

닭 텔로미어 길이의 유전력 추정과 유전 전이 양상

박 단 비 · 손 시 환[†]

경남과학기술대학교 동물생명과학과

Inheritance and Heritability of Telomere Length in Chicken

Dan Bi Park and Sea Hwan Sohn[†]

Department of Animal Science and Biotechnology, Gyeongnam National University of Science and Technology, Jinju 660-758, Korea

ABSTRACT Telomeres are the ends of the eukaryotic chromosomes and consist of a tandem repetitive DNA sequence and shelterin protein complex. The function of telomere is to protect chromosome. Telomere length in somatic cells tends to decrease with organismal age due to the end replication problem. However, several factors at the genetic, epigenetic and environmental level affect telomere length. In this study, we estimated heritability of telomere length and investigated inheritance of telomeres in a chicken. Telomere length of lymphocytes was analyzed by semi-quantitative polymerase chain reaction using telomere primer and quantitative fluorescence *in situ* hybridization using telomeric DNA probe. In results, heritability of telomere length was estimated 0.9 at birth by offspring-parent regression analysis and was estimated 0.03 and 0.04 at 10 and 30 weeks old, respectively, by parental variance analysis. There was a significant positive correlation in telomere length between father and their offspring ($r=0.348$), and mother and their offspring ($r=0.380$). In inheritance patterns of telomere length, the influence of paternal and maternal effect on their offspring was similar. The influence of inherited telomeres on male and female progeny was also roughly alike. These results implicated that imprinting of parental telomere length was regulated by autosomal genes, not sex linked genes. In addition, telomere length of offspring at birth did not differ along with their maternal age. Thus, maternal age does not affects telomere length in their offspring at birth owing to cellular reprogramming at early embryonic stage.

(Key words : heritability, telomere length, inheritance, chicken)

서 론

텔로미어(telomere)는 진핵생물의 염색체 양 말단부를 지칭하는 것으로 TTAGGG의 단순 임의 반복 염기 서열과 shelterin이라는 단백질 복합체로 구성되어 있다(Wellinger and Sen, 1997; de Lange, 2005). 텔로미어의 기능은 염색체의 비정상적인 결합과 분리를 방지하며, 염색체의 형태를 유지하고 보호함으로써 유전체의 안정성에 중요한 역할을 한다(Blackburn, 1991, 2001; Zakian, 1995; Shay, 1999; Blasco, 2007). 텔로미어는 세포 분열 때마다 일정 길이의 감축이 일어나는데, 이는 DNA 복제 때 lagging strand(5')의 말단 부위가 복제되지 않음으로 인해 유발되는 현상으로 DNA가 일정 길이 이하가 되면, 분열이 정지되어 세포 사멸이 일어난다. 따라서 세포의 노화가 진행됨에 따라 텔로미어 길이가

짧아져, 텔로미어가 생물체의 수명에 직접적 영향을 미치는 요인으로 간주된다(Greider and Blackburn, 1985; Wright et al., 1996; Faragher and Kipling, 1998; Monaghan and Haussmann, 2006).

텔로미어 길이는 종(種)과 같은 유전적 요인뿐만 아니라, 섭생(feeding)이나 스트레스와 같은 외적 환경 요인들에 의해 큰 영향을 받는 것으로 알려져 있다(Von Zglinicki, 2006; Zannoli et al., 2008; Sohn et al., 2011). 텔로미어는 척추동물의 경우, 연령이 증가함에 따라 자연스럽게 길이의 감축이 진행되나, 여러 가지 요인에 의해 감축 정도의 변이가 나타나게 되는 것이다. 따라서 텔로미어 길이 변이에 대한 유전적 효과가 어느 정도인가와 이들의 유전 전이 양상을 구명하고자 하는 연구가 현재 활발히 진행되고 있다. 사람의 텔로미어 길이에 대한 유전력 추정 연구에서 연구자에 따라

