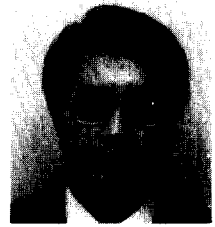


세포배양 및 바이오리액터에 의한 유용물질 생산



두산기술원 고 의 찬

1. 연구의 필요성

동식물 세포배양에 의한 신기능 생물소재의 생산은 선진국에에서도 집중적으로 개발하고 있는 첨단 기술로 고가의 필수 원료의약품이나 부가가치가 높은 천연 정밀화학 제품들을 대상으로하고 있다.

주목류에 극미량 함유되어 있는 taxol은 난소암에 탁월한 치료효과가 입증되어 '93년 FDA로부터 신약승인을 받았으며, 유방암, 폐암등에도 임상실험이 진행되고 있다.

Taxol은 세포분열과정에서 microtubule 형성을 촉진시킴으로써 궁극적으로 mitotic spindle 생성과 cell migration을 방해하는 독특한 세포 독성 작용기작을 갖고 있으며, 지금까지 발견된 항암제 중에서 가장 광범위한 효과가 기대되는 신약이다.

현재 Taxol의 생산은 주목의 껍질을 채취하여 유기용매추출과 복잡한 정제과정을 거쳐 생산되고 있으나, 난소암 환자 1명을 치료하는데 2g의 Taxol이 필요하며, 2g의 Taxol을 만들기 위해서는 수령 100년 이상된 나무 5~7그루가 필요하기 때문에 주목의 과다한 벌채로 인한 생태계의 심각한 영향이 우려되고 있다.

또한 화학구조가 복잡하여 유기합성에 의해 상업적인 제품을 만드는 것은 거의 불가능하다.

따라서 환경을 파괴하지 않고 Taxol을 안정적으로 공급할 수 있는 새로운 생산법이 절실히 요구되고 있다.

감염성 바이러스에 대한 질병은 많은 연구노력의 결과로 효과적인 예방백신과 효능이 좋은 치료 및 억제제들이 개발되어 왔으나, 천연두, 홍역, 소아마

비등 몇몇 성공적인 예방백신 이외에도 AIDS, Herpes, Influenza바이러스 등 많은 바이러스에 대한 진단제, 백신, 치료제의 개발이 시급하다.

최근 여러종류의 암이 바이러스에 의해 유발된다는 사실이 밝혀지고 있어 암 유발 바이러스백신의 개발을 통하여 암을 예방하려는 노력이 시도되고 있으나, 이러한 바이러스의 배양이 어려워 개발이 지연되고 있다.

바이러스 백신이나 진단시약에 필요한 항원단백질 생산은 대부분 동물세포에서 바이러스를 대량 배양한 후 불활성화 시키는 방법이나 환자의 혈액에서 바이러스를 분리하여 표면항원단백질을 분리하는 방법으로 생산되고 있으며, 최근에는 면역성이 높은 특히 항원단백질을 유전자 재조합에 의해 미생물 또는 동물세포에서 발현시켜 생산하는 3세대 진단시약이나 백신이 개발되고 있으나, 바이러스 표면항원은 대부분 당단백질로 구성되어 있어 CHO나 HeLa, Myeloma 등의 동물세포를 이용한 생산기술 개발이 선결과제이다.

최근, 고지혈증으로 인한 심장순환기계 질환이 증가되고 있으며 국내의 연간 평균사망인구의 약 30%가 고혈압, 뇌출혈, 동맥경화 등의 심장순환기계 질환으로 사망하고 있어 관련 질병의 진단과 더불어 근본적인 치료제 개발이 절실하게 요구되고 있다.

고지혈증은 지질이나 Lipoprotein자체의 대사이상으로부터 오는 가족성(원발성) 고지혈증과 지질대상에 이상이 있음으로서 유발되는 속발성 고지혈증으로 대별된다. 이러한 고지혈증은 협심증, 심근경색증, 뇌경색증, 갑상선 기능저하증, 이상 단백질증, 다발성 골수증, 인슐린 결핍성 당뇨병 등 여러 질

병의 원인으로 알려져 왔다. 이러한 고지혈증 환자의 치료에는 β -차단제, 이노제, ACE저해제, 혈관확장제, 칼슘길항제 등이 복합적으로 사용되고 있다.

