

소 체세포 핵이식에서 체세포 계대에 따른 염색체 이상

최은주¹, 이호준^{1,3}, 김병정², 민관식³, 윤종택^{1,2}
 한경대학교 유전공학연구소¹, 한경대학교 동물생명자원학과²,
 한경대학교 생물정보통신대학원³

본 연구는 체세포 및 체세포 핵이식란의 염색체 이상에 체세포의 계대의 영향성을 조사하고자 하였다.

한우 성축의 귀 조직으로 얻어진 세포를 공여세포를 체외성숙 후 제핵된 난자에 핵이식을 실시하였으며, 1.9kv/cm, 20 μ s/2times의 전기자극으로 융합 후 5 μ g/ml의 ionomycin에서 4min, 1.9mM 6-DMAP에서 4h동안 배양함으로써 활성화를 유도하였다. 핵이식란은 CR1aa에서 4일간 배양 후 8-cell단계에서 증기상의 유도를 위하여 상기 배양액 1ml당 0.05 μ g colcemid에서 6-8시간 더 배양하였다. 이후, 6% Fetal bovine serum이 함유된 1% sodium citrate용액에 20분간 저장처리 후, methanol 5 : aceticacid 1 : distilled water 4로 1차, methanol 3: aceticacid 1 로 조성된 2차, methanol 4 : acetic acid 3 : distilled water 1의 3차고정액으로 1분간 재 침지시켰다. 고정 처리가 완료된 slide는 4% Giemsa용액으로 염색한 후 광학현미경 하에서 핵형 양상을 검경하였다.

체세포의 5계대에서는 684개의 spreads를 검경한 결과 염색체 수는 72%가 정상으로 60개이었고, 24%가 60개 이하였으며 4%가 60개 이상을 보였다. 10계대도 5계대와 비슷하여 71%가 정상, 26%가 60개이하, 3%가 60개 이상이었고, 15계대에서는 55%가 정상이었고, 30%가 60개이하, 15%가 60개 이상을 보였다. 10계대까지는 mixoploid의 비율의 변화가 없었으나 15계대에서 현저하게 늘어남을 볼 수 있었다. 또한 체외수정란과 핵이식란의 비교에서는 체외수정란은 250개의 spreads를 검경한 결과 염색체 수는 95.6%가 정상으로 60개이었고, 2.0%가 60개 이하, 2.4%가 60개 이상이었으나, 핵이식란은 204개를 검경하여 88%가 정상이었고, 4.9%가 60개이하, 7.1%가 60개 이상을 보임으로써, 핵이식란이 체외수정란에 비하여 염색체 이상의 비율이 높았다. 따라서 계대에 따라 체세포의 염색체이상의 비율이 상대적으로 증가하고, 체세포 핵이식에 따른 염색체 이상이 생길 수 있음을 알 수 있었다.

(이 논문은 농림부 연구비에 의해 수행되었음)

Key word) 핵이식, 염색체 이상, 체세포 계대