

임신말기 자궁내 발육상태와 자궁적출 시기가 특정질병 제어 형질전환 복제동물 생후 생존에 미치는 영향

우제석^{1*}, 황성수¹, 오건봉¹, 이휘철¹, 양병철¹, 임기순¹, 이명식¹, 김민규¹, 노환국², 박수봉¹, 홍성구¹

¹국립축산과학원, 동물바이오공학과, 충남대학교, ²한국농수산대학

Effect of new born piglet survival rate by growth in uterus during end of pregnancy and cesarean section time of fetus in specific pathogen free transgenic cloned mini pig

Jae-Seok Woo^{1*}, Seongsoo Hwang¹, Keon Bong Oh¹, Hwi-Cheul Lee¹, Byoung-Chul Yang¹, Gi-Sun Im¹, Myeung Sik Lee¹, Minkyu Kim¹, Whangook Nho², Soo-Bong Park¹, Sunggoo Hong¹

¹National Institute of Animal Science RDA, ChungNam National University

²Korea National Agriculture and Fisheries

Received on 17 October 2011, revised on 27 October 2011, accepted on 18 December 2011

Abstract : Bioorgan transgenic cloned mini pig has a problem of growth retardation in uterus during end of pregnancy so that survival rate is very low in newborn piglet. In order to support their life after birth, cesarean section of fetus with sufficient growth in uterus was tested in this study. First of all, fetus growth measured using an ultrasound scanner during pregnancy in transgenic mini pig, comparing normal pig. After 113 days for delivering, fetus was removed out of uterus. Fetus growth for normal pig was 1.8 cm at 4weeks and 14.4 cm at end of pregnancy (15 weeks). At 113 days, fetus growth was 15.9±4 cm in ultrasound scanner and real growth measurement from fetus removal out of uterus was 16.0±2 cm. It is very a similar result between measurement of ultrasound scanner and real measurement. Therefore, using ultrasound scanner for measuring fetus growth will be useful to predict fetus growth in uterus.

Key words : Transgenic cloned mini pig, Cesarean section, Ultrasound scanner

I. 서론

복제양 돌리 생산 이후로 체세포 복제기술은 면양, 생쥐, 돼지, 염소, 소, 고양이, 토끼 등에서 체세포 유래의 복제동물을 성공적으로 생산하였음에도 불구하고 이들 복제동물은 태아와 산자에서 여러 가지 다양한 비정상적 현상을 나타내고 있다. 특히 이종장기 이식용 형질전환 복제돼지의 경우 상당수가 태어나기 전후, 이유 전 또는 성장과정 중에 폐사하는 것으로 보고되고 있다. 폐사된 복제 동물의 장기를 조사한 결과 장기 내 조직학적 해부학적으로 문제가 있는 것으로 보고되고 있어서 이러한 장기는 비록 면역학적

문제가 없더라도 사람에게 이식하는 것은 불가능하다고 보고 있다. 일반적으로 체세포 복제란을 제작 및 이식하여 체세포복제 돼지를 생산하는 효율은 이식된 복제란을 기준으로 2~5%인 것으로 보고되고 있다. 형질 전환된 체세포를 이용할 경우 그 효율은 더 저하된다. 후생학적인 리프로그래밍이 복제 수정란에서 비정상적으로 일어난다는 것을 발견하였고, 이러한 불완전한 리프로그래밍이 복제 동물의 생산효율을 감소시키는 원인이 된다고 추정하고 있다. 이러한 문제점은 많은 연구들을 통하여 극복되었으며, 많은 형질전환 복제 돼지 생산 관련 국내외 연구결과에 의해서 체세포 이용한 세계최초의 복제돼지는 영국 PPL사(2000)에서 성공하였으며, GalT 유전자 제거 형질전환 복제미니 돼지는 미조리대학의 Prather등이 2002에 성공하였고, 일

