

## 재조합사람에리트로포이에틴(rhEPO)의 생산과 리용

라 광 혁

생물공학적인 방법을 리용한 약물생산은 첨단과학기술의 한 분야로서 선진과학기술의 성과를 보건의료에 적극 받아들여 인민들의 건강을 증진시키는데서 중요한 문제로 나서고있다.

현재 세계적으로 각이한 단백질발현계들을 리용하여 의학부문과 화장품공업, 효소공업에 필요한 수많은 재조합단백질들을 효율적으로 생산하여 리용하고있다.

우리 나라에서도 재조합사람인터페론- $\alpha 2b$ 와 성장호르몬, 상피증식인자, 인슐린을 비롯한 재조합약물들을 생물공학적인 방법으로 제조하여 보건 및 축산부분에 적극 리용하고있다.

에리트로포이에틴(erythropoietin: EPO)은 분자량이 약 35 000인 당단백질로서 콩팥에서 생성되는데 골수에서 적혈구선조세포의 증식과 분화, 성숙을 촉진하고 아포토시스를 억제하여 적혈구생성을 증가시킨다. 적혈구안에 있는 헤모글로빈의 산소포화도가 감소되었을 때 콩팥에서 에리트로포이에틴의 생성은 증가된다. 그러나 만성콩팥장애가 있는 경우 콩팥은 EPO를 생성할수 없으며 결과 빈혈이 생긴다.

재조합에리트로포이에틴(recombinant human erythropoietin: rhEPO)은 만성콩팥부전과 암 화학치료, HIV감염 등으로 생기는 빈혈을 치료하는데 널리 리용되고있다.

### 1. 에리트로포이에틴의 구조와 기능사이의 연관성

생체내에서 EPO의 생합성은 조직의 산소분압에 따라 조절되는데 저산소상태에 있으면 EPO생성이 크게 증가된다. EPO는 저산소상태가 해소될 때까지 적혈구의 생성을 증가시키는데 적혈구가 지나치게 많아지면 거꾸로 EPO분비가 억제된다고 한다. 정상사람에게서는 전체 에리트로포이에틴의 약 90%가 콩팥의 근위세뇨관상피세포들과 림접해있는 간질섬유아세포들에 의하여 콩팥피질에서 합성되고 나머지는 주로 간장세포들에서 합성된다.[13]

에리트로포이에틴은 태아시기 간장과 어른의 콩팥에서 합성되는 당단백질성호르몬으로서 적혈구의 생성과 성숙에서 중요한 역할을 한다. EPO는 골수의 적아구전구세포의 증식과 분화를 자극하여 순환혈액속의 적혈구수를 늘이는 호르몬이다.[3]

EPO는 적혈구원시세포(erythroid progenitor)표면에 있는 EPO접수체(erythropoietin receptor: EPOR)에 결합하여 그 세포의 분화를 자극함으로써 조혈효과를 나타낸다. EPOR는 골수계세포들, 림파구들, 거핵구들은 물론 내피세포들, 혈관간막세포, 심근세포, 활평근세포들, 신경원들의 세포막에서도 발견되었다.[11]

흰생쥐의 적아구에는 세포당 43개의 EPOR가 있는데 이 접수체분자는 129kD와 66kD의 2개의 사슬로 이루어졌다는것이 밝혀졌다.

EPO는 조혈줄기세포로부터 적혈구로 분화되는 초기단계의 세포들인 적혈구계버스트형성단위(burst forming unit-erythroid: BFU-E)에는 작용하지 못하고 성숙이 일단 진행된 적혈구계콜로니형성단위(colony forming unit-erythroid: CFU-E)에 작용하여 그 증식을 촉진시키고 글로빈합성개시 등과 같은 분화를 유도한다.[12]

실험적관찰결과에 의하면 EPO가 작용한 후 흰생쥐에서는 2일후에, 사람에서는 7일후

에 적아구콜로니가 형성되는데 형성되는 이 적아구콜로니수와 EPO량사이에는 비례관계가 있으며 EPO가 없는 조건에서는 적아구콜로니가 형성되지 않는다.[35]

EPO의 이러한 생물학적작용은 그 구조와 밀접한 연관성을 가진다.

