

EST 및 유전자 발현 프로파일 대량  
생산·분석시스템 개발-녹용 EST Database 구축  
및 유전자 발현 대량 분석 시스템 개발  
(중과제명)

Database Construction of Deer Antler Velvet Gene EST  
and System Development for Analysis of Gene Expression  
Profile and Gene Function

녹용의 전체 full-length EST 확보 및 유용성  
물질의 발현 및 특성 규명(세부과제명)

The securement of total full-length EST, expression and  
characterization of useful selected genes from deer velvet  
antler

퓨리메드 (주) 기업부설 연구소

과 학 기 술 부

## 제 출 문

과학기술부 장관 귀하

본 보고서를 “EST 및 유전자 발현 프로파일 대량 생산·분석시스템 개발-녹용 EST Database 구축 및 유전자 발현 대량 분석 시스템 개발” 과제 (세부과제 “녹용의 전체 full-length EST 확보 및 유용성 물질의 발현 및 특성 규명에 관한 연구”)의 보고서로 제출합니다.

2004. 2. 24.

주관연구기관명 : 퓨리메드 (주)

주관연구책임자 : 이 응 세

연 구 원 : 배 현 수

” : 강 문 규

” : 오 정 완

협동연구기관명 : 바이오인포매틱스 (주),  
제노텍 (주), 한국생명공학연구원

협동연구책임자 : 인용호, 문영호, 박병철

## 보고서 초록

과제관리번호	M1-0218-03-0001	해당단계 연구기간	2002. 12. 1 - 2003. 11. 30.	단계 구분	(2단계) / (3단계)
연구사업명	중 사업명	국책연구개발사업			
	세부사업명	생물정보학 연구개발사업			
연구과제명	중 과제명	EST 및 유전자 발현 프로파일 대량 생산·분석시스템 개발 -녹용 EST Database 구축 및 유전자 발현 대량 분석 시스템 개발			
	세부(단위)과제명	녹용의 전체 full-length EST 확보 및 유용성 물질의 발현 및 특성 규명			
연구책임자	이 응 세	해당단계 참여연구원수	총: 22명 내부: 8명 외부: 14명	해당단계 연구비	정부: 1326,000천원 기업: 617,400천원 계: 1943,400천원
연구기관명 및 소속부서명	퓨리메드 기업부설 연구소		참여기업명	퓨리메드 (주)	
국제공동연구	상대국명 :		상대국연구기관명 :		
위탁연구	연구기관명 :		연구책임자 :		
요약(연구결과를 중심으로 개조식 500자 이내)					보고서 면수
<p>주요 상업화 가능한 유용한 유전자를 지금까지 확보한 1,000 여개의 녹용 full-length cDNA에서 인간유전자와의 상동성 비교와 기존약으로 쓰이고 있는 유전자 혹은 약으로써의 개발가능성이 있는 타겟 유전자들을 바이오인포매틱스 프로그램을 통해 찾은 결과 16개의 가장 가능성 있고 흥미있는 녹용 유전자들을 찾아냄. 그리고 또한 sequence가 밝혀진 녹용 전체 EST중 상업적인 가치는 없으나 basic research에 중요한 단서가 될만한 유전자들을 찾아냄. 즉, 지금까지 밝혀진 바로는 testosterone의 녹용에 대한 주요 역할은 녹용세포의 성장에 지대한 영향을 미치는 것으로 보고되어 있으며 이 호르몬은 녹용사슴 정소에서 만들어져 혈류를 통해 녹용까지 전달되는 것으로 알려져 있을뿐, 이 호르몬에 대해 녹용사슴의 다른 어떤부분에서 만들어 진다는 보고가 거의 없었음. 이에 cholesterol로부터 변환된 DHEA (dehydroepiandrosterone)로부터 testosterone를 생합성하는데 필수적인 두 효소 (3-beta-hydroxysteroid dehydrogenase와 17-beta-hydroxysteroid dehydrogenase)를 녹용 전체 EST gene에서 찾아냄-인간과의 상동성이 85 %이상임. 이러한 결과는 녹용내에서 testosterone이 생합성 된다는 것을 강력히 시사함-이와는 대조적으로 cholesterol로부터 유래된 다른 종류의 steroid hormone인 corticosteroid생합성에 관여하는 효소는 전혀 발견되지 않아 cholestero 대부분의 steroid hormone합성은 testosterone 합성쪽으로 대부분 간다고 사료됨. 이밖에도 녹용 EST gene에서 밝혀진 흥미로운 사실은 인간유전자와의 상동성 비교결과 85 % 이상 상동성을 가진 cell cycle에 관련된 매우 많은 gene들이 있음이 밝혀짐-이는 녹용이 계속 성장하고 분화하는 조직이라는 것을 강력히 시사함. 이밖에도 녹용 EST gene에서 밝혀진 흥미로운 사실은 인간유전자와의 상동성 비교결과 85 % 이상 상동성을 가진 cell growth 혹은 더 이상의 cell growth를 억제함으로써 암으로 발전하는 것을 막는 것에 관련된 매우 많은 gene들이 있음이 밝혀짐-이는 녹용이 계속 성장하고 분화하는 조직이지만 암으로 전이되지 않고 cell growth를 통제하고 조절한다는 것을 강력히 시사함. 그러나 무엇보다도 중요한 결과는 녹용에서 알려진 유용한 유전자중의 하나인 PDGF-beta 유전자를 찾아내고 이를 유전자재조합 하여 그것의 생성물인 단백질을 상처난 일반 섬유아세포에 투여했을때 48시간 후 거의 완전하게 상처가 회복됨을 보였다. 이는 특히, 상업화 하기 매우 좋은 결과로 상처나 궤양치료제로서의 역할이 기대된다.</p>					
색인어 (각 5개 이상)	한 글	녹용 full-length cDNA, 3-beta-hydroxysteroid dehydrogenase, 17-beta-hydroxysteroid dehydrogenase, cell cycle 에 관련된 genes, PDGF-beta			
	영 어	Deer velvet antler's full-length cDNA, 3-beta-hydroxysteroid dehydrogenase, 17-beta-hydroxysteroid dehydrogenase, cell cycle-related genes, PDGF-beta			

## 요 약 문

I. 제 목: 녹용의 전체 full-length EST 확보 및 유용성 물질의 발현 및 특성 규명

### II. 연구개발의 목적 및 필요성

연구개발의 목적

· 녹용의 전체 full-length EST 확보 및 cDNA chip을 이용한 expression profile 분석

· 녹용에 대한 유전체 정보 대량 발굴하여 정보 선점

-다른 협동기관들과의 협조에 의해 Full-length EST 1,000개를 포함한 EST 유전 정보 60,000(30,000 X 2=60,000)개의 확보를 통하여 발현프로파일에 대한 DB를 확보함으로써 종합적인 유전자들의 기능분석의 터전을 마련

녹용 유전체 정보를 효율적으로 유지 분석하여 유용한 유전자를 찾아내서 유전자 재조합을 통한 이들 생성물인 단백질의 대량생산 및 상업적 이용을 위한 Bioassay system의 확립 및 결과확인

- 연구개발 필요성

최근 국내의 생명공학기술 수준은 녹용에 대한 유전자확보, 생체활성물질의 분리, 구조 규명, 분자생물학적 방법을 이용한 대량 복제 등의 분자생물학적 연구 및 이에 대한 신약 개발 및 새로운 치료기법의 개발을 수행할 만큼 성장하여 있어, 녹용의 cDNA에 대한 DB 구축 및 유용물질 발현의 대량 분석 시스템 기술을 이용하여 녹용유래의 신약 개발을 통한 산업화는 그 성공 가능성이 매우 높다. 또한 지금까지 PubMed를 통한 문헌조사나 국내외 특허등을 살펴보아도 녹용에서 유래된 유전자를 가지고 그 산물인 단백질을 대량생산하여 기능을 밝히고 상업화한경우는 전무한 실정이므로 이에 대한 연구의 최소가치와 응용성은 매우 높음.

