

# 烏骨鷄의 染色體 分染法(G-banding) 에 따른 核型分析에 관한 研究

姜 泰 錫·吳 鳳 國·孫 始 煥

서울대학교 農科大學

(1985. 11. 6. 接受)

## The Study of G-Banding Chromosome in Silkie

Tae Seok Kang, Bong Kug Ohh and Sea Hwan Sohn

College of Agriculture, Seoul National University

(Received November 6, 1985)

### SUMMARY

This experiment was carried out to identify the chromosomes of silkie. It was many difference from other breeds in morphology and characteristics. In this experiment, chromosomal analysis was used early embryos.

In aspect of morphological chromosomes, chromosomal size and shape are similar to other breeds.

The chromosomes of silkie were shown to morphology as follows. They were identified that chromosome #1 and #2 were grouped as submetacentric, #3, #5 and #6 were telocentric, #4 and #7 were acrocentric and #8 was metacentric chromosome. Z-sex chromosome was shown 5th, W-sex chromosome was 8th to 9th and they were metacentric chromosome, respectively.

Each chromosome through the G-banding was shown the 3 dark bands in 1p2, distinct light band in 1p1, dark band in 2p2, broad light band in 3p1, dark band from centromere and distal part in 4th chromosome and dark band in 5p1.

Z-sex chromosome was shown dark at p-arm distal part.

### I. 緒 論

遺傳因자를 含有하고 있는 核內的 染色體 研究는 1970年 以後부터 대단한 관심의 課題로 되었고, 染色體內 存在하는 DNA 構成에 따라 나타나는 여러 가지 banding 方法이 開發되게 되었다.

家禽의 染色體 研究에 있어서는 點의 形態로 나타나는 많은 染色體로 인해 核型分析에 따른 配列問題 및 정확한 二倍體(2n, diploid)의 數에 대하여 많

은 어려움이 따르고 있다. 하지만 體組織들인 骨髓, feather pulp, 白血球, 鷄胚兒 等の 細胞들로부터 二倍體 상태로서 染色體의 數는 모두 78個로 發表하였다 (Owen, 1965; Shoffner 등, 1967; Pollock 과 Fehheimer, 1978; Rytzman 과 Tegelstrom, 1981). 또한 이들 染色體들은 크기와 形態에 따라서 大型染色體 (macrochromosome), 中型染色體 (intermediate chromosome), 小型染色體 (micro-chromosome)로 區分하기도 한다. (Bloom, 1981). 染色體의 다양한 banding 方法에 의해 나타나는

band에 따라 遺傳因子를 究明하는 많은 研究가 이루어지고 있다.

특히 染色體를 染色하기 前에 trypsin, urea, protease를 處理하여 生成되는 染色體의 G-band (Giemsa band) 樣相은 染色體의 構造的 異常의 認知와 個體의 染色體 表識에 있어 매우 有用하게 利用되어진다.

이같은 家禽의 染色體 究明에 따라 特定 遺傳因子를 利用하려는 研究가 家禽改良 側面에서 優秀 遺傳因子만을 가진 個體를 만드는 目的으로 다양하게 應用될 수 있을 것 같다. 따라서 本 研究는 다른 品種의 닭과 外形의 異로 많은 形態的 差異를 가진 烏骨雞의 染色體 分析 및 分染法 (G-banding) 에 따라 나타나는 染色體의 band를 究明하므로써 이들의 遺傳의 本質을 밝히는데 다소 도움이 될수 있는 基礎資料를 얻고자 實施하였다.

## II. 材料 및 方法

本 實驗의 供試畜은 晋州農專에서 飼育되고 있는 烏骨雞 (♀: 2, ♂: 1) 로 부터 약 3個月間에 걸쳐 生産된 受精卵를 利用하여 孵卵 1~3日째의 胚兒를 떼어 染色體 分析을 하였으며 分染法은 Shoffner (1982)가 提示한 初期 胚兒 染色體 分析方法을 다소 修正하여 實施하였다.

### 1. 染色體 分析

1) 孵卵 1~3日째의 受精卵에 0.05% colchicine 0.1~0.3 ml 를 氣孔을 통하여 注入시킨 다음 1~3時間 더 發育시킨다.

