

# GTG banding에 의한 경주지방의 무미 또는 단미 형태의 개(경주개 동경이)의 핵형분석

최석규 · 성기창 · 이은우<sup>1</sup> · 박창은<sup>2\*</sup>

서라벌대학 애완동물보건관리과, <sup>1</sup>경북대학교 수의학과, <sup>2</sup>남서울대학교 임상병리학과

(접수 2010. 5. 1, 개재승인 2010. 6. 11)

## Chromosome analysis by GTG banding technique in the DongGyeongi dogs

Seog-Kyu Choi, Ki-Chang Sung, Eun-Woo Lee<sup>1</sup>, Chang-Eun Park<sup>2\*</sup>

Department of companion animal public health, Sorabol College, Gyeongju 780-711, Korea

<sup>1</sup>Department of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

<sup>2</sup>Department of Biomedical Laboratory Science, Namseoul University, Cheonan 331-707, Korea

(Received 1 May 2010, accepted in revised from 11 June 2010)

### Abstract

None of the numerous published canis idiogram and karyotypes has yet been generally accepted as a standard one because the dog has 76 acrocentric autosomes of similar size and shape. The karyotypes of DongGyeongi dog were analysed by conventional trypsin/Giemsa staining (GTG-banding techniques), and were compared with one another. There were no variations in karyotypes which were analysed by conventional GTG-banding techniques, but differences were observed in G-banding patterns with sapsaree (or canis familiaris strains). It is not clear that these disagreements in G-banding patterns between strains of dog were caused by chromosome polymorphism or a difference in interpretation.

**Key words :** Karyotype, GTG banding, DongGyeongi, Mosaicism

### 서 론

유전자 지도의 작성을 위해서 반드시 선행되어야 하는 일은 해당 생물종의 핵형을 확립하는 것이다. 이러한 관점에서 사람(ISCN, 1995), 쥐(Dev 등, 1973; Schnedl과 Schnedl, 1972)의 분염법에 의한 표준핵형이 이루어졌다. 그러나 개에 대한 핵형의 경우 많은 연구들(Gustavsson, 1964; Manolache 등, 1976)에 의해 이루어졌지만 GTG 등에 의한 완전한 표준 핵형은 확립되어 있지 않고 있다.

개의 염색체 수는  $2n=78$ 개로 밝혀졌다(Reimann 등, 1999). 그러나 개의 염색체들은 성염색체를 제외하고 대부분의 상염체는 동원체가 한쪽 끝에 있는 단부염색체이고 그 크기가 비슷하기 때문에 일반염색에 의한 각 염색체의 동정이 불가능하다. 이러한 문제를 해결하기 위하여 개발된 C-banding, G-banding 등의 분염법들을 이용하여 개의 핵형분석이 이루어져왔다(Selden 등, 1975; DiBerardina 등, 1990).

그러나 분염법에 의한 핵형은 품종에 따라 다르게 보고되기도 하고 같은 품종이라 하더라도 연구자들에 따라 일부염색체들의 banding pattern이 달리 보고되기도 하여 현재까지 개에 대해서는 분염법에 의한 표준

\*Corresponding author: Chang-Eun Park, Tel. +82-41-580-2722,  
Fax. +82-41-580-2932, E-mail. pce@nsu.ac.kr

핵형이 확립되지 않았다.

개의 G-banding 표준 핵형이 확립되기 어려운 것은 중부동원체 염색체(metacentric chromosome)인 X, Y 염색체를 제외한 모든 상염색체들이 말단동원체형 염색체(acrocentric chromosome)이고 염색체들의 크기의 차이가 아주 미세하며, 특히 22번 이하의 염색체는 아주 작기 때문이다.

