

Electroporation 방법을 이용한 포유동물 세포내 GFP 유전자 도입

양병철*, 성환후, 김동훈, 이상기, 오현주, 임석기,
박수봉, 이은주, ¹민관식, 장원경
축산기술연구소, ¹한경대학교

형질전환 가축을 생산하기 위하여 최근 체세포 복제 기법을 이용하고 있다. 이러한 체세포를 이용한 형질전환 동물의 생산에는 체세포내에 유전자의 도입 효율이 직접적인 영향을 주게 된다. 따라서 본 연구는 세포내 유전자의 transfection 효율을 높이고자 한우의 체세포를 이용하여 여러 가지 조건에서 유전자 도입을 실시하였다. 세포내 유전자 도입 방법은 electroporation (EP) 방법을 이용하였다. 사용한 세포는 소의 귀세포(KbESF), 태아섬유아세포(KbFF), 그리고 대조구로서 CHO cell을 이용하여 GFP 유전자를 도입하였다. EP는 0.4 cm cuvette을 사용하였고, voltage는 0.25 kV, 그리고 field strength는 0.625 kV/cm 조건으로 실시하였으며, pulse times은 각각 1, 2, 또는 3회를 사용하였다. KbFF와 KbESF에서는 각각 pulse times을 증가시킬수록 유전자 도입 세포수가 증가하였으나 (KbFF: 81, 634, 1,065 cells/10⁶ cells, KbESF: 1,011, 5,567, 15,408 cells/10⁶ cells), CHO cell에서는 pulse times을 증가시킬수록 오히려 유전자도입 세포수가 감소하였다 (CHO: 1,591, 687, 297 cells/10⁶ cells). 그리고 2주 동안 neo selection을 실시 한 결과 KbFF, KbESF, CHO에서 각각 93, 35, 184 colony가 선발되었으며, 이 중 65.6%, 8.6%, 4.3% 가 GFP 형광 발현 colony로 나타났다. 한편 CHO cell에서 transfection cell수가 감소된 것은 EP의 자극으로 인해 손상된 세포가 많이 발생한 것으로 나타났다. 또한 neo selection에서 선발된 colony중 GFP가 발현되지 않거나 일부만 발현되는 colony들이 많이 발생하였는데, 이것은 세포내 유전자가 transfection되지 않은 세포도 neo selection에서 선발된다는 것을 제시하고 있다. 따라서 체세포를 이용한 형질전환동물 생산을 위해서는 세포내 유전자 도입과 선발 과정에서 나타난 colony에 대하여 보다 엄격한 screen을 하는 것이 필요한 것으로 생각된다.

Key words) 한우, Electroporation, GFP, KbFF, KbESF, CHO