### III. 연구개발의 내용 및 범위

· *Cervus elaphus*의 뿔을 순기별로 절단하여 mRNA 분리

· Biotin-labelled magnetic을 이용해서 기존의 밝힌 녹용 유전자를 분리해내고 그렇지 않은 유전자를 negative selection에 의해서 걸어낸 후 primer를 이용한

## bidirectional cDNA library제조

- 5'-racing 방법을 이용하여 녹용의 full-length EST 확보
- 녹용의 새로운 EST clone 30,000개 제조 및 DNA sequencing을 하기위해 30,000개의 clone을 제노텍에 제공
- 바이오인포메틱스 프로그램을 통해 녹용 유용 유전자의 full-length DNA sequence 확보 (500개) 및 인간유전자와의 상동성 비교를 통한 상업화 가능 및 녹용성장에 유용한 유전자 선택

## IV. 연구개발결과

주요 상업화 가능한 유용한 유전자를 지금까지 확보한 1,000 여개의 녹용 full-length cDNA에서 인간유전자와의 상동성 비교와 기존약으로 쓰이고 있는 유전자 혹은 약으로써의 개발가능성이 있는 타겟 유전자들을 바이오인포메틱스 프로그램을 통해 찾은 결과 16개의 가장 가능성 있고 흥미있는 녹용 유전자들을 찾아냄. 그리고 또한 sequence가 밝혀진 녹용 전체 EST중 상업적인 가치는 없으나 basic research에 중요한 단서가 될만한 유전자들을 찾아냄. 즉, 지금까지 밝혀진 바로는 testosterone의 녹용에 대한 주요 역할은 녹용세포의 성장에 지대한 영향을 미치는 것으로 보고되어 있으며 이 호르몬은 녹용사슴 정소에서 만들어져 혈류를 통해 녹용까지 전달되는 것으로 알려져 있을뿐, 이 호르몬에 대해 녹용사슴의 다른 어떤부분에서 만들어 진다는 보고가 거의 없었음. 이에 cholesterol로부터 변환된 DHEA (dehydroepiandrosterone)로부터 testosterone를 생합성하는데 필수적인 두 효소 (3-beta-hydroxysteroid dehydrogenase와 17-beta-hydroxysteroid dehydrogenase)를 녹용 전체 EST gene에서 찾아냄-인간과의 상동성이 85 %이상임. 이러한 결과는 녹용내에서 testosterone이 생합성 된다는 것을 강력히 시사함-이와는 대조적으로 cholesterol로부터 유래된 다른 종류의 steroid hormone인 corticosteroid생합성에 관여하는 효소는 전혀 발견되지 않아 cholesterol대부분의 steroid hormone합성은 testosterone 합성쪽으로 대부분 간다고 사료됨. 이밖에도 녹용 EST gene에서 밝혀진 흥미로운 사실은 인간유전자와의 상동성 비교결과 85 % 이상 상동성을 가진 cell cycle에 관련된 매우 많은 gene들이 있음이 밝혀짐-이는 녹용이 계속 성장하고 분화하는 조직이라는 것을 강력히 시사함. 이밖에도 녹용 EST gene에서 밝혀진 흥미로운 사실은 인간유전자와의 상동성 비교결과 85 % 이상 상동성을 가진 cell growth 혹은 더 이상의 cell growth를 억제함으로써 암으로 발전하는 것을 막는 것에 관련된 매우 많은 gene들이 있음이 밝혀짐-이는 녹용이 계속 성장하고 분화하는 조직이지만 암으로 전이되지 않고 cell growth를 통제하고 조절한다는 것을 강력히 시사함. 그러나 무엇보다도 중요한 결과는 녹용에서 알려진 유용한 유전자중의 하나인 PDGF-beta 유전자를 찾아내고 이를 유전자재조합 하여 그것의 생성물인 단백질을 상처난 일반 섬유아세포에 투여했을때 48시간 후 거의 완전하게 상처가 회복됨을 보였다. 이는 특히, 상업화 하기 매우 좋은 결과로 상처나 케양 치료제로서의 역할이 기대된다.

## V. 연구개발결과의 활용계획

- 무엇보다도 중요한 결과는 녹용에서 알려진 유용한 유전자중의 하나인 PDGF-beta 유전자를 찾아내고 이를 유전자재조합 하여 그것의 생성물인 단백질을 상처난 일반 섬유아세포에 투여했을때 48시간 후 거의 완전하게 상처가 회복됨을 보였다. 이는 특히, 상업화 하기 매우 좋은 결과로 동물실험 및 분자적인 치료효과를 확인하면 상처나 궤양 치료제로서의 역할이 기대된다.
- 이들 유전자들을 대상으로 3차년도에 gene cloning 방법을 이용해서 단백질을 대량 생산한 후 *in vitro*, *in vivo*방법을 이용해 질병치료 효과가 확실한 유전자들을 선택하여 특히, 상품화 할 계획임.
- 또한 여러 가지 밝혀지지 않은 녹용성장의 기본적인 메커니즘을 이해할 수 있는 기본적인 토대가 될 수 있고 이를 이용해 성장저해증 혹은 암등을 치료할 수 있는 기본자료의 초석이 됨.
- 녹용에 대한 전체 sequence의 DB가 이루어지면 의학적 측면에서 기초이론의 발전, 새로운 치료법의 개발 등의 기반자료로 사용할 수 있음
- 산업화 측면으로 제약산업, 화장품 산업, 건강 식품 산업 등의 기초 기술로 활용할 수 있음

## S U M M A R Y

Deer velvet antler is emerging as one of the most potent tonic natural medicine, which has been used for the past 3000 years in Asian countries. In order to support researchers with high-quality vast amount of genetic information about velvet antler, we have sequenced and annotated ~40,000 EST from mRNA obtained from deer velvet. To make effective analysis of the vast amounts of EST data generated by the deer antlers EST project, we developed EST assembly and annotation system which can provide EST assembly, BLAST, PROSITE, PRINTS, Profile search facilities executed in real time automatic manner. In a trial of analysis for 39164 ESTs of the young antlers of the deer, estBASE successfully characterized 4148 singlets and 3067 contigs and provided expression profiles with the contig information, suggesting the functional impact of antlers of the deer. For example, regarding the contig having 419 reads is revealed as a keratin, and the one having 198 reads is a putative senescence-associated protein. Total 1,015ESTs contain BLASTX results with methionine at the subject start position 1. Candidates may be full open reading frame genes. Among them, contigs having consecutive 100 amino acids with more than 60 % homology with known useful protein such as immune-inducing agent or were studied further to characterize full cDNA. We found approximately useful 1,000 genes searched thoroughly from this Deer velvet antler's EST database presenting cell-cycle-related genes, anti-cancer agent, immune-inducing agent, male-sex hormone producing enzyme and etc. Among those genes, we identified, cloned deer velvet antler's PDGF-beta gene, treated its products in wound fibroblast cells and found wound fibroblast cells were recovered. This result strongly suggests that this recombinant PDGF-beta can be used for anti-wounding agent or anti-ulcer agent. This work is supported by research grant from Ministry of Science & Technology, Republic of Korea (M1-0218-03-0000).