2) Hypotonic處理: 떼어낸 胚兒를 0.45% sodium citrate 溶液에서 10~15分間 定置시킨 후 遠心分離機를 利用하여 1,000 rpm에서 10分間 遠心分離시킨다.

3) 固定 (Fixation): 處理된 胚兒를 固定液 (methanol 3: acetic Acid 1)에 옮긴후 1,000 rpm 에서 10分間 遠心分離시키고 固定液을 交換後 같은 方法으로 다시 2~3回 反復한다.

4) Slide標本: 完全히 固定된 胚兒를 利用하여 air dry method로서 常溫에서 乾燥시킨다 (Rothfels 등, 1958).

### 2. G-banding

完全히 乾燥된 slide를 0.025~0.09% trypsin

溶液에서 1~10分間 處理한 후 70%, 100% alcohol에 水洗한다. 이때 trypsin 溶液은  $Ca^{++}$ ,  $Mg^{++}$  이 없는 Hank's balanced salt solution에 溶解시켜 製造한다. 染色은 Giemsa stock solution과 phosphate buffer solution을 1:50 比率로 稀釋시켜 5~10分間 染色한다. 染色된 標本은 光學顯微鏡下 ( $\times 1,000$ )에서 染色體의 band를 觀察하고 이때 나타난 象을 寫眞 撮影한다.

## III. 結果 및 考察

Fig.1에서 나타난 烏骨雞 암컷의 染色體象은 初期 胚兒로부터 얻어진 것이며 細胞分列 中期 (metaphase)의 상태이다.

本 研究에서는 1번에서 5번까지의 大型染色體의 發見은 容易하였으나 많은 小型染色體로 인하여 正確한 染色體 數의 判別은 困難하였다.

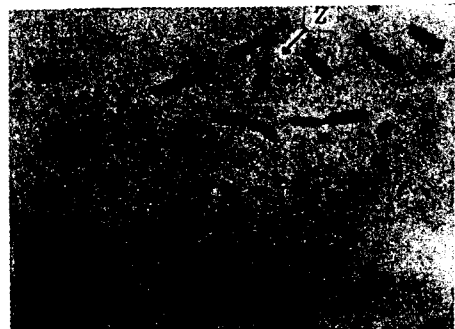


Fig.1. Metaphase chromosomes of the Silkie

이러한 染色體의 크기 및 中心粒 (centromere) 의 位置에 따라 分類되어진 大型染色體의 核型分析 (karyotype)에서 1번과 2번 染色體는 中心粒이 中間에서 조금 위에 위치하는 submetacentric이며, 3번과 5번은 中心粒이 끝에 있는 telocentric, 4번 染色體는 中心粒이 위쪽에 위치하는 acrocentric으로 나타났다. Z性染色體는 5번째 크기이며, W性染色體는 8~9번째 크기로서 이들 性染色體는 中心粒이 가운데 있는 metacentric 상태를 나타내었다. 이러한 macrochromosome의 크기 및 形態는 다른 報告者들과 거의 같은 樣相을 나타내었으나 名稱에 있어 다소 다르게 分類되어졌다 (Krishan과 Shoffner, 1966; Shoffner 등, 1967). 本 實驗에서 나타난 各 染色體의 名稱은 Paris conference (1971)에

의한 中心粒의 위치 및 染色體의 크기에 따라 命名하였다.

다른 品種의 닭과 外形적으로 많은 差異를 나타내는 烏骨雞의 遺傳적인 特性을 究明하기 위하여 이들이 갖는 染色體에 蛋白質 分解酵素 (trypsin)를 處理하여 蛋白質로 構成된 染色物質의 變性 (denaturation)으로 나타나는 烏骨雞의 G-banding 染色體象을 Fig. 2.에 提示하였으며 이들 各 染色體 別로 核型分析과 染色體들의 bands를 表示한 idiogram은 Fig. 3에 나타내었다.

