

외래유전자도입 정자로 인공 수정된 난 발생 중 도입 유전자의 발현

이기석, 김기동, 이상호*

고려대학교 생명공학원

서론

계란은 매우 이상적인 bioreactor임에도 불구하고 포유동물에서 이용되고 있는 다양한 외래유전자 도입방법을 통해 유전자변환 닭 생산을 위한 노력이 결실을 보지 못하고 있다. 그 중에서도 원시생식세포 및 배반엽세포를 이용한 방법이 가장 보편적으로 이용되고 있지만, 미세조작시 난에 가하는 물리적인 손상으로 배 발생과정에 적지않은 영향을 미칠 수 있다. 본 실험의 목적은 이러한 어려움을 극복하고자 외래유전자가 도입된 정자를 매개로 인공수정 후 자연적 수정과정을 통하여 정자에 의한 외래유전자의 전이기술을 확립하고자 실시하였다.

재료 및 방법

정액은 4마리 New Hampshire계 수탉으로부터 정액을 채취한 후 정자와 외래유전자(pJJ9과 pcVgGL)를 결합시키기 위해 전기충격법을 이용하였다. 외래유전자가 전이된 정자의 일부는 외래유전자 도입 여부를 확인하기 위해 PCR을 실시 하였으며 나머지는 인공수정에 이용하였다. 인공수정한 10수의 White 정액은 4마리 New Hampshire계 수탉으로부터 정액을 채취 한 후 정자와 Leghorn계 암탉이 생산한 난을 5일 동안 배양 한 후 발생중인 배아 조직을 이용하여 정자내 도입된 외래유전자의 삽입, 발생 중 그 유전자의 발현을 각각 PCR과 RT-PCR을 실시하여 분석하였다.

결과 및 고찰

정자 내에 전기충격법에 의해 외래유전자를 전이시킨 후, 인공수정하기 전에 형광물질인 Rh¹²³를 이용하여 생사염색을 실시한 결과, 대조구와 비교했을 때 운동성 및 수정능력은 크게 감소하지 않았다. 또한 PCR를 실시한 결

과 PCR product를 전기충격을 가한 정자에서는 물론 이 정자의 인공수정 후 수정란의 발생 중 배아내로의 전이됨, 그리고 최종적으로 발현됨을 확인하였다. 이 같은 결과를 종합해 볼 때, 첫째, 외래유전자의 전기충격에 의한 도입 후 운동성 및 수정능력의 유지가 가능하며, 둘째, 정자의 in vivo내에서 자연적인 수정과정에 의존하여 정자에 의한 외래유전자는 난자내로 전이될 뿐만 아니라 셋째, 전이된 외래유전자가 수정란의 부화중 유전자의 발현을 보인다는 것을 처음으로 보여주었다.

본 연구의 결과는 닭의 수정연구에 의해 축적된 초기수정 기작을 토대로 정자를 매개로 한 외래유전자도입에 의한 유전자변환 닭 생산이 가능하다는 것을 시사한다.

(Key Words; early fertilization, transfected sperm, chicken transgenesis)

인용문헌

- Nakanishi, A *et al.*, 1993. Mol. Repr. Dev. 36: 258-261
Lee, K. S *et al.*, 1999. Korean J. Poult. Sci. 26(2): 109-118
이상호. 1994. 자연자원연구, 고려대학교 2, 72-81