## 목 차

- 제출문 (pp 1)
- 보고서 초록 (pp 2-3)
- 요약문 (pp 4-6)
- 영문요약문 (pp 7)
- 본문 (pp 9-21)
  - 제 1 장 연구개발과제의 개요 (pp 9-10)
  - 제 2 장 국내외 기술개발 현황 (pp 11)
  - 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과 (pp 12-19)
  - 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 (pp 20)
  - 제 5 장 연구개발결과의 활용계획 (pp 21)
- 연구결과 활용 계획서 (pp 22-26)
- 기술요약서 (pp 23-31)

## 제 1 장 연구개발과제의 개요

### - 연구개발의 목적

- 녹용의전체 full-length EST 확보 및 cDNA chip을 이용한 expression profile 분석
- 녹용에 대한 유전체 정보 대량 발굴하여 정보 선점  
-다른 협동기관들과의 협조에 의해 Full-length EST 1,000개를 포함한 EST 유전 정보 60,000(30,000 X 2=60,000)개의 확보를 통하여 발현프로파일에 대한 DB를 확보함으로써 종합적인 유전자들의 기능분석의 터전을 마련
- 녹용 유전체 정보를 효율적으로 유지 분석하여 유용한 유전자를 찾아내서 유전자 재조합을 통한 이들 생성물인 단백질의 대량생산 및 상업적 이용을 위한 Bioassay system의 확립 및 결과확인

### - 연구개발 필요성

최근 국내의 생명공학기술 수준은 녹용에 대한 유전자확보, 생체활성물질의 분리, 구조 규명, 분자생물학적 방법을 이용한 대량 복제 등의 분자생물학적 연구 및 이에 대한 신약 개발 및 새로운 치료기법의 개발을 수행할 만큼 성장하여 있어, 녹용의 cDNA에 대한 DB 구축 및 유용물질 발현의 대량 분석 시스템 기술을 이용하여 녹용유래의 신약 개발을 통한 산업화는 그 성공 가능성이 매우 높다. 또한 지금까지 PubMed를 통한 문헌조사나 국내외 특허등을 살펴보아도 녹용에서 유래된 유전자를 가지고 그 산물인 단백질을 대량생산하여 기능을 밝히고 상업화한경우는 전무한 실정이므로 이에 대한 연구개발을 통한 산업화는 그 성공 가능성이 매우 높다. 또한 지금까지 PubMed를 통한 문헌조사나 국내외 특허등을 살펴보아도 녹용에서 유래된 유전자를 가지고 그 산물인 단백질을 대량생산하여 기능을 밝히고 상업화한경우는 전무한 실정이므로 이에 대한 연구의 희소가치와 응용성은 매우 높음.

### - 연구개발의 범위

- *Cervus elaphus*의 뿔을 순기별로 절단하여 mRNA 분리
- Biotin-labelled magnetic을 이용해서 기존의 밝힌 녹용 유전자를 분리해내고 그렇지 않은 전자를 negative selection에 의해서 걸어낸 후 primer를 이용한 bidirectional cDNA library제조
- 5'-racing 방법을 이용하여 녹용의 full-length EST 확보
- 녹용의 새로운 EST clone 30,000개 제조 및 DNA sequencing을 하기위해 30,000개의 clone을 제노텍에 제공
- 바이오인포매틱스 프로그램을 통해 녹용 유용 유전자의 full-length DNA sequence

확보 (500개) 및 인간유전자와의 상동성 비교를 통한 상업화 가능 및 녹용성장에 유  
용한 유전자 선택

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

- 녹용은 예로부터 자양강제로 쓰여 왔고, 그것의 응용범위는 매우 넓게 이어진다.
- 녹용은 면역력을 높여 암을 치료하고 뼈를 튼튼히 하여 골다공증을 치료하며 양기를 북돋워 자라나는 아이들의 성장을 돕는 등 여러 효능이 알려져 있어 한의학에선 매우 귀한 약재로 알려져 있다.
- 국내외에 녹용유전자를 가지고 상품화하는 경우는 거의 없으며 보통 녹용추출물을 이용한 스포츠 음료 혹은 건강보조식품으로 뉴질랜드나 미국등에서 상품화 되어 팔리고 있는 실정이다.
- 이미 국가적인 차원에서 뉴질랜드나 미국, 일본, 중국 등에서 녹용에 대해서 연구가 되고 있으나 단지 추출법이나 유효성분을 분리하는 수준에 머무르고 있는 실정이다.
- 그러므로 녹용유전자에 대한 대부분의 sequencing이 밝혀지면 지금처럼 녹용사슴을 사육해서 녹용을 얻어낼 필요 없이 유전자 재조합 방법등을 통해 대량생산하여 항암제와 같은 약으로 혹은 건강 기능성 식품으로서 개발할 수 있음.
- 녹용유전자에 대한 대부분의 sequencing에 대한 정보는 독점적으로 소유할 수 있어 이들에 대한 사용료 및 녹용 유전자의 상품화를 통해 회사와 국가적인 부에 크게 이바지 할 것이며 다른 한편으로는 이들에 대한 것들이 논문, 특허를 통해 지적재산권화 될 것임.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

연구 범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
<ul style="list-style-type: none"> <li>• EST 라이브러리의 pre-test</li> <li>• 5'-race를 이용하여 녹용의 DNA sequence 확보</li> <li>• Sequence data의 처리</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Cervus elaphus</i>의 뿔을 순기별로 절단하여 mRNA 분리</li> <li>• Biotin-labelled magnetic을 이용하여 기존의 밝힌 녹용 유전자를 분리해내고 그렇지 않은 유전자를 negative selection에 의해서 걸어낸 후 primer를 이용한 bidirectional cDNA library 제조</li> </ul>	<p>녹용의 새로운 EST clone 30,000개 제조 및 DNA sequencing을 하기위해 30,000개의 clone을 제노텍에 제공</p>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 5'-racing 방법을 이용하여 녹용의 full-length EST 확보</li> </ul>	<p>바이오인포메틱스 프로그램을 통해 녹용 유용 유전자의 full-length DNA sequence 확보 (500개) 및 인간유전자와의 상동성 비교를 통한 상업화 가능 및 녹용성장에 유용한 유전자 선택</p>

- 연구수행 내용 및 결과

연구 내용	연구 결과
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Full-length EST 대량 확보 및 분석</li> </ul>	<p>전년도까지 합쳐 EST clone 60,000개 확보 및 full-length cDNA 1,000개 확보, 50여개의 상업화 주요 타겟 유전자 및 녹용 성장에 관련한 유전자들의 선별</p>