이에 우리나라에서는 진도견(Kim과 Ok, 1996) 및 1992년 천연기념물 386호 토종견으로 잘 알려진 삽사리뿐만 아니라 세퍼드에 대해서 C-banding, G-banding에 의하여 핵형분석을 실시하고 이를 보고하였다(탁 등, 1992). 따라서 이 연구에서는 역사적 문헌 고찰에서 토종견으로 알려진(최 등, 2008) 경주지방의 무미 또는 단미 형태의 개(일명, 경주개 동경이)에서 세포유전학적 핵형분석을 통하여 동경이의 품종 간 염색체 다변형 현상 및 염색체의 수적 결함이 있는지를 관찰하고자 하였다. 한편, GTG banding 법을 통해 유전자 수준의 결함, 염색체의 미세한 결손 및 추가, 분포율이 매우 낮은 비정상 핵형의 섞임증(mosaicism, 단일수정에도 불구하고 유전적으로 다른 세포집단이 한 개체에서 둘 이상 공존하는 상태를 말함)을 분석하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 대상동물

경북 경주지역을 중심으로 무미 또는 단미 형태의 개(일명, 경주개 동경이)를 대상으로 유전학적으로 혈통이 보존된 4대까지 개체를 대상으로 조사하였다. 1



Fig. 1. G-banded metaphase spread of DongGyeongi (4th generations, Hwa-Rang; 2n=78, XY)

대는 서라벌(암컷), 2대는 아름이(암컷), 3대는 오류(수컷), 4대는 화랑(수컷)과 원화(암컷)로 총 5개체를 조사하였다.

### 핵형분석

핵형분석은 Seabright(1971)와 Rønne(1989)의 방법에 의해 수행되었고 우선 말초혈액을 채취하기 위해 멸균한 주사기에 혼파린을 넣고 개의 앞다리 정맥에서 10ml의 혈액을 채취한 다음 RPMI 1640과 fetal calf serum (FCS)과 phytohemagglutinin, penicillin을 혼합하여 만든 배지에서 배양하였다. 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 72시간 배양시킨 뒤 colcemid (Gibco-BRL)를 50μl 첨가시킨 후 1,000rpm에서 10분간 원심 분리하였다. 조심스럽게 상층 배양액을 버리고 저장액(hypotonic solution: 0.075M KCl) 5ml를 첨가한 37°C에서 40분간 배양하였다.

그리고 고정제 Carnoy's 용액(methanol: acetic acid = 3 : 1) 500μl를 첨가하여 천천히 혼합하고 1,000rpm에서 10분간 원심 분리하였다. 조심스럽게 상층 배양액을 버리고 고정제 Carnoy's 용액 3ml를 첨가하여 완전히 혼합하고 20분 후에 1,000rpm에서 10분간 원심 분리하여 상층액을 제거하였다. 그 후 Carnoy's 고정제로 1회 추가 처리하였다.

남은 침사 내의 세포액(pellet) 2~3방울을 슬라이드에 떨어뜨려 60°C에서 30분간 건조시켰다. 그 후 세포를 위에 50% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 3분간 처리하고, 다시 60°C에서 30분간 건조시켰다. 건조된 염색체 표본을 GTG banding을 위해서 0.025% trypsin의 phosphate buffered saline(PBS)용액에 slide 표본을 10~30초 처리하였고



Fig. 2. G-banded metaphase spread of DongGyeongi (4th generations, Won-Hwa; 2n=78, XX).

5% Giemsa 용액으로 염색하였다. 그 후 증류수로 세척한 뒤 공기 건조시킨 슬라이드를 1,000배 시야에서 검경하였다. GTG banding은 ChIPS-Karyo(Chromosome Image Processing System, GenDix, Inc. Seoul, Korea)를 이용하여 20개 이상의 중기세포에서 저장, 분석하였다.

## 결과

### 중기상 세포 유도 및 염색체의 분포

경주개 동경이의 혈액에서 염색체 관찰을 위해 세포들의 배양 과정 및 중기(metaphase) 세포 유도가 헤파린이 처리된 동경이 혈액에서 잘 유도 되었는지를 알

아보기 위해 중기 때 염색체 분포를 관찰하였다.

