

면역결핍동물의 생산을 위한 형질전환생쥐의 분석

나루세 겐지 · 양정희 · 이승현¹ · 최화식² · 이성호³ · 박창식 · 진동일*
충남대학교 동물자원학부, 형질전환복제돼지연구센터

Analysis of Transgenic Mouse for the Production of Immunodeficiency Animals

Kenji Naruse, J. H. Yang, S. H. Lee¹, H. S. Choi², S. H. Lee³, C. S. Park and D. I. Jin*
Division of Animal Science & Resources, Research Center for Transgenic Cloned Pigs,
Chungnam National University

ABSTRACT

To determine whether the diphtheria toxin-A (DT) gene disrupts development of thymocytes in transgenic animal, the DT-A gene was used for the production of transgenic mice directed by proximal lck promoter sequences. Two transgenic founder mice that contained several copies of transgene were produced by DNA microinjection and integration of transgene in transgenic mice was confirmed by PCR and Southern blotting analysis. Transgenic F₁ and F₂ mice were produced by outbreeding of founder and F₁ mice to investigate expression of transgene and phenotypes in transgenic mice. Expression of the diphtheria toxin gene was confirmed in thymus, spleen and liver of transgenic mice by RT-PCR. In circulating blood of transgenic mice, lower number of circulating white blood cells and platelets were observed compared with that of normal mice. In addition, transgenic mice had reduced number of circulating peripheral T-cells analyzed by FACS with anti-CD3 antibody. The data in these transgenic mice indicate that DT gene can play a disruptive role in developing thymocytes of transgenic mice resulted in lower number of T-cells that can be applicable to a wide range of tissues in other animals.

(Key words : Diphtheria toxin-A, lck promoter, Transgenic mice, T-cells)

I. 서 론

생쥐의 면역결핍모델인 Scid mouse에 사람 태아의 세포나 조직을 이식한 SCID-Hu 생쥐연구가 새로운 장기이식에 대한 가능성을 열어 놓았다(Mc-

Cune et al., 1988; Kawamura et al., 1992; Tary-Lehmann et al., 1995; Nazirudin et al., 1996). Scid mouse는 이종장기이식에 대한 거부반응이 나타나지 않는다는 사실이 초기 연구부터 밝혀졌고 이 사실을 이용하여 여러 응용연구가 진행되었다. 19

* 본 연구는 한국과학재단 우수연구센터(R11-2002-100-03001-0) 지원으로 수행되었음.

† Corresponding author: Dr. D. I. Jin, Division of Animal Science & Resources, Research Center for Transgenic Cloned Pigs, Chungnam National University, Daejeon City, Chungnam, 305-764, E-mail: dijin@cnu.ac.kr

¹ 서울대학교 유전자 이식연구소.

² 김천대학교 임상병리학과.

³ 공주대학교 영상보건대학.

88년 McCune에 의해 최초로 사람태아의 흉선과 간 조직을 이용한 SCID-Hu 생쥐연구가 Science지에 발표되었다. 이들은 생후 6~8주령의 SCID mice에 임신 14~23주의 사람 태아 흉선과 임신 18~23주의 간조직을 1 mm³크기의 입방체로 잘라 SCID mice의 kidney capsule 아래에 이식하였다. 그 결과 50%의 생쥐에서 이식된 흉선과 간이 정상적으로 발달하여 혈액공급이 원활히 발달하였고 기능적으로도 정상이어서 사람의 T cell과 B cell을 가지는 것이 확인되었다. 또한 말초혈액에도 사람의 T cell과 B cell을 가진 것으로 확인되었다. 이를 응용하여 사람의 각종 조직을 거부반응 없이 받아들여 다시 사람에게 이식해줄 수 있는 크기의 조직으로 성장시킬 수 있는 조직 배양기(tissue culture machine)로서의 면역결핍동물을 이용하려는 시도가 진행되고 있다. 현재 모세포배양기술(stem cell culture technology)은 그 의학적, 상업적 잠재력 때문에 세계적으로 많은 관심 속에 빠르게 발전하고 있다. 각 장기 및 조직의 모세포들을 동정하고 분리하여 배양하는 기술이 속속 발표되고 있다. 하지만 조직으로서 기능하기 위하여서는 복잡한 구조를 가져야 하는 장기의 경우 시험관내 배양만 가지고는 기술적인 한계에 부딪칠 수밖에 없다. 생체 내 세포 및 조직배양기로서의 면역결핍동물을 개발할 필요성이 대두되고 있다.

