리고 엄격한 의미에서 단클론성항체는 시험관내에서 monospecific 하게 작용한다고만 볼 수 없다. 그 이유로는 이 항체도 해당 抗原基(epitopes)와 구조적으로 비슷한 바이러스나 細胞抗原에 대해 結合性을 가질 수 있기 때문이다. 그러나 이런 여러 단점이 있음에도 불구하고 醫學分野에서 단클론성항체의 이용가치는 매우 높아 이런 단점들을 무시해도 좋을 정도이다.

오늘날 단클론성항체의 응용분야는 동물과 사람 질병에 대한 기초연구와 진단, 치료 분야에 광범위하게 적용되고 있는 바 그 應用分野를 열거하면; 1) 단백질(抗原)의 精製 및 性狀규명, 2) 免疫機轉의 규명, 3) 단순한 단백질 분자에서 복잡한 개체에 이르기까지 다양한 물질의 抗原基 분석, 4) 질병의 진단, 5) 질병의 치료 6) anti-idiotypic 백신개발에 기여함을 들 수

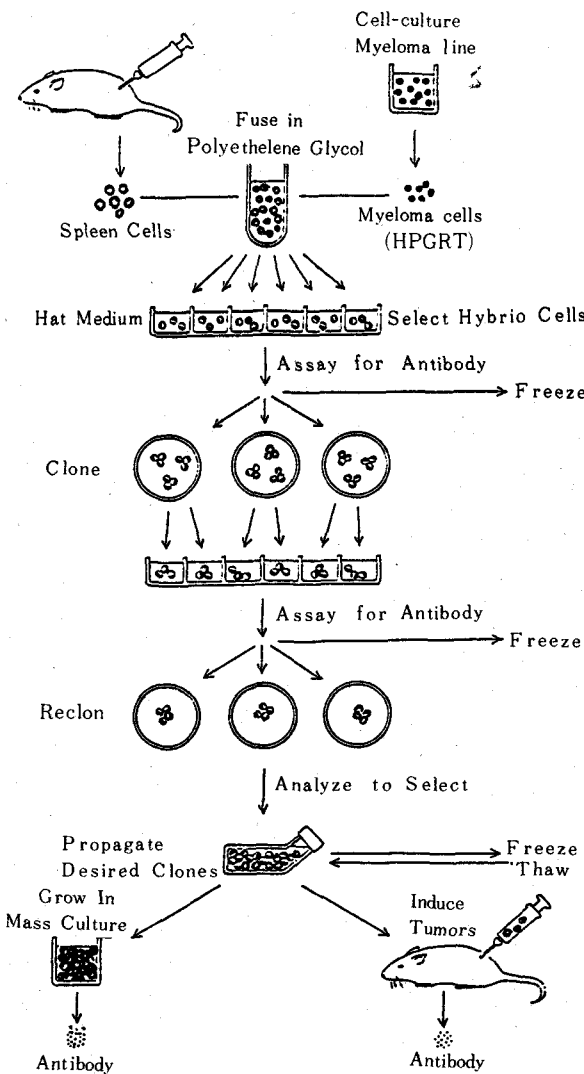


그림 3. 單클론성抗體 (monoclonal antibody) 生産過程의 模式圖 (Mils tein, 1980)

있다.

여기에서 단클론성항체를 이용하는 몇가지 대표적인 실례를 들기로 한다. 단클론성항체를 affinity gel column에 부착하여 유전공학기술에 의해 제조한 복합적 혼합물로부터 필요로 하는 생물學的 製劑를 순수하게 精製해 낼 수 있다. 예를들면 細胞培養法이나 遺傳子再組合技術에 의해 생산한 不純인터페론을 단클론성항체-gel-column을 통과하여 쉽게 정제할 수 있다 (Milstein, 1980; Dalchau 및 Fabre, 1982). 이와같이 단클론성항체기술과 유전자재조합기술은 상호보완적인 입장에 있다고 하겠다. 또한 복잡한 생체 면역기전을 규명하기 위해서 단클론성항체를 이용함으로써 T-lymphocyte의 subpopulation을 감별, 동정할 수 있고, polyclonal 항체를 이용할 때 보다 더욱 정확히 세포벽의 조직항원 즉 major histocompatibility antigen의 성상과 特性을 규명할 수도 있다.