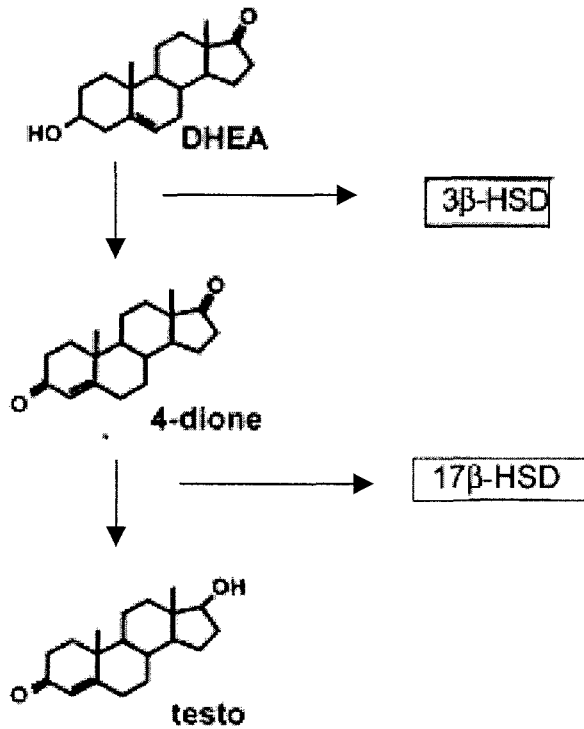
- 주요 상업화 가능한 유용한 유전자를 지금까지 확보한 1,000 여개의 녹용 full-length cDNA에서 인간유전자와의 상동성 비교와 기존약으로 쓰이고 있는 유전자 혹은 약으로써의 개발가능성이 있는 타겟 유전자들을 바이오인포메틱스 프로그램을 통해 찾은 결과 16개의 가장 가능성 있고 흥미 있는 녹용 유전자들을 찾아냄. 그 목록은 아래표와 같음

- 이들 유전자들을 대상으로 3차년도에 gene cloning 방법을 이용해서 단백질을 대량생산한 후 *in vitro*, *in vivo*방법을 이용해 질병치료 효과가 확실한 유전자들을 선택하여 특허, 상품화 할 계획임

AN041111B08.t.ab1	Cysteine and glycine rich protein	Cell growth
AN041117h12.t.ab1	Trifunctional protein	Fatty liver prevention
AN042101B05.t.ab1	IGF-2	Osteoporosis treatment
AN042401C12.t.ab1	UBE2C	Detoxification
AN042414e12.t.ab1	TGFL-5	Spermatogenesis
AN042504G02.t.ab1	Oligoadenylate synthetase	Inhibition of viral infection
Contig1641	NKCEFA	Anti-cancer agent
Contig2064	MTAP	Neutrite growth
Contig2123	CRABP1	Epidermal cell growth
Contig2227	CyclophilinB	T-lymphocyte activation
Contig2331	NKCEFB	Anti-cancer agent
Contig250	Rhodanese	Detoxification
Contig2650	Rhombontin-like 1	Hematopoietic development
Contig3060	Osteonectin	Osteoporosis prevention
Contig894	NM23	Tumor suppressor
AN042506B01.T.AB1	PDGF-beta	Diabetic ulcer treatment

- 그리고 또한 sequence가 밝혀진 녹용 전체 EST중 상업적인 가치는 없으나 basic research에 중요한 단서가 될만한 유전자들을 찾아냄. 즉, 지금까지 밝혀진 바로는 testosterone의 녹용에 대한 주요 역할은 녹용세포의 성장에 지대한 영향을 미치는 것으로 보고되어 있으며 이 호르몬은 녹용사슴 정소에서 만들어져 혈류를 통해 녹용까지 전달되는 것으로 알려져 있을뿐, 이 호르몬에 대해 녹용사슴의 다른 어떤부분에서 만들어 진다는 보고가 거의 없었음.

- 이에 cholesterol로부터 변환된 DHEA (dehydroepiandrosterone)로부터 testosterone를 생합성하는데 필수적인 두 효소 (3-beta-hydroxysteroid dehydrogenase와 17-beta-hydroxysteroid dehydrogenase, 아래 그림참조)를 녹용 전체 EST gene에서 찾아냄-인간과의 상동성이 85 %이상임 (아래 표 참조) -이러한 결과는 녹용내에서 testosterone이 생합성 된다는 것을 강력히 시사함-이와는 대조적으로 cholesterol로부터 유래된 다른 종류의 steroid hormone인 corticosteroid생합성에 관여하는 효소는 전혀 발견되지 않아 cholesterol대부분의 steroid hormone 합성은 testosterone 합성쪽으로 대부분 간다고 사료됨-이는 그 누구도 밝히지 못한 메커니즘으로 좋은 논문에 낼 수 있음.



3-beta-hydroxysteroid dehydrogenase clone ID in deer velvet antler

3-beta-hydroxysteroid dehydrogenase clone ID in deer velvet antler

Contig770

AN041115B05
AN042407E02
AN042503G10
AN042513B08
Contig19
Contig1350
Contig489
Contig1105

- 이밖에도 녹용 EST gene에서 밝혀진 흥미로운 사실은 인간유전자와의 상동성 비교결과 85 % 이상 상동성을 가진 cell cycle에 관련된 매우 많은 gene들이 있음이 밝혀짐-이는 녹용이 계속 성장하고 분화하는 조직이라는 것을 강력히 시사함-이도 또한 지금까지 밝혀진바가 없고 연구가 안되어 있어서 좋은 논문을 내는데의 주제로 아주 좋음.

## Cell cycle-related genes in deer velvet antler

Clone ID	Homology with human
AN042510C05.t.ab1	putative trans-acting factor involved in cell cycle control
Contig2888	Human cell cycle protein p38-2G4 homolog (hG4-1)
AN042105B10.t.ab1	cell cycle progression 3 protein
AN042119E07.t.ab1	cell division cycle 4-like
AN042401C12.t.ab1	cell division cycle 34
AN042412H10.t.ab1	Cell division cycle 7-related protein kinase
AN042421C05.t.ab1	similar to DNA replication licensing factor MCM5
AN8006A01.b1.ab1	cell division cycle 42
AN8006A01.b1.ab1	cell division cycle 42 isoform 2
AN8021E11.b1.ab1	cdc2-related protein kinase
AN8021E11.b1.ab1	cell cycle controller CDC2
Contig246	CDC10 homolog
Contig246	CDC10 homolog
Contig869	cell cycle regulatory protein
Contig2888	PROLIFERATION-ASSOCIATED PROTEIN 2G4

- 이밖에도 녹용 EST gene에서 밝혀진 흥미로운 사실은 인간유전자와의 상동성 비교결과 85 % 이상 상동성을 가진 cell growth 혹은 더 이상의 cell growth를 억제함으로써 암으로 발전하는 것을 막는 것에 관련된 매우 많은 gene들이 있음이 밝혀짐-이는 녹용이 계속 성장하고 분화하는 조직이지만 암으로 전이되지 않고 cell growth를 통제하고 조절한다는 것을 강력히 시사함 (아래의 도표를 보기바람)-이도 또한 지금까지 밝혀진바가 없고 연구가 안되어 있어서 좋은 논문을 내는데의 주제로 아주 좋음.