Fig. 1은 동경이 4대째의 수컷(화랑)의 중기 때 염색체 분포이고, Fig. 2는 동경이 4대의 암컷(원화)의 중기 때 염색체 분포를 보여주는 결과이다. 결과에서와 같이 banding 염색과 염색체의 수가 잘 보존되어 관찰되었고 세포분열과정 중 중기 유도와 염색체 분포 양상이 잘 분포되고 있음을 관찰할 수 있었다.

### 4대에 걸친 핵형분석 결과

Fig. 3~7의 결과는 동경이의 1대의 서라벌(암컷), 2대 아름이(암컷), 3대 오류(수컷), 4대는 화랑(수컷)과 원화(암컷)로 총 5개체의 핵형분석을 조사하여 염색체의 수적 이상 또는 세대 간의 변이유무를 알아보기 위한 결과로 이는 세대 간에 차이가 나는 염색체의



Fig. 3. G-banded karyotype of DongGyeongi (1st generations, Sorabol; 2n=78, XX).



Fig. 5. G-banded karyotype of DongGyeongi (3rd generations, Oryu; 2n=78, XY).



Fig. 4. G-banded karyotype of DongGyeongi (2nd generations, Areumi; 2n=78, XX).

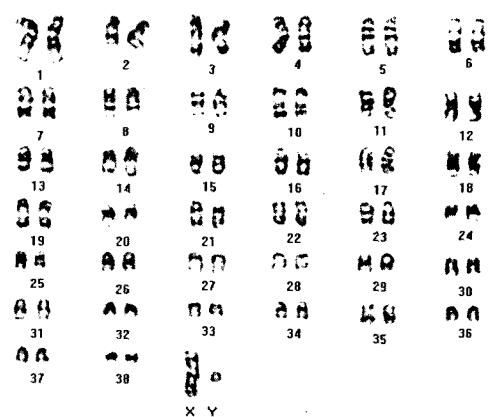


Fig. 6. G-banded karyotype of DongGyeongi (4th generations, Hwa-Rang; 2n=78, XY).



Fig. 7. G-banded karyotype of DongGyeongi (4th generations, Won-Hwa;  $2n=78$ , XX).

banding pattern을 관찰할 수 없었다.

## 고 찰

기존에 알려진 삽사리, 진돗개, 세퍼드의 염색체 수와 같이 동경이의 염색체 수는  $2n=78$ 개로 다른 품종의 개들과 차이가 없었으며, 일반 Giemsa 염색에 의한 이들의 핵형분석 결과에서와 같이 염색체의 수가 동일하게 38쌍의 상염색체가 대부분 단부(acro-centric) 혹은 차단부(submetacentric) 염색체로 분포하고 있음을 알 수 있었다.

G-분염법에서는 모든 상동염색체를 뚜렷하게 구별할 수가 있었으며, trypsin을 이용하여 동경이의 G-분염의 핵형을 얻어 이들의 핵형도를 작성하여 세대 간에 비교하였다(Fig. 3~7). 염색체가 대체적으로 X염색체는 차중부 염색체였으나 Y염색체는 차중부 혹은 중부염색체로 관찰할 수 있었으며, X염색체와 상염색체 중 가장 큰 1번 염색체를 제외한 나머지 염색체들은 일반 염색으로는 뚜렷하게 구별되지 않은 것이 단점이라 할 수 있다.

이는 처음으로 Switonski 등(1996)이 보고한 21번까지 염색체와 성염색체에 대해 보고하였으나 21번이후의 염색체에 대해서는 저자들마다 논쟁이 많아 이를 보완하기 위해 Langford 등(1996)은 해상도와 특이도를 높여 1번에서 21번까지와 성염색체에 대해 국제적인 표준화로 확립하였다. 그러나 여전히 17개의 염색체

에 대해서는 숙제로 남아 있으며 combined banding/FISH(fluorescence *in situ* hybridization)법 등의 분자 세포유전학적 방법을 통해 확립해야 할 것으로 사료된다.

