

돼지 iGb3s 항체 제작 및 발현 특성 분석

황성수, 황인설, 김경운, 박미령, 윤정희, 곽태욱, 이주영, 형남웅, 임기순
 국립축산과학원 동물바이오횥과, 농촌진흥청

서론

- 돼지 isoglobotriosylceramide synthase(iGb3s)은 돼지 장기를 영장류에 이종이식하였을 때 발생하는 여러 면역반응 중에서 초급성 면역반응을 유발하는 α-Gal 항원을 발현하는 유전자로 알려져 있다..
- 하지만 아직까지 돼지 iGb3s 유전자에 대해 연구가 많이 되어있지 않으며, 특히 이 유전자의 발현을 확인할 수 있는 항체에 대해서는 보고된 바가 거의 없는 실정이다.

목적

- 본 연구에서는 돼지 iGb3s 항체 제작 및 발현 특성에 대해 살펴보고자 한다.

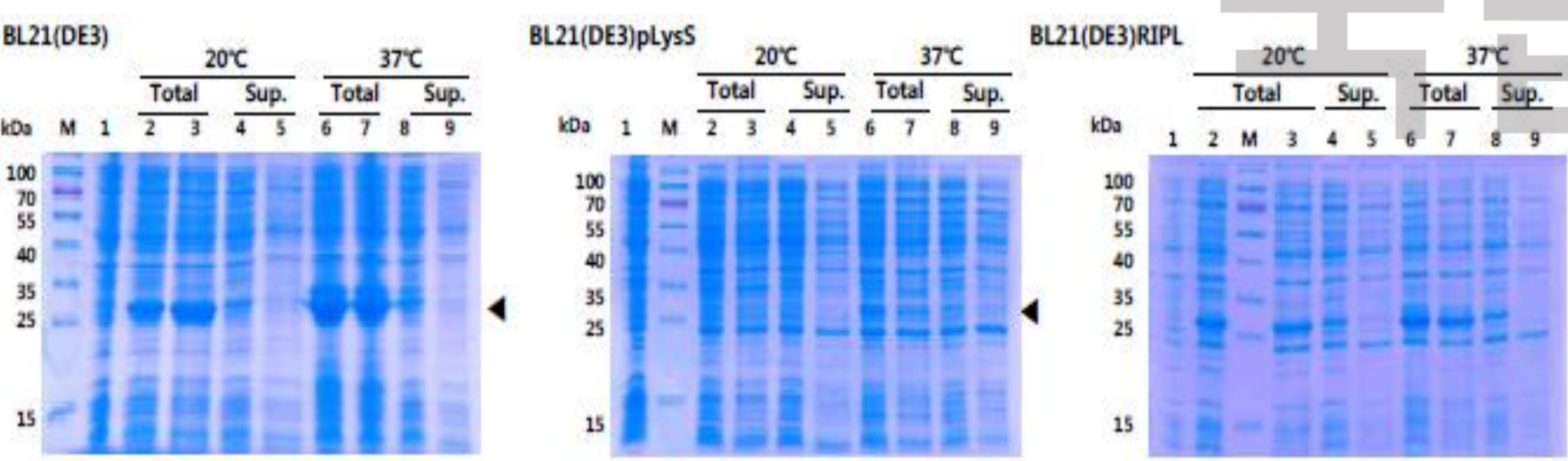
재료 및 방법

Genetic constructs and sequence analysis for iGb3s antibody production.