사람에리트로포이에틴은 처음 1977년에 한 연구집단에 의하여 재생불량성빈혈환자의 오줌에서 분리정제[1]되었다. 그후 많은 연구자들이 사람오줌이나 혈장속의 EPO를 분리하여 그것의 구조와 특성, 생리적작용을 밝혔다. 성숙한 사람의 오줌속에 들어있는 EPO는 165개의 아미노산으로 구성되어있으며 평균분자량은 34.0~34.5kD이다.[4]

한 연구자는 사람게놈EPO유전자가 5개의 엑손과 4개의 인트론으로 구성되어있고 크기는 약 2.8kb이며 7번 염색체의 긴팔부위(7q11~q22)에 위치하고있다는것을 밝혔다.[8] EPO 유전자는 동물종에 따라 약간씩 차이나는데 실제로 원숭이EPO유전자는 아미노산 및 누클레오티드수준에서 사람의것과 각각 92~94%의 배열상동성을 가지며 한편 흰생쥐의 EPO 유전자는 사람의 EPO유전자와 80%이상의 배열상동성을 가지고있다.[10]

일부 연구자들은 빈혈증에 걸린 원숭이의 콩팥세포나 사람태아의 간장세포에서 얻은 mRNA를 리용하여 cDNA를 만들고 염기배열분석을 진행하였으며 다른 연구자들은  $\lambda$ 파취에 재조합시킨 사람유전자DNA서고를 리용하여 EPO유전자를 클론화한 다음 전체 염기배열을 결정하였다.[9] mRNA로부터 합성한 사람EPO cDNA유전자는 582개의 누클레오티드로 이루어져있고 종지코돈과 3'말단의 폴리아데닐꼬리사이에 665개의 누클레오티드로 된 비번역말단배열을 가지고있다.[10]

연구집단에 따라 발표되는 EPO의 아미노산배열은 약간씩 차이난다. 누클레오티드배열로부터 추정한 사람EPO는 193개의 아미노산으로 이루어져있으며 N-말단의 27개의 소수성아미노산으로 구성된 신호펩티드배열과 C-말단의 Arg이 제거된 165개의 아미노산으로 이루어져있다고 한다.

사람EPO유전자를 중국hamster란소(CHO)세포에서 발현시켰을 때 SDS-PAGE분석에서 약 34 000의 분자량을 가진 글리코실화된 당단백질이 나타나며 이 EPO는 사람오줌기원의 EPO와 매우 유사하였다.[4]

EPO분자안에는 4개의 부위들(7, 29, 33, 161)에 시스테인(Cys)이 있는데 이것들은 Cys7-Cys161, Cys29-Cys33사이에 디설피드결합을 형성한다.[4, 15] 디설피드결합이 EPO활성에 미치는 영향을 검토하기 위하여 Cys33을 프롤린(Pro)으로 점감작변이시켜 얻은 EPO는 천연EPO에 비하여 생물학적활성이 크게 낮아졌다. 이것은 Cys29-Cys33사이에서 형성된 디설피드결합이 EPO의 기능에서 필수적이라는것을 보여준다.[4, 7]

EPO의 분자량(34.0~34.5kD)에서 40%는 당질이 차지[5, 14]하는데 EPO는 아스파라긴(Asp) 24, 38, 83에 3개의 N-글리코실화부위들과 세린(Ser) 126에 1개의 O-글리코실화부위를 가지고있다.[4, 6, 7]

EPO의 당사슬은 생체내 EPO의 생물학적활성을 보장하는데서 중요한 역할을 하며 프로테아제 등에 의한 분해와 변성으로부터 EPO단백질을 보호하는 기능을 수행한다.[1]

