

농촌진흥청, 이종이식 거부반응 제어 기술 개발

- 유전자 작동 시점 조절해 이종이식 거부반응 제어
- 면역 회피와 세포 보호 기능 각각 맞춤 설계
- 사람 이식용 돼지 장기 개발 기반 기술 기대

농촌진흥청(청장 이승돈)은 이종이식 과정에서 발생하는 면역 거부반응을 줄이기 위해, 유전자 작동 시점을 조절하는 ‘이중 프로모터 기반 유전자 제어 기술’을 개발했다고 밝혔다.

이종이식에서는 몸이 이식 장기를 ‘자기 것이 아닌 것’으로 인식해 공격하는 경우가 많아 이식 장기가 유지되지 못하는 문제가 발생한다.

이를 줄이기 위해 그동안 유전자를 이용한 방법을 연구했지만, 유전자가 계속 작동하면 오히려 세포에 부담을 주고 독성을 일으킬 수 있다는 한계가 있었다.

이에 연구진은 유전자 작동 시점을 조절하는 이중 유전자 제어(프로모터) 전략을 적용했다. 연구진은 세포를 보호하는 유전자(HO1)는 필요할 때만 작동하도록 설계했다. 반면 면역 회피 반응을 하는 유전자(CD47)는 지속적으로 작동하도록 설계했다.

연구진은 유전자 가위(CRISPR/Cas9)를 이용해 거부반응 유전자(GGTA1)를 제거하고, 면역조절 유전자(HO1, CD47)를 특정 위치(CMAH)에 정밀 삽입하는 데 성공했다.

이렇게 만든 세포를 이용해 형질전환 돼지를 생산했으며, 분석 결과 세포

보호 유전자(HO1)는 간과 폐에서 필요할 때만 선택적으로 작동했다. 면역 회피 유전자(CD47)는 몸 전체에서 안정적으로 작동하는 것을 확인했다.


또한, 사람 혈청을 이용해 실험한 결과, 형질전환 돼지의 세포는 일반 돼지 세포보다 덜 손상되고 더 오래 살아남는 것으로 확인됐다. 이는 사람 몸에서도 공격을 덜 받아 이식 성공 가능성을 높일 수 있음을 보여준다.

이번 연구 결과는 이식 분야 국제학술지인 「제노이식(Xenotransplantation)」에 게재*됐다.

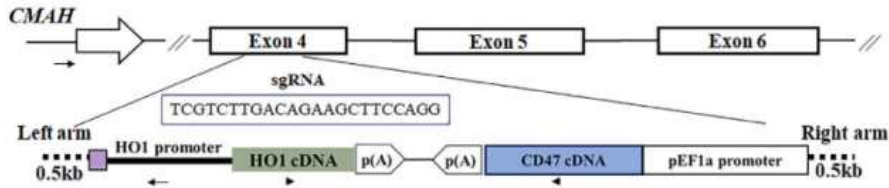
*이종이식을 위한 GGTA1 결손 돼지에서 유도형 험옥시게나제-1과 상시 발현 CD47의 CMAH 표적 삽입(26년 3월, IF 4.1)

농촌진흥청 국립축산과학원 동물바이오유전체과장 이경태 과장은 “이번 연구는 단순히 유전자를 추가하는 수준을 넘어, 몸 상태에 따라 필요한 유전자만 작동하도록 조절했다는 점에서 의미가 크다.”라며 “앞으로 사람에게 이식할 수 있는 돼지 장기 개발의 중요한 기반이 될 것으로 기대한다.”라고 밝혔다.

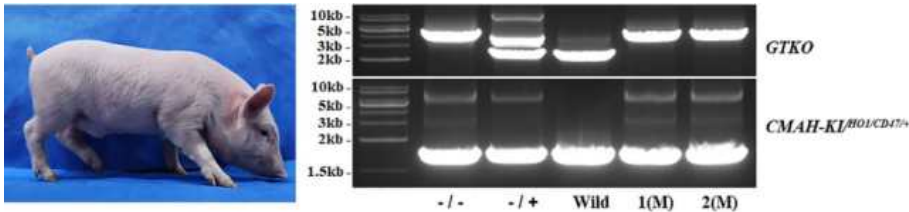
- 붙임 1. 이중 프로모터 기반 유전자 제어 기술 적용 결과
- 붙임 2. 논문

담당 부서	국립축산과학원 동물바이오유전체과	책임자	과 장	이경태 (063-238-7250)
		담당자	연구관	오건봉 (063-238-7254)
				

