

## GFP 및 hFSH Gene을 이용한 형질전환 복제수정란의 생산

양병철, 임기순, 김동훈, 이상기, 박수봉, 성환후, 민관식<sup>1</sup>, 이연근, 장원경

축산기술연구소 응용생명공학과, 한경대학교<sup>1</sup>

복제기술은 기존의 형질전환 동물 생산의 효율을 향상시킬 수 있는 기술로서 인정하고 있으며 또한 이를 이용하여 형질전환 동물의 생산이 이루어지고 있다. 따라서 본 연구는 표지유전자 (GFP)와 유용유전자 (hFSH)를 이용하여 임신 45일령에 채취한 태아섬유아세포에 transfection 하고, transfection 된 세포의 효율적인 선발과 이를 이용한 형질전환 복제수정란을 생산하고자 실시하였다. 대조구 (KbFF), GFP (79KbFF-GFP c-3) 및 hFSH (79KbFF-hFSH n-1)에 공시한 세포는 모두 동일한 태아유래의 세포 (모 79, 부 KPN178, ♂)를 이용하였다. pAB-eGFP와 hFSH 유전자는 각각 electroporation 방법을 이용하여 transfection 하고, 이를 2주 동안 G418로 배양하며 selection 하였다.

Selection 조건을 설정하기 위하여 G418 농도를 400, 600, 800  $\mu\text{g/ml}$ 로 하여 각각 2주 동안 배양한 결과 GFP에서는 800  $\mu\text{g/ml}$ 에서 82.14%로 가장 높은 selection efficiency를 보였고 (average 64.23%), hFSH에서는 400  $\mu\text{g/ml}$ 에서 26.32%로 가장 높았다 (average 20.0%). GFP는 형광 현미경을 통하여 유효 colony를 확인하였고, hFSH는 PCR 방법으로 유효 colony를 확인하였다.

79KbFF, 79KbFF-GFP, 79KbFF-hFSH를 이용하여 핵이식하였을 때, 융합율 (66.67% vs. 67.59% vs. 61.53%), cleavage (80.23% vs. 89.72% vs. 73.07%), 그리고 blastocyst (24.51% vs. 26.02% vs. 20.19%) 발달율에 있어서 유의적인 차이는 없었다. GFP 유전자가 도입된 세포를 이용하여 발달한 복제수정란은 형광현미경으로 관찰하였을 때 모두 형광을 나타내었으며 모자이크는 관찰되지 않았다. hFSH를 생산할 수 있는 형질전환 소의 생산을 위해서 이들로부터 생산된 배반포 수정란은 대리모에 이식을 하고 있다.

Key words) 핵이식, 복제수정란, hFSH, GFP