

Contact mouse : mouse@macrogen.com
Payment Inquiry: payment@macrogen.com
Technical Support Macrogen Korea: support@macrogen.com
Macrogen-Europe: support-europe@macrogen.com

Update 161205



Genetically
Engineered
Mouse

GEMouse

Transgenic mouse Production Guide

Construction of Expression Vector

Construction of Expression Vector

특정 유전자가 삽입된 유전자이식 생쥐를 만들기 위해 원하는 DNA vector를 제작한다. 즉,

- ① 발현시키고자 하는 gene (cDNA, genomic DNA, antisense DNA 등)을 선정해야 하는데, eukaryotic 혹은 mammalian gene인 경우 genomic DNA나 cDNA를 사용하고 polyA를 붙여주는 것이 일반적이다. cDNA보다는 intron을 포함하는 genomic DNA가 expression이 더 잘된다는 보고가 있어 cDNA에 intron을 포함시켜 minigene을 만들기도 한다.
- ② 원하는 부위, 원하시는 시기에 발현하도록 유도할 수 있는 적절한 promoter를 선정한다. 이때 cell line에서 expression이 확인된 promoter나 expression vector를 사용한다. Cloning vector의 종류는 유전자이식생쥐 제작에 큰 영향을 주지 않으므로 cloning에 편한 것이면 어느 것이나 무관하다. promoter는 전신적, 보편적 발현을 원하는 경우와 특정 장기, 조직, 혹은 특정 세포에 국한한 발현을 원하는 경우에 따라 달라지며, 원하는 시기에만 발현시키도록 하는 inducible promoter를 사용하기도 한다.
- ③ ①②에서 준비된 promoter와 gene으로 주입하고자 하는 DNA vector를 제작한다. 이와 같이 제작된 transgene이 mouse genome에 안정적으로 삽입될 확률은 5~10% 정도로 이 확률을 크게 좌우하는 요소들이 있다. 그 중 가장 중요한 것은 vector를 반드시 선형화하며(linearization), 이때 bacterial sequence를 제거하는 것이 좋다는 것이다. 이는 선형(linear form)의 DNA가 원형(circular form)의 DNA보다 5배정도 삽입 확률이 높다고 하며, AmpR, OriC 등 plasmid backbone origin의 sequence가 integration rate 에는 별 영향을 미치지 않으나, transgene expression을 방해한다고 알려져 있기 때문이다. (Chada et al. Specific expression of a foreign β -globin gene in erythroid cells of transgenic mouse. Nature 1985;314:377-380, Townes et al. Erythroid specific expression of human β -globin gene transgenic mouse. Embo.J. 1985;4:1715-1723). 이는 β -globin gene의 경우에서 밝혀졌으며, S.Tilghman, R. Palmiter 등에 의하면 α -fetoprotein gene, metallothionein growth hormone gene, elastase-growth hormone fusion gene 등에서도 그러하다고 알려져 있다.