

## 유전자적중을 위한 상동유전자재조합 기술의 개발

**양정희**, 장석민, 나루세젠지, 심호섭<sup>1</sup>, 김남형<sup>2</sup>, 박창식<sup>3</sup>, 진동일

선문대학교, <sup>1</sup>단국대학교, <sup>2</sup>충북대학교, <sup>3</sup>충남대학교

상동유전자 재조합기술을 myostatin 유전자에 적용하기 위해 돼지 골격에 붙어 있는 근육으로부터 RNA를 추출하였고 돼지 Myostatin Exon 3 부위의 specific primer를 제작하여 RT-PCR을 수행한 후 증폭된 342bp DNA를 추출하여 T vector에 ligation한 후 sequencing을 실시하여 돼지 genomic DNA에서 Myostatin gene의 Exon 3 부위와 100% match되는 것을 확인하였다. site-specific mutagenesis를 유발하는 상동유전자 재조합기술에 사용될 DNA를 제작하기 위하여 cloning한 Myostatin exon 3 cDNA를 이용하여 5'부위에 point mutation을 만들어 termination codon이 생성되도록 하였고(GTCGTTACCC→ GTCGTTAACC) 아울러 새로운 restricion enzyme site(GTTAAC, Hpa I)가 만들어지도록 하여 상동유전자 재조합기술을 적용할 때 endogenous Myostatin gene과 구분할 수 있도록 상동유전자 재조합기술용 유전자를 구축하였다. 이 mutant cDNA를 pBluecript plasmid에 cloing하였고 sequencing과 restriction enzyme digestion을 이용하여 point mution 상태를 확인하였고 구축한 상동유전자 재조합용 myostatin mutant cDNA를 denature 시킨 후 recA protein과 결합시켜 돼지의 1-cell stage 수정란의 전핵에 주입을 실시하여 유전자적중 수정란을 생산하였다.

Key words) *유전자적중, 상동유전자 재조합, Myostatin, site-specific mutagenesis*