당질은 EPO의 안정성과 *in vivo*활성을 유지하는데서 중요한 역할을 한다. 실제로 시알산은 *in vivo*조건에서 EPO의 생물학적활성을 보장하는데서 필수적인 글리칸에서 발견되는 말단당이다. 단순히 말단의 시알산을 제거할 때 *in vivo*활성이 완전히 없어지게 되는데 그것은 탈시알산화시킬 때 갈락토즈잔기들이 로출되고 이 갈락토즈잔기가 간장세포들에 있는 갈락토즈접수체와 결합하여 간장에 EPO를 격리시키기때문이다.[16, 17] Ser 126에 결합된 O-결합글리칸은 비록 접혀진 구조를 안정화하는 작용을 할수 있지만 *in vitro*나 *in vivo*

조건에서의 생물활성을 나타내는 데서 필요없다는 것이 발견되었다. *in vivo* 조건에서 EPO의 활성을 나타내는 데서 Asp 24, 38, 83에 결합된 N-결합글리칸들이 필수적이다. 이 글리칸들은 4개의 가지를 가진 올리고당(EPO에 결합된 주요 N-결합올리고당들임)의 시알릴화를 통하여 순환반감기를 증가시키며 내질망의 사폐론들과 호상작용하여 EPO단백질이 정확히 접혀지고 정상분비되게 한다. N-글리코실화되지 않을 때 EPO의 분비는 10% 감소된다.[27] N-결합당사슬들을 제거하면 활성이 크게 감소되거나 지어는 완전히 없어질 수 있는데 이것은 주로 순환혈액속에서 수명이 짧기 때문이다.[18-21] 글리코실화되지 않은 EPO는 글리코실화된 EPO와 비교해볼 때 물리적 안정성이 훨씬 낮다. 따라서 EPO가 혈액순환 때 빨리 소실되는 것은 열에 대한 감수성이 높아 응집되기 때문이다. 그리고 당사슬들을 제거하면 그 단백질의 크기도 감소되므로 *in vivo* 활성소실은 콩팥에서 많이려과되는 것과 일정하게 연관되어 있다는 가능성을 배제하지 못한다.[22, 23]

## 2. 재조합사람에리트로포이에틴(rhEPO)의 리용

EPO의 원천은 크게 천연형과 재조합형으로 구분할 수 있다.

천연EPO의 생산원천은 주로 재생불량성빈혈증을 비롯한 만성빈혈환자의 오줌으로서 1977년부터 일반적인 단백질정제방법을 리용하여 EPO를 분리정제하기 시작하였으며 최근에는 단클론항체에 의한 보다 거름률이 높은 정제방법들이 개발리용되고 있다.[1, 36]

1980년대 중엽부터 생물공학작법으로 rhEPO를 만들어 그것을 립상에 적용하기 위한 연구가 활발히 진행되기 시작하였다.

rhEPO는 립상부분에서 만성콩팥성빈혈이나 임신시기에 생기는 빈혈을 치료하는데 광범히 리용된다. 또한 rhEPO는 혈액투석치료, 암화학치료, AIDS치료를 받을 때 발생하는 합병증들로 해서 생기는 빈혈들을 치료하는데도 리용된다.[28] 인공투석환자에게는 정기적인 수혈이 요구되는데 이때 rhEPO를 리용하면 수혈량을 줄일 수 있다. 그러나 rhEPO만을 쓰면 상대적으로 철결핍문제가 제기될 수 있다. 그 리유는 rhEPO를 리용하는 경우 적혈구생성이 급격하게 늘어나며 그에 따라 헤모글로빈합성도 높아져야 하는데 이때 철을 충분히 공급해주지 못하면 조혈기능과 철요구량사이에 불균형이 조성될 수 있기 때문이다.[38] 한 연구자는 생물공학작법으로 생산한 rhEPO를 리용하면 수혈량을 줄일 수 있으며 그것을 리용한 때로부터 11주일후에는 조혈기능이 정상으로 회복되어 더이상 수혈을 하지 않아도 된다는 것을 확인하였다.[37]