바이러스학에서는 단클론성항체를 이용하여 바이러스의 表面蛋白의 抗原地圖를 그릴 수 있으며 遺傳的 變異株의 抗原基의 위치와 性狀을 밝히는데 유효하게 사용된다. 또한 단클론성항체는 인플루엔자바이러스, 허피스바이러스, 광견병바이러스, 아데노바이러스, mouse mammary tumour virus, polio virus, 口蹄疫바이러스, rubella virus, 개파보바이러스, feline panleukopenia virus 및 볼루딩바이러스가 생체내에서 방어면역을 형성할 때 작용하는 가장 중요한 抗原基를 색출해 내는데도 매우 유용하고 遺傳子클로닝에 의해 제조한 subunit백신이나 合成백신을 개발하는데도 중요한 기술로 응용되고 있어 기여도가 매우 높다. 또한 단클론성항체는 抗原基뿐만 아니라 바이러스 구조중 病原性을 발휘하는 특정부분을 찾아내는 데도 이용된다. 예를들면 마우스에 病原性이 있는 광견병 固定毒을 anti-glycoprotein 단클론성抗體가 들어있는 組織培養液중에 증식시켰을 때 이 바이러스의 증식 여부를 관찰함으로써 surface glycoprotein G의 333번에 위치한 arginine 대신에

isoleucine이나 glutamine을 가지고 있는 非病原性變異株를 選別할 수 있는 바 이런 실험을 통해 surface glycoprotein중 arginine이 마우스에 대한 병원성에 중요한 기능을 한다는 사실을 알 수 있다(Dietschold 등, 1983).

단클론성항체를 이용한 寄生蟲의 抗原分析은 쉽지 않다. 왜냐하면 기생충의 분자구조가 크고 抗原構造가 복잡하고 기생충의 생활환에 따라 변화가 심하고 變異가 빈번히 일어나기 때문이다. 그러나 단클론성항체기법은 기생충 抗原分析에 중요한 도구임에 틀림없으며 트리파노소마 타일레리아 (*Theileria parva*) 및 *Plasmodium berghei*의 연구에 응용된 적이 있다. Sher 및 Snary (1982)는 단클론성항체가 Chaga's disease의 원인체인 *Trypanosoma cruzi*의 증식과정중 일부에서 蟲體成長을 阻止한다는 사실을 밝혀 단클론성항체를 이용한 사가병의 치료가 가능성을 시사하였다. 또한 단클론성항체는 腹腔에서 고농도로 형성된다는 사실을 이용하여 被動免疫療法에 응용된 적도 있으며, 최근에는 Parainfluenza-3 virus에 대한 단클론성항체소스에 접종하여 輸送熱의 발생을 줄일 수 있다는 사실도 보고된 바 있다.

단클론성항체 이용에 대한 기대는 무엇보다도 사람과 가축의 腫瘍性 疾病의 早期診斷과 治療에 있다. 최근 실험실연구나 임상연구 결과는 일반 正常細胞抗原에는 結合하지 않고 腫瘍細胞特異抗原에만 結合하는 단클론성항체 생산이 가능하다고 보고됐으며 이런 단클론성항체에 放射能物質을 接합하여 체내에 注入하므로 診斷에 응용될 수 있고 抗癌劑, 細胞毒性物質 또는 細胞融解酵素를 接합시켜 사용하므로 癌을 치료할 수 있다고 믿고 있다. 한편 단클론성항체를 이용함으로써 사람이나 가축에 遺傳的 疾病을 일으키는 anti-idiotypic抗體에 대한 백신생산 가능성이 있다는 사실이 지적된 바 있었고 토끼나 말에서 생산하던 抗蛇毒血清製劑를 단클론성항체기술로 생산하였고 이 제제는 토끼에서 생산한 抗蛇毒血清보다 解毒效果가 더 높은 것으로

나타났다.

4. 動物用 인터페론

인터페론(interferon)은 1957년에 영국의 Isaacs 및 Lindenmann에 의해 최초로 보고되었고 그후 여러학자들에 의해 다각도로 연구되었다. 인터페론은 분자량 20,000 내지 34,000의 糖蛋白質이 주성분이며, 白血球에서 생산되는 α 인터페론, 纖維芽細胞에서 생산되는 β 인터페론과 免疫淋巴球에서 合成되는 γ 인터페론으로 分類하고 있다. interferon inducer로는 세포에 감염되는 각종 바이러스; 즉 Sendai virus, Newcastle disease virus와 같은 single-stranded RNA viruses, Reoviruses 등의 double-stranded RNA viruses 및 DNA viruses가 있으며 각종 核酸物質, 곰팡이抽出液, mitogens, 세포내 증식하는 細菌 및 그 副産物, 合成低分子物質(tilorone, cationic dyes, AET 등) 및 高分子物質(lipopoly saccharides, dsRNA, PolyI-polyC, poly ILLC) 등이 알려져 있다.