이식거부반응이 없는 동물을 생산하기 위해서는 면역시스템을 부분적으로 파괴하여 면역결핍동물을 생산하는 것이다. 특정세포나 조직이 결핍된 동물을 생산하기 위해서는 조직 특이적 프로모터를 이용하여 toxin 유전자와 같은 세포에 치명적인 물질이 특이적으로 발현되도록 하는 형질전환동물의 생산 시스템이 필요하다. Diphtheria toxin sub-

unit A(DT) 유전자는 이미 여러 가지 프로모터를 이용한 형질전환생쥐에서 특이적으로 조직이나 세포를 파괴하는 것으로 보고 되고 있다(Palmiter 등, 1987; Lowell 등, 1993; Arase 등, 1999; Bartell 등, 2000). DT-A는 고등세포에서 translational elongation factor-2(eEF-2)와 결합하여 단백질합성을 저해함으로써 세포의 생존에 영향을 미치는 것으로 보고되고 있다(Van Ness 등, 1980). lck는 T-cell lymphocyte의 발달기간 동안 발현되면서 T-cell receptor의 신호전달체계에 관여하는 물질로 알려져 있다(Perlmutter 등, 1993). proximal lck promoter는 이미 형질전환생쥐의 연구에서 thymocytes의 발달과정에 유전자를 발현하는 것으로 보고 되고 있다(Garvin 등, 1990; Allen 등, 1992).

본 연구에서는 면역결핍태지의 생산을 위한 기초 작업으로 proximal lck promoter와 DT이식유전자를 구축하여 형질전환생쥐를 생산하고 F₁ 및 F₂ 새끼를 얻어 형질전환생쥐의 면역세포에서 Diphtheria toxin이 발현되어 mature T-cell이 결핍되는 현상을 분석하였다.

II. 재료 및 방법

1. Transgene Cloning

Diphtheria Toxin-A(DT-A) gene은 PKODT vector(lexicon corp.)안의 DT gene을 PCR로 얻었다. 사용된 primer는 다음과 같다.

PKODT 5'-CTAGCGGATCCTTCAGGA TC TG CGACCTGCAG-3' (forward)

PKODTR5'-TAGCAGGATCCTCTCTGTAGGT AGTTTGTCCA-3' (reverse)

얻어진 DT gene을 이미 만들어진 3.2 kb lck

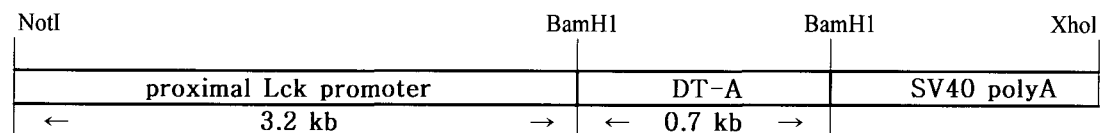


Fig. 1. A schematic diagram of the 4.4 kb Lck-DT-A transgene construct used for microinjection. This construct consists of lck proximal promoter, diphtheria toxin-A subunit gene (DT-A) and SV40 (intron and polyadenylation signal).

promoter와 pgk polyA 사이에 BamHI site에 cloning하여 lck promoter-DT gene-pgk polyA transgene을 완성하였다(Fig. 1). DT gene cloning 확인은 BamHI 으로 DT gene (insert)를 확인하였다. 또한 sequencing에 의해 염기서열을 분석하여 mutation이 없는 것을 확인하였다.