*Corresponding author: Tel: +82-31-299-2016

E-mail address: jswoo631@Korea.kr

반돼지를 이용해서 GalT 유전자 부분 제거된 형질전환 복제돼지가 Dai 등에 의해서 PPL사에서 2002년도에 생산하는데 성공하였으며, hDAF 및 GnT-III 유전자를 발현하는 형질전환 돼지를 이용하여 GGTA1 유전자가 제거된 형질전환돼지의 생산은 일본의 Takahagi 등이 2005년에 성공하였다. 한편 국내에서도 2009년 5월 Alpha Gal hetero K/O 복제미니 돼지를 건국대, 단국대, 전남대, 생명공학연구원 및 국립축산과학원에서 공동으로 생산에 성공하였다.

복제 돼지의 경우 바이오장기 이식에 활용코자 많은 연구자들이 이용하고 있는 실정이다. 하지만, 돼지 복제의 생산 효율성은 2~5%로 매우 낮으며, 특히 형질전환 된 체세포를 이용한 경우 더욱 낮은 생산성을 보고하고 있다. 현재 우리나라에서도 많은 연구자들이 복제 돼지와 형질전환 복제 돼지를 생산한 바 있으며, 이미 일본, 미국 등지에서는 장기 이식시 발생 될 수 있는 면역 거부 반응 유전자들이 결합되어 있는 형질전환 복제 돼지가 생산 된 바 있다.(Ahn 등, 2011; Campbell 등, 1996; Cibelli 등, 2002; Dai 등, 2002; Dinnyes 등, 2002; Feil, 2001; Ogura 등, 2002; Park 등, 2005). 그러나 국내에서 체세포형질전환복제미니 돼지를 생산한 결과에 대한 보고가 매우 적은 실정이다.

따라서, 본 연구에서는 2009년 바이오장기용 형질전환 복제미니돼지를 성공한 이래 장기 이식을 위한 형질전환 복제 미니 돼지를 보다 효율적으로 생산하기 위해 복제란 이식후 임신 말기 단계에서 자궁 적출 시까지 일어나는 문제점을 복제 태아의 자궁내 발달분석을 통하여 형질전환 복제돼지의 생산효율을 증진시키는 연구를 수행코자 한다.

II. 시험방법

1. 공시난자

도축장유래 난소에서 난포주위의 난소 실질조직에 주사 바늘을 삽입하여 난포속으로 주입하면서 난포액을 전부 흡입하였다. 난구세포의 손상을 최소화하기 위하여 온도는 37°C로 유지하였다. 실체현미경하에서 미세피펫으로 난자를 찾아서 Talp-HEPES(+PVA)로 옮겨 난자는 즉시 신선한 IVM배양액으로 세척하여 배양 drop으로 옮겨 배양하였다. 4-well dish에 IVM 배양액을 500 µl씩 넣어 2회 세척한 난자를 옮겼다.

2. 시약

아래에 사용한 모든 시약은 Sigma-Aldrich Chemical (St. Louis, MO, USA)에서 구매하여 사용하였다.

3. 난자의 체외성숙

돼지 난소는 도축장에서 적출하였으며, 30~35°C로 유지되는 보온병에 담아 실험실로 운반하였다. 난소에서 2-6 mm 크기의 난포를 주사기로 흡입하여 난구난자 복합체(cumulus-oocyte complexes)를 채취하였으며, 채취된 복합체는 0.1%(w/v) polyvinyl alcohol(PVA)가 포함된 Tyrode's lactate-Hepes에서 2~3회 세척을 실시하였다. 여러 층의 난구세포가 붙어있는 복합체를 선별하여 모은 다음, 0.1% PVA, 3.05 mM D-glucose, 0.91 mM sodium pyruvate, 0.57 mM cysteine, 0.5 µg/ml luteinizing hormone, 0.5 µg/ml follicle stimulating hormone, 10 ng/ml epidermal growth factor, 10% porcine follicular fluid(pFF), 75 µg/ml penicillin G 및 50 µg/ml streptomycin 가 포함된 TCM-199(Gibco-BRL, Grand Island, NY, USA) (이하 배양액)에서 3회 이상 세척을 실시하였다. 약 50-100개 정도의 난자난구복합체를 각 well 당 500 µl의 배양액에 들어있는 four-well 배양접시(Nunc, Roskilde, Denmark)에 침지하여 체외성숙을 유도하였다. 난자난구복합체는 초반 20시간은 호르몬이 첨가된 배양액에서 배양을 실시하였으며 이후 20시간은 호르몬이 첨가되지 않은 배양액에서 38.7°C, 5% CO₂가 유지되는 배양기에서 배양을 실시하였다.