□ 모식도



- 유전자 가위(CRISPR/Cas9)를 이용해 거부반응 유발 유전자(GGTA1)를 제거하고, 면역조절 유전자(HO1, CD47)를 특정 위치(CMAH)에 정밀하게 삽입하는 공정 모식도
- 기존 돼지 유전자에서 거부반응을 일으키는 부분을 제거하고, 대신 면역 반응을 줄이는 유전자를 넣는 과정을 나타낸 그림
- 필요한 유전자는 유지하고, 문제가 되는 유전자만 선택적으로 바꾸는 ‘정밀 유전자 제어’ 기술임



- 실제 태어난 형질전환 복제 돼지의 모습(A)과 PCR 분석(B)을 통해 면역 거부반응 유전자가 제거되고 목적 유전자가 정확한 위치에 삽입되었음을 증명하는 결과
- 만들어진 돼지에서 원하는 유전자 변화가 제대로 이루어졌는지 확인한 결과
- 실험 결과, 설계한 대로 유전자가 정확히 바뀐 것이 검증됨

ORIGINAL ARTICLE OPEN ACCESS

CMAH-Targeted Knock-In of Inducible Heme Oxygenase-1 and Constitutive CD47 in GGTA1-Knockout Pigs for Xenotransplantation

Haesun Lee^{1,2} | Sang Eun Kim¹ | Won Kil Lee¹ | Miae Oh¹ | Seunghoon Lee² | Jin-Gu No¹ | Mi-Ryung Park¹ | Seokho Kim¹ | Min Hwa Do¹ | Keon Bong Oh¹

¹Animal Biotechnology and Genomics Division, National Institute of Animal Science, RDA, Wanju-gun, Jeollabuk-do, Republic of Korea | ²Korea Zoonosis Research Institute, Jeonbuk National University, Iksan-si, Jeollabuk-do, Republic of Korea

Correspondence: Keon Bong Oh (keonoh@korea.kr)

Received: 3 September 2025 | Revised: 19 November 2025 | Accepted: 14 March 2026

Keywords: CD47 | CMAH locus | gene-specific promoter | heme oxygenase-1(HO1) | knock-in strategy | transgenic pig | xenotransplantation

ABSTRACT

Background: Pig xenografts offer a solution to human organ shortage; however, immune rejection is a major barrier. Immunomodulatory genes such as *heme oxygenase-1* (HO1) and CD47 are key. Precise promoter control and strategic genomic integration for reliable expression and xenoantigen disruption are critical. Therefore, this study aimed to develop a promoter-pairing strategy for *HO1* and *CD47* in genetically modified pigs to achieve context-appropriate expression and enhance xenograft success.

Methods: We analyzed the transcriptional profiles of xenoantigens (*GGTA1*, *B4GALNT2*, and *CMAH*) in pig tissues using qPCR. Exon 4 of *CMAH* was selected for knock-in because of its low activity and xenoantigen role, enabling precise promoter-driven transgene expression and xenoantigen disruption. A dual-promoter cassette (inducible HO1 and constitutive CD47) was inserted into the *CMAH* locus of *GGTA1*-knockout fibroblasts using CRISPR/Cas9. The screened clones were used for somatic cell nuclear transfer to generate pigs.

Results: *CMAH* showed significantly lower and more consistent expression than did *GGTA1/B4GALNT2* across tissues. In 293T cells and primary pig fibroblasts, HO1 was low at baseline but strongly induced by human serum/PMA, whereas CD47 exhibited high basal expression with inducibility. Cloned pigs with the *HO1/CD47* cassette in the *CMAH* locus were successfully generated and validated. HO1 protein localized mainly to the liver and lungs, while CD47 was broadly expressed in tissues/blood leukocytes, confirming the tissue-specific and stimulus-responsive functions of the dual promoter.

Conclusion: This study successfully established a promoter-optimized locus-specific knock-in strategy for inducing *HO1* and constitutive *CD47* in *GGTA1*-knockout pigs. This dual-promoter system enabled context-appropriate expression and enhanced xenograft compatibility. Future in vivo studies are crucial to evaluate long-term graft survival and HO1 inducibility, paving the way for clinical xenotransplantation.

This is an open access article under the terms of the [Creative Commons Attribution-NonCommercial License](#), which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited and is not used for commercial purposes.

© 2026 The Author(s). *Xenotransplantation* published by Wiley Periodicals LLC.