Clone ID	Homology with human
AN032413D06.t.ab1	Human high molecular weight B cell growth factor
AN041118A05.t.ab1	Human insulin-like growth factor I (IGF1) gene
AN042106G08.t.ab1	Mitotic regulator
AN042106G12.t.ab1	humangrowth factor-regulated tyrosine kinase substrate
AN042423D08.t.ab1	brain-derivedneurotrophic factor receptor precursor
AN6059A05.b1.ab1	latent transforming growth factor-beta-binding protein-2
AN8006A01.b1.ab1	Human cellular growth-regulating protein mRNA
AN8012H11.b1.ab1	fibroblast growth factor receptor 3
AN8035F02.b1.ab1	Human insulin-like growth factor binding protein 5 (IGFBP5)
AN8040B07.b1.ab1	the gene for opioid growth factor receptor(7-60 protein)
AN8040F08.b1.ab1	MITOTICGROWTH AND TRANSCRIPTION ACTIVATOR
Contig1459	the first exon of the GHRH gene for growthhormone releasing hormone (somatocromin, somatoliberin)
Contig1774	the protein Neuritin, which isinvolved in promotion of neurite outgrowth
Contig2021	connective tissue growth factor
Contig2497	transforming growthfactor-beta signaling protein
Contig2691	metallothionein III;metallothionein-III;growth inhibitory factor
Contig2830	the gene for MPL (myeloproliferativeleukemia virus oncogene)
Contig717	the VEGF gene forvascular endothelial growth factor

### < Gene cloning & Protein expression (Purification) of deer velvet antler's PDGF-beta >

PDGF의 protein을 expression하기 위해우선origin vector로 부터 원하는 부분을 elution하였다. 그러기 위해서, 제작된forward primer와 reverse primer (각각2 μl/10 pmol), dNTPmixture, Taq-polymerase, MgCl2, reaction buffer를 넣고 PCR analysis를 하여 specific band를gel elution 하였다. 그리고 PCR products의 poly-A tail이 붙도록 만들어진 T-vector (50 ng/ μl) system에 T4 DNA ligase (3U/ μl)와 PCR product를 넣고 ligation한 후, 이ligation product 를chemical method로 만들어진 E. Coli에 heat shock (42 °C) transformation 하였다. 여기서 나온 transformants를 특정 restriction enzyme으로 digestion하여 expression 할 insert를 준비

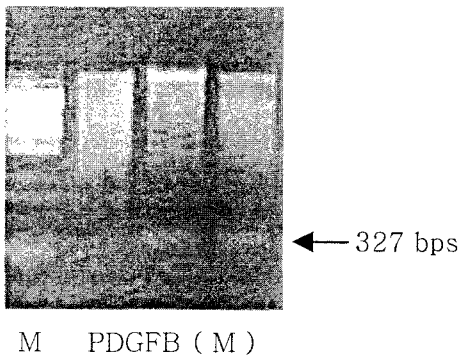


하였다. Protein expression 할 vector로는 특정 expression vector를 사 용하였고, 이 restriction enzyme으로 enzyme digestion하여 vector를 준비하였다. 준비된 expression vector 와 insert를ligation하고, 그 조건은 16 °C에서 16 hr 정도 시행하였다. 여기서 얻은 ligation product를 특정 E. Coli 에 transformation하였고, 완전히 construction이 되었는지 살펴보기 위해 각각의 transformants를 키운 다음, mini-prep kit를 통해 얻은 plasmid DNA를 restriction enzyme으로 digestion하여vector와 insert size를 확인하였다. 위와 같이 construction을 확인한 후 protein expression하기 위해서, 확인된 colony를 15ml tube에 특정 media를 3ml을 넣고, O/N로 키운다. 이 cell을 250ml flask에 100ml의 특정 media에 넣고, O.D 600 값이 적당할 될때까지 37 °C shaking incubator에서 키운다. 이 때에 protein inducer를 넣어주고, RT에서 O/N으로 키워준다. 키운 cell을 harvest하여 lysis buffer로 resuspension하고, 필요에 따라 protease inhibitor를 넣어준다. 이렇게 준비된 product에 특정 protease를 넣고, 37 °C에서 30 min 정도 incubation한 후, sonication한다. Soluble fraction을 얻어내어 20 °C에 보관한다. Affinity column system을 이용하여 eksqorwlf 정제를 한다. Purification을 마친 samples의 desalting을 하기 위해 dialysis 를 시행한다. 먼저 lysis buffer에 20 % glycerol 을 넣어서 buffer를 준비하고 fresh protease inhibitor를 넣어준 후, dialysis tube에 sample을 넣어서stirring plate 상에서 tube가 적당히 잠기도록 하여, cold room에서 O/N으로 돌려준다. 이렇게 준비된 protein을 정량한 후, 사용하기 전까지 20 °C보관해 놓는다.

- PDGF-beta 내용 및 결과

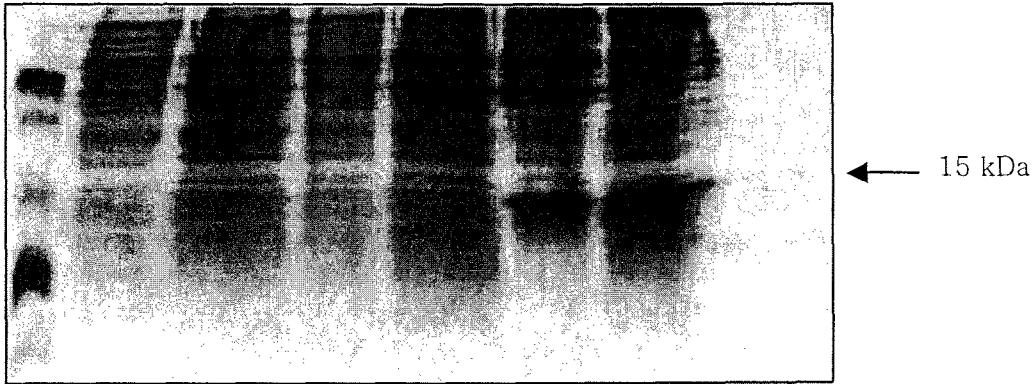
< Figures >

**Fig. 1. Gel analysis**



- M : 1kb DNA ladder
- PDGFB (M) : 327 bps
- PDGFB(M)의 PCR product를 ligation한 후에, restriction enzyme으로 digestion하여 insert의 insertion을 확인 할 수 있었다.