지질대사에 직접적으로 관련되는 plasma cholesterol은 LDL receptor와 lipoprotein의 종류에 따라 조절된다. LDL와 LDL receptor 간의 반응은 lipoprotein에 존재하는 apoprotein에 의해 결정된다고 믿어지고 있으며, 이러한 apoprotein은 lipid transport 이외의 lipid 대사과정의 조절, 그리고 lipoprotein receptor와 매우 밀접하게 관련되어 있다고 알려져 있으며 최근에는, lipoprotein에 존재하는 apoprotein을 측정하여 고지혈증을 조기진단하려는 노력이 이루어지고 있다. 따라서 apoprotein 그 자체와 이들의 receptor를 재조합 동물세포를 이용하여 생산함으로써 직접적인 치료제를 개발하고 apoprotein epitope에 대한 단일클론 항체생산과 임상적인 치료효과확인 연구는 기존의 복합적인 고지혈증 치료 대체 및 관련질환의 획기적인 단백질 약제개발이 가능하다.

2. 연구동향

가. 식물세포배양 및 바이오테크에 의한 Taxol 생산기술 개발

Taxol은 NCI의 대규모 천연항암물질 탐색 program 과정에서 찾아낸 물질로 1971년 RCI(Research Triangle Institute)의 M.C. Wani 등에 의해 구조가 밝혀진 이래 NCI에서 개발된 Mouse xenograft screen 방법에 의해 항암효과가 재조명되면서 연구가 활발해졌다.

Taxol 생산연구는 크게 세 가지 방법으로 시도

되고 있는데 첫째는 성숙한 나무의 수피나 잎으로부터 분리정제하는 방법으로 미국의 Bristol-Meyers Squibb과 Hauser Chemical Research Inc에서 유기용매에 의한 대량추출연구가 완료된 상태이며 NAPRO Biotherapeutics, Inc. 등에서도 연구되고 있다.

두번째는 유기합성에 의한 생산으로 10-deacetyl-baccatin III와같은 전구물질로부터 반합성 또는 유도체를 만들거나, 전체합성 연구가 진행되고 있으나 전합성의 경우 25step 이상의 과정이 필요하며 10년 이내에는 경제성이 없을 것으로 예측되고 있다.

세번째로는 식물세포배양에 의한 대량생산으로 가장 이상적인 방법이라고 생각되는 것으로 USDA를 비롯한 여러대학과, Venture기업들의 목표가 되고 있다.

나. 세포배양에 의한 유용바이러스 생산기술

미국에서는 간염바이러스의 배양방법을 개선하여 백신화 및 간염바이러스 치료제의 개발에 응용하고 있으며, NIH, Chiron, 프랑스의 Pasteur Inst 등에서는 AIDS백신개발에 박차를 가하여 임상실험 phase I, II 단계에 있다. 일본의 경우 대판대학에서 수두바이러스 백신개발에 성공한 바 있으며, 국내에서는 녹십자, 제일제당이 혈액에서 분리한 B형간염 바이러스를 백신화하여 판매하고 있으며, B형 및 C형 바이러스의 표면항원을 이용한 백신개발을 위해 유전공학연구소, 동아제약, 녹십자, 럭키, 제일제당 등에서 깊이 연구하고 있으며 각종 암의 주원인이 되고있는 파필로마 바이러스의 진단방법과 동물세포 대량배양 시스템이 유전공학 연구소에서 성공적으로 개발되고 있다.

다. 무혈청배지를 이용한 바이러스 항원 생산 및

세부과제 구성내역

* 총괄책임자

과제명	연구책임자	소 속
유기용매법에 의한 Taxol 및 전구물질 추출	*고 의 찬	두산기술원
캘러스 유도에 의한 Taxol 생산 세포주 개발	오 평 수	태평양 기술연구소
배양세포에 의한 Biotransformation	손 현 수	정식품 중앙연구소
주목 세포배양에 의한 Taxol 생산기술 개발	유 장 렬	유전공학연구소
주목 및 배양세포로부터 Taxol 관련물질의 추출분리	이 혼	한국과학기술원 화학공학과
Taxol 생산을 위한 Bioreactor의 Design 및 운전 전략 개발	조 규 현	강원대학 화학공학과

동물세포의 대량배양기술 개발

동물세포 배양에 필수적으로 첨가되어지는 고가의 혈청이나 세포성장인자를 대체하기 위한 무혈청 무성장인자배지에 대한 국내연구는 전무한상태에 있고 현재 사용되고 있는 무혈청배지는 선진국 몇몇 회사의 독점기술이 되어 있으며, 혈청배지를 완전대체할 수 있는 무혈청배지는 아직 개발되어 있지 않다.

동물세포 배양에 있어서 부유세포의 경우 기계식 교반법과 기포식 교반법에 의한 대량배양기술이 산업화되어 있으며(기계식교반법 : Burreughs Wellcome-영국-8000L 규모, 기포식교반법 : Celltech-영국-1000L 규모, 2~3×10⁶ cells/ml) 부착의존성세포의 경우는 마이크로캐리어법이 세포농도 20g/L 수준에서 최대배양규모 1000L로 실용화 되어있다.

