

형질전환 마우스 생산을 위한 GFP 유전자의 이용

이강세*, 신태영, 권창희, 이광희, 손채익, 김영근

수의과학연구소

형질전환동물을 생산하기 위해서 외래 유전자를 미세주입한 후, 대리모에 이식하여 얻은 산자의 형질전환 여부를 확인하는 방법이 널리 이용되어 왔다. 이러한 방법은 다수의 수정란을 대리모에 이식하여야 하므로, 특히 산업동물에서의 형질전환동물의 생산에 많은 어려움을 주고 있다. 이러한 문제점을 극복하기 위한 방법중의 하나로 수정란이식전에 GFP(green fluorescence protein) 유전자의 발현유무를 검색하여 형질전환 가능성이 있는 수정란만을 선별이식하므로써 보다 효율적인 형질전환동물생산법이 연구되고 있다. 이에 본 연구의 목적은 마우스 전핵단계의 수정란에 GFP 유전자를 직접미세주입하여 수정란 이식전에 형질전환 수정란의 선별 및 산자생산을 검토하였다. 먼저 CMV promoter-GFP 유전자(Clontech, pEGFP-C1)를 MDBK 세포주에 transfection(BTX 2001)시켜, 형광현미경하에서 녹색의 형광을 확인하여 작성된 vector를 검증하였으며, 이를 수정란에서 GFP 발현 확인에 이용하였다. GFP 유전자인 pEGFP-C1 벡터를 ApaI 과 MluI 으로 double digestion한 후 2kb에 해당하는 band를 QIAgen kit를 사용하여 DNA를 분리하였으며 DIC(disseminated Interference Contrast)가 장착된 도립현미경하에서 미세조작을 실시하였다. 이 유전자를 142개의 과배란유기시킨 마우스(BDF1) 전핵단계의 수정란에 체외발육시킨 57개(40.1%)의 상실배/배반포기 수정란중 13(22.8%)개에서 형광을 나타내는 수정란을 확인하였다. 형질전환 산자를 생산하기 위해서 미세주입한 후, 체외발육된 4-세포기수정란중 형광반응을 나타내는 수정란만을 선별하여 대리모에 난관이식하여 임신을 확인하였다. 지금까지 이식한 GFP 양성 수정란중 형질전환된 마우스 산자의 생산결과는 검토중이며 이러한 결과를 바탕으로 산업동물에서도 형질전환동물 생산을 위한 선별 마커로써 GFP유전자의 이용이 유용하리라 기대된다.