인터페론의 생물학적 作用機能으로는; 1) 광범위 抗바이러스作用과, 2) 細胞내에 기생하는 寄生蟲(Toxoplasma, Sporozoa, Trypanosoma, Plasmodium 등)을 죽이는 効力이 있고, 3) 免疫機能調節作用으로써 抗體生産, 즉시형 또는 지연형 過敏反應, natural killer細胞, macrophage 및 cytotoxic lymphocyte의 기능 조절작용이 있으며, 4) 일부에서는 抗癌作用도 있는 것으로 보고된 바 있어 주목을 끌고 있다. 그러나 인터페론의 생물學的 作用機能에 대한 연구결과는 시험에 사용한 인터페론 자체가 순수하지 못한 것이었기 때문에 模糊한 점이 많다. 그러나 최근 10여년 동안 大量細胞培養技術이 개발되어 보다 순수한 인터페론을 생산할 수 있었고 더욱 최근에는 遺傳子再組合기술을 이용하여 유전자 클론닝된 대장균에서 순수한 인터페론을 생산할 수 있게 되어 그 分子生物學的 性狀과 作用機轉에 대한 연구뿐만 아니라 대량생산에 의해 免疫性疾病, 傳染性疾病 및 腫瘍性疾病에 대한 임

상응용이 가능하게 되었다.

遺傳工學技術에 의한 인터페론생산 연구는 주로 미국, 영국, 프랑스, 일본, 이스라엘, 벨지움, 스위스에 등에 있는 대학, 연구소 및 제약 회사에 있는 分子生物學者들이 주축을 이루고 연구해 왔다. 1979~1983년에는 미국의 Swanson 및 Boyer, Nagata, Goeddel 등이 Genentech회사, Cetus회사, Roche Institute of Molecular Biology, 이스라엘의 Weizmann Institute에서 유전자클론닝에 의해 인터페론생산에 성공하였고, Genentech회사는 시판을 위한 양산 체제에 들어가 있다.

遺傳工學技術을 이용한 인터페론 생산원리는 1978년에 recombinant DNA technique를 이용하여 생산 성공한 인슈린 제조방법인 相補의 DNA方法(complementary DNA method)을 응용하였고, 더욱 최근에는 Edge 등(1981)은 有機

표 2. 遺傳子再組合技術에 의해 대장균에서 생산한 사람白血球 인터페론의 性狀(Goeddel 등, 1980)

<i>E. coli</i> 294 transformed by;	Cell density (cells ml ⁻¹)	IFN activity (U/ml culture)	Le IF molecules per cell
pLe-pre IF A2	3.5×10 ⁸	480	120
pLe-pre IF A3	3.5×10 ⁸	0	0
pLe IF A25	3.5×10 ⁸	36,000	9,000
pLe IF A25	1.8×10 ⁸	250,000	120,000
pLe IF A118	3.5×10 ⁸	20	5

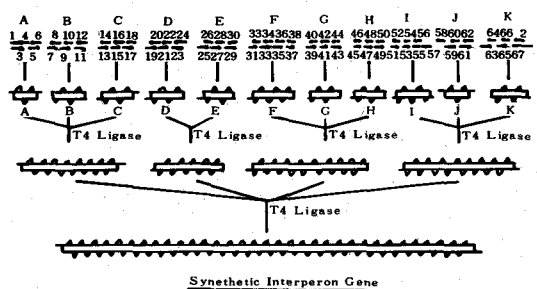


그림 4. 사람 白血球 인터페론遺傳子를 合成하기 위한 수단으로 有機合成에 의해 제조한 oligonucleotides의 接合모델. (Edge 등 1981)