최근 일본협화발효는 관류배양법으로 1×10⁷ cell/ml까지 고밀도화에 성공하였으며 투석막을 이용하여 생육저해물질을 제거하는 새로운 방식을 개발하고 있다. 미국의 Demon Biotech은 단일클론항체 생산시 세포를 6×10⁸ cell/ml까지 마이크로캡

슐에 봉합시킴으로서 보통배양법 보다 50~100배의 생산성을 보이는 방법도 개발하고 있다.

라. 세포배양 및 바이오리액터에 의한 지질대사 관련 유용단백질 및 항체 생산기술 개발

지질대사에 관련하는 Apoprotein은 지질의 조직간 운반, 지질대사 과정의 조절, 구조적 기능 그리고 receptor 등으로 체내에서 중요한 역할을 수행하고 있다는 많은 연구자료가 축적되어 있으며 최근에는 Apo A, Apo B, Apo (a)를 진단하여 HDL과 LDL의 상관관계를 규명하려는 노력이 진행되고 있다.

미국, 독일 등에서는 이미 관련제품이 나오고 있으며, Apo C와 Apo E의 경우에 있어서 apoprotein의 분리, 정제 genetic disorder 정도에 대한 연구와 치료용 약제 개발노력이 미국, 일본 등에서 진행되고 있다.

3. 연구전망

세포배양 및 바이오리액터에 의한 유용물질 생산을 위해서는 핵심요소기술인 세포배양, 바이오리액

세부과제 구성내역

* 총괄책임자

과제명	연구책임자	소 속
세포배양에 의한 유용 바이러스 생산	*김 익 환	유전공학연구소
동물세포 대량배양 기술 개발	김 현 수	제일제당
수두바이러스의 특성조사	김 영 호	수원대학
정상세포를 이용한 바이러스 대량생산기술개발	박 정 극	동국대학 화학공학과
수두바이러스 배양을 위한 고농도 세포배양방법 개발	임 동 준	영남대 공업화학과

세부과제 구성내역

* 총괄책임자

과제명	연구책임자	소 속
무혈청, 무성장 인자 배지 개발 및 대량생산	*김 원 배	동아제약
동물세포배양을 이용한 바이러스 당단백질의 대량생산	임 영 익	유전공학연구소
한국형질화 바이러스 분리 및 특성조사	양 재 명	서강대 생물학과

세부과제 구성내역

* 총괄책임자

과제명	연구책임자	소 속
세포배양 및 바이오리액터에 의한 지질대사 관련 유용 단백질 생산	*김 학 주	현대약품
단일클론 항체생산을 위한 Hybridoma 세포주의 개발 및 항체 생산기술 개발	주 대 명	카톨릭 의대

터, 분리정제, 제품화 기술 이외에도 유전자 재조합, 생화학, 면역학, 약리독성학 등 다양한 지식과 기술이 상호 연관되어져야만 하는 고도의 기술집약적 과제이다.

식물세포 배양기술의 경우 기본적으로 empirical한 방법에 의한 고생산 세포주 선발 및 배양조건 최적화를 기하여야 하므로 상대적으로 기술 선진국과의 기술상 구조적 격차가 없으며, 본연구진의 세포배양에 의한 alkaloid생산기술개발에 관한 축적된 기술을 최대한으로 활용하여 고생산 세포주를 선발하면 대량생산이 가능하며, 이 분야의 기술개발은 상당부분 우연성이 내재되어 있고, 새로운 기술개발에 따른 후발주자의 이점도 살릴수 있어 연구성과가 기대된다. 또한 바이오리액터에 의한 대량생산기술은 선진국에서도 아직 확립되지 않은 기술로써 공정이 까다로워 각 process가 특허화될 수 있어

관련기술의 경쟁성 제고가 가능하다.

유용바이러스를 이용한 백신이나 치료제 의약품 생산을 위해 바이러스나 바이러스항원 또는 고부가 유용단백질 치료제를 생산하는데 필요한 동물세포주 배양기술은 최근 10년간 급격한 기술의 진보가 이루어진 분야로 유용바이러스나 단백질을 생산할수 있는 세포주 개발과 무혈청배지 개발로 바이러스 백신 및 진단 시장뿐 아니라 차후 개발된 새로운 생체의약품 시장에서 우위를 점할 수 있을 것이다.

동물세포 배양기술은 상대적으로 선진국에 뒤져 있으나 유전공학 연구소에서 각종 세포주와 virus가 수집되어 있으며 Parvovirus대량배양 및 동물세포 대량배양 시스템이 성공적으로 개발되고 있고 참여 기업들의 축적된 산업화 기술과 학계의 기초기술을 결집시켜 국제 경쟁력이 있는 기술과 제품개발이 가능 할 것으로 전망된다.