[†] To whom correspondence should be addressed : shsohn@gntech.ac.kr

34~82% 정도임을 보고하고 있다(Broer et al., 2013). 4세, 17세 및 44세의 쌍생아를 대상으로 유전력을 분석한 결과, 78%로 추정하였고, 유전적 요인과 연령 간의 상호작용은 없는 것으로 보고하였다(Slagboom et al., 1994). 그러나 73세에서 95세의 노년층을 대상으로 한 연구에서는 이의 유전력을 34%로 추정 보고하고 있다(Bischoff et al., 2005), 또한 중년층을 대상으로 한 특정 그룹의 연구에서 텔로미어의 유전력을 36%로 제시한 반면(Andrew et al., 2006), 유사 연령층을 대상으로 또 다른 그룹에서는 82%로 추정 제시하였다(Vasa-Nicotera et al., 2005). 이러한 유전력 추정치의 일관되지 못한 연구 결과들은 추정 대상 표본들이 다르고, 텔로미어 길이의 분석 방법이 상이한데 기인한 결과로 보인다(Horn et al., 2010). 한편, 텔로미어 길이의 유전전이 양상에 대한 초기 연구에서 텔로미어는 X 염색체와 연관하여 모계로부터 강력하게 유전된다고 하였으나(Nawrot et al., 2004), 이후 많은 연구들에서 부와 자식 간 텔로미어 길이의 상관이 모와 자식 간의 상관보다 훨씬 강함을 보고하여, 텔로미어의 유전은 부계와 더욱 관련이 있다는 상반된 결론을 제시하였다(Njajou et al., 2007; Nordfjall et al., 2005, 2010; Kimura et al., 2008). 반면, 조류에서 텔로미어의 유전은 부계보다는 모계와의 연관성을 제시하고 있는데, 텔로미어의 유전은 성 염색체의 이형 접합성과 깊은 관련이 있다는 이론을 제시하고 있다(Horn et al., 2011). 그러나 이러한 이론들의 정확한 기전들은 아직 밝혀지지 않은 상태이다. 닭은 상대적으로 긴 텔로미어 길이와 분포의 다양성으로 인해 텔로미어 연구에 무척 흥미있는 소재이지만, 지금까지 이들에 대한 텔로미어 연구는 매우 제한적으로 이루어지고 있다(Sohn and Cho, 2010). 따라서 본 연구에서는 닭의 텔로미어 길이에 대한 유전력을 추정하고, 텔로미어가 어떠한 양상으로 자식들에게 유전되는지 텔로미어의 유전전이 양상을 살펴보고자 한다.

재료 및 방법

1. 공시동물

닭의 텔로미어 길이에 대한 유전력 추정 및 유전전이 양상의 구명을 위하여 경남과학기술대학교 종합농장에서 사육 중인 한국재래닭(Korean Native Chicken) 적갈색종 및 단관백색레그혼종(Single Comb White Leghorn)을 공시하고, 각 품종별 수컷 1수와 암컷 7~10수를 하나의 가계로 하여 총 47가계를 조성하였다. 각 가계에서 생산된 종란을 부화하여 생산된 자손들과 그 부모들에 대한 혈액을 채혈하여 백혈구(lymphocyte)의 텔로미어 길이를 분석하였다. 본 시험에 관련된 닭의 관리 및 취급은 본 대학 동물실험윤리위원회(IACUC)의 규정을 준수하였으며, 사전 승인을 받았다.

2. qRT-PCR을 이용한 텔로미어 길이 분석

닭의 genomic DNA는 부모의 익 정맥과 발생 자손의 심장에서 혈액을 채혈하고, 이들 혈액으로부터 Exgene™ Blood SV kit(Gene All Biotechnology Co., LTD, Seoul, Korea)를 이용하여 분리하였다. Real-time polymerase chain reaction (PCR)을 위한 primer 제작은 telomeric DNA를 표적 유전자로 하고, reference gene으로는 18s ribosomal RNA로 하여 primer-dimer가 형성되지 않도록 제작하였다(Table 1). Quantitative PCR은 LightCycler 480II real-time PCR machine(Roche, Mannheim, Germany)을 이용하여 다음과 같이 시행하였다. PCR 반응물은 DNA 5 µL(10 ng/µL), primer(5 pmol/µL) 각각 0.5 µL, SYBR Green(Roche, GmbH, Mannheim, Germany) 10 µL, ddH₂O 4 µL를 넣어 최종 volume이 20 µL가 되도록 하고, 95°C에서 5분 처리하여 최초 변성시킨 후, 95°C 10초 변성, 60°C 45초 접합, 72°C 20초간 신장 반응을 40회 반복한 다음, 65°C에서 1분간 재확장 과정을 실시하였다. 이후 0.5°C씩 상승시켜 SYBR Green이 떨어져 나오는 과정을 실시간 형광 모니터링하였다. T_m 값의 측정은 LightCycler 480 software v1.5(Roche Diagnostics, GmbH, Mannheim, Germany)를 이용하여 분석하였다. Reference gene을 이용한 각 표적 유전자의 상대적 정량 값은 Livak and Schmittgen(2001)이 제시한 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 값으로 분석하였다.