合成法에 의해 사람 α , β 인터페론의 遺傳子의 일부를 合成하는데 성공하였다(그림 4). 유전자 클로닝에 의한 사람 α , β 인터페론 및 소 α 인터페론을 생산한 cDNA 방법을 略述하면 다음과 같다. 우선 末梢血液白血球, 白血球細胞株 및 纖維芽細胞에 인터페론 인두셔를 작용시킨 후 12~15시간에 이들 細胞들로부터 mRNA를 分離精製한 후 逆製酵素를 사용하여 mRNA에 해당하는 인터페론생산 遺傳子를 合成한다. 그리고 대장균에서 뽑아 낸 플라스미드를 制限酵素를 이용하여 절단하고 그 부위에 IFN DNA를 접합시킨 후 대장균에 다시 삽입한다. 이때 IFN DNA를 함유하는 대장균 作製 비율은 약 1 : 10^4 이므로 免疫學的 및 生化學的으로 screening하여 인터페론을 생산하는 대장균을 선별하여 클로닝을 作製한다. 이것은 인슈린클론처럼 세균체외로 단백질을 分泌하지 않고 細胞質內나 菌膜사이에서 인터페론이 존재하기 때문에 集菌한 후 菌體를 용해시켜 인터페론을 유리시킨 후 精製過程을 거쳐야 한다. 이와같은 유전공학기술을 응용하여 1ℓ의 대장균에서 $2 \times 10^5 \sim 2 \times 10^8$ unit의 인터페론을 생산했으며(表 2), 1980년에 핀란드 적십자사에서 白血球培養法으로 90,000ℓ의 혈액에서 6×10^{11} unit의 인터페론을 생산했는데 이것은 1,000ℓ의 대장균 클론에서 생산한 것과 같은 양이다. 그러나 遺傳工學을 이용한 인터페론생산에 문제점으로; 1) 세포내에 미량으로 존재하는 인터페론 mRNA의 分離精製가 어렵고, 2) 인터페론을 생산하는 클로닝의 作製過程이 복잡하고, 3) 클로닝된 대장균의 특성을 유전적으로 고정시키는데 애로가 있는 점 등이 대두되고 있다.

인터페론의 작용효과는 최근까지도 種特異性이 있어서 소세포에서 생산된 것은 소세포에 감염된 바이러스에 대해 효과가 있고 닭세포의 감염에는 효과가 없는 것으로 생각했다. 그러나 지금은 種特異性은 절대적이 아니고 인터페론의 종류나 숙주에 따라 다양한 것으로 밝혀졌다. 즉 사람 α 인터페론은 소, 돼지, 마우스세포에서

抗바이러스 효과가 있으며 사람 β 인터페론은 그렇게 못하다고 알려졌다. 최근에 유전자재조합 기술에 의해 만든 사람 α 인터페론이 소전염성비기관염 바이러스 및 마우스 encephalomyelitis virus에 대해 增殖阻止 효과가 있음이 보고된 바 있다. 즉 Roney 등(1985)은 遺傳子 再組合技術에 의해 생산한 사람 α 인터페론 50×10^4 unit를 송아지의 비강 및 근육내에 1주간 투여한 후 強毒 소전염 성비기관염바이러스로 공격했을 때 인터페론投與群에는 호흡기症狀이 약하게 발현되었고, 豫防効果는 접종한 인터페론 力價와 공격한 바이러스량과 밀접한 관계가 있었다고 보고했다. 더욱 최근에는 遺傳子再組合技術이나 有機合成技法(그림4)을 이용해서 α , β 인터페론의 성상을 모두 갖는 雜種인터페론(hybrid interferon)을 생산하여 사람, 소, 마우스 세포에 대해 광범위하게 抗바이러스 효과를 갖는 製劑를 생산한 바 있어 種의 장벽을 초월한 광범위 인터페론생산이 實用化될 가능성도 있다.

生體內 인터페론作用機轉에 대한 연구는 아직 초기단계라 할 수 있고 既 보고된 연구결과도 논리적으로 설명되지 못하고 있는 부분이 많다.

예를들면 自家免疫疾病(auto immune disease)患者에 있어서 혈중 인터페론의 농도가 높아진다는 사실이 알려져 있지만 이런 질환에서 인터페론의 정확한 역할이 무엇인지 분명치 못하다. 반면에 白血病과 같은 淋巴球性腫瘍疾病, 바이러스성 질병, 免疫缺乏症勢 및 일부 自家免疫疾病에서는 γ 인터페론 생산기능이 低下되어 있음이 밝혀진 바 있다. 이상과 같이 인터페론 작용기전이나 질병치료효과에 대해 아직 밝혀지지 않는 점이 많이 있지만 遺傳工學技術에 의해 대량생산이 가능해져 바이러스성 질병이나 종양성 질병에 대한 임상치료시험이 가능해졌기 때문에 조만간 그 실체가 더욱 구체화 될 것으로 생각된다. 그리고 이런 연구결과는 결국 인터페론을 家畜疾病診療 특히 高價의 種畜, 競走馬, 展示用 또는 愛玩用物動에 매우 有効하게 사용될 뿐만 아니라 서독의 Mayr가 지적했듯이 1) 감염