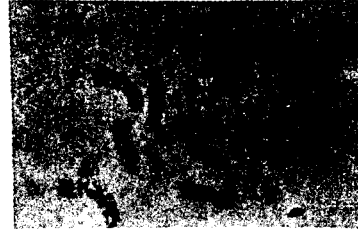


Fig. 2. Metaphase chromosomes of the Silkie treated with G-banding

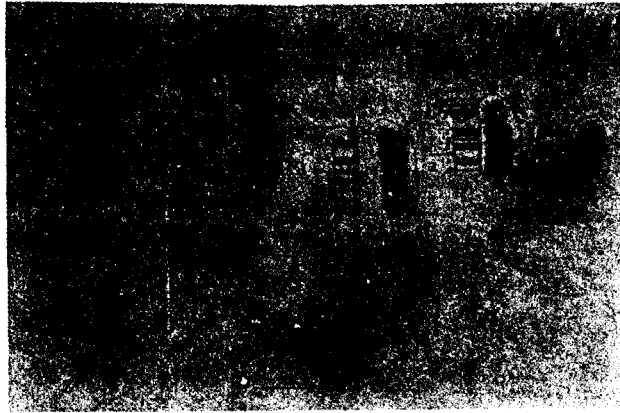


Fig. 3. The karyotype and idiogram of G-banded macrochromosomes in the Silkie

Description of the G-banded karyotype of macrochromosome in silkie

No.	arm	region	description	
1.	p.	1.	two dark and three light bands, the 2nd dark band is broad	
		2.	three dark and light bands, three dark bands, three dark band is broad, the 1st light band is distinct	
		3.	one dark and light band, these are narrow and faint	
	q.	1.	one narrow dark and broad light band	
		2.	three dark and two light bands two dark bands are broad	
		3.	one dark and distinct light band	
		4.	three dark and light bands, the 1st dark band is broad. these bands are faint	
	2.	p.	1.	two dark and three light bands the 5th light band is broad
			2.	three dark and light band the 1st dark band is broad
		q.	1.	one broad dark band and two light band the 2nd light band is broad

No.	arm region	description
		2. two dark and light band the 1st dark band is broad
		3. two dark and light band are faint
		4. two dark and light band are faint
3.		1. two broad dark bands, two broad and one narrow light bands 2. three narrow dark and light bands 3. three dark and light bands the 1st dark band is broad these are faint
4.	p.	1. two dark and three light bands the 3rd light band is broad
	q.	1. three dark and light bands two dark bands are broad 2. two dark and three light bands the 1st dark and light band is broad this arm is faint
5.		1. one broad dark and light band 2. three dark and four light bands the 2nd dark band and 4th light band is broad, these are faint
Z.	p.	1. two dark and light bands the 2nd dark band is broad 2. one broad dark and two light bands the 3rd light band is broad these are faint

本實驗에서 나타난 烏骨鷄의 G-band 樣相을 吳等 (1985)이 發表한 卵用種과 肉用種의 G-band 樣相과 比較하면 烏骨鷄의 1번 p-arm의 가운데 부분 (central part)에서 dark band가 이들보다 많은 3개로 나타났으며, 2번 q-arm의 가운데 부분에서도 dark band가 1개가 많은 2개의 dark band를 나타내고 3번에서는 가운데 부분에서 dark band가 1개 많은 3개로 나타났다. 4번의 q-arm에서도 dark band가 2개 더 많은 5개의 dark band가 나타났고, Z 性染色體에서는 p-arm의 中心粒 윗쪽 (proximal part)에서 卵用種보다 1개, 肉用種보다 2개가 많은 dark band의 樣相을 보이면서 q-arm에서는 1개가 더 많은 4개의 dark band를 나타내었다.

또한 Wang과 Shoffner (1974)는 닭의 Z 性染色體의 p-arm 末端部에서 밝은 band를 나타내며 q-

arm 末端部에서는 dark band를 나타낸다고 報告하였으나 本實驗에서는 p-arm의 末端部에서 dark band를 나타내었고 q-arm의 末端部에서는 이들과 比較하기가 어려웠다. 하지만 Rytzman과 Tegeltrom (1981)이 發表한 닭의 1번과 2번 染色體에서 현저히 밝게 나타나는 band와 어렵게 나타나는 G-band 樣相은 本實驗에서 나타난 band와 비슷한 樣相을 띄었다.

