

## 형질전환 식물세포배양을 이용한 monoclonal antibody(mAb)의 생산

홍신영, 권태호, 장용석, 양문식

전북대학교 생물과학부

전화 (063) 270-3339, FAX (063) 270-4334

### Abstract

Mouse monoclonal antibody(mAb) with an antigen specificity for major histocompatibility complex class II(MHC class II) was produced and secreted from tobacco cell suspension culture by successive sexual crosses<sup>1)</sup>. Expression and secretion of assembled antibody was observed in transgenic tobacco cell suspension culture by wetern blot analysis.

### 서론

식물을 이용하여 생물학적 활성이 있는 단백질의 생산은 미생물이나 동물 세포를 이용하는 것에 비해 여러 가지 장점을 가지고 있어 많은 연구가 되고 있다<sup>1)</sup>. 본 연구는 식물세포에 mouse MHCII의 항체<sup>2)</sup>유전자를 도입하여 발현시킴으로서 식물세포배양을 통하여 항체의 생산이 가능함을 확인하기 위하여 실시하였다.

### 재료 및 방법

#### 1) 담배세포의 형질전환

생쥐의 MHCII light와 heavy chain의 cDNA를 포함하는 식물발현벡터 pMYL59와 pMYL65를 각각 담배에 도입하여 각각의 형질전환체 중에서 Northern blot analysis의 결과 각각의 유전자 발현이 높은 개체를 선발하였으며, 이를 교배하여 각각의 유전자를 모두 포함하는 F2식물체를 선발하였다. F2의 식물체 잎을 1 mg/L 2,4-D가 첨가된 MS배지에서 callus를 유도 한 후에 동일조성의 액체배지를 이용하여 현탁배양하여 항체의 생산을 유도하였다.

#### 2) 항체의 확인

식물세포배양을 통하여 생산된 단클론 항체는 western blot analysis를 수행하여 확인하였다.

### 결과 및 고찰

RT-PCR을 통하여 생쥐의 MHCII light와 heavy chain의 cDNA를 cloning하였으며 이를 식물발현벡터인 pMY27에 도입하여 성공적으로 pMYL59와 pMYL65를 제작하였다(Fig. 1). pMYL59와 pMYL65를 각각 담배에 도입하고 항생제를 포함하는 배지에서 재분화된 식물체를 PCR을 통하여 유전자의 도입을 확인하였으며, 각각의 형질전환체 중에서 Northern blot analysis의 결과 유전자 발현이 높은 개체를 선발하

여 교배하였고 각각의 유전자를 모두 포함하는 F<sub>2</sub> 식물체를 선발하였다. F<sub>2</sub>의 식물체 잎을 1 mg/L 2,4-D가 첨가된 MS배지에서 callus를 유도 한 후에 동일조성의 액체배지를 이용하여 현탁배양을 하였으며 SDS-PAGE와 Western blot analysis의 결과 식물세포배양을 통하여 정상적으로 단클론항체가 생산됨을 확인하였다.

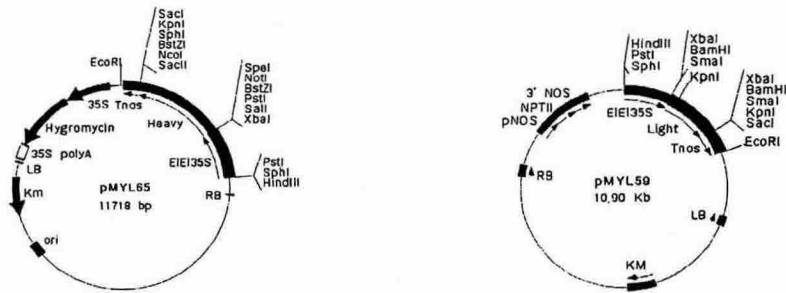


Fig. 1. Generation of plant expression vectors, pMYL59 containing light chain and pMYL65 containing heavy chain.

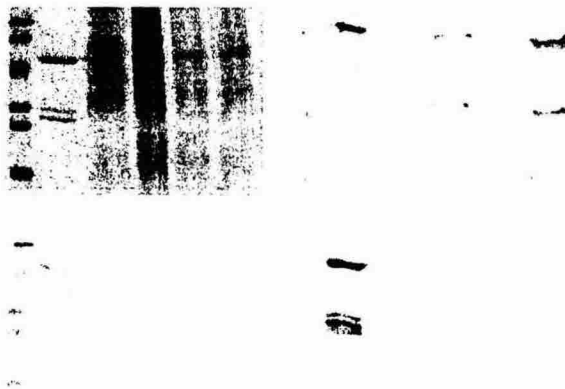


Figure 2. SDS-PAGE and Western analysis of mouse monoclonal antibody in callus and the supernatant

**감사의 글**

본 연구는 과학기술부의 국가지정연구실 사업(2000-N-NL-C-212)의 연구비 지원에 의하여 수행되었습니다.

**참고문헌**

1. Doran P.M., "Foreign protein production in plant tissue cultures"(2000), Current Opinion in Biotechnology, 11:199-204
2. Ma J.K-C., "Generation and Assembly of Secretory Antibodies in Plants"(1994), Science, 268, 716-719