외과수술과정에 피가 요구되는 경우가 많은데 이때 수술을 하기 몇주일전부터 EPO를 리용하면서 수술대상자의 피를 필요한 량만큼 뽑아 보존하였다가 수술과정에 리용할 수 있다고 한다. 수술전에 rhEPO를 쓰면 적혈구수와 혈구용적비(hematocrit: Hct)를 높은 수준에서 유지함으로써 0.8L 아래의 혈액이 요구되는 수술에서 수혈을 하지 않아도 된다.[39] 이러한 자가수혈은 긴장한 혈액자원을 보호할 수 있고 다른 사람의 혈액을 수혈해줄 때 생길 수 있는 여러가지 수혈부작용들과 B형간염이나 AIDS와 같은 수혈을 통한 전염병의 전파를 막을 수 있는 우점을 가지고 있다.[40]

연구자료에 의하면 갓난아이들에게서 출생후에 3~6개월 동안 생리적인 빈혈이 발생하며 그로 하여 생체저항력이 낮아지므로 전염병을 비롯한 각종 질병에 잘 걸리게 되는데 특히 이러한 생리적빈혈현상은 저체중아에게서 보다 심하게 나타난다고 한다. 이러한

저체중아이들에게 rhEPO를 주입하여 각종 질병으로 인한 갓난아이사망률을 현저하게 낮출수 있다[41]는것이 밝혀졌다.

이외에도 최근에 rhEPO는 뇌수와 심장, 콩팥의 급성손상들을 치료하는데 리용할수 있다.[29]

흰쥐심장근아세포를 이 호르몬으로 미리 처리하였을 때 과산화물에 의하여 일어나는 아포토시스를 약 50%로 억제[30]하였으며 12h의 산소결핍때 생기는 손상으로부터 근아세포들을 보호해주었다.[31] 특히 아포토시스에 대한 EPO의 보호작용(*in vivo*와 *in vitro*조건에서)은 급성콩팥허혈에서도 증명되었다. EPO의 콩팥보호작용들은 또한 콩팥세뇨관상피의 재생을 자극하고 콩팥의 기능성을 회복하기도 한다.[32]

뇌수는 또한 EPO합성부위이기도 하다. 뇌수에서 EPO의 생성은 저산소조건과 저산소조건유도성인자(hypoxia-inducible factor-1: HIF-1)의 활성화를 통하여 사립체기능장애를 일으키는 다른 대사적장애(저혈당이나 신경원에서의 탈분극변화)에 의하여 자극될수 있다. 정상세포들에서 EPO mRNA의 발현은 인슐린과 인슐린류사증식인자에 의하여 량의존적으로 자극된다. 뇌수에서 EPO의 보호작용물림새는 조금밖에 연구되지 않았다. 어느 정도의 역할은 항아포토시스활성과 항염증성사이토카인들의 억제, 신경원생성자극, *in vivo*와 *in vitro* 조건에서 뇌수기원성신경영양성인자의 발현때문이라고 보아진다.[33]

rhEPO는 피브린기질이 있는 조건에서 혈관생성을 촉진하고 내피세포들의 증식과 유주를 자극하여 상처아물기를 촉진한다.[34] EPO접수체들은 몸의 많은 조직들에서 검출된다. EPO는 만능조직보호사이토카인이다. 이 호르몬의 다면성영향들(항염증, 항아포토시스, 혈관생성 등)은 피부상처를 비롯한 여러 병증상들을 가지고있는 환자들속에서 이 체제(특히 재조합EPO와 그것의 류사체)가 긍정적인 작용들을 할수 있다는것을 보여준다.

이와 같이 EPO의 림상적응용실례들은 무수히 많으며 그 리용분야가 보다 확대될것으로 전망되고있다.