이같은 band 樣相의 差異를 完全히 說明하기는 어렵지만 G-banding의 技術的 問題와 烏骨鷄의 特徵을 나타내는 頭部 hernia, 五趾와 같은 突然變異, 기타 많은 外形의 差異를 가지는 遺傳的 原因에서 banding 樣相이 서로 다르게 나타나는 것으로 思料된다. 따라서 이러한 banding에 의해 나타나는 樣相을 좀 더 確實히 究明하기 위하여는 보다 具體的인 理論과 技術이 隨伴되어야 할 것으로 생각된다.

## IV. 摘 要

本 研究는 다른 品種의 닭과 形態의으로 많은 差異를 나타내는 烏骨雞를 利用하여 이의 染色體를 分析 究明하였다. 이들의 染色體 分析은 初期 胚兒를 利用하였으며 trypsin의 處理로 G-band의 樣相도 살펴보았다.

實驗 結果 나타난 染色體의 크기 및 形態에 있어서는 다른 品種의 닭과 비슷한 樣相을 띄었으며 이들 各 染色體들의 자세한 形態的 特徵은 1번과 2번 染色體는 sub-metacentric, 3번과 5번 그리고 6번 染色體는 telocentric, 4번과 7번 染色體는

acrocentric, 8번 染色體는 metacentric 形態를 나타내었다. Z 性染色體는 크기에 있어서 5번째를 나타내고 W 性染色體는 8~9번째 크기로 이들 모두 metacentric으로 나타났다.

G-banding을 통한 各 染色體의 樣相은 1p2에서 鮮명한 dark band 3개가 나타났으며 1p1에서 鮮명한 light band가 나타났다. 2p2에서는 dark band, 2p1에서는 light band가 鮮명하게 나타났다. 3q1에서는 dark와 light band가 넓게 나타났다. 4번 染色體에서는 中心粒과 末端部에서는 dark band를 보였다. 5번 染色體에서는 5q1에서 鮮명한 dark band를 나타내었으며 Z 性染色體에서는 p-arm 末端部에서 dark band를 보였다.

## V. 引用文獻

1. Bloom, S.E. 1981. Detection of normal and aberrant chromosome in chicken embryo and in tumor cell. Poultry Sci. 60 : 1355 - 1361.
2. Krishan, A. and R.N. Shoffner. 1966. Sex chromosomes in the domestic fowl, turkey and the chinese pheasant. Cytogenetics 5 : 53 - 63.
3. Owen, J. T. 1965. Karyotype studies on Gallus domesticus. Chromosoma (Berl) 15: 601 - 608.
4. Paris conference. 1971. Standardization in human cytogenetics. Cytogenetics 11 : 313 - 362.
5. Pollock, D. L. and N. S. Fechheimer. 1978. The chromosomes of cockerls during meiosis. Cytogenet. Cell Genet. 21 : 267 - 281.
6. Rothfels, K.H. and L. Siminovitich. 1958. An air-drying technique for flattening chromosomes in mammalian cells grown in vitro. Stain Tech. 33 : 73 - 77.
7. Rytman, H. and H. Tegelstrom. 1981. G-banded karyotypes three Galliformes species. Domestic Fowl, Quail, and Turkey. Hereditas 94: 165 - 170.
8. Shoffner, R. N. 1982. Personal communication.
9. Shoffner, R. N., A. Krishan, G. H. Haiden, R.K. Bammi and J. S. Otis. 1967. Avian chromosome methodology. Poult. Sci. 46: 333 - 344.
10. Wang, N and R.N. Shoffner. 1974. Trypsin G- and C-banding for interchange analysis and sex identification in the chicken. Chromosoma (Berl) 47: 61 - 69.
11. 오봉국, 여경수, 서봉보. 1985. 닭의 경제형질개량을 위한 염색체분염분석과 표식인자의 구명에 관한 연구. 한국육종학회지 17(1): 70 - 84.