2. 형질전환생쥐의 생산 및 식별

*in vivo*에서 lck promoter를 이용하여 DT gene이 면역세포에서 어떻게 작용하는지를 알아보기 위하여 transgenic mouse을 생산하였다. 이미 구축한 lck promoter-DT DNA를 정제하여 microinjection을 수행하였다. 제한효소인 NotI과 XhoI을 처리, 4.4kb의 lck promoter-DT gene-polyA를 gel에서 분리하여 DNA microinjection용으로 추출하여 microinjection을 실시하였다. 생쥐수정란에 DNA 미세주입을 위해서는 FVB 종에 PMSG와 HCG를 이용하여 과배란을 유도하였고 medium으로는 CZB medium과 Herpes medium을 사용하였다. 수정란의 전핵에 injection pipette를 삽입시켜 DNA용액을 주입시켜 전핵이 약간 부풀도록 하여 injection을 완료하였다. DNA가 주입된 수정란은 곧바로 대리모 생쥐의 난관으로 이식하였다.

태어난 새끼는 약 3주 후에 꼬리 조직 일부를 잘라 proteinase K로 digestion하여 genomic DNA를 추출한 다음 이식유전자 specific primer를 이용하여 PCR 방법으로 이식 유전자의 sequence를 가지고 있는가를 검사하였다. PCR 반응은 0.5ul의 Taq DNA polymerase (Takara Corp.)를 이용하여 1.5mM MgCl₂, 0.2mM dNTP, 0.8mM primers 및 약 0.1 ug의 꼬리 DNA를 섞어 50ul의 반응액이 되도록 하였다. PCR 조건으로는 30 cycles을 사용하였는데 95°C에서 1 분, 60°C에서 1 분, 72°C에서 1 분의 cycle이 되도록 하였다.

Southern blotting을 위해서는 약 10ug의 genomic DNA를 BamHI으로 digestion시킨 다음 0.9% agarose gel에서 전기영동시킨 후 denaturation buffer(1.5M NaCl, 0.5M NaOH)에서 30분간 denature를 시키고 neutralization buffer (0.5M Tris, pH 7.4, 1.5M NaCl)에서 30분간 중화시킨 다음

nylon membrane으로 gel stacking에 의해 overnight transfer하였다. hybridization은 0.7 kb DT-A 부위를 이용하여 random labeling kit에 의해 P³²-dCTP로 labeling된 probe을 만들었고 hybridization을 시킨 후 2×SSC / 0.1% SDS 용액을 이용하여 65°C에서 washing한 다음 X-ray film에 노출시켜 signal을 detection하였다.

3. RT-PCR

형질전환생쥐에서 DT gene이 조직 특이적으로 발현되는지를 확인하기 위해서 RT-PCR를 수행하였다. 형질전환생쥐와 정상생쥐를 희생시켜 thymus, spleen, liver에서 각각 RNA를 추출하였다. RNA는 Trizol(Life Technologies Inc)을 사용하여 분리하였고 분리된 total RNA는 reverse transcriptase superscript II(Life Technologies Inc)와 poly-dT oligo primer를 사용하여 42°C에서 약 40분간 배양하여 cDNA를 증폭하였다. 얻어진 cDNA를 증폭하기 위해서 PKODTF와 PKODTR primers를 사용하였다. RT-PCR은 0.5umol의 primers, 2mM MgCl₂, 0.2mM dNTP, 1.25U Gibco Taq polymerase II (Life Technologies)를 이용하여 95°C에서 5분간의 a denaturation step과 곧이어 94°C에서 30초, 60°C에서 30초 및 72°C에서 1분의 조건으로 총 30 cycle을 실시하였다. 증폭된 산물은 2% agarose gel에서 전기영동을 실시하여 확인하였다.

4. 혈액분석 및 Flow Cytometric 분석

형질전환생쥐의 혈액 내에 어떤 변화가 있는지를 확인하기 위해 형질전환생쥐와 정상생쥐에서 혈액을 채취한 후 Coulter counter를 이용하여 적혈구, 백혈구, 혈소판, 헤모글로빈 등의 수를 분석하였다.

또한 형질전환생쥐의 혈액에서 mature T-cell의 감소 여부 확인을 위해 anti-CD3 FITC antibody를 이용하여 FACS 분석을 실시하였다. FACS medium(PBS, 2% fetal calf serum and 0.01% NaN₃)을 사용하여 혈액의 Cell suspension을 준비하였고 Flow cytometry는 FACScan과 CellQuest software를 이용한 Calibur을 사용하여 실시하였다.