4. 핵이식 과정

체외성숙이 끝난 복합체는 0.1% PVA와 0.1% hyaluronidase 가 첨가된 PBS에 4분간 처리하여 난구세포를 제거하였다. 나화(denude)된 성숙난자는 제1극체(the first polar body)와 주변 세포질을 흡입하여 metaphase-II 판(plate)을 함께 제거하였다. 제핵 여부는 10 µg/ml Hoechst 33342 용액에서 15~20분간 염색을 실시한 다음 자외선 광선하에서 관찰하였다. 계대 회수가 2-3회를 넘지 않은 alpha1, 3-Galactosyltransferase(GalT) 유전자가 녹아웃(knock-out)된 공여세포를 제핵된 난자의 위란강(perivitelline space)에 넣었다. 약 1시간 정도의 안정화(equilibration)

를 거친 다음, 재구축된 난자는 1 mm 간격의 전극(electrode)이 장착된 융합 챔버(fusion chamber)에서 융합을 실시하였다. 융합용 배지는 0.1 mM MgSO₄, 1.0 mM CaCl₂ 및 0.5 mM HEPES가 첨가된 0.3 M mannitol 용액을 사용하였다. 융합조건은 1.2 kV/cm DC를 30 μsec 동안 2회 통전하였다. 융합기는 BTX 2001 Electro Cell Manipulator (BTX)를 사용하였다. 융합이 확인된 복제란은 PZM-3 배양액에 침지하여 5% CO₂, 38.5°C 조건하의 배양기에서 체외배양을 실시하였다.

5. 대리모

복제란은 정상 발정주기에 있는 랜드레이스(Landrace) 종을 대리모로 하여 난관 내로 이식을 실시하였다. 임신진단은 복제란 이식 후 28일 경에 초음파 진단기를 이용하여 임신여부를 확인하였다.

6. 태아발육조사

시험축은 일반돼지 10두를 자연 종부하였으며, 그 중 임신된 8두를 사용하여 매주 초음파진단을 실시하였으며, 형질전환복제미니돼지 수정란을 이식한 수란돈을 사용하여 임신진단 및 태아의 자궁 내 발육 상을 조사하였다

초음파 임신진단기는 MyLab30을 사용하여 전 임신기간



Fig. 1. Diagnostic ultrasound scanning in porcine pregnancy on day 113 of gestation.

동안 초음파 동영상을 촬영하여 자료를 수집하여 분석하였다. 초음파 임신진단 및 전 임신기간 동안 자궁 내 태아 발육상은 임신 4주령부터 분만직전 15주령까지 매주 영상을 촬영하여 실험실에서 분석하였다.

7. 복제태아 생산

수란돼지의 자궁적출은 Zoletil 2 ml로 마취한 후 호흡마취기를 사용하였으며, 복부를 절개하여 자궁에서 태아를 적출하였으며, 복제를 임신한 수란돼지는 충격법에 의한 도축 후 자궁적출을 하였다.

III. 시험결과

형질전환복제돼지의 임신기간 동안 자궁 내 발육상황을 조사하기 위하여 먼저 일반돼지를 이용하여 주령별로 태아의 크기 증가와 태아의 발육크기 및 태아내 장기의 초음파 진단 시기와 크기에 대하여 4주령부터 15주령까지 측정된 결과는 Table 1과 같다. 임신 4주령의 태아의 크기는 평균 3.17 cm이었으며, 5주령에 5.54 cm로 빠르게 증가하였으며, 9주령에는 9.32 cm까지 크게 증가하였다, 그리고 임신 11주령에는 10.9 cm로 증가한 후 초음파 영상 상에서는 태아의 크기를 측정하기 어려웠다.