**Fig. 2. SDS-PAGE analysis (18 % SDS-PAGE )**



M      bi      ai      28a(+)      bi      ai      PDGFB(M)      Purified P(M)

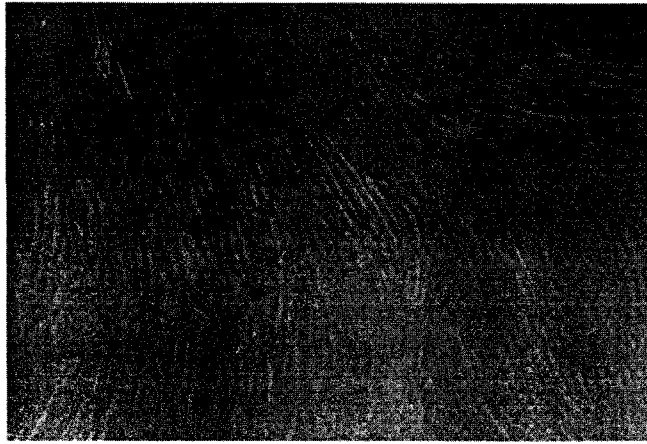
- M : Kaleidoscope polypeptide standards (Bio-Rad : 16100325)
- Bi : Before induction of sample
- Ai : After induction of sample
- Inducer에 의해 expression된 PDGFB(M) 를 affinity column을 통해 purification하여 gel 상에서 확인 하여 봄.

#### < Protein activity assay >

Purification한 protein의 activity를 측정 하기 위해, 우선 human fibroblast cell을 분양 받아 culture를 진행한다. 배지는 특정 media이며 2일 정도 키워서 culture-dish에 70% 정도 자라면 배지를 제거해주고, PBS로 2번 정도 washing해준다. 일정한 곳에 4군데 정도 상처(scraper 이용)를 내어 PBS로 2번 정도 washing 해준후, 배양 배지를 첨가해준다. 상처를 주기전과 후의 cell 모습을 전자현미경 (OLYMPUS-JAPAN)으로 관찰 한 후, 사진 (40배 ~ 100배)을 찍어둔다. 상처 입은 cell의 경우, 우선 24 ~ 72 hr culture하여 본 결과, 자연 치유되는 현상은 볼 수 없었다. 이에 cell에 상처를 주고, 24 hr 후, 배지를 제거한 후, 새배지에 purified protein PDGFB (M)를 dilution하여 10 ng/ml정도 넣고 24 ~ 72 hr culture해보니, 48 hr 때부터 상처 주위에 cell이 늘어져 자라기 시작하였으며, 처리 후 3일째에는 상처로 인한 빈공간이 채워지는 것을 확인할 수 있었다 (처리 후 5일째된 cell에서는 상처부위의 빈공간이 80% 채워진 것을 확인함).

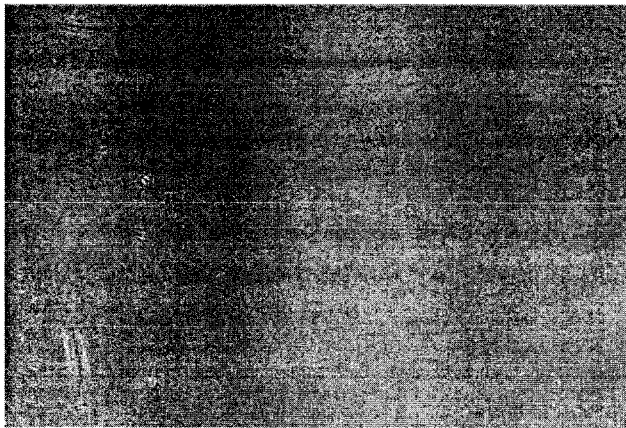
#### < Figures >

**Fig. 1. Photographs of fibroblast cell.**



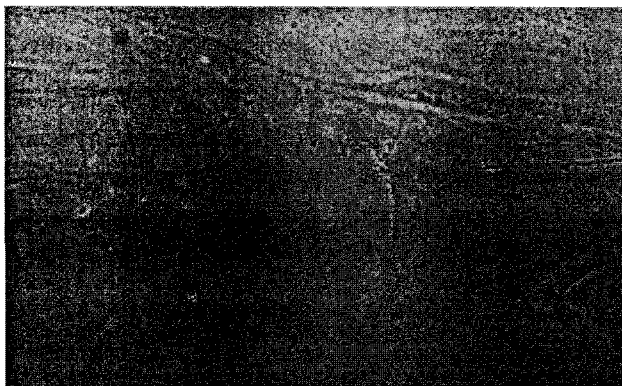
- Culture medium
- Incubation for 2 days

**Fig. 2. Wounded fibroblast cell**



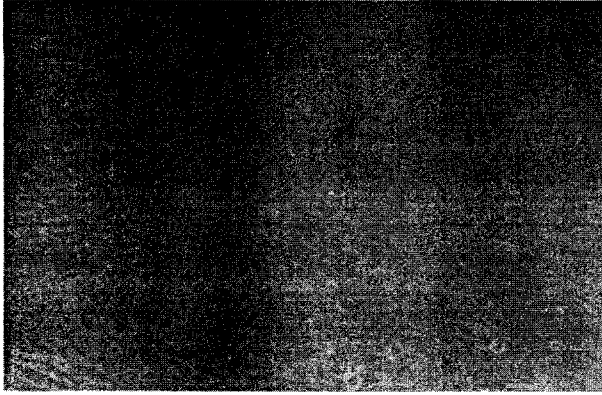
- Wounding 을 주고 바로 찍은 cell의 모습 (40).

**Fig. 3. Effect of PDGFB I**



- Wounding을 준 cell에 purified PDGFB를 처리하여 24 hr incubation한 후 관찰한 cell의 모습 (40)

**Fig. 4. Effect of PDGFB II**



- Wounding을 준 cell에 purified PDGFB를 처리하여 72 hr incubation한 후 관찰한 cell의 모습 (40).

## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

### 가. 연구개발목표의 달성도

목 표	달 성 도(%)	내 용
녹용의전체 full-length EST 확보 및 cDNA chip을 이용한 expression profile 분석 (퓨리메드(주))	100%	녹용의 새로운 EST clone 30,000개 제조 및 DNA sequencing을 하기위해 30,000개의 clone을 제노텍에 제공 및 50여개의 상업화 주요 타겟 유전자 및 녹용 성장에 관련한 유전자들의 선별

### 나. 평가의 착안점에 따른 목표달성도에 대한 자체평가

평가의 착안점	자 체 평 가
EST clone 60,000개 확보 및 full-length cDNA 1,000개 확보	EST clone 60,000개 확보 및 full-length cDNA 1,000개 확보 뿐만아니라 상용화 할 수 있는 녹용유전자 및 녹용 성장에 관여하는 여러 성장인자들에 대한 유전자 선택-유용한 유전자의 대량생산 및 기능 실험에 관한 3차년도 목표를 위한 준비완료 및 녹용 PDGF-beta의 상처 치료효과 확인

### 다. 관련분야의 기술발전예의 기여도

- 녹용유전자에 대한 정보는 전세계적으로 전무하므로 이 녹용유전자와 관련한 바이오 신약 분야에 매우 긍정적인 영향을 미칠 것으로 사료됨.
- 녹용 PDGF-beta의 상처 치료효과 확인을 통한 새로운 상처 치료 및 당뇨성 발궤양치료제로서의 개발 가능성 및 기존약의 부작용 경감효과를 통한 안전한 약물로서의 개발 가능성 대두
- 저렴한 비용의 특정 녹용유래 유전자의 대량 생산을 통한 의약품의 원가 절감 및 빠른 상품화

## 제 5 장 연구개발결과의 활용계획

- PDGF-beta이외에 IGF-2와 같은 유용한 유전자를 발굴 선점함으로써 바이오 신약 분야의 새 지평을 열 것으로 기대되며 이러한 녹용유래 유전자들에 대한 효능 및 약효검색을 하기위해선 유전자 재조합 방법에 의한 대량생산 및 정제가 필요하며 cell culture 혹은 실험 동물모델등의 bioassay system이 절실히 필요하며 이들을 이용한 효능검색이 필수적임.
- 이들 유용한 녹용유전자를 바탕으로한 의약품개발은 천문학적 숫자의 돈이 소요되므로 어느정도 개발이 되면 기술이전료등을 받고 기술을 넘길 예정임.