III. 결과 및 고찰

1. Transgenic Mouse 생산 및 Transgene의 발현

본 연구에서는 *in vivo*에서 lck promoter를 이용하여 DT gene이 면역세포에서 어떻게 작용하는지를 알아보기 위하여 형질전환생쥐를 생산하였다. 이미 구축한 lck promoter-DT DNA(Fig. 1)를 정제하여 microinjection을 수행하였고 총 21마리의 얻어진 산자를 DT gene primer로 PCR screening 한 결과 암수 2마리의 생쥐에서 positive band를 확인하였고, 이를 다시 재확인하기 위해 DT gene을 probe로 사용하여 Southern blotting을 수행한 결과 2 마리(151, 156) 형질전환생쥐가 DT gene을 가진 산자임을 확인하였다(Fig. 2). 이식유전자의 copy 수는 약 2~3 copy가 정착된 것으로 확인되었고

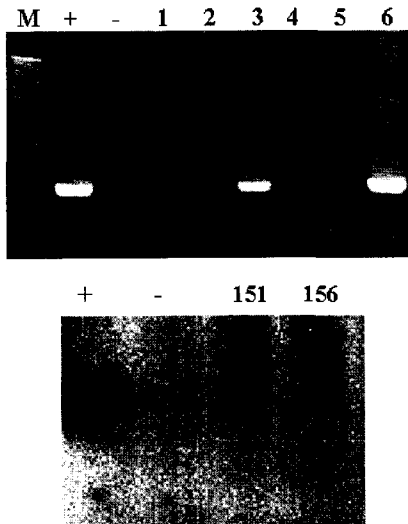


Fig. 2. PCR and Southern blot analysis of transgenic lines. A: PCR screening, with PKODTF as the forward primer and PKODTR as the reverse primer. Negative controls with water and wild-type mouse DNA were used to ensure that the PCR reaction was not contaminated. B: Southern blot analysis of the transgenic mouse no. 151, 156. BamHI-digested genomic DNA probed with the DT-A gene probe. Normal mouse DNA digested with BamHI as a negative control.

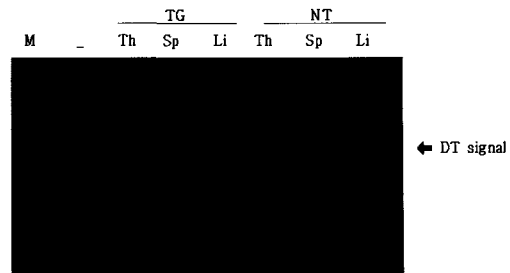


Fig. 3. Analysis of DT-A gene expression in transgenic mice by RT-PCR. Representative results obtained from transgenic mouse (TG) and non transgenic littermate (NT) are shown. RNA was extracted from thymus (Th), spleen (Sp) and liver (Li).

F₁, F₂ 세대까지 번식을 진행하였는데 founder 생쥐는 outbreeding시켜 새끼의 생산을 시도한 결과 약 50%의 이식유전자를 두 line 모두에서 후대에 전달하는 것으로 나타났다.

형질전환생쥐에서 DT gene이 조직 특이적으로 발현되는지를 확인하기 위해서 조직에서 RNA를 추출 후 RT-PCR를 수행하였다. 형질전환생쥐와 정상생쥐의 thymus, spleen, liver 조직을 분리한 후 total RNA를 Trizol을 사용하여 추출하였고 poly (dT) primer와 DT 특이적 primer를 이용하여 RT-PCR 수행 결과 형질전환생쥐의 thymus, spleen, liver에서 DT gene의 발현을 확인할 수 있었다(Fig. 3). 형질전환생쥐의 thymus, spleen, liver 조직 간에 큰 차이는 없는 것으로 확인되었다.