태아의 크기는 4주령에 1.8 cm로 구분하기 어려울 정도로 작았으며, 7주령에 5.35 cm로 빠르게 성장하여, 11주령에는 9.09 cm로 자랐고, 15주령에는 14.4 cm까지 성장함을 알 수 있었다. 태아 체내 장기의 형성은 7주령부터 측정되었으며, 장기의 종류는 구분하기 어려웠다. 장기의 초음파 영상상의 색체가 밝은 몸체 내에 어두운 구조를 장기로 구분하였으며, 7주령에 1.1 cm에서 12주령에 2.47 cm로 증가하여, 15주령에는 3.64 cm로 성장하였는데 15주령에는 대개 측정된 장기가 심장임을 알 수 있었다. Table 1를 도표로 나타낸 것이 Fig. 2이다

형질전환복제미니돼지를 생산하기 위하여 자궁적출을 실시하였는데 이는 복제돼지 산자가 1두정도 뿐이어서 임

Table 1. Fetus growth in pregnant pig by ultrasound scanning.

(단위 : cm)

| 구조물/주령 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
|--------|------|------|------|------|------|------|------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 태낭 | 3.17 | 4.54 | 5.08 | 6.50 | 7.68 | 9.32 | 9.80 | 10.90 | - | - | - | - |
| 태아 | 1.80 | 2.13 | 3.73 | 5.35 | 5.97 | 7.22 | 8.19 | 9.09 | 12.43 | 13.19 | 13.97 | 14.40 |
| 장기 | - | - | - | 1.10 | 1.40 | 1.65 | 1.77 | 1.95 | 2.47 | 2.83 | 3.06 | 3.64 |

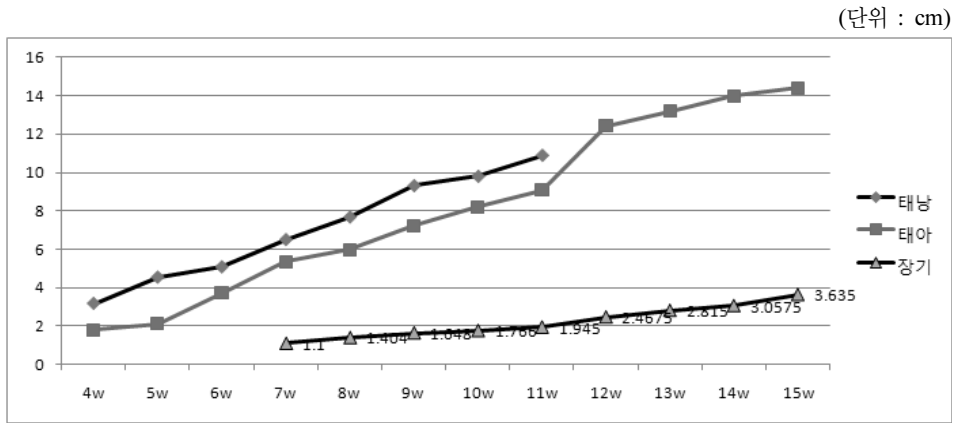


Fig. 2. Graph of fetus growth in pregnant pig by ultrasound scanning.