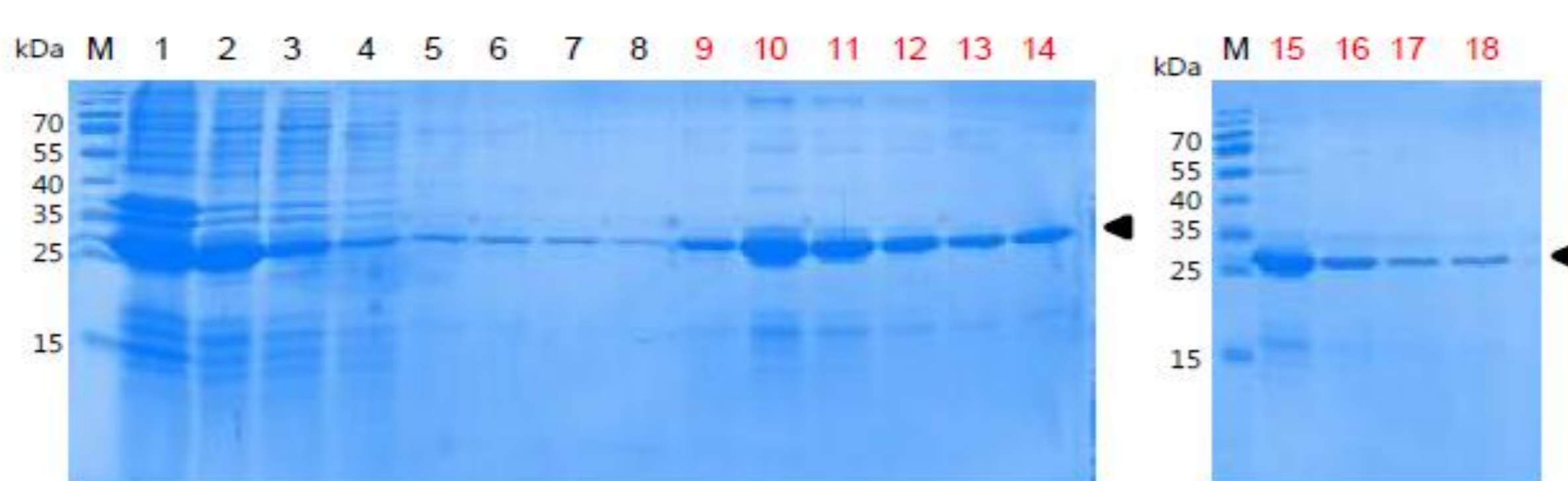
Genetic constructs: HeLa, WT pig, GT KO (+1/-19bp), WT pig, iGb3s KO (+1/-14bp), HeLa, WT pig, GT-MCP/MCP, HeLa, WT pig, GT-MCP/MCP/iGb3s^{-/-}.

Sequence analysis: BL21(DE3) pLysS and BL21(DE3)RIPL. Lanes: M, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18.

돼지 iGb3s 아미노산 서열 분석



M : Protein marker; 1 : Uninduced cell lysate total
 2, 6 : Induced cell lysate total (A)
 3, 7 : Induced cell lysate total (B)
 4, 8 : Induced cell lysate sup. (A)
 5, 9 : Induced cell lysate sup. (B)

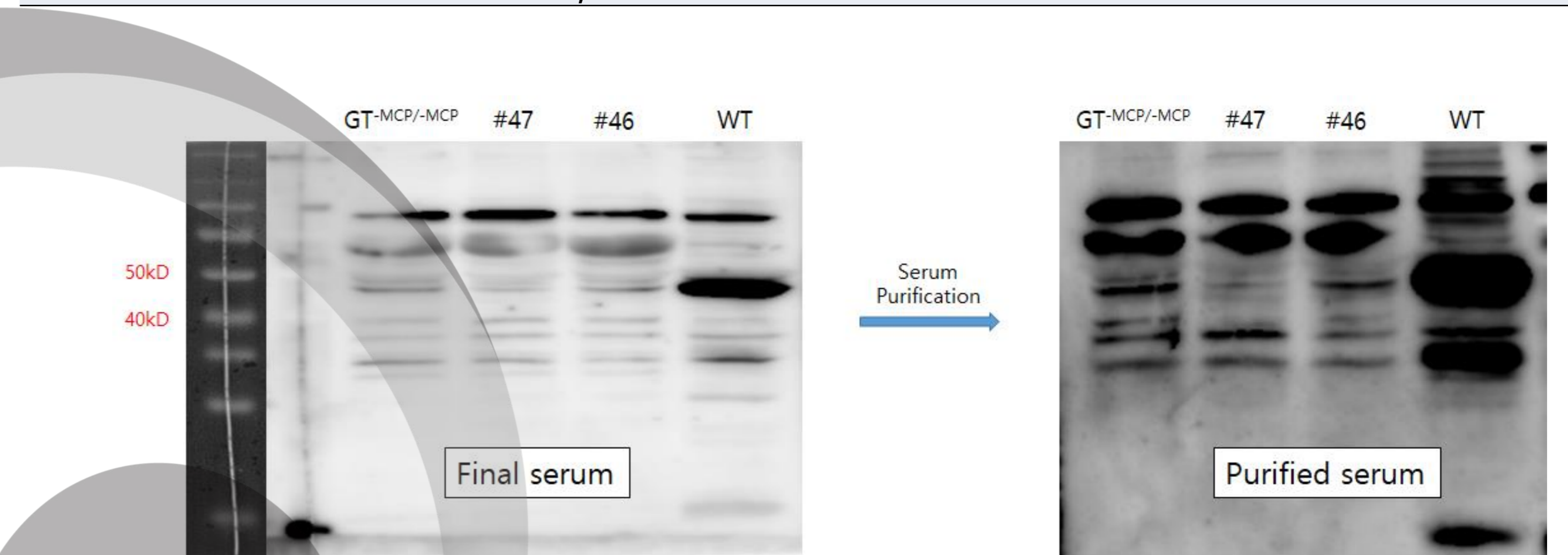


M : protein marker; 1 : Non-Induced cell Sup.;
 2 : Induced cell Sup. 3 : Flow-through; 4-8 : Wash 1-5;
 9-13 : 100mM imidazole elute 1-5;
 14-18 : 250mM imidazole elute 1-5