Table 1. Telomeric DNA primers used for the quantitative real-time PCR

	Genes	Primers	Sequences(5'-3')	Size(bp)
Target gene	Telomere	Forward	CGGTTTGGTTTGGGTTTGGGTTTGGGTTTGGGTTTGGGTT	76<
		Reverse	GGCTTGCCTTACCCTTACCCTTACCCTTACCCTTACCCT	
Reference gene (GenBank Q018752.1)	18s ribosomal RNA	Forward	GGCGGCTTTGGTGACTCTAG	148
		Reverse	ATCGAACCCCTGATCCCCCGT	

3. 형광접합보인법을 이용한 텔로미어 길이 분석

혈액 중 백혈구를 표본으로 하여 형광접합보인법(Fluorescence *in situ* Hybridization; FISH)을 실시하였다. 백혈구는 Ficoll(GE Healthcare, Sweden)을 이용하여 분리 수집한 후 0.06M KCl(Sigma Chem, St Louis, MO, USA)로 저장 처리하고, Carnoy's 용액(methanol 3: acetic acid 1)으로 고정 처리하여 표본을 제작하였다. 제작된 슬라이드 표본은 RNase (Boehringer Mannheim, Indianapolis, IN, USA) 처리 후 에탄올로 탈수 건조시키고, FISH를 실시하였다. 본 FISH에 이용한 닭 telomeric DNA probe는 CCCTAA가 7회 반복(42 mers)된 단일 oligomers를 primer로 하여 증폭된 PCR 산물을 Dig-PCR probe synthesis kit(Roche, Mannheim, Germany)로 labeling하여 준비하였다. 접합 처리는 Hybridization 용액(13 μ L formamide, 5 μ L hybridization buffer, 200 ng chicken telomeric DNA probe)을 떨어뜨리고, 85°C에서 5분간 변성시킨 후 38.5°C에서 12시간 이상 정치하였다. 접합 처리된 표본은 2×SSC에 72°C, 5분간 처리하고, PN buffer(0.1% sodium phosphate, 0.1% Nonidet P-40)로 세척한 후 anti-digoxigenin-fluorescein(FITC)으로 38.5°C에서 30분간 반응시켰다. PN buffer로 세척 건조한 표본은 propidium iodide solution(PI)으로 염색하고, PI와 FITC 파장대의 겸용 필터를 부착한 형광 현미경(Model AX-70, Olympus, Tokyo, Japan)으로 접합 양상을 관찰하였다. 관찰한 임의의 간기 핵들을 디지털 카메라(Model DP-70, Olympus, Tokyo, Japan)로 촬영하고, 이를 컴퓨터에 저장 후 이미지 분석 프로그램(MetaMorph®, UIC, Pennsylvania, USA)을 이용하여 개체별 최소 100개 이상의 세포에 대해 적색(PI)의 genomic DNA 대비 녹색(FITC)의 telomeric DNA의 비율로 텔로미어 함량을 계산하였다.

4. 유전력 추정 및 통계 분석

부, 모 및 자식 간의 텔로미어 함량을 비교 분석하기 위해 SAS 통계 패키지(SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)를 이용하여 분산분석(ANOVA)을 실시하고, 처리 간 평균값을 비교하였다. 모체 연령에 따른 발생 자손의 텔로미어 함량의 비교는 *t*-test로 분석하였다. 한편, 텔로미어 길이의 유전력이 양상은 부, 모, 자식 간 상호 상관 계수로 분석하였다. 텔로미어 길이에 대한 유전력 추정에서 발생 개체들의 유전력은 부와 자손 간 회귀분석으로 다음과 같이 추정하였다.

