

고분염분석법(High-resolution banding)에 의한 한국재래계의 염색체 분염 표지 설정

Identification of Chromosomal Band Marker of Korean Native Chick by High-resolution Banding Technique

백규흠 · 손시환

진주산업대학교 낙농자원학과

Abstract

To obtain the genetic information of Korean native livestock, the karyotyping of Korean native chick were performed by high-resolution banding technique. The chromosomes were prepared from lymphocyte culture and early embryos with 200 Korean native chick which have been raised at National Livestock Research Institute. There were no significant difference between Korean native chick and Leghorn in the number of chromosomes and chromosomal morphological pattern. Using high resolution banding technique, the yield of G-bands of prophase is much greater than that can be obtained by International System for Standardized Avian Karyotypes(ISSAK, 1999). The G-band landmarks of Korean native chick were similar to those of ISSAK and Leghorn except some macrochromosomes. Chromosome Z and 3 had C-band variants with heteromorphic patterns on distal and centromeric site. The proportion of constitutive heterochromatin, the heterochromatin ratio of Korean native chick was significantly more than that of Leghorn in all chromosomes.

Introduction

축산분야의 국제경쟁력 제고를 위한 기술력 향상에는 우선적으로 축종에 대한 우수한 유전자원 확보가 선행되어야만 하고 이를 토대로 한 종축 및 종계의 육종과 개량이 행하여져야 한다. 이들 중 양계분야에 있어서는 체계적 산업화가 된지 오랜 기간이 소요되었음에도 아직 이렇다할 국산 종계를 보유하지 못한 실정이며

더욱이 한국 고유의 재래가축인 한국재래계에 대해서는 기본적인 유전정보가 미흡함에 따라 이들의 개량 목표가 뚜렷하지 못하고, 이에 따른 활용 대책이 미진한 형편이다. 이러한 여러 상황들을 감안할 때 우선 한국재래계의 기본적 유전 특성 파악이 선행되어야 하겠고, 이들에 대한 선발 및 체계적 육종 계획이 이루어져야 하겠다. 따라서 본 연구에서는 국내 고유 재래 가축들의 유전자원 확보의 일환으로 고분염분석(high-resolution banding) 방법에 의한 한국재래계의 표준핵형(standard karyotype) 설정과 염색체 표지들을 발굴하여 이에 대한 표준표지를 제시하므로서 정확한 유전정보를 제시하고, 유전학적 개량의 기초자료를 제공하고 자 한다.

Materials & Method

본 연구에 공시된 한국재래계로서는 축산기술연구소에서 지난 10여년간 선발 육종하여 계통화시킨 황갈색 및 적갈색 계통으로 암 수 각 100수씩을 이용하였고, 대조계로서는 서울대학교 부속동물사육장에서 사육중인 White Leghorn 순종 100수를 이용하였다. 염색체 분리는 이들이 생산한 수정란의 초기배자와 각 개체별 혈액으로부터 백혈구를 분리하여 이용하였다. 수정란은 38℃ 항온기에 24시간 배양하여 방추사형성 억제 물질인 colcemid와 전기상 유도제제인 Ethidium bromide(EtBr)를 배양 종료 1~2시간 전에 투여하여 배양종료 후 배자를 채취하고 이를 저장처리와 고정처리를 하여 slide를 제작하였다. 혈액세포는 ficoll로 백혈구를 분리하여 37℃ 배양기에서 72시간동안 배양하여 colcemid나 전기상 유도제제인 EtBr 혹은 Methotrexate와 Thymidine을 첨가하여 전기상을 유도하고, 동일한 방법으로 저장 및 고정처리 하여 slide를 제작하였다. GTG-banding은 trypsin에 15~20초간 담근후 D-PBS로 처리 후 염색 관찰하였다. CBG-banding은 0.2N HCl과 1%Ba(OH)₂, 2×SSC에 차례로 처리한 후 염색하여 분석하였다.

Result & Discussion

닭의 고분염 염색체를 유도하기 위하여 다양한 방법을 시도한 바 초기배자에서는 EtBr 2시간 후 Colchicine을 첨가하는 것과 혈액세포에서는 Methotrexate 17시간 처리 후 thymidine을 5시간 정도 처리함으로써 보다 양호한 고분염 염색체를 획득하였다(손 등, 2000). 한국재래계의 GTG-banding 결과 모든 상동염색체간에 뚜렷하고 특징적인 band양상을 얻을 수 있었고, Leghorn 및 국제표준핵형(ISSAK, 1999)과 몇몇 대형 염색체에서 다소의 차이를 나타내었다(Fechheimer, 1990). 한국재래계의 염색체는 1번이 metacentric, 2번이 submetacentric, 3번, 5번, 6번이 acrocentric으로 나타났으며, 4번은 p-arm이 있는 acrocentric, 7번은

submetacentric, 8번과 Z, W는 모두 metacentric으로 나타나 염색체의 형태적 양상에서는 품종간 또는 국제표준핵형과의 차이가 없는 것으로 분석되었다. 또한 대표적 land marker간에는 거의 일치되는 양상을 보였다. 그러나 본 연구에서 이용된 고분염분석법으로 유도된 한국재래계의 염색체는 그 길이가 일반적인 중기상의 염색체에 비해 1.3~1.8배 가량 길었고, G-band수는 중기상에 비해 1.5배 가량 많은 것으로 나타났다(손과 신, 1997). 따라서 이러한 결과들을 이용하여 한국재래계의 G-분염 표지를 국제표준핵형과 비교시 1번, 2번, 3번, 4번 염색체에서 특징적 분리 양상의 차이를 보였다. 한국재래계의 C-banding 분석에서는 염색체별 다형성을 보이기는 하나 대부분의 염색체의 동원체와 말단부위에서 dark band가 나타났다. 한국재래계의 C-band 발현빈도는 Z염색체 q-arm말단부에서 95.7%, W염색체에서는 염색체 전체에서 99.6%로 발현하였고, 3, 4, 5, 7번의 동원체에서도 56~76%의 발현양상을 보였다. 또한 3번 염색체 동원체와 Z염색체 q-arm말단부에서 특징적 다형성을 나타내어 이들 염색체들에서는 상동염색체간 heterochromatin의 이형적 양상(heteromorphic)이 존재함을 밝혔고, 이러한 다형양상은 품종간에도 뚜렷한 차이가 있음이 분석되었다.

(**Keyword** : Chick, Chromosome, High-resolution banding, G-banding, C-banding)

인 용 문 헌

- Ladjali-Mohammedi, K., Bitgood, J.J., Tixier-Boichard, M. and Ponce de Leon, F.A., 1999. International System for Standardized Avian Karyotypes (ISSAK): standareized banded karyotypes of the domestic fowl(*Gallus domesticus*). Cytogenet Cell Genet 86:271-276.
- Fechheimer, N.S., 1990. Chromosomes of Chickens. Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine 34:169-207.
- 손시환, 신영수. 1997. High-Resolution banding에 의한 닭의 핵형분석. 한국동물 유전육종학회지 (1):1-11
- 손시환, 류은경, 백규흠. 2000. 닭 초기배자로부터 염색체 분리기법의 개발; Ethidium bromide를 이용한 고정도 염색체의 유도. 한국동물자원과학회지 42(2):157-164