### 3. *E. coli*에서 재조합사람에리트로포이에틴의 생성

재조합단백질발현계에는 호모발현계, 대장균발현계, 포유동물세포발현계가 있다.

호모발현계를 리용할 때 유전자조작이 비교적 간단하고 번역후수식이 가능하다. 독소를 산생하지 않으며 대규모배양이 간단하고 외래유전자산물을 배양액에 분비하게 할수 있다. 부족점은 수식되는 단백질의 수식정도가 진핵생물에서의 수식정도보다 못한것 즉 다시말하여 포유동물과 차이나는것이다.

동물세포발현계에는 곤충세포발현계와 포유동물세포발현계가 있다.

곤충세포발현계의 우점은 재조합단백질이 완전한 생물학적기능을 가지고 번역후가공수식을 진행하며 발현수준도 높고 큰 외래단편삽입도 가능하다는것이다. 동시에 여러개의 유전자발현도 가능하며 세포독성단백질을 적게 발현하는것이다. 부족점은 비련속적으로 발현되고 발현산물의 당사슬부가방식이 동물세포와 차이나는것이다.

포유동물세포발현계는 다른 진핵세포발현계에 비하여 발현되는 단백질의 구조, 글리코실화형태이 천연단백질과 일치한다. 또한 여러 아단위들로 이루어진 단백질들의 정확한 조립이 가능하다. 그러나 생산량이 적고 생산비용이 많이 드는 부족점이 있다.

대장균발현계를 리용할 때 거둬들이고 비용이 적게 드는것으로 하여 대규모적인 공업생산에 리용될 가능성이 대단히 높다. 그러나 단백질산물의 번역후 수식이 불가능한것

으로 하여 재조합단백질산물들이 활성을 나타내지 못하는 결함을 가지고있다.

연구자료에 의하면 대장균을 비롯한 원핵세포계에서 사람EPO를 발현시킬 때 글리코실화와 같은 번역후수식을 받지 못하며 이 재조합사람비글리코실화에리트로포이에틴(recombinant human non-glycosylated erythropoietin: rh-ngEPO)은 생체내에서 생물학적활성을 나타낼수 없다고 한다.[24]

오늘날 단백질생산에서 가장 효율적이라고 말할수 있는 방법은 고밀도세포배양방법으로 생산량을 늘이고 단백질의 특성에 맞게 생물활성을 부여하는 방법이다.

대장균에서 발현시킨 rhEPO의 안정성을 유지하고 *in vivo*조건에서 조혈활성을 나타내는데서 글리코실화가 중요하며 글리코실화가 복잡한것으로 해서 rhEPO와 그것의 유사체들은 대체로 포유동물세포배양법으로 생산한다.[24] 그러나 포유동물세포들에서 발현시킨 rhEPO는 거둠률이 낮고 원가가 높은것과 같은 여러가지 부족점들이 있다. *E. coli*에서 얻어지는 rhEPO는 글리코실화되지 않지만 *in vitro*조건에서의 폴리에틸렌글리콜릴화와 같은 수식은 *in vivo*조건에서 이 재조합단백질의 반감기를 글리코실화rhEPO수준으로 늘일수 있게 한다.[25, 26]

이렇게 놓고 볼 때 비용을 적게 들이고 발현거둠률이 높은 대장균발현계가 실험실적 그리고 공업적인 규모에서 재조합단백질생산에 적용할수 있는 적합한 발현제라고 할수 있다.

#### 4. 재조합단백질의 분리정제

대장균에서 재조합단백질이 많은 량으로 발현될 때 자주 봉입체상태로 생성되어 균체 내에 불용성응집물로 축적된다.[42]

유기물질 혹은 무기물질로 이루어진 여러가지 봉입체들은 대체로 광학현미경에서 명백한 형태로 나타나는데 세포질에 존재하면서 분자를 파립형태로 만들어주어 삼투압을 낮추어준다. 어떤 봉입체는 막에 결합되어있지 않고 세포질에 자유로이 놓여있으며 또 일부 봉입체는 2~4nm 두께의 막으로 둘러싸여있다.[43]