## 특정연구개발사업 연구결과 활용계획서

사업명	중사업명	국책연구개발사업		
	세부사업명	생물정보학 연구개발사업		
과제명	EST 및 유전자 발현 프로파일 대량 생산·분석시스템 개발 -녹용 EST Database 구축 및 유전자 발현 대량 분석 시스템 개발			
연구기관	퓨리메드 (주)	연구책임자	이용세	
총연구기간	2002년. 12월. 1일. ~ 2004년. 9월. 30일. (33개월)			
총 연구비 (단위 : 천원)	정부출연금	민간부담금	합계	
	1,680,000	621,000	2,301,000	
기술분야	생명과학분야			
참여기업	(주)제노텍 기업부설연구소, 바이오인포메틱스(주)기업부설연구소			
공동연구기관	한국생명공학연구원			
위탁연구기관				
연구결과활용 (해당항목에(√) 표시)	1. 기업화(√)	2. 기술이전(√)	3. 후속연구추진( )	4. 타사업에 활용( )
	5. 선행 및 기초연구( )	6. 기타목적활용(교육연구)( )	7. 활용중단(미활용)( )	8. 기타( )
<p>특정연구개발사업 처리규정 제 31조(연구개발결과의 보고) 제 2항에 의거 연구결과 활용계획서를 제출합니다.</p> <p>첨부 : 1. 연구결과 활용계획서 1부. 2. 기술요약서 1부</p> <p style="text-align: right;">2004 년 2월 24일</p> <p style="text-align: right;">연구책임자 : 이 용 세(인)</p> <p style="text-align: right;">연구기관장 : 배 현 수(직인)</p> <p>과학기술부장관 귀하</p>				

# 연구결과 활용계획서

## 1. 연구목표 및 내용

- 녹용의 전체 full-length EST 확보 및 cDNA chip을 이용한 expression profile 분석
- 녹용에 대한 유전체 정보 대량 발굴하여 정보 선점  
-다른 협동기관들과의 협조에 의해 Full-length EST 1,000개를 포함한 EST 유전 정보 60,000(30,000 X 2=60,000)개의 확보를 통하여 발현프로파일에 대한 DB를 확보함으로써 종합적인 유전자들의 기능분석의 터전을 마련
- 녹용 유전체 정보를 효율적으로 유지 분석하여 유용한 유전자를 찾아내서 녹용 기능적유전체 학의 토대마련 및 3차년도 대비
- *Cervus elaphus*의 뿔을 순기별로 절단하여 mRNA 분리
- Biotin-labelled magnetic을 이용해서 기존의 밝힌 녹용 유전자를 분리해내고 그렇지 않은 유전자를 negative selection에 의해서 걸어낸 후 primer를 이용한 bidirectional cDNA library제조
- 5'-racing 방법을 이용하여 녹용의 full-length EST 확보
- 녹용의 새로운 EST clone 30,000개 제조 및 DNA sequencing을 하기위해 30,000개의 clone을 제노텍에 제공
- 바이오인포메틱스 프로그램을 통해 녹용 유용 유전자의 full-length DNA sequence 확보 (500개) 및 인간유전자와의 상동성 비교를 통한 상업화 가능 및 녹용성장에 유용한 유전자 선택

## 2. 연구수행결과 현황(연구종료시점까지)

### 가. 특허(실용신안) 등 자료목록



발명명칭	특허공고번호 출원(등록)번호	공고일자 출원(등록)일자	발명자 (출원인)	출원국	비고
녹용 PDGF				미국, 한국, 유럽, 일본, 중국	특허출원 예정

나. 프로그램 등록목록

프로그램 명칭	등록번호	등록일자	개발자	비고

다. 노하우 내역

라. 발생품 및 시작품 내역

마. 논문게재 및 발표 실적

○ 논문게재 실적(필요시 별지사용)

학술지 명칭	제목	게재연월일	호	발행기관	국명	SCI게재 여부
		년 월 일				
계: 건수						

○ 학술회의 발표 실적(필요시 별지사용)

학술회의 명칭	제목	게재연월일	호	발행기관	국명
2003 Experimental Biology (San Diego, CA, USA)	EST assembly and annotation for the analysis of ESTs of deer velvet antlers	2003년 4월 일	Vol. 17, No.4, LB188 (abstract number)	The FASEB Journal	USA
계: 1건수					

### 3. 연구성과

녹용에서 알려진 유용한 유전자중의 하나인 PDGF-beta 유전자를 찾아내고 이를 유전자재조합 하여 그것의 생성물인 단백질을 상처난 일반 섬유아세포에 투여했을때 48시간 후 거의 완전하게 상처가 회복됨을 보였다. 이는 특히, 상업화 하기 매우 좋은 결과로 상처나 궤양치료제로서의 역할이 기대된다.

### 4. 기술이전 및 연구결과 활용계획

#### 가. 당해연도 활용계획

- 위의 결과를 빠른시일내에 특허출원함-미국, 한국, 유럽등

#### 나. 활용방법

- 유료로 녹용 유전자에 대한 정보를 제공

#### 다. 차년도이후 활용계획

- 특허출원 후 상품화를 위해 대기업등과 손잡고 상품화 추진

### 5. 기대효과

- 여러 생명과학 관련 분야의 기업 및 정부투자기관이 모여 이룬 성과들이므로 이로 인해 바이오 분야의 선도적 사례가 될 것임
- 한의학의 국제적 위상 격상 및 다른 한약재에 대한 유전체 사업이 활발할 것으로 기대됨
- 예상매출액(단위: 30,000백만원), 수입대체효과((단위: 10,000백만원), 수출증대효과(단위: 10,000백만원), 원가절감(단위: 5,000백만원,기존대비 300%), 에너지절감효과(단위: 3,000백만원,기존대비 200%), 생산성 향상(단위: 1,000백만원,기존대비 250%) 인력양성 또는 고용창출효과(단위: 10명), 투자유치실적((단위: 10,000백만원), 인프라구축 효과

## 6. 문제점 및 건의사항

- 지금 밝혀진 녹용 유전자와 상처치료의 효과를 나타낸 PDGF-beta등의 정보는 아직 특허출원되지 않았으므로 이들 정보에 대한 보호가 절실히 필요함.