신말기 태아가 모체에 분만하기 위한 신호전달이 미약함으로 분만이 지연되고 자궁 내에서 폐사하는 전례가 발생하여 바이오장기돼지 생산을 위한 바이오그린 선행연구(노동, 2008, 2009년 바이오그린21 사업보고서)에 의하여 임신 113일에 모체를 도살한 후 자궁 내에서 태아를 적출하는 방법으로 복제돼지를 생산하는 방법을 채택하였으나 113일에 생산한 복제돼지가 생후에 발육이 불량하여 폐사하는 사례가 발생하였다. 따라서 본 연구에서는 형질전환복제미니돼지를 안전하게 생산하기 위한 자궁적출시기와 태아의 발육크기를 예측하기 위하여 일반돼지를 이용하여 임신말기 자연분만하기까지 태아의 발육상태를 비교하기 위하여 실시하였다.

일반돼지 임신말기 113일에 초음파 영상진단을 통하여 태아들의 크기를 측정하였는데 Fig. 3에서 보는바와 같이 분만직전의 두부를 제외한 태아의 몸통의 크기가 15.9±4

cm이었으며, 이것을 초음파 영상진단 후 바로 자궁을 적출하는 시술을 실시하여 자돈을 생산하였다. Fig. 4에서 보는 바와 같이 113일에 자궁내 초음파 영상 측정된 태아를 자궁적출에 의해서 생산된 자돈의 두부의 크기는 9.0±1 cm, 몸통(어깨부터 둔부 끝) 길이는 16.0±2 cm(Fig. 5)이었다.



Fig. 4. Cesarean section to estimate the length of porcine fetus.

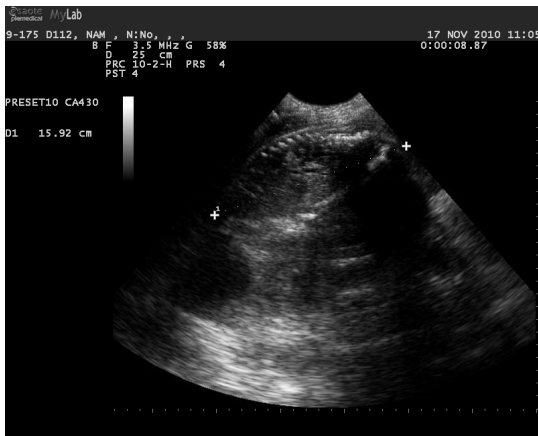


Fig. 3. Ultrasound scanning of porcine fetus on day 113 of gestation.

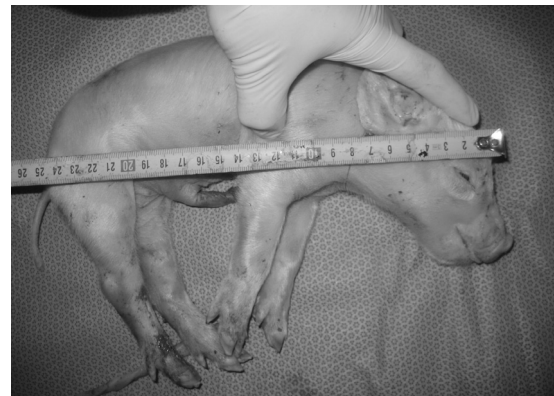


Fig. 5. CRL measurement of a pig on day 113 of gestation in pig.

임신말기의 태아의 크기는 초음파 영상 상에서는 두부부터 둔부까지 Crown-rump length (CRL) 크기는 태아가 너무 크기 때문에 초음파 영상에 나타나지 않으므로 초음파영상에서 측정이 가능한 몸통의 길이를 비교하기로 하여 초음파 영상상의 크기 15.9±4 cm와 실제 자궁적출 후 몸통의 크기 16.0±2 cm가 유사함으로써 초음파 영상상의 측정이 실제 발육상과 비교하여 사용하는데 문제가 없음을 알 수 있었다.

형질전환 복제돼지는 113일에 자궁 적출하여 보면 대개 성장발육이 부진한 경우가 많았기 때문에 생후 7일 이내에 소장과 대장 발육(폐사후 부검) 부진등에 의한 폐사가 발생하였다. 따라서 본 연구에서는 장등 장기의 발육이 일반 돼지 태아에 비하여 어느 정도 발육이 부진한지 비교하여 보았는데 Fig. 6에서 보는바와 같이 일반돼지 태아의 장기 크기와 동일 크기의 장기가 측정되는데 형질전환복제미니 돼지는 7주령에서 11주령까지 전 과정 동안 약 2~3일 정도

지연되는 것으로 조사되었다.