$$Z_i = \beta X_i + e_i$$

여기서, Z_i = 자손의 텔로미어 길이

X_i = 부친의 텔로미어 길이

e_i = 회귀식의 y축의 절편

β = 회귀식의 기울기

$$h^2 = 2b$$

여기서, h^2 = 부(父)와 자손 간 회귀분석에 의한 유전력

b = 회귀 계수

10주령 및 30주령 개체들의 텔로미어의 유전력은 다음과 같은 선형모형(linear model)을 이용하여 부 분산성분으로부터 추정하였다.

$$Y_{ij} = \mu + S_i + e_{ij}$$

여기서, Y_{ij} = *i*번째 부에 속하는 *j*번째 자손의 텔로미어

μ = 전체 평균

S_i = *i*번째 부의 효과

e_{ij} = 임의오차 효과

$$h_s^2 = 4\sigma_s^2 / (\sigma_s^2 + \sigma_w^2)$$

여기서, h_s^2 = 부 분산성분에 의한 유전력

σ_s^2 = 부친의 분산 성분

σ_w^2 = 자식간 분산 성분

결과 및 고찰

1. 닭의 부, 모 및 자식 간 텔로미어 길이

닭의 연령별 부, 모 및 자식 간 텔로미어 길이를 비교 분석하기 위하여 한국재래닭을 공시하고, 부모 연령이 30주령 및 64주령 때 각각 부와 모, 그리고 이때 발생한 자손의 혈액으로 텔로미어 길이를 측정하고, 이의 결과를 Table 2에 제시하였다. 30주령 부모로부터 자식의 텔로미어 길이를 1로 하였을 때, 부와 모의 텔로미어 길이가 발생 자손에 비해 상대적으로 각각 0.33배, 0.30배이었으며($2^{-\Delta\Delta Ct}$), 부모의 연령이 64주령 때는 부는 발생 자손의 0.15배, 모는 0.22배로 분석되어, 주령과 관계없이 발생 자손과 부모 간 텔로미어 길이의 유의적 차이가 있음을 알 수 있었다. 또한 연령이 증가함에 따라 부모와 자식 간 텔로미어 길이의 차이는 더욱

Table 2. The relative telomere length of parent and their offspring at different age of Korean Native Chicken

Age	30 wks		64 wks	
	ΔCt	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	ΔCt	$2^{-\Delta\Delta Ct}$
Father	1.12 ± 1.75 ^a	0.33	0.01 ± 0.63 ^a	0.15
Mother	1.26 ± 0.94 ^a	0.30	-0.52 ± 0.59 ^a	0.22
Offspring	-0.48 ± 1.48 ^b	1	-2.68 ± 1.28 ^b	1

The values are means ± standard deviation.

^{a,b} Values with different superscripts within column significantly differ ($P < 0.05$).

ΔCt is equal to the difference in threshold cycles for target and internal control gene (18s RNA).

$2^{-\Delta\Delta Ct}$ indicates the fold change in gene expression relative to the control.

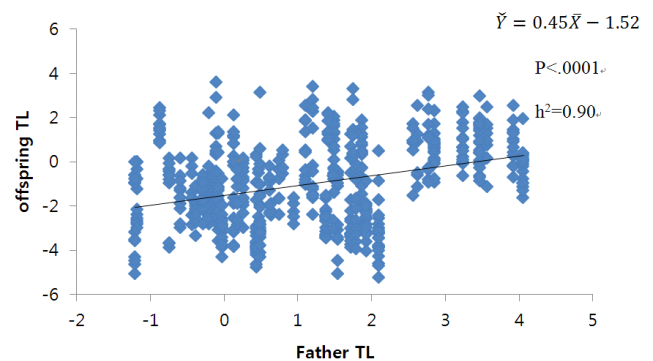
커짐을 나타내었다. 이러한 양상은 사람(Zeichner et al., 1999)을 비롯한 마우스(Kotschal et al., 2007), 개(Brummendorf et al., 2002), 소(Choi et al., 2010), 돼지(Sohn et al., 2008) 등 거의 모든 동물에서 연령이 증가함에 따라 텔로미어 길이가 짧아진다. 닭의 경우에도 화이트레그혼종과 한국재래닭의 백혈구 세포를 대상으로 연령에 따른 텔로미어 함량을 Q-FISH 방법으로 분석한 결과, 10주령 때 2.93%, 30주령 때 1.99%, 60주령 때 1.44% 및 80주령 때 1.29%로 연령이 증가함에 따라 텔로미어 함량이 유의적으로 감소한다는 결과를 제시하고 있다(Kim et al., 2011). 한편, 부와 모 간 텔로미어 길이의 분석에서 주령에 관계없이 이들 간의 차이는 없는 것으로 나타났다. 사람에서 텔로미어 길이는 출생 시 성 간 차이는 없는 것으로 나타나지만, 연령이 증가함에 따라 여러 환경적 요인과 더불어 일반적으로 여성이 남성보다 더 길다고 알려져 있다(Benetos et al., 2001; Nawrot et al., 2004). 이러한 텔로미어 길이의 성 간의 차이는 여성 호르몬인 에스트로겐이 텔로미어 감축율을 낮추거나, 여성의 두 개의 X 염색체 중 하나의 X 염색체의 불활성화와 관련이 있다고 하였다(Okuda et al., 2002; Aviv, 2006). 반면, 소와 돼지의 경우, 전 연령에 걸쳐 수컷이 암컷에 비해 텔로미어 길이가 더 긴 것으로 보고하고 있고(Choi et al., 2008; Sohn et al., 2008), 닭의 경우, 10주령에서 80주령까지 암수간 텔로미어 길이를 분석한 바 전 기간에 걸쳐 이들 간 차이가 없는 것으로 보고하고 있다(Kim et al., 2011).