에 기인된 新生動物의 폐사율을 감소시키고, 2) 肥育初期에 있는 돼지와 소질병의 치료, 3) 傳染要因이 複合的인 질병, 4) 混合感染, 5) 慢性疾病, 6) 바이러스성 腫瘍, 7) 泌尿生殖器系 및 호흡기계 질병, 8) 腸粘膜 및 皮膚系統의 바이러스성 질병의 치료와 예방에 응용가능성이 높을 것이다. 일반적으로 인터페론은 高單位를 수일간 投與해야 效果가 있는 것으로 알려져 있는 만큼 遲延性 效果를 내는 投與方法을 아울러 개량해야 실용적 가치가 더욱 增大될 것이다.

5. 우리나라 研究現況

遺傳工學에 대한 연구가 우리나라에서 본격적으로 거론된 것도 1980~1981년경이었고 1982년에 遺傳工學研究組合, 遺傳工學學術協議會와 같은 단체가 결성되었다. 이어서 1984년에는 遺傳工學育成法이 制定되어 정부차원에서 이 분야 연구활동을 尖端科學育成이라는 측면에서 적극 지원하게 되어 주로 農業과 醫·藥學에 관련된 국공립연구소, 政府出捐研究所 및 企業體 附設研究所에서 遺傳工學과 관련된 연구를 추진하고 있다. 또한 각 대학에서도 遺傳工學 研究所를 設置하여 이 분야 연구를 활성화시키려고 노력하고 있다.

가축질병을 대상으로 한 遺傳工學研究는 1982년을 起點으로 하여 주로 畜衛生研究所를 중심으로 하여 수행되어 왔다. 지금까지 연구가 완료되었거나 진행중인 課題로는 우선 가축질병의 診斷法 改良을 주목적으로 수행한 단클론성 抗體 생산 연구를 들 수 있다. 여기서는 緬羊赤血球抗原, 돼지콜레라바이러스, 마렉크腫瘍抗原 및 돼지假性狂犬病바이러스에 대한 단클론성 抗體生産에 성공하였고 이중 돼지가성광견병 단클론성항체는 放射型免疫擴散酵素試驗 (RIDEA; radial immunodiffusion enzyme assay)에 응용하여 輸入豚이나 국내 豚群에 대한 가성광견병簡易診斷法으로 이용되고 있고 이와 유사하게 돼지콜레라바이러스 단클론성항체를 이용한 簡易

診斷法에 대한 연구도 현재 진행중에 있다. 그 외 돼지傳染性胃腸炎바이러스, 돼지파보바이러스, 돼지 日本腦炎바이러스 및 살모넬라菌에 대한 단클론성 항체생산도 현재 진행중이다. 한편 대학부설연구소에서는 소바이러스성 下痢 바이러스(BVD-MD virus), 닭전염성 후두기관염 바이러스(ILT) 및 소傳染性鼻氣管炎 바이러스의 단클론성항체 생산에 대한 연구가 수행중이다.

가축질병의 治療劑 개발분야로는 細胞培養法에 의한 돼지 α 인터페론의 생산 연구가 1982년에서 1984년까지 수행되어 ml당 약 25,000 單位의 인터페론을 생산할 수 있었고 생산한 인터페론이 試驗管内에서 돼지콜레라바이러스, 傳染性胃腸炎바이러스 등의 增殖을 阻止한다는 사실을 입증한 바 있었다. 한편으로는 遺傳子再組合技術을 이용한 가축백신개발사업의 일환으로 病原性 大腸菌(ETEC)의 纖毛(pili) 抗原인 K88, K99抗原 生産遺傳子를 갖는 plasmid DNA 作製와 이 유전물질을 삽입한 大腸菌株 클로닝에 대한 基礎研究가 수행중에 있고 遺傳子再組合와 遺傳子클로닝기술에 의해 소의 增體率과 泌乳量을 증대시키는 효과가 있는 소의 成長ホルモン생산에 대한 기초연구도 추진중에 있다. 또한 마이크로 케리아를 이용한 대량세포 배양법에 대한 연구와 有機合成法에 의한 subunit 백신에 대한 연구도 진행중에 있다.

