

# 생쥐 SINE계 서열을 이용한 효율적인 형질전환동물의 생산

강 용 국  
생명공학연구소

## 서 론

포유동물의 게놈에는 많은 종류의 반복서열(repetitive DNA sequences)이 존재한다. satellite DNA 처럼 염색체상의 특정 부분에 위치하는 반복서열 이외에, SINEs (short interspersed elements) 및 LINEs (long interspersed elements)처럼 염색체 전체에 어느정도 골고루 흩어져 있는 반복서열도 존재한다. 후자의 경우 주로 retroposon을 일컫는 것인데, 평균적으로 euchromatic DNA 의 42%를 차지한다고 알려져 있다. 대표적인 종류로는 사람의 경우 Alu 서열이 있고, 생쥐의 경우 B1 및 B2 서열이 있다.

이들 각각의 SINE 서열은 게놈상에서 약 수십만 copy로 존재하는데, 이들 copy 상호간의 상동성은 90% 이상인 것으로 알려져 있다. Copy 간의 이러한 높은 서열 유사성은 세포내에서 높은 염색체 교차의 가능성을 예견할 수 있도록 한다. 사실상, 사람의 Alu 서열간의 recombination, 또는 Alu 서열이 관여된 recombination이 특정 질병의 발병에 원인을 제공했다는 증거가 제시되었으며, 또한 진화적으로도 이들 서열간의 상호교차로 인해 유전자가 duplication이 일어났다는 보고도 있다. 본 실험에서는 이러한 높은 recombination potential을 가진 SINE 서열을 벡터에 적용함으로써, 높은 형질 전환률을 얻을 수 있는지 여부를 조사하여 보았다.

## 본 론

생쥐에 존재하는 반복 서열인 SINE (Short interspersed elements) 서열이 외래 유전자의 교차 빈도에 영향을 줄 수 있는지의 여부를 조사하였다. 먼저 생쥐 유래 SINE 서열인 B1 및 B2 서열과 LINE-1 (Long interspersed elements-1) 서열의 일부를 여러 가지 조합으로 표지 유전자에 결합시킨 벡터를 제조한 후, 생쥐 유래 유전 상피세포주인 HC11 세포로 유전자도입을 유도,

colony assay 를 수행하였다. 항생제 G418 의 존재하에서 살아남은 콜로니의 수를 비교한 결과, 대조군에 비해 B1-B2 융합서열이 포함된 실험군이 3.5 배 정도 높은 콜로니 수를 나타냈다.

생쥐 수정란의 전핵에 이들 두 가지 벡터를 각각 미세주입 하여 배반 포 단계에서 베타-갈락토시데아제 분석을 수행하였다. 비교군이 16% 정도의 배반 포에서 X-gal 침전을 보인 반면, SINE서열이 포함된 실험군의 경우 63%의 배반포에서 침전을 확인 할 수 있었다. 또한, X-gal 침전을 보인 배아들에서 베타-갈락토시데아제의 발현 수준은 SINE 융합서열이 포함된 벡터에서 훨씬 높게 나타났다. 융합 SINE서열을 구성하는 각각의 B1 및 B2 서열을 분리하여 리포터 유전자에 포함한 후 colony assay 실험을 통해 비교군과의 유전자 삽입 효율을 조사한 결과, 비교군에 비해 각각 2.8 배, 3.2 배 정도 높은 콜로니 수를 얻었으며, 두 SINE 서열은 서로 유사한 삽입 능력을 가짐을 알 수 있었다.

SINE 매개에 의한 삽입 효율증가에 있어 상동성 교차가 관여하는지 여부를 알아보기 위해 Hord-PCR을 수행하였다. 결과, 절반 이상의 미세 주입된 배아에서 외래 유전자가 B1 서열이 관여된 상동성 교차가 일어남을 확인할 수 있었다. 이 실험의 결과로, SINE 서열이 외래 유전자의 삽입률을 증가시킬 수 있고, 이러한 삽입 효율의 증가가 SINE 서열간의 상동성 교차에 의해 유발됨을 추측 할 수 있었다. 결론적으로, SINE 서열은 현재의 형질전환동물 생산 기술의 효율을 높이는데 있어 매우 유용한 수단으로 기여할 것으로 사료된다.

## 결론

체외 배양세포, 착상전 초기배, 그리고 11.5 dpc 기의 태아 등을 대상으로 실험 해본 결과, 생쥐의 SINE 계 융합서열이 외래 유전자의 게놈내 삽입률을 일관되게 유의적으로 증가시킴을 확인할 수 있었다. Hord-PCR 기법을 이용함으로써, 이러한 삽입률의 증가가 대부분 SINE 서열이 관여된 recombination 에 의한 것임을 알 수 있었다. 외래 유전자의 삽입률외에 그 외래 유전자의 발현률에 있어서도 융합서열이 포함된 외래 유전자의 경우 대조군에 비해 훨씬 유리함을 확인하였다. 효율적인 형질전환동물의 생산을 목적으로, 생쥐를 대상으로한 본 연구의 결과는 경제적, 시간적으로 어려운 점이 많은 대동물의 형질전환에 효율적으로 응용할 수 있으리라 사료된다.