2. 텔로미어 길이의 유전력

발생 개체의 텔로미어 길이에 대한 유전력을 추정하기 위

하여 한국재래닭 총 47가계를 형성하고, 부모 및 각 가계 별 발생 자손들의 텔로미어 길이를 qRT-PCR 방법으로 분석하였다. 이들의 유전력 추정은 자손이 부모를 닮는 정도 즉, 친자 간 유사도에 의한 방법 중 가계별 부와 발생 자손 간의 회귀 분석을 이용하여 계산된 회귀 계수로서 유전력을 추정하였다. 회귀 함수 도출 결과, $\hat{Y} = 0.45\bar{X} - 1.52$ ($P < 0.0001$)로 나타났고, 이들의 유전력은 0.90으로 추정되었다(Fig. 1).

한편, 10주령 및 30주령 개체들의 텔로미어 길이의 유전력 분석은 단관백색레그혼종을 이용하여 7~8가계의 부계를 형성하고, 가계 내 6~14수 정도의 반형매 개체들을 조성하였다. 각 개체들의 텔로미어 함량은 Q-FISH 방법으로 분석하고, 부 분산에 의한 유전력을 추정한 결과, 10주령에서는 0.033, 30주령에서는 0.041로 나타났다(Table 3, 4). 이와 같이 발생 개체의 텔로미어 길이에 대한 유전력은 매우 높

**Fig. 1.** The regression analysis of father on offspring in telomere length of Korean Native Chicken.**Table 3.** Analysis of variance of telomere length and heritability estimation at 10 weeks White Leghorns

Source	df	Sum of squares	Mean squares	Expected mean squares	h^2
Total	63	0.288			
Between sire	6	0.029	0.00487	$\sigma_w^2 + k\sigma_s^2$	0.033
Among progeny within sire	57	0.258	0.00453	σ_w^2	

$$k = \frac{1}{s-1} \left(n - \frac{\sum n_i}{n^2} \right) = 9.00$$

$$\sigma_s^2 = 0.000038, \sigma_w^2 = 0.004530$$

$$h^2 = \frac{4\sigma_s^2}{\sigma_s^2 + \sigma_w^2} = 0.0330$$

Table 4. Analysis of variance of telomere length and heritability estimation at 30 weeks White Leghorns

Source	df	Sum of squares	Mean squares	Expected mean squares	h^2
Total	61	0.249			
Between sire	7	0.284	0.00498	$\sigma_w^2 + k\sigma_s^2$	0.041
Among progeny within sire	54	0.0348	0.00462	σ_w^2	