일반돼지와 복제돼지의 임신기간 동안 태아발육 상태를 초음파 측정으로 조사하여 비교하였다(Fig. 7) 6주령에서는 약 2 cm의 발육차이가 나타났으며, 이후 11주령까지는 거의 유사한 성장을 보이다가 12주령부터 차이를 보이기 시작하여 13주령에서 가장 차이를 나타내다가 15주령에서는 약 3 cm의 발육차이를 나타내었다.

바이오장기 형질전환복제 미니돼지를 생산하기 위하여 여러 가지 기술이 시도되었는데 마지막 난관으로 형질전환 복제미니돼지를 무균상태로 생산하여 사육하는데 사용한 방법이 임신말기 분만전일인 113일에 모체의 자궁으로부터 태아를 적출하여 인큐베이터 내에서 사육하는 방식을 사용하였다. 그러나 형질전환복제미니돼지는 113일에 모체로부터 적출하여 생산하였을 때 발육이 부진하여 생후 몇 주안에 폐사하는 경우가 빈번하였다. 따라서 본 연구에서는 형질전환복제돼지 생산 시기를 예측할 수 있는 기준

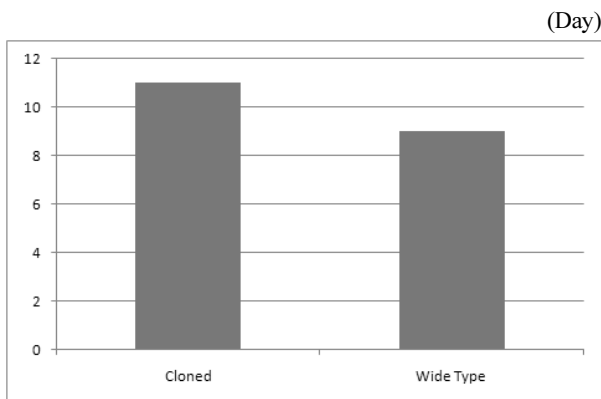


Fig. 6. Organ growth difference between cloned miniature pig and control.

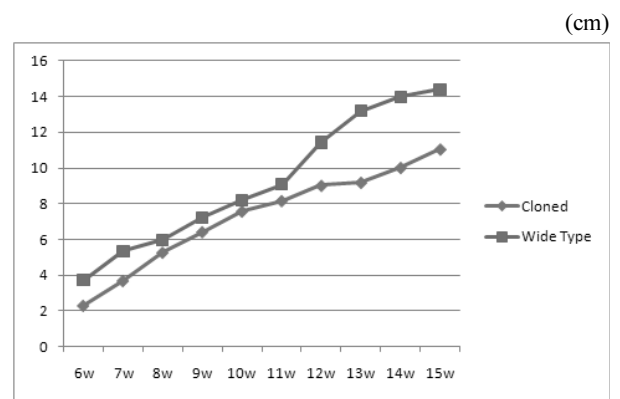


Fig. 7. Fetus growth difference between cloned mini pig and control from 6 to 15 week of gestation by ultrasound scanning.

Table 2. Optimal timing of cesarean section for transgenic cloned miniature pigs.

| 구분/생산시기 | 113일 | 117일 | 118일 | 124일 | 125일 |
|---------|------|------|------|------|------|
| 모든두수 | 3 | 4 | 2 | 1 | 1 |
| 생산방법 | 자궁적출 | 자궁적출 | 자궁적출 | 자궁적출 | 자연분만 |
| 평균태아두수 | 1 | 2 | 1.5 | 2 | 4 |
| 평균태아체중 | 430 | 691 | 670 | 478 | 868 |
| 평균사산두수 | 1 | - | 1 | 2 | 1 |
| 평균생존두수 | 1 | 1 | 1 | 2 | 3 |
| 생후폐사두수 | - | - | 1 | - | 1 |
| 생후상태 | 발육불량 | 발육양호 | 발육양호 | - | 2두생존 |
| 생후발육 | 폐사 | 양호 | 양호 | 폐사 | 양호 |
| 양수상태 | 양수양호 | 양호 | 양수감소 | 양수없음 | 양수감소 |
| 적출시기 | 빠름 | 적정 | 다소늦음 | 늦음 | 늦음 |