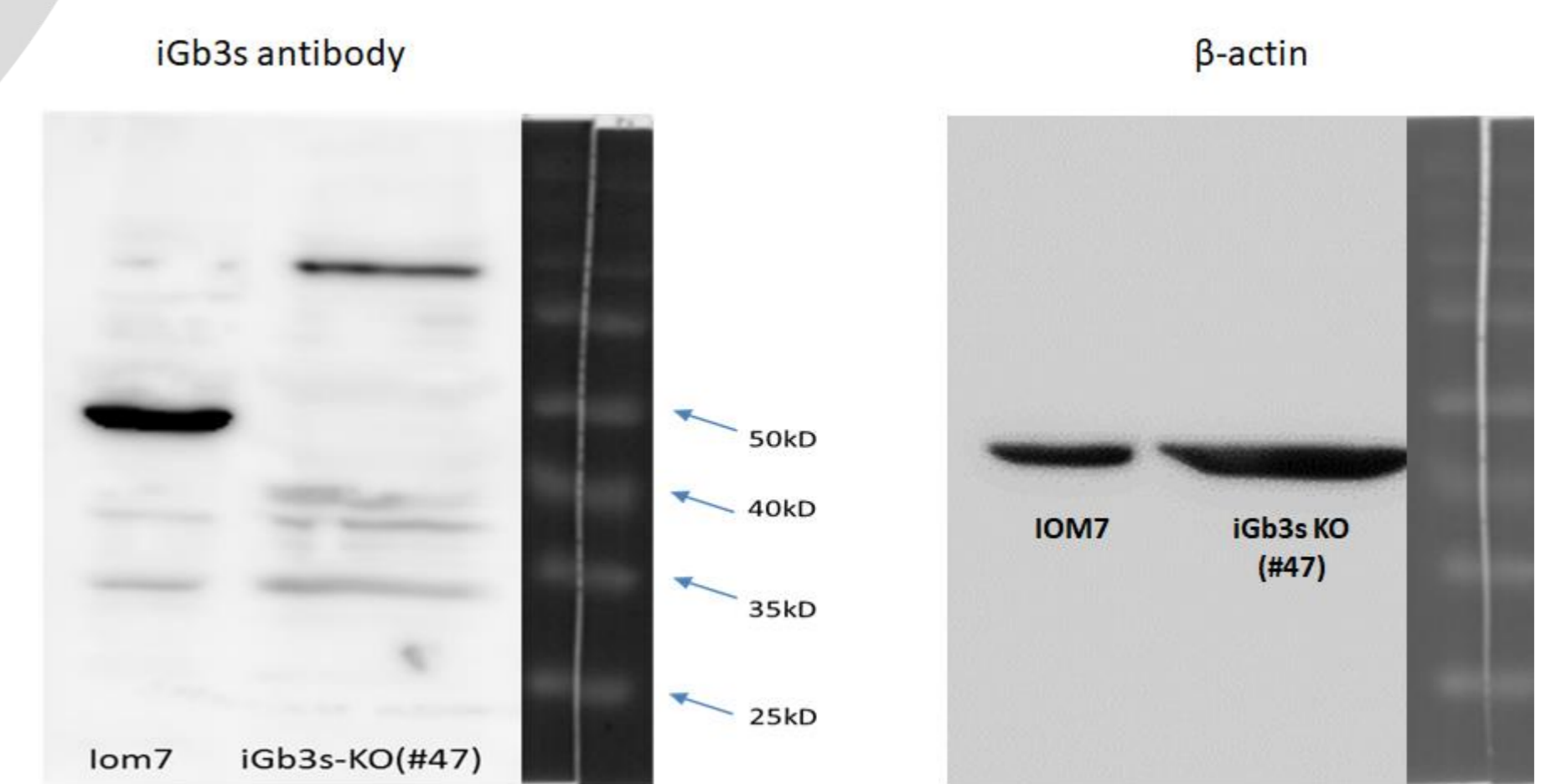
결과

표 1. 희석 비율에 따른 역가 최저치 결정

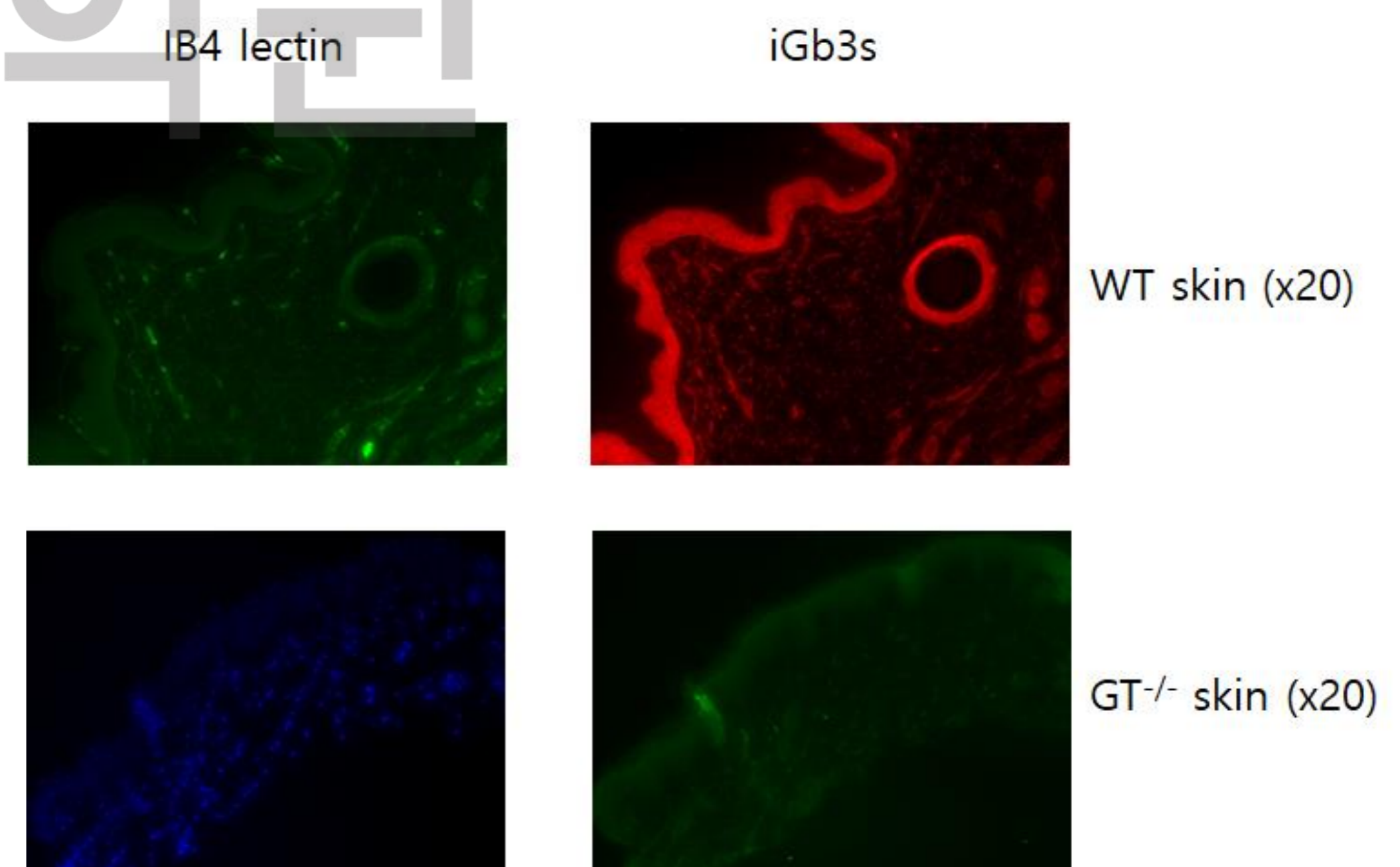
Sample	Dilution factor	iGb3S	
		#1	#2
Test serum	1:100	2.813	2.938
	1:1,000	2.818	2.729
	1:5,000	2.286	2.548
	1:10,000	1.959	2.151
	1:50,000	0.750	0.948
	1:100,000	0.514	0.716



돼지 iGb3s 항체 purification



돼지 iGb3s knock out 세포를 이용한 iGb3s 항체 검증



돼지 iGb3s 항체를 이용한 면역형광염색 검증

결론 및 고찰

- 돼지 iGb3s 항체를 일반돼지 유래 동맥, 신장, 간 및 피부 등의 조직을 이용하여 면역조직화학 염색을 실시한 결과 염색한 모든 조직에서 발현되는 결과를 확인하였다.
- 본 연구에서 생산된 돼지 iGb3s 항체는 α-Gal 항원 발현을 확인하는데 유용하게 사용될 수 있을 것이라 판단된다.