$$k = \frac{1}{s-1} \left(n - \frac{\sum n_i}{n^2} \right) = 7.6175$$

$$\sigma_s^2 = 0.000047, \sigma_w^2 = 0.004620$$

$$h^2 = \frac{4\sigma_s^2}{\sigma_s^2 + \sigma_w^2} = 0.0405$$

게 추정된 반면, 성장 개체의 유전력은 매우 낮게 추정되었다. 이는 발생 때의 텔로미어 길이는 환경적 요인에 의한 영향이 거의 없고, 변이의 대부분이 유전적 요인에 의한 것으로 보이나, 연령이 증가하면서 유전적 요인보다는 환경적인 요인에 의해 변이가 나타나는 것으로 해석된다. 닭에 있어 텔로미어 길이에 영향을 미치는 요인으로 종(種)과 성(性) 같은 타고난 유전적 요인 이외에 후생유전학적 요인으로 연령을 들 수 있고, 환경적 요인으로 사육 밀도, 사양 조건, 급이 조건, 외적 스트레스 등이 있는데, 출생 이후 동일 연령의 개체 간 텔로미어 길이의 차이는 환경적 요인에 의해 매우 크게 영향을 받는 것으로 보고되고 있다(Sohn et al., 2008a, 2011, 2011a, 2012, 2013; Beloor et al., 2010). 사람의 경우, 텔로미어 길이에 대한 유전력 추정 값이 34~82%로 보고되어 연구자에 따른 추정치의 폭이 매우 크다(Slagboom et al., 1994; Bischoff et al., 2005; Vasa-Nicotera et al., 2005; Andrew et al., 2006; Broer et al., 2013). 이러한 유전력 추정치의 범위가 크고 일관되지 못한 결과들은 연구자들에 따라 분석 대상 개체들의 연령이나 환경이 다르고, 더불어 다양한 외적 요인으로 인하여 개인차가 크기 때문에 나타난 결과라 사료된다. 인간 이외 동물들에 대한 텔로미어의 유전력 추정 연구는 극히 제한적으로 이루어지고 있는데, 도마뱀의 경우, 이의 유전력을 0.52(Olsson et al., 2011)로, 딱따구리 새의 경우, 0.09(Voillemot et al., 2012)로 추정한 것이 유일한 연구이다. 이는 실험 대상들의 연령 범위나 생육 환경 등의 차이가 심하고, 특히 동물의 경우, 인간보다 더욱 다양한 외적 요인에 노출되어 있으므로 유전력 추정이 쉽지 않

때문으로 보인다.

3. 텔로미어의 유전 양상

닭에서 텔로미어 길이의 유전전이 양상을 살펴보고자 한 국제래닭을 대상으로 가계별 부모와 자식 간 텔로미어 길이를 측정하고, 이들 간의 상관관계를 분석하였다. 이의 분석 결과를 Table 5 및 Fig. 2에 제시하였는데, 부모의 텔로미어 길이가 공히 자식들의 텔로미어 길이에 영향을 미치는 것으로 나타났고, 부자간 상관 계수는 0.346, 부남 간에는 0.357, 모자 간에는 0.355 및 모남 간에는 0.396으로 모두 유의한 정도의 상관 관계를 나타내었다. 흥미롭게도 닭의 경우, 부모와 자식 간 모든 관계에서 거의 비슷한 상관 계수를 보이고 있어, 텔로미어 길이는 부모 중 어느 한쪽으로부터 일방적인 영향을 받지 않고 이의 유전은 부모 양쪽으로부터 공히 비슷한 영향을 미치며, 암수 자손에 미치는 영향 또한 유사한 것으로 보인다.

텔로미어 길이의 유전 양상을 규명하고자 하는 대부분의 연구는 사람에게 대한 것으로 성염색체 관련 또는 상염색체와 관련하여 여러 가지 이론들을 제시하고 있다. 초기 연구에서 사람의 경우, 아버지와 딸 그리고 어머니와 자식들 간의 텔로미어 길이에 높은 상관성이 있어 텔로미어 길이의 유전은 X 염색체와 관련이 있고, 더욱이 X 염색체에 telomerase 활성과 관련한 human telomerase mRNA(hTR)나 텔로미어 유지에 중요한 역할을 하는 DKC1 유전자가 존재함으로 텔로미어 길이는 X 염색체와 강하게 연관되어 있다고 제시하였다(Nawrot et al., 2004). 반면, 이러한 이론과 상반되게 아버지와 자식 간에 텔로미어 길이의 상관성이 존재하고, 어머니와 자식 간에는 상관성이 없다는 이론을 제기하고 있는데, 이는 아버지의 텔로미어 각인(imprinting)이 상염색체 상에 있는 telomerase reverse transcriptase(hTERT)나 telomerase sub-