2. 형질전환생쥐의 혈액분석

형질전환생쥐의 혈액 내 세포들의 변화를 알아보기 위해 형질전환생쥐의 혈액분석을 실시하였는데 실시결과 형질전환생쥐의 적혈구, 백혈구, 혈소판, 헤모글로빈 등이 정상생쥐보다 감소된 것을 확인할 수 있었는데 특히 백혈구수와 혈소판의 수가 크게 감소해 있음을 확인할 수 있었다(Table 1). 또한 형질전환생쥐의 혈액에서 T-cell의 감소 정도를 알아보기 위해 CD3 antibody를 이용하여 FACS 분석을 실시하였는데 분석 결과 형질전환생쥐의 혈액 중 T-cell이 수가 비정상적으로 줄어든 것을

Table 1. Peripheral blood analysis

Mice	Red Blood Cells ($\times 10^4$ /ul)	White Blood Cells ($\times 10^2$ /ul)	Platelets ($\times 10^3$ /ul)	Hemoglobin (g/dl)
Wild-type	566 \pm 21.90	42 \pm 1.79 ^a	138 \pm 5.48 ^a	8.8 \pm 0.657
DT-A Tg	456 \pm 13.79	18 \pm 1.59 ^b	47 \pm 4.36 ^b	8.1 \pm 0.584

Data represent the mean SD of five animals in each group.

^{ab} Different superscripts within column differ statistically significantly($p < 0.001$).

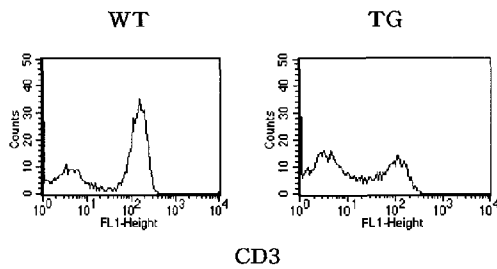


Fig. 4. FACS analysis of lymphocytes from wild-type and DT-A Tg mice. Immunofluorescence staining of with lymphoid cells (blood) phycoerythrin-conjugated CD³⁺.

확인할 수 있었다(Fig. 4). 형질전환생쥐를 약 8주령이 지난 후 몸무게를 측정한 결과 정상생쥐에 비해 약 15%의 체중이 덜 나가는 것을 확인할 수 있었다. 형질전환생쥐의 이와 같은 phenotype이 다음 세대에도 전달되는지에 대한 실험하기 위해서 F₂ 세대까지 breeding을 실시하여 F₂ 형질전환생쥐의 혈액을 분석한 결과 혈액 내 세포수가 감소하는 같은 경향을 나타내었다.

IV. 고 찰

본 연구에서는 형질전환생쥐에서 효과적으로 T-cell이 제거되었는지에 대한 분석을 통해 궁극적으로 같은 기술을 응용하여 면역이 결핍된 돼지를 개발하여 이를 살아있는 세포 및 조직배양기(in vivo cell and tissue culture incubator)로 응용하려는 기초 실험을 실시하였다. 이식유전자로는 lck promoter sequence와 DT gene을 이용하였고 형질전환생쥐를 생산하여 면역세포의 상태를 조사하여 형질전환생쥐에서 DT 유전자가 발현되면서 면역

세포의 발달에 이상이 있는 것으로 분석되었다.

DT 유전자는 이미 형질전환생쥐에서 특정 세포나 조직을 제거하는데 효율적으로 이용되고 있는데(Arase 등, 1999; Bartell 등, 2000), DT의 toxicity가 강하기 때문에 이식유전자의 leaking에 의한 부작용을 최소화하기 위해서는 조직특이적 promoter를 잘 선택하여 이용해야 한다. 본 연구에서 이용된 3.2kb lck promoter는 thymus에서 이식유전자를 특이적으로 발현시키고 또한 spleen이나 혈액내 T-cell에서도 발현을 주도하는 것으로 알려져 있다(Wildin 등, 1995). 본 연구의 형질전환생쥐에서도 thymus, spleen 및 liver에서 DT gene이 발현되고 있는 것으로 RT-PCR 결과 확인되어 분화하고 있는 T-cell에서 발현되어 이들 조직에서 발현되는 것으로 추정된다. 또한 혈액 내에서 백혈구의 감소는 mature T-cell의 감소에 의해 기인한 것으로 추정되는데 그 외 혈소판 등의 수가 낮아진 것에 대해서는 명확한 기작을 알 수 없으나 mature T-cell의 감소로 인해 다른 세포들의 분화에도 영향을 미친 것으로 사료된다. CD3는 T-cell antigen receptor로써 immature T-cell에서는 발현되지 않고 혈중 T-cell에서 높게 발현되는 것으로 CD3 antibody를 이용하여 형질전환생쥐의 T-cell을 검사하였을 때 아주 낮게 나타나(Fig. 4) mature T-cell이 거의 존재하지 않음을 확인할 수 있었다. 이러한 mature T-cell에서 proximal lck promoter의 transgene 발현조절은 다른 연구의 결과와도 일치하는 것으로 나타났다(Garvin 등, 1990; Allen 등, 1992; Wildin 등, 1995).