비록 여러 제한여건 관계로 선진국의 발전속도에는 미치지 못하나 우리나라에서도 遺傳工學技術을 이용하여 가축질병을 診療하고 예방할 수 있는 날이 멀지 않다고 생각되며 아울러 이 분야에 대한 基礎研究가 더욱 적극적으로 광범위하게 수행되어야 한다고 사료된다.

參 考 文 獻

1. Sekizaki, T., Terakado, N. and Hashimoto, K. : Cloning and comparison of heat-stable enterotoxin genes from *Escherichia coli* strains of bovine, porcine and avian origins. Am. J. Vet. Res. (1984) 45(2) : 314~318.
2. Gamble, H. R. and Graham, C. E. : Monoclonal anti-

- body-purified antigen for the immunodiagnosis of trichinosis. *Am. J. Vet. Res.* (1984) 45(1): 67~74.
3. Roney, C. S., Rossi, C. R., Smith, P. C., Lauerman, L. C., Spano, J. C., Hanrahan, L. A. and William, J. C. : Effect of human leukocyte A interferon on prevention of infectious bovine rhinotracheitis virus infection of cattle. *Am. J. Vet. Res.* (1985) 46(6): 1251~1255.
 4. Enquist, L. W. : Genetic engineering I : an emerging technology. *Vet. Med.* May (1984) : 689.
 5. Muscoplat, C. C. : Genetic engineering II : application for animal health care. *Vet. Med.* June (1984) : 832.
 6. Sherman, D.M. : Genetic engineering III : monoclonal antibodies for veterinary medicine. *Vet. Med.* July (1984) : 959.
 7. Bachrach, H. L., Callis, J. J., Brown, F. and Strohmair, K. : Achievements in genetic engineering and their influence on the control and prevention of animal diseases. O. I. E. 51st general session, Paris 23~27, May (1983) 51 SG/9.
 8. Hofmann, W., Danner, K. and Seeger, K. : Preliminary trial of interferon produced by genetic intervention for treating viral diarrhoea in calves. *Deut. Tierarz. Wochen.* (1985) 92(7/8) : 278.
 9. Ohmann, H. B. and Babiuk, L. A. : *In vitro* and systemic effects of recombinant bovine interferons on natural cell-mediated cytotoxicity in health and herpes virus-infected calves. *J. Leuk. Biol.* (1984) 36(3) : 451.
 10. Nagata, S., Taira, H., Hall, A., Johnsrud, L., Streuli, M. etc. : Synthesis in *E. coli* of a polypeptide with human leukocyte interferon activity. *Nature* (1980) 284 (March) : 316.
 11. Goeddel, D. V., Yelverton, E., Ullrich, A., Heyneker, H. L., Miozzari, G. etc : Human leukocyte interferon produced by *E. coli* is biologically active. *Nature* (1980) 287 (Oct) : 411.
 12. Edge, M. D., Greene, A. R., Healthcliffe, G. R., Meacock, P. A., Schuch, W. etc : Total synthesis of a human leukocyte interferon gene. *Nature* (1981) 292 (Aug) : 756.
 13. Milstein, C. : Monoclonal antibodies. *Sci. Am.*, Oct. (1980) : 56.
 14. Kupper, H., Keller, W., Kurz, C., Fross, S., Schaller, H., Franze, R. and Strohmaier, K. : Cloning of cDNA of major antigen of foot and mouth disease virus and expression in *E. coli*. *Nature* (1981) 289 (Feb) : 555.
 15. Kweon, C. H., An, S. H. and Kim, Y. H. : Derivation and characterization of monoclonal antibodies against pseudorabies virus. *Proc. the 3rd AAAP Animal Science Congress, Seoul* (1985) : 559.
