

형질전환생쥐에서 1.7 kb 및 3.1 kb bovine β -casein promoter가 human type II collagen 유전자의 발현조절에 관한 분석

나루세 겐지^{1,2} 양정희¹, 권혁빈², 유승권³, 최윤재⁴, 박창식¹, 진동일¹

¹충남대학교 동물자원학부 형질전환복제돼지센터, ²선문대학교 응용생물과,
³고려대학교, 생명공학부, ⁴서울대학교 동물자원과학과

본 연구에서는 1.7kb 및 3.1kb bovine β -casein promoter의 유전자 발현 조절능력을 알아보기 위해 1.7kb 및 3.1kb bovine β -casein promoter에 human Type II Collagen 유전자를 연결해서 DNA microinjection으로 형질전환생쥐를 생산하였다. 총 8마리의 founder 생쥐(1.7kb collagen : 5마리, 3.1kb collagen 3마리)를 생산하였고 이 founder 생쥐와 wild type 생쥐를 mating시켜서 F₁ 및 F₂ 새끼를 얻었다. F₁ 및 F₂ 새끼들에서 human Type II collagen 유전자의 transmission rate는 약 50%로 Mendel의 법칙에 따라 분리되어 안정적으로 유전자가 염색체에 정착되어 있음을 확인하였다. 이들 F₁ 및 F₂ 새끼 중 암컷들을 임신시켜 분만 후 5-10 일경에 유선조직을 포함하여 여러 조직으로부터 RNA를 추출하여 Northern blotting 및 RT-PCR 방법을 이용하여 Type II collagen mRNA의 발현을 분석하였다. 유선에서의 발현은 1.7 kb 및 3.1 kb line별로 각각 1 line씩 발현되지 않았고, 그 외 line에서는 모두 발현되는 것으로 확인되었다. 유선에서의 Type II collagen mRNA 발현량은 1.7 kb 및 3.1 kb bovine β -casein promoter사이에서는 큰 차이를 나타내지 않았으나 1.7 kb promoter 형질전환생쥐의 경우 유선 이외 조직에서도 발현되는 양상을 나타내었고, 3.1kb promoter line에서는 유선특이적으로 발현시키는 양상을 나타내었다. 그러므로 bovine β -casein promoter의 1.7 kb와 3.1 kb 사이에 유선특이적 발현을 유도하는 조절부위가 있을 것으로 추정된다.

Key words) 형질전환생쥐, bovine β -casein promoter, human Type II Collagen, Northern blotting, RT-PCR