

형질전환 식물세포배양을 이용한
Human Granulocyte Colony Stimulating Factor의 생산

홍신영, 권태호, 장용석, 양문식
전북대학교 생물과학부
전화 (063) 270-3339, FAX (063) 270-4334

Abstract

Human granulocyte-colony stimulating factor(hG-CSF), a hematopoietic growth factor¹⁾, was produced and secreted from tobacco cell suspension. hG-CSF produced from tobacco cell suspension culture is biologically active form. The produced amount of hG-CSF is about 100 μ g/L in 9 days after inoculation.

서론

식물을 이용하여 생물학적 활성이 있는 단백질의 생산은 미생물이나 동물 세포를 이용하는 것에 비해 여러 가지 장점을 가지고 있어 많은 연구가 되고 있다¹⁾. 본 연구에서는 식물세포에 고부가가치의 의료용 단백질인 hG-CSF²⁾ 유전자를 도입하여 발현시킴으로서 정상적으로 생리활성을 지닌 hG-CSF의 생산이 가능함을 확인하였다.

재료 및 방법

1) 담배세포의 형질전환 및 세포배양

hG-CSF의 cDNA를 RT-PCR을 통하여 cloning 하였으며 이를 식물발현벡터에 도입하여 pMYO85를 구축하였다. pMYO85을 포함하는 *A. tumefaciens*를 이용하여 담배에 형질전환 시켰으며, 항생제를 포함하는 배지에서 재분화된 식물체를 PCR과 Northern blot analysis를 수행하여 형질전환 및 유전자의 발현여부를 확인하였다. 1mg/L 2,4-D가 첨가된 배지에서 callus 유도 후 동일 배지 하에서 현탁세포를 유도하였고 25 $^{\circ}$ C, 100rpm, 명 조건으로 유지하면서 9일 간격으로 계대배양하였다. 세포의 증식은 세포 생체중량(fresh cell weight, FCW)의 측정을 통하여 관찰하였다.

2) Biological activity 측정

hG-CSF dependent cell line인 NFs-60 cell을 이용하여 cell proliferation assay를 통해 확인하였다.

3) hG-CSF 정량분석

식물세포배양을 통하여 생산된 hG-CSF는 ELISA assay로 정량분석을 하였다.

결과 및 고찰

형질 전환된 담배 식물에서 hG-CSF mRNA 발현을 확인하고자 Northern blot analysis를 수행한 결과 형질 전환 식물체, O81-5가 가장 높은 발현을 나타내었고 (Fig. 1), bioassay를 통해 담배 현탁 배양 세포에서 생산된 hG-CSF가 생물학적으로 활성이 있는 형태로 존재함을 확인하였다(Fig. 2). 현탁 배양 9일 후에 100 μ g/L의 hG-CSF 생산이 확인되었다(Fig. 3).



Figure 1. Northern blot analysis for expression of hG-CSF

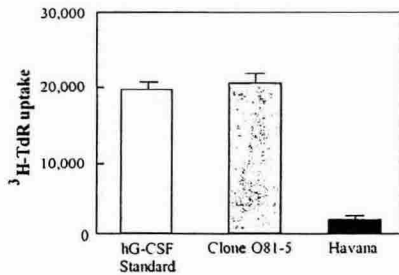


Fig. 5. Biological activity of hG-CSF secreted by clone O81-5 at 9 days of culture.

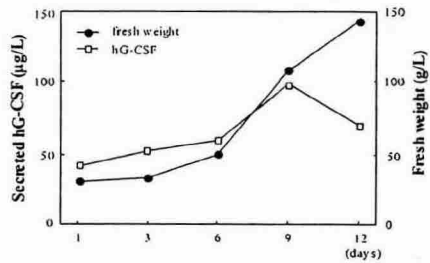


Fig. 4. Cell growth and time course of hG-CSF production in cell suspension cultures as detected by ELISA.

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. Thomson A. W., "The Cytokine Handbook"(1994), Academic Press, London, 371-385