P-0129

섬유소 분해효소 유전자 도입 형질전환 돼지 생산

이연근, 박진기, 민관식, 성환후, 임기순, 양병철,
김진회*, 류재웅**, 장원경, 정일정, 김경남
축산기술연구소, 경상대학교*, 카톨릭의과대학**

본 연구는 섬유소 분해효소 유전자 Cel D(Cellulase Digestion)가 도입된 형질전환 돼지 생산을 통하여 섬유소 함유 사료의 이용 효율을 증대시키고, 나아가 장기이식동물 및 고가의 의료용 단백질 생산가축을 개발하기 위한 원천기술 확보에 있다. 섬유소분해 유전자의 크로닝 및 조직 특이적 발현벡터를 개발하기 위하여, 우선 소의 위중 제4위 내의 미생물로부터 전체 유전자를 분리하였고, 이렇게 작성된 DNA library에서 섬유소분해 관련 유전자인 약 2.0 kb의 Cel D유전자를 크로닝하였으며, 췌장 특이적 발현 프로모터(rat Elastase I : 약 200bp)를 크로닝한 후, 미세주입용 형질전환 재조합 벡터를 구축하기 위하여 rElastase I 프로모터 하류에 섬유소 분해 유전자(Cel D)를 연결하여 약 3.0 kb 크기의 재조합 벡터를 준비하였으며, 재조합 유전자를 1세포기 수정란 전핵내에 미세주입 하기 위해 Sal I 과 Bgl II 를 이용 유전자 단편을 만들었다. 구축된 유전자를 미세주입하기위한 수정란을 회수하기위해 총68두의 돼지를 4-5두씩 분리사육하면서 발정동기화 및 과배란 유기를위해 PG600, Altrenogest, FSH, hCG를 투여하였으며 hCG투여후 약54시간에 외과적 방법에의해 총 1,359개의 수정란을 회수하였고, 이중 미세주입가능한 1세포기 수정란은 1,296개로 두당 평균 15.9개 였다. 1,296개의 1세포기 수정란 중에서 재조합 유전자(rE I -CelD)가 미세주입된 660개의 수정란을 32두의 수란돈에 외과적 방법에 의해 이식하였으며, 이식되어진 모든 13두가 분만하여 40.6%의 임신율을 나타내었다. 이렇게 분만된 13두에서 총 65두(암:33두, 수:32두)의 자돈이 생산되었으며, 형질전환 여부를 판명하기 위해 자돈의 꼬리조직으로부터 genomic DNA를 추출하고 PCR 검정을 실시하였다. PCR 검정 결과, 섬유소 분해 유전자가 도입된 자돈은 5두 이었으며, 그 결과를 Table에 나타내었다.

Table 1. Transgenic piglets and transmitted rates by micro-injected rE I -CelD

Parturited	Produced Piglets		Transgenic Piglets		Transmitted Rates(%)	
Sows	Male	Female	Male	Female	Male	Female
13	32	33	3	2	6.06	9.38
Total	65		5		7.69	

Table 1 에서와 같이 섬유소 분해효소유전자가 형질전환된 자돈은 65마리 중 5마리로 7.69%의 형질전환율을 나타내었으며, 5마리의 자돈중 2두(암:1두, 수:1두)는 분만후 즉시 폐사되었으며 2두(암:1두, 수:1두)는 86일령 그리고 14일령에 폐사하여 현재 1두(암)가 생존하여 섬유소 분해 사양 실험 중에 있다.

(Key words) ***CelD, 미세주입, 형질전환, 돼지,과배란***