 16. An, S. H. and Kweon, C. H. : Monoclonal antibodies against Marek's disease virus and herpes virus of turkeys. *Res. Rept. O. R. D.* (1984) 26(1) : 61.
 17. Paoletti, E., Lipinskas, B. R., Samsonoff, C., Mercer, S. and Panicali, D. : Construction of live vaccine using genetically engineered poxviruses : Biological activity of vaccinia virus recombinants expressing the hepatitis B virus surface antigen and the herpes simplex virus glycoprotein D. *Proc. Nat. Acad. Sci., U.S.A.* (1984) 81 : 193.
 18. Meyer, T. F. : Pillus expression in *Neisseria gonorrhoeae* involves chromosomal rearrangement. (1982) 30 : 45~52.
 19. Kaaden, O. R., Adam, K. H. and Strohmaier, K. : Induction of neutralizing antibodies and immunity in vaccinated guinea pigs by cyanogen bromide-peptides of VP 3 of foot-and-mouth disease virus. (1977) 34 : 397~400.
 20. Bachrach, H. L., Morgan, D. O. and More, D.M. : Foot-and-mouth disease immunogenic capsid protein VPT : N-Terminal sequences and immunogenic peptides obtained by CNBr and tryptic cleavages. (1979) 12 : 65~72.
 21. Bachrach, H. L., Morgan, D. O., Mc Kercher, P. D., Moore, D. M. and Robertson, B. H. : Foot-and-mouth disease virus : Immunogenicity and structure of fragments derived from capsid protein VP 3 and of virus containing cleaved VP 3. (1982) 7 : 85~96.
 22. Walter, G., Scheidtmann, K. H., Carbone, A., Laudano, A. P. and Doolittle, R. F. : Antibodies specific for the carboxy and amino-terminals regions of simian virus 40 large tumor antigen. (1980) 77 : 5197~5200.
 23. Atassi, M. Z. : Precise determination of protein antigenic structures has unravelled the molecular immune recognition of proteins and provided a prototype for synthetic mimicking of other binding sites. (1980) 32 : 21~44.
 24. Dalsgaard, K. and Overby, E. : Vaccination of pigs against hog cholera (classical swine fever) with a detergent spilt vaccine. (1976) 17 : 465~474.
 25. Green, N., Alexander, H., Olsen, A., Alexander, S., Shimmick, T. M., Sutcliffe, J. L. and Lerner, R. A. : Immunogenic structure of the influenza virus haemagglutinin. (1982) 28 : 477~487.
 26. Dreesman, G. R., Hollinger, F. B., Sanchez, Y., Oefinger, P. and Melnick, J. L. : Immunization of chimpanzees with hepatitis B virus-derived polypeptides. (1981) 32 : 62~67.
 27. Cox, J. H., Dietzschold, B., Weiland, F. and Schneider, L. G. : Preparation and characterization of rabies virus hemagglutinin. (1980) 30 : 572~577.
 28. Rose, J. K. and Bergmann, J. E. : Expression from cloned cDNA of cell-surface secreted forms of the glycoprotein of vesicular stomatitis virus in eucaryotic cells. (1982) 30 : 753~762.
 29. Hie, N., Lee, J. C., Collins, J. J., Fischinger, P.

