

효율적인 Follicle Stimulating Hormone의 생산을 위한 Retrovirus Vector System의 확립

권모선, 구분철, 김태완

대구 가톨릭대학교 의과대학 생리학교실
충남대학교 형질전환 복제돼지 연구센터

본 연구에서는 vesicular stomatitis virus G glycoprotein (VSV-G)를 envelope로 가지는 pantropic retrovirus vector system을 이용하여 재조합 human *FSH* 유전자가 전이된 형질전환 닭을 생산하고자 하였다.

Human *FSH a* 및 β 유전자와 CTP linker는 human pituitary gland cDNA library에서 RT-PCR 방법을 이용하여 cloning하였으며, 각각의 fragment는 $FSH\beta$ -CTP-*FSHa* 순서의 단일사슬로 연결하였다. 연결된 $FSH\beta$ -CTP-*FSHa*는 retroviral vector 내의 β -actin promoter의 조절 하에 도입한 후, PT67 packaging cell line에 transfection하여 virus를 생산하였으며 생산된 virus는 pantropic한 virus producing cell인 GP293에 infection하여 *FSH* 유전자가 도입된 virus를 생산하였다. *FSH* 유전자의 발현을 *in vitro*에서 확인하기 위하여 CHO (chinese hamster ovary) 세포에 virus를 감염시킨 후, 세포의 배양액을 취하여 electrochemiluminescence immunoassay 방법으로 정량하였다. *In vitro*에서 전이 후 발현이 확인된 *FSH* 외래 유전자의 retroviral vector virus를 초원심분리로 고농축하여 stage X의 계란의 배반엽 층에 주입하였으며, 그 결과 18%의 부화율과 91%의 부화한 닭의 유전자 전이율을 확인할 수 있었다. 전이된 유전자의 확인은 $FSH\beta$ 와 *Neo* 유전자에 대한 primer를 이용한 RT-PCR의 방법을 이용하였다. *In vitro*에서와는 달리 *in vivo*에서는 *FSH* 유전자의 전이는 확인되었으나 발현을 확인하지는 못하였는데, 이는 적은 수의 실험군이 형질전환율에 비해 상대적으로 적지 못하였거나, 외래 유전자인 *FSH*의 발현에 의한 생리적인 부작용이 유발되어 해당 개체가 부화되지 못한 것으로 추정된다. 본 문제점을 해결하기 위하여 실험군의 수를 늘리고 외래 유전자에 대한 controllable expression system이 보완될 필요성이 요구되며, 이러한 점이 해결된다면 높은 유전자 전이율에 기인하여 retrovirus를 이용한 형질전환 방법은 형질전환 가금의 생산에 있어서 매우 효율적이고 주목할 만한 방법으로 사료된다.

Key words) *FSH*, 형질전환 닭, Retrovirus vector, VSV-G, RT-PCR