

P-47

형질전환 공여핵의 염색체 이상이 핵이식배의 발생에 미치는 영향

황성수, 최은주, 이호준, 황수연, 민관식, 윤종택

국립한경대학교 유전공학연구소, 생물정보통신전문대학원, 동물생명자원학과

본 연구는 유용단백질을 생산할 수 있는 유용유전자가 형질전환된 공여세포를 이용하여 동물생체반응기 (Animal Bioreactor)를 생산함에 있어서 핵이식 조건과 공여핵의 상태가 핵이식배의 생산에 미치는 영향에 관하여 살펴보고자 실시하였다.

수핵난자는 TCM-199에 10% FBS와 E2가 첨가된 배양액에서 39°C, 5% CO₂ 배양기에서 20시간 동안 체외성숙을 유도하였다. 체외성숙이 끝난 후 제1극체가 명확한 난자만을 선별하여 수핵란으로 사용하였다. 공여핵은 ear cell, fetal fibroblast cell 및 형질전환된 BoMAR cell을 이용하였다. 세포융합은 BTX 2100을 이용하여 실시하였으며, 융합조건은 1.8kV/cm으로 15 μ s 동안 2차례 혹은 1.8kV/cm으로 20 μ s 동안 1차례 통전을 실시하였다. 활성화 처리는 5 μ M ionomycin에 5분간 처리한 다음 6-DMAP에서 4시간 동안 처리하였다. 활성화 처리가 끝난 재구축난자는 단층의 난구세포와 공배양을 실시하였다. 공여핵의 염색체 이상 유무를 확인하기 위하여 염색체 검사를 실시하였다.

융합조건에 따른 융합율은 1.8kV/cm으로 15 μ s 동안 2차례 통전한 처리군 (84.3%)이 1.8kV/cm으로 20 μ s 동안 1차례 통전한 처리군 (63.0%)에 비하여 높게 나타났다. 배 사멸율은 각각 13.6%와 30.3%로 나타나 1.8kV/cm으로 15 μ s 동안 2차례 통전 방법이 핵이식배 생산에 효과적인 것으로 나타났다. 공여핵의 종류에 따른 배반포 발생률에서는 ear cell의 경우 86.4%의 난할율과 36.8%의 배반포 발생율을 나타냈으며, fetal fibroblast cell의 경우 각각 75.0%, 41.7%로 나타났다. 하지만 BoMAR cell의 경우 73.3%의 난할율을 보인 반면 3.7%의 배반포 발생율을 나타내었다. BoMAR cell에서의 낮은 배반포 발생율에 대한 원인을 살펴보고자 공여핵에 대한 염색체 검사를 실시한 결과 immortalization을 위해 40계대 이상 배양을 실시한 공여핵의 경우 염색체의 숫자가 56.4 ± 1.6 및 55.4 ± 1.9 개로서 정상세포군 (59.7 ± 0.7)에 비하여 적은 것으로 확인되었다. 하지만 20계대 미만의 BoMAR cell의 경우 59.6 ± 0.7 개로서 정상적인 것으로 나타났다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때, 공여세포에 따른 적합한 융합조건을 찾는 것이 핵이식배의 발생에 중요하며, 형질전환된 공여핵을 이용한 처리군의 낮은 배반포 발생율은 immortalization을 위한 과도한 계대 배양 과정에서 발생하는 염색체 이상이 하나의 중요한 원인으로 작용할 수 있다고 사료된다. 따라서 형질전환된 세포를 공여핵으로 사용할 경우 이들 세포들의 염색체 이상 유무에 대한 확인절차가 필요할 것으로 사료된다.

Keywords: 형질전환, 핵이식, 염색체 검사