발현된 단백질이 봉입체로 되는 경향성은 샤페론단백질과 같은 접히기보조인자들이 결핍된 세포에서 단백질이 다량으로 발현되는데 기인된다. 또한 봉입체의 형성은 하나의 단백질분자내에서 특이적인 분자내호상작용과도 관련된다. 디설피드결합을 가지고있는 단백질인 경우 봉입체로 될 가능성이 더 큰데 그것은 세균세포질의 환원환경이 디설피드결합형성을 억제하기때문이다.[44]

봉입체의 형성으로 재조합단백질의 분리정제는 쉬워졌으나 불활성형의 재조합단백질들을 활성형으로 만드는 재구조화단계를 거쳐야 한다. 그러므로 재구조화거둠률을 높은 수준에서 보장하는것이 중요한 문제로 나서며 그러자면 봉입체의 세척 및 가용화, 재구조화가 정확히 진행되어야 한다.

봉입체를 세척하는 방법은 단백질의 종류에 따라 그리고 연구자마다 각이하다. 봉입체는 불활성형이며 자기의 천연구조로 재구조화되어야 비로소 활성을 가지게 된다.

핵산, 단백질, 리기름질과 같은 봉입체에 존재하는 불순물들은 응집물형성에 영향을 주며 그것으로 인하여 재구조화거둠률에 영향을 미치게 된다.[45]

초기에 연구자들은 봉입체의 밀도가 높은것을 리용하여 원심분리법으로 봉입체를 분리하고 불순물을 제거하였다. 원심분리효과를 높이기 위하여 사탕밀도구배원심분리를 진행하였으며 원심회전수는 상청액에 불필요한 알갱이들과 가용성단백질들을 남겨놓으면서 5 000~12 000×g사이에서 택하였다.[46, 52] 그러나 봉입체의 크기가 배양조건에 따라 달

라지고 자주 세포잔사의 크기와 중복되기때문에 원심분리방법은 선택하기가 어렵다.

어떤 연구자들은 2~4mol/L의 구아니딘염산과 뇨소, EDTA와 같은 변성제로 봉입체를 세척하는 방법으로 불순물을 제거[48]하였으며 또 다른 연구자들은 0.1~1.0mol/L 염화나트륨을 포함한 완충용액으로 봉입체를 세척하여 불순물을 제거[47, 49]하였다. 일부 연구자들은 트리톤 X-100, 데옥시콜산과 같은 계면활성제로 봉입체를 세척하여 불순물을 제거[50, 51, 52]하였다.

봉입체의 가용화는 단백질의 가역적변성과정을 의미한다. 이것은 비공유성수소결합, 이온 및 소수성호상작용이 파괴되는 과정이므로 어떤 단백질이 봉입체조성에 들어가며 어떤 가용화제를 리용하는가 하는것은 단백질의 정제거듭률을 높이는데서 대단히 중요하다. 단백질변성인자에는 강산이나 강염기, 유기용매, 계면활성제, 환원제, 일련의 염, 중금속들, 온도변화, 기계적자극 등이 있다.

봉입체로 발현된 단백질을 가용화할 때에는 일반적으로 8~10mol/L 뇨소, 6~8mol/L 구아니딘염산과 같은 변성제, 도데실류산나트륨, N-아세틸트리메틸암모늄염산과 사르코실과 같은 계면활성제,  $\beta$ -메르캅토에타놀, 디티오프레이톨 또는 시스테인과 같은 환원제들이 많이 리용된다.[48]