Table 5. Correlation coefficients of telomere length between parent and offspring

Relationship	Correlation coefficients	p
Father-offspring	0.348	<.0001
Father-son	0.346	<.0001
Father-daughter	0.357	<.0001
Mother-offspring	0.380	<.0001
Mother-son	0.355	<.0001
Mother-daughter	0.396	<.0001

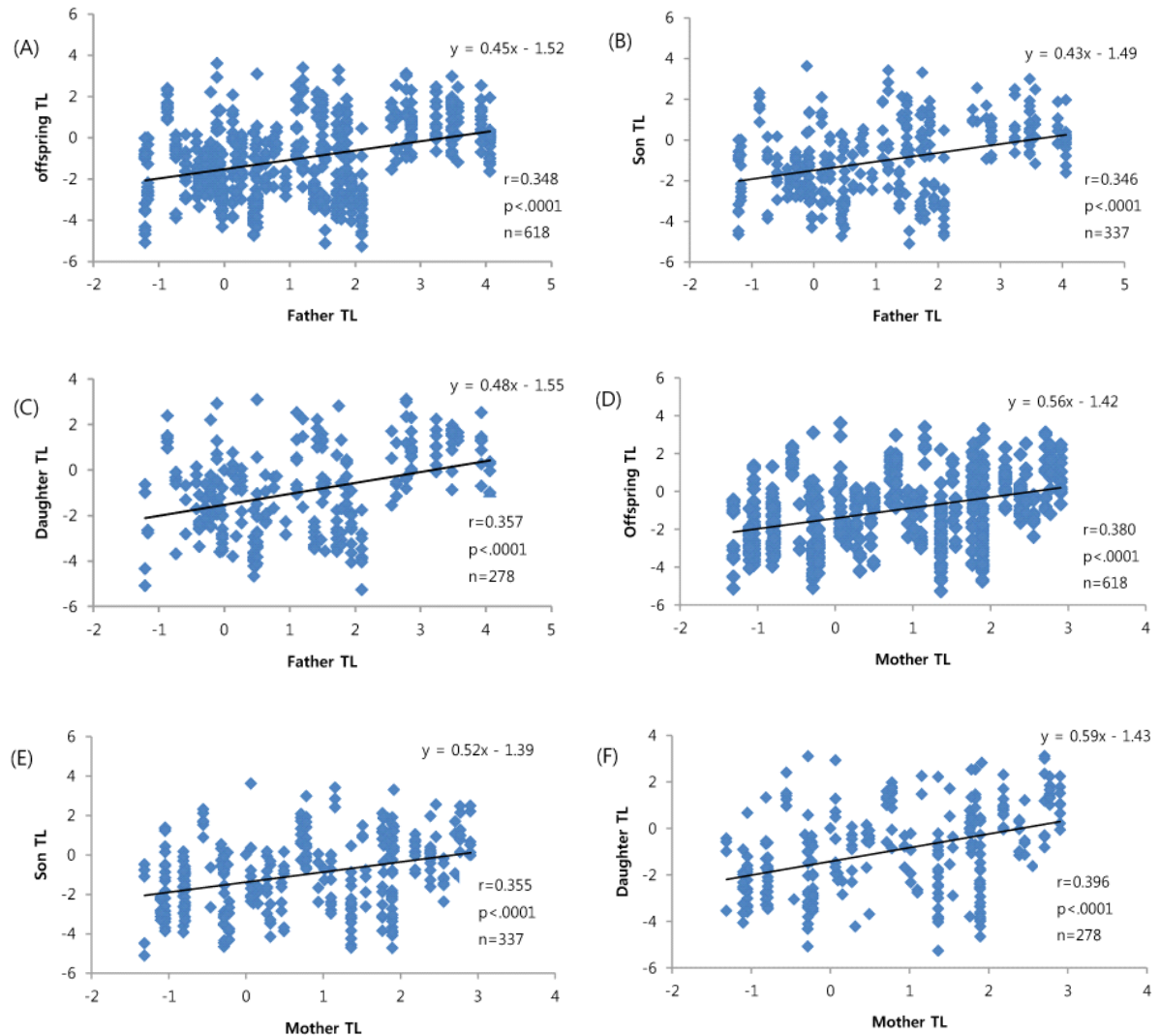


Fig. 2. The regression analysis of parent on offspring in telomere length of Korean Native Chicken.

