

외래 유전자 미세주입에 의한 형질전환 닭 생산

전익수 · 박응우 · 노환국 · 최철환 · 오성중 · 정일정 · 한재용¹
 농촌진흥청 축산기술연구소, ¹서울대학교 농업생명과학대학

서 론

닭은 다른 일반 가축에 비해 산자수가 많고 세대간격이 짧기 때문에 비록 적은 수의 원종계(founder)가 생산되었다 할지라도 후대에서 많은 수의 자손을 손쉽게 획득 할 수 있다(Perry와 Sang, 1993; Love 등, 1994; Jeon 등, 1998; Sang, 2000). 그러므로 형질전환 기술이 닭에 적용된다면 인간에 유용한 형질을 도입한 형질전환 닭의 계통 조성이 다른 일반 가축 보다 용이 할 것이다. 또한 유용한 단백질을 계란의 난백 내에 발현시킬 수 있는 형질전환 닭을 생산 할 수 있다면 생산물의 보관이 편리하고 특정물질의 순수분리가 용이하기 때문에 다른 가축에 비해 산업적인 파급 효과가 클 수 있다(Sang, 2000). 따라서 본 연구는 1세포기 수정란에 유전자를 주입하는 과정이 배자의 생존에 미치는 영향과 외래 유전자를 1세포기 수정란에 직접 주입한 다음, 체외배양과 대리난각 배양하여 생산된 병아리의 형질전환 효율성 및 형질전환 원종계(founder)의 후대 검정을 통하여 유전자의 전이 효율을 검토 하고자 실시되었다.

재료 및 방법

본 실험에 공시한 실험동물은 축산기술연구소에서 보존중인 30~45주령의 한국재래닭(Korean Native Chicken; KNC)과 산란 실용계(commercial layer)를 사용하였으며, 25±1℃가 유지되는 무창 케이지 산란계사에서 16시간 점등하면서 사육하였다. 1세포기 수정란의 채란은 공여계(donor hen)가 산란을 하고 난 뒤 2시간 15분이 경과되면 공여계를 도살하여 복부로부터 1세포기 수정란이 들어 있는 난관 팽대부에서 협부까지의 난관을 들어낸 다음, 1세포기 수정란을 채란 하였다. 미세조작기에 micropipette을 부착하여 1세포기 수정란의 germinal disc에 준비된 유전자를 주입하였다. 본 실험에 사용된 유전자는 pCMVβ vector의 β-galactosidase gene 발현 조절부위를 절단한 후 분리 회수하여 사용하였다(Love 등, 1994; Hong 등, 1998). 주입 농도는 25μg/ml 이었으며 주입량은 2nl였

다. 외래 유전자가 주입된 수정란의 배양은 1세포기 닭 수정란의 체외배양과 대리 난각 배양하여 부화 시켰다(Perry, 1988; Perry와 Mather, 1991). 실험구에서 부화된 모든 개체는 융모성노막(chorioallantoic membrane; CAM), 혈액 그리고 생식세포에서 주입한 외래 유전자의 삽입 및 통합여부를 검정하기 위하여 PCR 분석을 실시하였다. 생식세포의 분석은 부화된 병아리가 성숙에 도달하면 수컷일 경우는 정액을 이용하여 분석하였고, 암컷일 경우는 수정란을 생산하여 3일간 발생시킨 다음 그 배자를 이용하여 분석하였다. 생식세포에서 양성으로 판정된 원종개는 인공수정을 실시하여 후대를 생산하였으며, 생산된 후대는 융모성노막(CAM)과 혈액에서 주입한 외래 유전자의 삽입 및 통합여부를 PCR 분석으로 검정하였다.

결 과

산란 실용계(commercial layer)의 수정란을 공시하여 유전자를 주입한 경우의 생존율은 배양 19일차까지 22.7%이었고, 부화율은 13.1%이었으며, 1주일간 초기 생존율은 10.8%이었다. 한국 재래닭(Korean Native Chicken; KNC)의 수정란을 공시하여 유전자를 주입한 경우의 생존율은 배양 19일차까지 19.4%이었고, 부화율은 11.7%이었으며, 병아리의 1주일간 초기 생존율은 7.7%이었다. 유전자 주입 과정을 생략한 대조구의 생존율은 배양 19일차까지 45.8%이었고, 부화율은 25.8%이었으며, 1주일간 초기 생존율은 21.7%이었다. 현재까지 생산된 형질전환 닭은 산란 실용계의 수정란을 사용한 실험구에서 1수(♂)가 생산되고 후대를 생산하고 있으며, 한국 재래닭의 수정란을 사용한 실험구에서 2수(우, ♂)가 생산되어 후대검정을 준비중이다.

인 용 문 헌

- Hong, Y. H. et al. 1998. *Transgenic Research* 7:247.
- Jeon, I. S. et al. 1998. Paper No. PB1-22, the 8th World Conference on Animal Production, Seoul, Korea.
- Love, J. et al. 1994. *Bio/Technology*. 12: 60.
- Perry, M. M. 1988. *Nature*, 331: 70-72.
- Perry, M. M. and Mather, C. M. 1991. In *Avian incubation*, Butterworth Heinemann Ltd. London, U.K., p. 91.
- Perry, M. and Sang, H. 1993. *Transgenic Research* 2:125.
- Sang, H. 2000. XXI World's Poultry Congress, Montreal, Canada.