

태아섬유아세포에 UPIII-hEPO 유전자 도입과 핵이식 난자의 체외발달율

박미령, 조성근, 윤희준, 조황윤, 임여정, 박종주, 김진희

Dept. of Dairy Science, Division of Applied Life Science,
Gyeongsang National University

본 연구는 태아 섬유아세포에 hEPO를 도입하여 transfection된 체세포를 공여핵으로 사용하여 복제수정란을 생산함에 있어서 배반포 발달율을 조사하고자 하였다.

실험에 공시된 공여핵은 임신 30일령의 태아로부터 섬유아 세포를 회수하여 10% FBS 첨가된 ES-DMEM 배지에서 3~4일 동안 배양하여 confluent를 형성시킨 후 0.25% trypsin을 처리하여 neo-EGFP와 UPIII-hEPO 유전자가 1:9로 함유된 배지에서 electroporation을 실시하였다. Electroporation은 260 V, 960 uF(Bio-RAD)으로 실시하였으며, 유전자의 도입 여부는 400 ug/ml G418로 2주 이상 처리함으로써 살아 있는 것들만 핵이식 공여핵으로 사용하였다. 수핵난자의 준비는 도축장에서 채취한 난소에서 미성숙 난자를 채취하여 NCSU 23 배양액에서 성숙 배양한 후 성숙된 난자를 핵이식 수핵난자로 사용하였다.

복제수정란의 생산은 40~44 h 동안 체외에서 성숙된 난자의 핵을 제거하고 공여핵을 주입하는 것으로 실시하였다. 전기융합은 융합과 동시에 활성화를 주는 방법(처리구1)과 융합후 추가 활성화를 주는 방법(처리구2)을 이용하였으며, 각각 처리구에서의 융합율, 2~4 세포기 그리고 배반포까지 발달율을 비교하였다.

각 처리구 1, 2에서의 융합율은 각각 50%와 54%였고, 2~4 세포기는 43.8%, 61.7%였으며, 배반포기까지의 발달율은 4.5%, 6.7%로 두 처리군간에는 유의적 차이를 보이지 않았다.

Key words) *fetal fibroblast cells, electroporation, nuclear transfer, electrofusion*