기존에 보고된(김과 윤, 2002) 삽사리의 경우는 대부분의 상염색체들이 동원체(centromere) 부위에 절게 염색된 띠가 나타나고 어떤 염색체들은(8, 9, 18, 20, 38)의 동원체 부위는 염색이 되지 않은 것으로 보고 하였다.

이에 반해 대부분의 상염색체들이 동원체 부분 절게 염색되어 짙은 띠를 보이고 14, 24, 25, 27, 28, 33, 34번의 염색체 일부에서 동원체의 염색성이 약한 결과를 보였다.

G-banding에서 사람 염색체와 비슷한 염색성인 X염색체에는 5개의 진한 띠가 나타난 경우는 삽사리의 보고(김과 윤, 2002)와 비슷한 양상을 보였으나 Y염색체에서는 정단부위에 2개의 뚜렷한 띠가 관찰되는 삽사리에 비해 뚜렷한 염색성을 관찰할 수 없던 점이 삽사리와 차이점이라 할 수 있다.

기존의 보고된(김과 윤, 2002) 품종에 있어서 개체간의 띠의 굵기나 위치가 다소 차이는 있었지만 거의 대부분이 비슷한 양상을 보였다. 개의 품종간의 G-분염법에 의한 양상의 이러한 변이는 염색체의 다변형현상에 의한 것인지 아니면 인공산물에 의한 것인지는 아직까지도 명확하게 얘기할 수 없으며 또한 실험자의 기술적인 측면과 염색성의 차이, 세척시간, 핵형 분석시 이미지 해상도의 차이 등으로 인해 결과의 차이를 보이는 것으로 사료된다.

따라서 이에 동일한 실험 과정을 통해 국내 토종견들에 대한 비교 분석을 재조명할 필요가 있을 것으로 사료된다. 개는 단일종으로서 수백 이상의 품종이 있으며 품종에 따라서는 같은 종이라고 할 수 없을 정도로 커다란 형질을 보이는 특이한 종이다. 또한, 인간과 유사한 생리학적 특징을 많이 가지고 있다는 것 등과 관련하여 국내. 외적으로 개의 표준 핵형을 확립하고자 많은 노력들이 기울여져 왔다(Stone 등, 1991; Graphodatsky 등, 1995; Fischer 등, 1996; Pieńkowska-Schelling 등, 2008).

그러나 아직까지도 고해상도를 보이는 염색법 및 분염법의 개발이 미흡한 실정이어서 향후 토종견들에 대한 고도의 banding technique, 토종견의 특정 염색체를 probe로 하는 FISH 기법들이 사용되어 표준화를 이루어져야 할 것으로 사료된다.

이와 같은 일부 염색체들에서의 품종간의 차이가 품종간의 지표가 될 수 있는지 아니면 형태적, 생리적 차

이와 관련하여 생긴 품종간의 염색체의 다변형 현상인지 혹은 실험결과에 대한 해석상의 차이인지를 판단하기 위해 더 많은 수의 분석을 통한 재현성을 검사해야 할 것으로 사료된다.

## 결 론

경주개 동경이의 염색체 수는  $2n=78$ 이며 염색체의 형태를 보면 단부 또는 차단부 염색체이며 그 크기가 작고 크기의 차이가 나지 않는 염색체들이 많아 G-banding 등에 의한 핵형의 표준화가 완전하게 이루어지고 있지 않다.

일반 Giemsa염색에 의한 핵형에서는 삽사리와의 품종 간에 특이한 변이는 없었으며, G-분염법에 14, 24, 25, 27, 28, 33, 34번의 염색체 일부에서 동원체의 염색성이 약한 결과를 보였다. 이러한 G-banding에 의한 결과는 아직 표준화가 되어있지 않지만, 유전자 수준의 결함, 염색체의 미세한 결손 및 추가, 분포율이 매우 낮은 비정상 핵형의 섞임증은 없었으며 1대부터 4대까지의 경주개 동경이에서 잘 보존되어 있어 향후 염색체 및 유전자 분석 동정의 지표로 활용할 수 있으리라 사료된다.