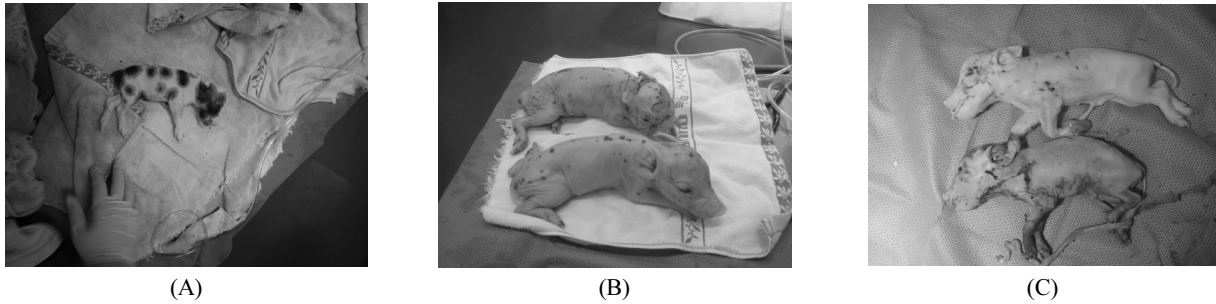


Fig. 8. The cloned miniature pigs on day 113 (A), 117 (B), and 124 (C) of gestation by cesarean section.

을 정하기로 하였다. 우선 113일에 자궁적출을 하게 된 것은 114일에 자연 분만이 일어날지 모르기 때문에 113일에 자궁적출을 실시하였으나, 모든 3복에서 평균 430 g의 발육이 불량한 자돈이 평균 1두씩 생산되어 분만 직후(Fig. 8A)나, 분만 후 1~2주일 내에 폐사하였다. 따라서 초음파 측정에서 태아 두수가 2두 이상인 모든의 경우에 역으로 분만 시기인 114일이 지난 후 11일과 10일(Fig. 8C)을 연장해서 자연분만을 기다렸으며, 11일을 연장하여 기다린 경우 4두의 자돈 중에서 2두가 양수가 고갈되어 분만즉시 폐사하였으며, 2두는 현재까지 생존하였다. 그러나 자연분만의 경우 모든의 바이러스를 그대로 가지고 태어나기 때문에 자손의 확장측면에서는 가능한 방법이나 SPF 돼지를 조성하기에는 불리한 방법이었다. 또한 임신말기 분만 시기를 연장하여도 분만이 일어나지 않는다는 것으로 조사하여 알게 된 후로 태아를 초음파 측정하면서 적절한 시기와 발육 상을 조사하여 보았는데 분만일 114일후 2일부터 4일(Fig. 8B)사이 태아의 초음파 몸통 길이(어깨에서 둔부까지)가 14 cm 이상 측정될 시기에 자궁 적출하는 것이 태아의 자궁 내 발육과 생후 생존에 무리가 없는 것으로 조사되었다.