본 연구에서는 DT gene을 형질전환동물의 세포에서 계속적으로 발현시켜 면역세포가 제거된 것

을 보여주고 있으나 형질전환동물에서 다른 조직들에서 DT gene이 발현되어 기타 조직에 영향을 주거나 또는 원하는 특정조직을 부분적으로만 파괴하는 경우가 나타날 수 있다. 그러므로 DT 유전자를 이용할 때는 promoter의 조직 특이성과 발현 조절 능력이 중요할 것으로 사료된다. Thymidine kinase(TK) gene 또한 형질전환생쥐에서 면역세포를 제거하기 위해 이용되었는데(Hyman 등, 1989), 특히 gancyclovir를 처리하여 TK gene이 발현되는 면역세포를 없애는 방법으로 인위적으로 면역결핍 동물을 생산할 수 있는 조건적 유도(controlled induction) system도 개발되었으나 이 경우에도 tissue-specific promoter를 사용해야하고 gancyclovir를 투여함으로써 발생할 수 있는 부작용에 대한 연구가 필요하다.

본 연구에서 생산된 lck-DT 형질전환생쥐는 추후에 apomyoglobin(APO)이나 M. tuberculosis의 항원을 주사하여 면역결핍성 정도를 조사하고자 한다. 그러므로 본 연구가 수행되면 lck-DT 형질전환생쥐에 대한 T-cell 결핍에 의한 면역결핍성 분석 자료를 얻게 되어 본 연구의 방법이 돼지나 원숭이와 같은 중형동물의 이종장기 배양용 형질전환 동물을 생산하는 데 응용될 수 있을 것으로 사료된다.

V. 요약

본 연구는 생체 내 세포 및 조직배양기로서의 면역결핍동물을 개발할 목적으로 proximal lck promoter와 DT-A 유전자를 이용하여 형질전환생쥐를 생산하였고 형질전환생쥐의 면역기관에서 Diphtheria toxin이 발현되어 T-cell이 결핍되는지를 분석하였다.

총 암수 2마리의 형질전환생쥐를 PCR과 Southern blotting으로 분석하여 얻었으며, 이식유전자의 copy수는 약 2~3 copy가 정착된 것으로 확인되었다. 형질전환생쥐의 thymus, spleen, liver 조직을 분리한 후 total RNA를 추출하여 poly(dT) primer와 DT 특이적 primer를 이용하여 RT-PCR 수행 결과 형질전환생쥐의 thymus, spleen, liver에서 DT

gene이 발현되고 있는 것을 확인할 수 있었다. 형질전환생쥐의 이들 조직 간에 DT 발현량에는 큰 차이는 없는 것으로 확인되었다.

형질전환생쥐의 혈액에서 적혈구, 백혈구, 혈소판, 헤모글로빈 등이 정상생쥐보다 감소되었고 특히 백혈구수와 혈소판의 수가 크게 감소되어 있는 것으로 나타났다. 또한 형질전환생쥐의 혈액을 CD3 antibody를 이용하여 FACS 분석을 실시하여 형질전환생쥐의 혈액 중 T-cell이 수가 비정상적으로 줄어든 것을 확인할 수 있었다.

본 연구에서는 lck-DT 형질전환생쥐에서 DT 유전자의 발현에 의한 T-cell 결핍을 유도할 수 있는 것으로 나타나 이를 바탕으로 돼지를 이용한 사람의 이종장기 배양용 형질전환동물을 생산하여 응용될 수 있을 것으로 사료된다.