봉입체로부터 정제된 활성형단백질의 총거듭률은 낮은 농도의 변성제를 리용하여 가용화시킨 단백질의 천연2차구조가 보호될 때 높아진다. 어떤 연구자들은 천연2차구조의 파괴를 막기 위하여 안정제로서 EDTA(0.1~10mmol/L), 사탕(2~10%),  $\beta$ -메르캅토에타놀, 디티오프레이톨(0.1~2.0mmol/L)을 리용하였으며 또 어떤 연구자들은 높은 pH의 트리스완충용액(2mol/L, pH 12)으로 봉입체를 가용화하였다. 연구자들이 가용화과정에 리용한 완충용액들은 50~100mmol/L 트리스-염산, 0.1~10mmol/L EDTA(pH 7.0~8.5)였다.[2, 47, 48]

재조합단백질의 재구조화률을 높이자면 가용화단계에서 목적단백질이 완전히 환원되어야 하며 높은 순도의 단백질을 얻어야 한다.

## 맺 는 말

현시기 에리트로포이에틴의 많은 작용들이 밝혀지면서 재조합사람에리트로포이에틴(rhEPO)을 대량생산하기 위한 연구들이 심화되고있다.

만성콩팥성빈혈이나 임신때 빈혈, 혈액투석치료와 암화학치료, AIDS치료때 생기는 합병증들을 치료하고 저체중아이들에게 rhEPO를 주입하여 각종 질병에 의한 사망률을 낮추며 세포의 아포토시스를 억제하여 뇌수와 심장, 콩팥의 급성손상들을 치료하는데 리용할 수 있는 rhEPO를 공업적인 방법으로 대량생산하는 문제가 현실적으로 제기되고있다.

각각의 우단점들을 가지고있는 여러가지 발현계들가운데서 목적에 따라 필요한 발현계를 선택할수 있지만 재조합단백질생성에서 가장 중요한것은 비용을 적게 들이면서 높은 생산량을 보장하는것이라고 할수 있다. 원핵생물발현계를 리용한 재조합단백질생성은 비용이 적게 들고 생산량이 높은 반면에 발현산물이 기능적활성을 나타내지 못하는 결함이 있다. 그러나 폴리에틸렌글리콜릴화와 같은 여러가지 효율적인 수식방법들이 개발되면서 대장균발현계를 리용한 재조합당단백질생성방법이 많이 중시되고있다.

우리는 세계적인 재조합단백질생산추세와 우리 나라의 현실적조건에 맞게 인민들의 건강증진에 필요한 기능적인 재조합단백질들을 많이 생산하여야 할것이다.

