

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

Microinjection/Production of Founder mouse

Microinjection/Production of Founder mouse

A. Zygote의 준비

과 배란 유도를 위하여 암컷 마우스에 PMSG와 hCG 호르몬 주사를 48시간 간격으로 주사하고, 수컷 마우스와 교미를 유도한 후, 다음날 아침 vaginal plug을 체크하여 교배 유무를 확인하며, vaginal plug이 있는 암컷 마우스의 난관으로부터 zygote를 채란한다.

- ✓ 호르몬 주사는 4주령 이상의 암컷마우스에 주사해야 한다.
- ✓ 웅성 및 전핵이 생성된 zygote를 얻기 위해서 hCG주사 후 20시간 이후에 채란한다.
- ✓ 채란 시 수정란과 난구세포를 분리하기 위해서 사용하는 Hyaluronidase의 처리, 시간을 최대한 단축시켜 zygote에 damage를 최소화 한다.

B. Holding 및 Injection 피펫의 준비

미세조작에 있어서 Holding 및 injection 피펫의 크기 및 형태는 작업 효율과 형질전환 마우스 생산 효율에 큰 영향을 미치는 요인이다.

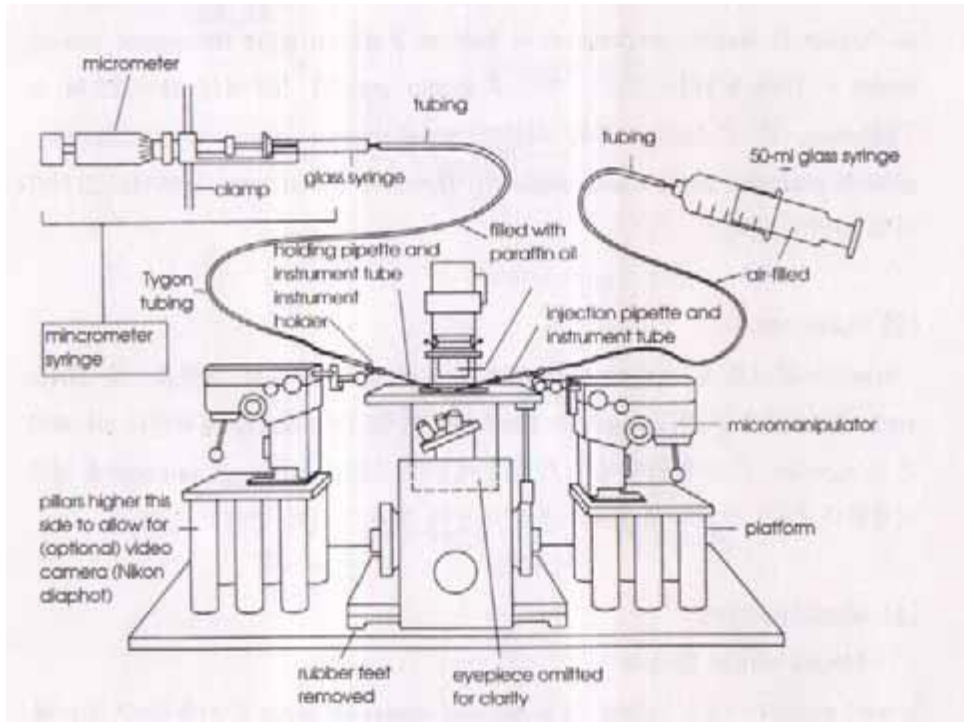
마우스 수정란의 직경이 75~85um이므로, Holding 피펫은 외경을 60~100um의 크기로 제작하고, injection 피펫은 끝이 수정란의 투명대와 세포질을 통과 할 수 있도록 sharp하게 제작한다. 그리고 injection 피펫은 현미경에 장착 후 Injection chamber의 slides 또는 dish와 평행할수 있도록 15~30도로 구부러 제작한다.

- ✓ Holding 및 Injection 피펫을 현미경에 장착 시 일직선이 되도록 한다.
- ✓ Injection 피펫에 mineral oil을 채워 DNA 용액의 흡입 및 주입 조절이 원활히 되도록 한다.

C. DNA의 주입

DNA 용액을 Injection 피펫에 loading 후, 현미경 하에서 웅성 전핵에 주입한다.

DNA의 주입 여부는 웅성 전핵의 팽창으로 확인하며, 실험자의 숙련이 많이 필요로 하는 공정이다. Microinjection은 Micromanipulator가 부착된 inverted microscope를 사용하는데, zygote의 전핵의 가장자리 경계를 분명하게 볼 수 있도록 고안된 DIC(differential interference contrast optics)의 설치가 실험 효율을 증진시킬 수 있다.



(Microinjection의 설비)

D. 수정란 이식

DNA가 주입된 수정란 중 생존한 것을 선별하여, 0.5 dpc.의 대리모의 난관에 이식한다. 한 마리의 대리모당 20개정도의 수정란을 이식할 수 있으며, 이식 후 19일째가 되면 20~30%가 분만하게 된다.