# 기술 요약서

## ■ 기술의 명칭

녹용 PDGF-beta 유전자의 유전자 재조합 기술을 이용한 대량 생산 및 상처치료의 assay system 확립

## ■ 기술을 도출한 과제현황

과제관리번호	M1-0218-03-0001			
과제명	녹용의 전체 full-length EST 확보 및 유용성 물질의 발현 및 특성 규명			
사업명	<b>국책연구개발사업</b>			
세부사업명	생물정보학 연구개발사업			
연구기관	퓨리메드 (주) 기업부설 연구소	기관유형	기업부설연구소	
참여기관(기업)	(주)제노텍 기업부설연구소, 바이오인포메틱스(주)기업부설연구소			
총연구기간	2002년. 12월. 1일. ~ 2004년. 9월. 30일. (33개월)			
총연구비	정부(1,680,000)천원    민간(621,000)천원    합계(2,301,000)천원			
연구책임자 1	성명	이용세	주민번호	
	근무기관 부서	퓨리메드 기업부설 연구소	E-mail	mkkang@purimed.com
	직위/직급	연구소장	전화번호	02-967-2080
연구책임자 2	성명	배현수	주민번호	
	근무기관 부서	퓨리메드 (주)	E-mail	hbae@khu.ac.kr
	직위/직급	대표이사	전화번호	02-967-2080
실무연락책임자	성명	강문규	소속/부서	연구소
	직위/직급	선임연구원	E-mail	mkkang@purimed.com
	전화번호	02-967-2080	FAX	02-967-2080
	주소	(130-701) 서울시 동대문구 회기동 경희대 창업보육센터내 퓨리메드 기업부설연구소		

## ■ 기술의 주요내용

## [기술의 개요]

녹용(deer velvet antler)은 사슴에서 매년 재생되는 뼈 조직의 일종으로, 예로부터 자양 강장 및 면역 효과 증강을 목적으로 동양권에서는 널리 사용되어져 왔던 한약재의 일종이다. 국내 한의학계에서는 지금까지 연구 논문을 통해 녹용의 우수한 효과를 검증하여 왔다. 문헌적으로 신농본초경에서 허로, 양기 부족, 자궁허냉, 봉루 등을 치료하여 자양 강장, 대보원기 등의 효과가 있다고 하였으며, 현대의 연구에서도 발육 촉진 작용, 조혈 작용, 강심 작용, 손상된 간에 대한 보호 작용, 간 조직 재생 및 촉진 작용, 간내 효소 활성화, 호르몬 대사 기능 개선 작용, 골다공증 치료 효과, 상처치료 효과등을 보고하고 있다. 주요 상업화 가능한 유용한 유전자를 지금까지 확보한 1,000 여개의 녹용 full-length cDNA에서 인간유전자와의 상동성 비교와 기존약으로 쓰이고 있는 유전자 혹은 약으로써의 개발가능성이 있는 타겟 유전자들을 바이오인포매틱스 프로그램을 통해 찾은 결과 16개의 가장 가능성 있고 흥미있는 녹용 유전자들을 찾아냄. 사슴뿔의 성장점에서 절단된 조직으로부터 mRNA를 분리하는 단계, 상기 mRNA로부터 cDNA를 합성하는 단계, 상기 합성된 cDNA의 라이브러리를 제조하는 단계, 상기 제조된 cDNA 라이브러리로 대장균을 형질전환시키는 단계, 약물 저항성 선별을 통해 상기 cDNA가 삽입된 형질전환된 대장균을 얻는 단계를 포함하여, 녹용의 PDGFB 생산을 위한 녹용 cDNA로 형질전환된 대장균의 제조 방법을 제공한다. 또한, 대량생산 및 정제방법과 더불어 PDGFB의 상처치료효과에 대한 단계도 포함한다. 무엇보다도 중요한 결과는 녹용에서 알려진 유용한 유전자중의 하나인 PDGF-beta 유전자를 찾아내고 이를 유전자재조합 하여 그것의 생성물인 단백질을 상처난 일반 섬유아세포에 투여했을 때 48시간 후 거의 완전하게 상처가 회복됨을 보였다. 이는 특히, 상업화 하기 매우 좋은 결과로 상처나 켈양치료제로서의 역할이 기대된다. 또한 머리털이 잘 자랄 수 있도록 하는 역할이 최근 연구에 의해 밝혀짐 (Exp Dermatol 2003, 12(5) pp 662-672). 인간 PDGF와외의 기능의 차별화 혹은 효능적인 우월성 혹은 부작용 감소등의 여러 잇점등을 이용해 이 기술을 특허출원, 상품화하고자 한다.

## <기술적 특징>

- (1) 사슴뿔의 성장점에서 절단된 조직으로부터 mRNA를 분리하는 단계, 상기 mRNA로부터 cDNA를 합성하는 단계, 상기 합성된 cDNA의 라이브러리를 제조하는 단계, 상기 제조된 cDNA 라이브러리로 대장균을 형질전환시키는 단계, 약물 저항성 선별을 통해 상기 cDNA가 삽입된 형질전환된 대장균을 얻는 단계
- (2) 녹용 PDGF-beta의 유전적 재조합 방법을 통한 대량 생산법
- (3) 섬유아세포를 통한 상처치료효과 확인법

## [용도 · 이용분야]

- (1) 당뇨병 발궤양의 치료
- (2) 심한 상처로 인한 피부의 궤양치료
- (3) hair growth를 통한 대머리 치료





[ 기술개요 ]

기술명	유전자 조합된 녹용 IGF-2의 골다공증 치료
개발단계	<input type="checkbox"/> 연구개발 계획 <input checked="" type="checkbox"/> 연구개발 중 <input type="checkbox"/> 연구개발 완료
기술개요	녹용 IGF-2 유전자를 찾아내고 이를 유전자재조합 하여 대량생산 후 in vitro 실험중

[ 기술을 도출한 과제현황 ]

과제관리번호	M1-0218-03-0001			
과제명	녹용의 전체 full-length EST 확보 및 유용성 물질의 발현 및 특성 규명			
사업명	국책연구개발사업			
세부사업명	생물정보학 연구개발사업			
연구기관	퓨리메드 (주) 기업부설 연구소	기관유형	기업부설 연구소	
참여기관(기업)	(주)제노텍 기업부설연구소, 바이오인포매틱스(주)기업부설연구소			
총연구기간	2002년. 12월. 1일. ~ 2004년. 9월. 30일. (33개월)			
총연구비	합계 : (2,30 )백만원 - 정부 : (1,680 ) 백만원    민간 : (621, )백만원			
연구책임자	소속	퓨리메드 (주)	성명	이용세
	전화번호	02-967-2080	E-mail	mkkang@purimed.com
연구개발 주요내용				
<p>일반적으로 골다공증은 뼈의 약화 및 파골에 의한 원인으로 나타나므로 이에 관여하는 뼈를 없애는 파골세포의 작용을 억제하고 뼈를 만드는 조골세포의 작용을 활성화 시킴으로써 치료한다. 조골세포를 활성화 시키고 잘 자라게 하는데 IGF-2의 역할이 매우 중요하게 대두되고 있음. 이에 녹용 IGF-2 유전자를 찾아내고 이를 유전자재조합 하여 대량생산 후 뼈를 생성케하는 조골세포에 투여 후 조골세포의 활성화 및 성장을 활성화하는 지 알아보며 더 나아가 동물모델을 통한 골다공증 치료확인 및 인간 IGF-2보다 우수한 효과 및 부작용 경감 작용 확인.</p>				