## 참 고 문 헌

- [1] 리완호 등; 최신면역 및 세포면역검사법, 52~102, 과학백과사전출판사, 1994.
- [2] K. P. Ashok et al.; Protein Expression and Purification, 18, 182, 2000.
- [3] F. Wang et al.; Endocrinology, 116, 2286, 1985.
- [4] P. H. Lai et al.; J. Biol. Chem., 216, 3116, 1986.
- [5] M. S. Dordal et al.; Endocrinology, 116, 2293, 1985.
- [6] E. Goldwasser et al.; Exp. Pharmacol., 95, 747, 1990.
- [7] J. Egrie et al.; Immunobiology, 172, 213, 1986.
- [8] N. R. Ivan et al.; Molecular and Cellular Aspect of Erythropoietin and Erythropoiesis, Springer-Verlag, 23~72, 1987.
- [9] F. K. Lin et al.; Gene, 44, 201, 1986.
- [10] K. Jacobs et al.; Nature, 313, 806, 1985.
- [11] M. Chikuma et al.; Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab., 279, 6, 1242, 2000.
- [12] T. Shibuya et al.; Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 80, 3721, 1983.
- [13] E. A. Emelyanova et al.; Cell Technologies in Biology and Medicine, 2, 554, August, 2012.
- [14] J. M. Davis et al.; Biochemistry, 26, 2633, 1987.
- [15] Derek Macmillan et al.; Chemistry & Biology, 8, 133, 2001.
- [16] M. N. Fukuda et al.; Blood, 73, 84, 1989.
- [17] J. L. Spivak et al.; Blood, 73, 90, 1989.
- [18] L. C. Wasley et al.; Blood, 77, 2624, 1991.
- [19] K. Yamaguchi et al.; J. Biol. Chem., 266, 20434, 1991.
- [20] M. Higuchi et al.; J. Biol. Chem., 267, 7703, 1992.
- [21] E. Delorme et al.; Biochemistry, 31, 9871, 1992.
- [22] E. Tsuda et al.; Eur. J. Biochem., 188, 405, 1990.
- [23] L. O. Narhi et al.; J. Biol. Chem., 266, 23022, 1991.
- [24] K. Schriebl et al.; Protein Expr. Purif., 49, 265, 2006.
- [25] Y. J. Wang et al.; Int. J. Pharm., 386, 156, 2010.
- [26] Y. J. Wang et al.; J. Control. Release, 145, 306, 2010.
- [27] E. S. Trombetta et al.; Curr. Opin. Struct. Biol., 8, 587, 1998.
- [28] A. Markham et al.; Drugs, 49, 232, 1995.
- [29] E. J. Sharples et al.; Curr. Opin. Pharmacol., 6, 184, 2006.
- [30] C. J. Parsa et al.; J. Clin. Invest., 112, 7, 999, 2003.
- [31] V. I. Baksheev et al.; Klin. Med., 9, 10, 30, 2007.
- [32] D. A. Vesey et al.; Nephrol. Dial. Transplant., 19, 2, 348, 2004.
- [33] B. Viviani et al.; J. Neurochem., 93, 2, 412, 2005.
- [34] Z. A. Haroon et al.; Am. J. Pathol., 163, 3, 993, 2003.
- [35] W. Nijhof et al.; J. Cell Biol., 96, 386, 1983.
- [36] W. Fried; Blood, 40, 671, 1972.
- [37] M. Paulitschke; Clin. Nephrol., 53, S36, 2000.
- [38] C. L. Yeo et al.; J. Paediatr. Child. Health, 37, 4, 352, 2001.

- [39] H. Komai et al.; Surg. Today, 30, 6, 511, 2000.
- [40] A. Perez; Paediatr. Anaesth, 13, 7, 2003.
- [41] E. Crosby; Am. J. Ther., 9, 5, 371, 2002.
- [42] J. F. Kane et al.; Trends in Biotechnol., 6, 95, 1988.
- [43] M. P. Lansing et al.; Microbiology, 49~50, McGraw-Hill, 2002.
- [44] A. Mitraki et al.; Biotechnology, 7, 690, 1989.
- [45] R. J. Maachupalli et al.; Biotechnol. Prog., 13, 144, 1997.
- [46] H. H. Wong et al.; Bioseparation, 6, 351, 1997.
- [47] B. Alejandro et al.; Biotechnol. Appl. Biochem., 33, 173, 2001.
- [48] K. R. Babu et al.; Appl. Microbiol. Biotechnol., 53, 655, 2000.
- [49] S. Swaminathan et al.; Protein Expression and Purification, 15, 236, 1999.
- [50] M. J. Mohammadian et al.; Protein Expr. Purif., 51, 2, 147, 2007.
- [51] S. Poonam et al.; Protein Expr. Purification, 41, 313, 2005.
- [52] 童葵塘 等; 病毒学报, 13, 2, 134, 1997.

주체108(2019)년 10월 5일 원고접수

## **Production and Applications of Recombinant Human Erythropoietin(rhEPO)**

*Ra Kwang Hyok*

Erythropoietin(Epo) is a glycoprotein hormone with an average molecular weight about 35 000 synthesized in kidneys. It stimulates proliferation, differentiation and maturation of erythroid progenitor cells and inhibits their apoptosis, resulting in enhanced erythrocytes production in bone marrow.

Recombinant human Epo(rhEpo) has been clinically used in the treatment anemia with chronic renal failure, cancer chemotherapy, and HIV infection, etc. Besides these applications, rhEpo also has therapeutic potentials in the treatment of acute brain, heart and kidney injury.

Keywords: recombinant, erythropoietin, anemia, erythrocyte