IV. 결론

본 연구는 면역거부반응이 제어된 바이오 이중장기용 형질전환복제미니돼지는 수태율이 극히 낮고, 자궁 내 태아의 착상수도 1~2개로 극히 저조하여 임신말기 자연분만이 매우 어려우며, 형질전환개체는 일반돼지에 비하여 자궁 내 발육상태가 매우 불량하여 생후에도 생존율이 매우 낮게 나타났다. 따라서 자궁 내에서 충분한 발육기간이 지난 후에 특정병원균이 제어된 상태로 생산하여 출생 후에도 안정적으로 생명을 유지하며 발육하게 하기위하여 형질전

환복제미니돼지가 임신기간 동안 성장하는 과정을 초음파 임신진단기를 이용하여 측정하고, 임신말기 113일 이후에 태아를 자궁에서 적출하는 적정시기를 결정하기 위하여 수행하였다. 먼저 일반돼지와 태아발육정도를 비교하기 위하여 임신 4주부터 15주까지 약 90일 동안 매주 태아발육과정을 초음파진단기로 측정하였을 때 일반돼지 태아가 4주령에 1.8 cm에서 임신말기인 15주령에 14.4 cm정도로 발육하였으며, 또한 실제 분만기시인 113일에 초음파 측정을 실시한 후 자궁적출 하였을 때 몸통길이가 각각 초음파 측정 시 15.9±4 cm이었으며, 자궁적출 후 태아를 실측하였을 때 16.0±2 cm로, 초음파 측정치와 실측치가 거의 유사하여 초음파에 의한 태아의 발육상태를 예측하였을 때 생후 발육에 지장을 초래하지 않음을 알 수 있었다. 따라서 일반돼지와 형질전환복제미니돼지의 임신말기 초음파에 의한 태아의 발육을 비교 조사한 결과를 종합하였을 때, 형질전환복제미니돼지가 대리모의 자궁에서 자연분만시기인 114일이 지나도 자연분만이 일어나지 않음을 알 수 있었으며, 분만시기가 지난 후 2~4일 사이에, 매일 자궁 내에서 태아를 초음파 측정하여 몸통길이가 14 cm이상 성장하였을 시기에 모체로부터 특정병원균 제어 상태로 자궁적출하는 것이 생후 태아가 인큐베이터에서 정상적으로 발육하는데 적절한 것으로 조사되었다.

참고 문헌

- Ahn KS, Kim YJ, Kim M, Lee BH, Heo SY, Kang MJ, Kang YK, Lee JW, Lee KK, Kim JH, Nho WG, Hwang SS, Woo JS, Park JK, Park SB, Shim H. 2011. Resurrection of an alpha-1,3-galactosyltransferase gene-targeted miniature pig by recloning using postmortem ear skin fibroblasts. *Theriogenology* 75: 933-939.
- Campbell KH, McWhir J, Ritchie WA, Wilmut I. 1996. Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line. *Nature*

- 7: 64-66.
- Cibelli JB, Campbell KH, Seidel GE, West MD, Lanza RP. 2002. The health profile of cloned animals. *Nature Biotechnology* 20: 13-14.
- Dai Y, Vaught TD, Boone J, Chen SH, Phelps CJ, Ball S, Monahan JA, Jobst PM, McCreath KJ, Lamborn AE, Cowell-Lucero JL, Wells KD, Colman A, Polejaeva IA & Ayares DL 2002 Targeted disruption of the alpha1,3-galactosyltransferase gene in cloned pigs. *Nature Biotechnology* 20: 251-255.
- Dinnyes A, De Sousa P, King T & Wilmut I 2002 Somatic cell nuclear transfer: recent progress and challenges. *Cloning Stem Cells* 4: 81-90.
- Feil R 2001 Early-embryonic culture and manipulation could affect genomic imprinting. *Trends in Molecular Medicine* 7: 245-246.
- Ogura A, Inoue K, Ogonuki N, Lee J, Kohda T & Ishino F 2002 Phenotypic effects of somatic cell cloning in the mouse. *Cloning Stem Cells* 4: 397-405.
- Park MR, Cho SK, Lee SY, Choi YJ, Park JY, Kwon DN, Son WJ, Paik SS, Kim T, Han YM Kim JH. 2005. Proteomics A rare and often unrecognized cerebromeningitis and hemodynamic disorder: a major cause of sudden death in somatic cell cloned piglets. *Proteomics* 5: 1928-1939.