VI. 인용문헌

1. Allen, J. M., Forbush, K. A. and Perlmutter, R. M. 1992. Functional dissection of the lck proximal promoter. *Mol. Cell. Biol.* 12:2758-2768.
2. Arase, K. Saijo, K., Watanabe, H., Konno, A., Arase, H. and Saito, T. 1999. Ablation of a specific cell population by the replacement of a uniquely expressed gene with a toxin gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96:9264-9268.
3. Bartell, J. G., Fantz, D. A., Davis, T., Dewey, M. J., Kisler, M. K. and Kisler, W. S. 2000. Elimination of male germ cells in transgenic mice by the diphtheria toxin A chain gene directed by the histone H1 promoter. *Biol. Reprod.* 62: 409-416.
4. Garvin, A. M., Abraham, K. M., Forbush, K. A., Farr, A. G., Davison, B. L., and Perimuter, R. R. 1990. Disruption of thymocyte development and lymphomagenesis induced by SV40 T-antigene. *Int. Immunol.* 1990: 2:173-180.
5. Heyman, R. A., Borrelli, E., Lesley, J., Anderson, D., Richman, D. D., Baird, S. M., Hyman, R. and Evans, R. M. 1892. Thymidine kinase obliteration

- tion: Creation of transgenic mice with controlled immunodeficiency. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 86: 2698-2702.
6. Itoh, H., Beck, P. L., Inoue, N., Xavier, R. and Podolsky, D. K. 1999. A paradoxical reduction in susceptibility to colonic injury upon targeted transgenic ablation of goblet cells. *J. Clin. Invest.* :104:1539- 1547.
 7. Kawamura, T., Niruma, T., Fechner, J. H. Jr., Wolber, R., Beeskau, M. A., Hullett, D. A., Solliger, H. W. and Burlingham, W. J. 1992. Chronic human skin graft rejection in severe combined immunodeficient mice engrafted with human PBL from HLA-presensitized donor. *Transplantation.* 53:659-665.
 8. Lowell, B. B., S-Susulic, V., Hamman, A., Lawitts, J. A., Himms-Hagan, J., Boyer, B. B., Kozak, L. P. and Flier, J. S. 1993. Development of obesity in transgenic mice after genetic ablation of brown adipose tissue. *Nature.* 366: 740-742.
 9. Maniatis, T. Fritsch, E. F. and Sambrook, J. *Molecular cloning: a laboratory manual.* 2nd edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press. Cold Spring Harbor, NY. 1989.
 10. McCune, J. M., Namikawa, R., Kaneshima, H., Shultz, L. D., Lieberman, M. and Weissman, I. L. 1988. The SCID-hu mouse: murine model for analysis of human hematolymphoid differentiation and function. *Science.* 241:1632-1639.
 11. Nazirudin, B., Shiroki, R., Shishido, S., Howard, T. and Mohanakumar, T. 1996. Biochemical and functional characterization of xenoreactive natural antibodies in hu-PBL-SCID mice. *J. Clin. Invest.* 97:1267-1275.
 12. Palmiter, R. D., Behringer, R. R., Quaife, C. J., Maxwell, I. H. and Brinster, R. L. 1987. Cell lineage ablation in transgenic mice by cell-specific expression of a toxin gene. *Cell.* 50: 435-443.
 13. Perlmutter, R. M., Levin, S. D., Appleby, M. W., Anderson, S. J. and Alberola-Ila, J. 1993. Regulation of lymphocyte function by protein phosphorylation. *Ann. Rev. Immunol.* 11: 451-499.
 14. Tary-Lehmann, M., Sexon, A. and Lehmann, P. 1995. The human immune system in hu-PBL-SCID mice. *Imm. Today.* 16:529-533.
 15. Wildin, R. S., Wang, H. U., Forbush, K. A. and Perlmutter, R. M. 1995. Functional dissection of the murine Ick distal promoter. *J. Immunol.* 155:1286-1295.
 16. Van Ness, B. G., Howard, J. B. and Bodley, J. W. 1980. ADP-ribosylation of elongation factor2 by diphtheria toxin: NMR spectra and proposed structures of ribosyl-diphthamide and its hydrolysis products. *J. Biol. Chem.* 55: 10717-10720.
- (접수일자: 2003. 5. 9. / 채택일자: 2003. 5. 20.)