## 참 고 문 헌

- 김종봉, 윤인숙. 2002. GTG, High-Resolution, Nor-banding에 의한 개의 염색체 분석. 한국생명과학회지 12(5): 605-609.
- 최석규, 성기창, 이은우, 박창은, 박순태, 조길재, 송해범. 2008. 경주개 동경이에 대한 역사적 기원의 고찰. 한국동물복지학회 5(1): 67-77.
- 탁연빈, 하지홍, 김종봉, 박희천. 1992. 고유견 삽사리의 보호육성에 관한 연구. 과학재단 목적기초연구 제 2차년도 중간보고서.
- Dev VG, Miller DA, Miller OJ. 1973. Chromosome markers in *Mus musculus*: strain differences in C-banding. Genetics 75(4): 663-670.
- DiBerardina D, Hayes H, Fries R, Long S. 1990. International system for cytogenetic nomenclature of domestic animals. The Second International Conference on Standardization of Domestic Animal Karyotypes, INRA, Jouy-en Josas, France, 22nd-26th May, 1989. Cytogenet Cell Genet 53(2-3): 65-79.

- Fischer PE, Holmes NG, Dickens HF, Thomas R, Binns MM, Nacheva EP. 1996. The application of FISH techniques for physical mapping in the dog (*Canis familiaris*). Mamm Genome 7(1): 37-41.
- Graphodatsky AS, Beklemisheva VR, Dolf G. 1995. High-resolution GTG-banding patterns of dog and silver fox chromosomes: description and comparative analysis. Cytogenet Cell Genet 69(3): 226-231.
- Gustavsson, I. 1964. The chromosomes of the dog. Hereditas 51: 187-189.
- ISCN. 1995. An international system for human cytogenetic nomenclature (Mitelman, F. eds). Basel, S. Karger.
- Kim JB, Ok HS. 1996. G-banded karyotype of Korean Jindo dog (*Canis familiaris*) Korean J Genetics 8(4): 183-188.
- Langford CF, Fischer PE, Binns MM, Holmes NG, Carter NP. 1996. Chromosome-specific paints from a high-resolution flow karyotype of the dog. Chromosome Res 4(2): 115-123.
- Manolache M, Rose WM, Schmid M. 1976. Banding analysis of the somatic chromosomes of the domestic dog (*Canis familiaris*). Can J Genet Cytol 18: 219-234.
- Pieńkowska-Schelling A, Schelling C, Zawada M, Yang F, Bugno M, Ferguson-Smith M. 2008. Cytogenetic studies and karyotype nomenclature of three wild canid species: maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*), bat-eared fox (*Otocyon megalotis*) and fennec fox (*Fennecus zerda*). Cytogenet Genome Res 121(1): 25-34.
- Reimann N, Bartnitzke S, Nolte I, Bullerdiek J. 1999. Working with canine chromosomes: current recommendations for karyotype description. J Hered 90(1): 31-34.
- Rønne M. 1989. Chromosome preparation and high resolution banding techniques. J Dairy Sci 72(5): 1363-1377.
- Schnedl W, Schnedl M. 1972. Banding patterns in rat chromosomes (*Rattus norvegicus*). Cytogenetics 11(3): 188-196.
- Seabright M. 1971. A rapid banding technique for human chromosomes. Lancet 30; 2(7731): 971-972.
- Selden JR, Moorhead PS, Oehlert ML, Patterson DF. 1975. The Giemsa banding pattern of the canine karyotype. Cytogenet Cell Genet 15: 380-387.
- Stone DM, Jacky PB, Prieur DJ. 1991. The Giemsa banding pattern of canine chromosomes, using a cell synchronization technique. Genome 34(3): 407-412.
- Switoński M, Reimann N, Bosma AA, Long S, Bartnitzke S, Pieńkowska A, Moreno-Milan MM, Fischer P. 1996. Report on the progress of standardization of the G-banded canine (*Canis familiaris*) karyotype. Committee for the Standardized Karyotype of the Dog (*Canis familiaris*). Chromosome Res 4(4): 306-309.