- J., Pazmino, N. H., Moening, V., Schafer, W., Hamia, Jr., M.G. and Bolognesi, D.P. : Characterization of the immune response to the major glycoprotein(gp 71) of Friend leukemia virus II. Response in C57BL/6 mice. (1976) 75 : 88~101.
30. Mayr, A. : Interferinization : a new possibility for prophylaxis and therapy of infectious disease. Ber und Munch. Tiera. Wochen. (1974) 87 : 465.
31. Lerner, R. A., Green, N., Alexander, H., Liu, F. T., Sutcliffe, J. G. and Shinnick, T. M. : Chemically synthesized peptides predicted from the nucleotide sequence of the hepatitis B virus genome elicit antibodies reactive with the envelope protein of Dane particles. (1980) : 78 : 3403~3407.
32. Dreesman, G. R., Sanchez, Y., Ionescu-matiu, I., Sparrow, J. T., Six, H. R., Peterson, D. L., Holligner, F. B. and Melnick, J. L. : Antibody to hepatitis B Surface antigen after a single inoculation of uncoupled synthetic HBsAg peptides. Nature. (1982) 295 : 158~160.
33. Watson, R. J., Weis, J. H., Salstrom, J. S. and Enquist, L. W. : Herpes simplex virus type-1 glycoprotein D gene : nucleotide sequence and expression in *Escherichia coli*. (1982) 218 : 381~384.
34. Bittle, J. L., Houghten, R. A., Alexander, H., Shinnick, T. M., Sutcliffe, J. G., Lerner, R. A., Rowlands, D. J. and Brown, F. : Protection against foot-and-mouth disease by immunization nucleotide sequence. (1982) 298 : 30~33.
35. Pfaff, E., Mussagay, M., Bohm, H. O., Schulz, G. E. and Schaller, H. : Antibodies against a preselected peptide recognize and neutralize foot-and-mouth disease virus. (1982) 1 : 869~874.
36. Lupton, H. W. and Reed, D. E. : Evaluation of experimental subunit vaccines for infectious bovine rhinotracheitis. (1980) 41 : 383~390.
37. Dix, R. D., Pereira, L. and Baringer, J. R. : Use of monoclonal antibody directed against herpes simplex virus glycoproteins to protect mice against acute virus-induced neurological disease. (1981) 34 : 192~199.
38. Mackett, M., Smith, G. L. and Moss, B. : Vaccinia virus : A selectable eukaryotic cloning and expression vector. (1982) 79 : 7415~7419.
39. Laporte, J., Grosclaude, J., Wantyghem, J., Bernard, S. et Rouze, P. : Neutralisation en culture cellulaire du pouvoir infectieux du virus de la fièvre aphteuse par des sérums provenant de pores immunisés à l'aide d'une protéine virale purifiée. (1973) 276 : 3399~3401.
40. Bachrach, H. L., Moore, D. M., Mckercher, P. D. and Polatnick, J. : Immune and antibody responses to an isolated capsid protein of foot-and-mouth disease virus. (1975) 115 : 1636~1641.
41. Hofshneider, P. H., Burgelt, E., Kauzmann, M., Mussagay, M., Franze, R., Ahl, R., Bohm, H., Strohmayer, K., Kupper, H. and Otto, B. : Studies on the antigenicity and immunogenicity of foot-and-mouth disease viral protein VP1 expressed in *E. coli*, in Bachmann PA (ed) London Taylor & Francis, Ltd., (1981) pp. 105~113.
42. Köhler, G. and Milstein, C. : Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. (1975) 256 : 495~497.
43. Issacs, A. and Lindenmann, J. : Virus interference. I. The interferon. (Biol.). (1957) 147 : 253~267.
44. Sher, A. and Shary, D. : Specific inhibition of the morphogenesis of *Trypanosoma cruzi* by a monoclonal antibody. (1982) 300 : 639~640.
45. Dalchau, R. and Fabre, J. W. : The purification of antigens and other studies with monoclonal antibody affinity columns: the complementary new dimension of monoclonal antibodies: in McMichael A. J., Fabre J. W. (eds): Academic Press. (1982) pp. 519~556.
46. Dietschold, B., Wüner, W. H., Wiktör, T. J., Lopes, A. W., Lafon, M., Smith, C. L. and Koprowski, H. : Characterization of an antigenic determinant of the glycoprotein that correlates with pathogenicity of rabies virus. (1983) 80 : 70~74.
47. Issacson, R. E. : Pili of enterotoxigenic *Escherichia coli*, Proc. Int. Symp., Neonatal Diarrhoea. (1981) 3 : 213~236.
48. 강현삼, 김병한, 김용희, 김연수, 정신우, 설동섭 : 소성 광홀몬 遺傳子分離 및 傳達에 관한 연구. 시험연구 보고서. 농촌진흥청 가축위생연구소 (1984) p. 110.
49. 金宇鎬 : 生物工學의 技術에 의한 免疫蛋白質의 생산과 전망. 대한수의사회지 (1983) 19(3) : 25.
50. 金宇鎬 : 遺傳的으로 操作된 Vaccinia virus를 사용한 再組合生백신 개발에 대한 전망. 대한수의사회지 (1985) 21(12) : 705.
51. 金仁俊 : 경북지방의 돼지 假性狂犬病 감염조사. 경북수의사회보 (1986) No. 33 : 4.
52. 김종만 : 大腸菌백신의 최근 연구동향. 대한수의사회지 (1985) 21(12) : 712.
53. 안수환, 권창희, 최상호, 김두희, 김용희, 설동섭 : 가성 광경명바이러스에 대한 단클론성항체 생산, 시험연구보고서. 농촌진흥청 가축위생연구소 (1984) p. 102.
54. 윤용덕, 김종만, 주이석, 김기석, 박정문, 설동섭, 강현삼 : 大腸菌 plasmid DNA의 再組合에 관한 연구. 시험연구보고서. 농촌진흥청 가축위생연구소 (1984) p. 49.
55. 全茂炯, 安壽煥, 朴奉均, 金龍熙, 薛東燾 : 돼지 Leucocyte interferon 생산과 그 生物學的의 性狀에 관한 연구. 농사시험연구논문집. 농진청 (1986) 28 (인쇄중).