

PCR 기법을 이용한 소 체내외수정란의 성판별에서 Primer가 미치는 영향

최은주¹, 김상환², 이호준¹, 정경섭³, 김창희³, 정덕원², 윤종택^{1,2}

¹(주)한경제농텍, ²한경대학교 동물생명자원학과, ³한경대학교 생물정보통신대학원

본 연구는 소의 체내외 수정란의 성 판별을 위해 이용되는 primer에 따른 성 판별율을 비교하고자 실시하였다. BSP+BSY primer set의 경우 소 특이적 primer와 Y염색체 특이적 DNA primer를 혼합시킨 후 PCR을 이용하여 증폭을 시킨 결과 웅성의 DNA가 있어도 전기영동시 141bp의 Y염색체 특이적 DNA band가 보이지 않는 경우가 많아서 성 판별시 많은 오류가 발생하기도 하였다(Kunieda 등, 1992; 오 등, 1993). 따라서 정확한 성 판별을 위해 Y 염색체 특이적 primer를 넣어 1차로 증폭시킨 후, 소 특이적 DNA primer를 넣어 2차 증폭시키는 2-step PCR을 실시하여야 소의 혈액과 수정란의 성 판별시 정확한 결과를 얻을 수 있다고 하였다. 그러나, Kageyama 등(2004)은 한 번의 증폭으로 Y특이적 band(178bp)와 소 특이적 band(145bp)를 동시에 볼 수 있는 S4BFBR primer를 개발하여 수정란과 새로 태어난 송아지의 성을 비교한 결과 96%의 일치율을 보였다.

PCR을 위한 primer로 S4BFBR과 BSY+BSP primer를 이용하였다. S4BFBR은 웅성 특이 증폭물의 길이는 178base pair, 소 특이 증폭물의 길이는 145bp이고, BSP+BSY의 경우 Y chromosome 특이 DNA primer(BOV 97M, 141bp)와 소 특이적 DNA primer(216bp)를 이용하였다. 두 primer set 모두 두 band가 확인되면 웅성, 한 band만 확인되면 자성으로 확인하였다. BSP+BSY primer set는 Multiplex PCR법으로 Y chromosome 특이적 DNA primer로 먼저 10cycles을 증폭시키고, 이후 20cycles을 소 특이적 DNA primer를 넣고 더 증폭시켰다. S4BFBR primer는 1-step으로 30cycle을 증폭 시켰다.

본 실험 결과 S4BFBR primer로의 성감별은 BSP와 BSY primer를 함께 사용하여 성 판별을 할 경우와 차이가 없는 성비를(1.75:1 vs 1.43:1) 보였다. 또한, BSP와 BSY primer 사용시의 multiplex PCR법을 사용하지 않고, 한번의 PCR 증폭으로 자웅성을 감별할 수 있어 성감별을 위한 primer로 적절할 것으로 사료된다.

Key words) *PCR, embryo sexing, primer*