

유용유전자를 이용한 형질전환 닭 생산

전익수* · 최철환* · 김학규* · 정일정* · 박진기* · 이연근* · 장원경* · 서준교** · 이지현*** · 김태윤***
/ *농촌진흥청 축산기술연구소, **한림대학교, ***가톨릭대학교

서 론

닭은 번식 생리적으로 포유류 가축에 비해 산자수가 많고 소나 돼지에 비해 세대간격이 짧기 때문에 두세 마리를 이용하여 짧은 시간 내에 많은 수의 자손을 손쉽게 생산할 수 있다. 그러므로 형질전환 기술을 닭에 적용하면 인간에 유용한 형질을 도입한 형질전환 닭의 계통 조성이 소나 돼지보다 용이할 것이다(Jeon 등, 1998; Love 등, 1994; Perry and Mather, 1991; Perry, 1988; Perry and Sang, 1993).

따라서 본 연구에서는 유용유전자 2종을 각각 1세포기 수정란에 직접 주입한 다음, 체외 배양과 대리난각 배양하여 생산된 병아리의 형질전환 효율성 및 형질전환 원종계(founder)의 후대검정을 통하여 유전자의 전이효율을 검토하고자 실시되었다.

재료 및 방법

본 실험에 공시한 실험동물은 축산기술연구소에서 사육중인 30~45주령의 산란 실용계(commercial layer)를 사용하였으며, $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 가 유지되는 무장 케이지 산란계사에서 16시간 점등하면서 사육하였다. 수정란 채란은 공여계(donor hen)가 산란을 하고 난 뒤 2시간 15분 경과 후 공여계를 도살하여 복부로부터 1세포기 수정란이 들어있는 팽대부에서 험부까지의 난관을 들어낸 다음, 1세포기 수정란을 채란하였다. 채란된 1세포기 수정란은 공여계가 도살되기 전 산란한 알의 무게와 같은 신선란을 예단부에 직경 3.5cm로 자른 다음 내용물을 제거한 뒤 수정란을 이식하였다.

유전자 주입을 위한 미세조작은 일반 광학현미경의 mechanical stage 상단 arm 부분을 떼어내고 manipulator(MN-151, Narishige Co., Japan)를 부착하여 사용하였으며, injector는 10ml 주사기를 사용하였다. 수정란의 배양은 41.5°C , 5% CO_2 , 습도 포화상태의 배양기에서 24시간 동안 1차 배양한 다음, 수양성 난백을 이용하여 대리난각을 완전히 다 채운 다음 랩으로 밀봉하여 온도 37.6°C , 습도 65~70%의 배양기에서 11분마다 90° 씩 전란시키면서 3일간 2차 배양하였다. 3차 배양을 위한 대리난각은 공여계가 도살되기 전 산란한 알의 무게보다 약 25g 무거운 신선란의 둔단부에 직경 4cm로 자른 다음 내용물을 제거한 뒤 사용하였다. 2차 배양에서 생존한 배자와 내용물을 준비된 대리난각에 이식한 다음 랩으로 밀봉하여 온도 37.6°C , 습도 70~85%의 배양기에서 30분마다 30° 씩 전란시키면서 3차 배양하였다. 부화 3일 전에는 전란을 중지하였다.

실험구에서 부화된 모든 개체는 융모성노막(chorioallantoic membrane ; CAM), 혈액 그리고 생식세포에서 주입한 외래 유전자의 삽입 및 통합 여부를 검정하기 위하여 PCR 분석을 실시하였다. 생식세포의 분석은 부화된 병아리가 성성숙에 도달하면 수컷일 경우는 정액을 이용하여 분석하였고, 암컷일 경우는 수정란을 생산하여 3일간 발생시킨 다음 그 배자를 이용하여 분석하였다. 생식세포에서 양성으로 판정된 원종계는 인공수정을 실시하여 후대를 생산하였으며, 생산된 후대는 융모성노막(CAM)에서 주입한 외래 유전자의 삽입 및 통합여부를 PCR 분석으로 검정하였다.

결 과

본 실험의 결과 시험계 1,020수에서 획득한 1세포기 수정란은 총 993개로서 97.4%의 채란율을 획득하였다. 닭은 배란 특성상 암탉 1수에서 단 1개의 1세포기 수정란 채란이 가능하므로 시험계는 산란율이 높고 산란주기가 긴 개체를 사용해야 한다. 또한 유전자 주입 없이 체외 배양과 대리난각 배양만 실시한 대조구의 성적이 유전자를 주입한 실험구의 성적보다 유의적으로 높게 나타났다. 즉, 유전자 주입이 수정란의 발생에 나쁜 영향을 주고 있음을 알 수 있다. 현재까지 유용유전자 2종의 미세주입과 수정란 체외 배양 및 대리난각 배양으로 생산된 닭 중에서 형질전환이 확인된 개체는 3수로서 각각 후대 검정과 계통조성이 실시되고 있다.

< 참 고 문 헌 >

- ▶ 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.