

## 닭의 W 염색체 특이 FISH(Fluorescence *in situ* hybridization) probe의 개발과 FISH기법에 의한 성의 판별

류은경\*, 손시환\*, 박태섭\*, 문제성\*, 한재용\*\*

\*진주산업대학교 낙농자원학과, \*\*서울대학교 동물자원과학과

### 서 론

닭의 W염색체의 DNA는 약 50%가 반복염기 서열로 구성되어있고, 이들 중 Xho I 에 의하여 분리되는 0.7kb와 1.1kb의 단편이 대략 14,000번과 6,000 번 정도 반복되어 있는것으로 알려져 있다(Tone 등,1982). Kodama 등(1987) 은 이들 중 Xho I family의 0.7kb 반복서열 대한 sequence를 밝히고, Clinton(1994)은 이를 이용한 primers를 제작하여 PCR로서 닭의 성의 판정을 성공적으로 수행하였다.

본 연구에서는 Clinton(1994)이 제시한 W-specific repetitive DNA를 이용하여 FISH용 probe를 개발하고, FISH기법에 의한 닭의 성 판별을 수행하고자 하였다.

### 재료 및 방법

FISH probe의 제작을 위한 W-specific repetitive DNA 5'CCCAAATATAACA-CGCTTCACT3'과 5'GAAATGAATTATTTTCTGGCGAC3' primer로 생산된 416bp를 대상으로 하였고, 이를 Dig-nick translation방법과 Dig-PCR probe synthesis 방법으로 labeling하였다. 제작된 probe를 이용한 FISH는 indirect method로서 Anti-Dig-fluorescein을 붙여 형광 양상을 관찰하였다. 성의 판별을 위하여 혈액 및 초기배자를 이용하여 염색체 표본을 제작하고 이들에 FISH를 수행하였고, 한편으로 배양하지 않은 배아세포, 초기배아, 백혈구 및 깃털 섬유아세포(feather pulp cell)에 대한 FISH 발현양상도 관찰하였다.

### 결과 및 고찰

416bp W-specific repetitive DNA를 대상으로 labeling하여 FISH를 시행한 결과 W염색체의 q1~q2 site에 형광 발현 양상을 나타내었고, 거의 대부분

분의 암컷 개체의 특정세포의 간기상에서도 발광 양상을 나타내어 제작된 FISH용 probe의 신뢰성을 입증하였다.

FISH기법을 이용하여 닭의 여러조직이나 세포들로부터 염색체의 분리없이도 성의 식별이 가능하였는 바 배양하지 않은 배아세포나 백혈구세포에서도 W염색체 특이 probe의 발현 유무를 쉽게 관찰할 수 있었으며, 특히 발생시 개체의 feather pulp로부터 분리된 섬유아세포로서도 명확한 형광 발현 유무를 나타냄에 따라 거의 완전한 초생추의 성의 판별이 가능하였다.

따라서 본 FISH probe를 이용하여 짧은 시간내 쉽고 간편하게 정확한 성의 식별이 이루어질 수 있음에 따라 학술적 뿐만아니라 산업적 활용 가능성도 충분히 있을 것으로 사료되어진다.

(Key words: FISH, W chromosome, sexing, chick)

#### 인용문헌

- Clinton, M. 1994. A rapid protocol for sexing chick embryos. *Animal Genetics* 25:361-362
- Kodama, H., Saitoh, H., Tone, M., Kuhara, S., Sakaki, Y. and Mizuno, S. 1987. Nucleotide sequences and unusual electrophoretic behaviour of the W chromosome specific repeating DNA units of the domestic fowl, *Gallus gallus domesticus*. *Chromosoma* 96:18-25
- Tone, M., Nakao, E., Narisawa, S. and Mizuno, S. 1982. Demonstration of W chromosome-specific repetitive DNA sequences in the domestic fowl, *Gallus g. domesticus*. *Chromosoma* 86:551-569