(A) father vs. offspring, (B) father vs. son, (C) father vs. daughter, (D) mother vs. offspring, (E) mother vs. son, (F) mother vs. daughter

unit들을 활성화시켜 이것이 자식들의 텔로미어 길이에 영향을 미친다고 하였다(Njajou et al., 2007). 또한 남성의 germline cell들의 텔로미어 길이는 높은 telomerase 발현에도 불구하고 매우 다양한 변이를 나타내고 있는데, 자식들의 텔로미어 길이는 paternal gamete의 텔로미어 길이와 밀접한 관련이 있음을 제시하여 텔로미어 길이가 모보다는 부의 영향을 받는다고 하였다(Nordfjall et al., 2005, 2010; Kimura et al., 2008). 한편, 조류에서 야생 앵무새 일종인 kakapo를 대상으로 텔로미어 길이의 유전전이 양상을 분석한 결과, 부(ZZ)보다는 모(ZW)의 텔로미어 길이가 자손에게 영향을 미쳤는데, 이는 특정 염색체보다는 성 염색체의 이형접합성(heterogamy)과 연관이 있을 것이라 주장하였다. 즉, W 염색

체에 위치한 유전자가 상염색체 유전자의 각인을 직접적으로 조절하거나, 상염색체 유전자가 성 염색체 유전자의 발현량에 기초로 하여 텔로미어 길이의 각인을 조절한다고 제시하였다(Horn et al., 2011). 하지만, 닭에 있어 본 연구 결과는 이들과는 또 다른 양상으로 텔로미어 길이는 부모 어느 한쪽으로 편중됨이 없이 자손에 영향을 미치므로 텔로미어 길이에 대한 유전 양상은 성 염색체와 무관하게 상 염색체에 존재하는 텔로미어 관련 유전자들의 조절에 의해 발현되는 것으로 판단된다.

4. 모계 연령에 따른 발생 자손의 텔로미어 길이

모계의 연령이 발생 자손의 텔로미어 길이에 미치는 영향

Table 6. Telomere length of mother and their offspring at different maternal age

Age	44 wks		64 wks		P
	ΔCt	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	ΔCt	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	
Mother	-0.52±0.74**	1	1.34±1.18	0.27	<.0001
Offspring	-2.33±0.92	1	-2.57±1.20	1.18	0.2431

The values are means ± standard deviation.

P indicates significant values within the same row.

ΔCt is equal to the difference in threshold cycles for target and internal control gene (18s RNA).

$2^{-\Delta\Delta Ct}$ indicates the fold change in gene expression relative to the control.

을 살펴보고자 한국 재래닭을 대상으로 44주령 및 64주령의 동일 모계로부터 발생한 자손의 텔로미어 길이를 비교 분석하고, 이의 결과를 Table 6에 제시하였다. 분석 결과, 모계의 연령이 증가함에 따라 자신의 텔로미어 길이는 줄어드는 반면, 모계 연령에 따른 발생 자손의 텔로미어 길이는 거의 차이가 없는 것으로 나타났다. 이는 모체 노화의 영향을 받은 난자가 발생 자손의 텔로미어 함량에는 영향을 주지 않음을 의미한다. 이러한 결과는 체세포 복제동물에서 공여체의 연령이 수정란의 텔로미어 길이에 영향을 미친다는 초기 연구와는 상반되는 양상이나(Wilmot et al., 1997; Shiels et al., 1999), 이후 유사 연구들에서 어떠한 연령의 공여 개체의 세포이던 간에 텔로미어 길이는 배반포 단계에서 reprogramming이 일어나 발생 시 일정 길이로 신장된다는 결과와는 일치되는 양상이다(Lanza 등, 2000). 특히, 닭의 경우 모계 연령에 따른 생산 배아의 텔로미어 함량 비교 분석에서 모체의 산란 연령과 배아의 텔로미어 함량 간에는 거의 상관관계가 없는 것으로 보고하고 있다(Lee et al., 2009). 이는 닭의 경우도 수정 후 배아 초기 단계에서 텔로미어의 reprogramming이 일어나 배자 상태에서 텔로미어 길이가 일정하게 신장한다는 것이다. 본 연구 결과, 발생 개체들의 텔로미어 길이가 모체 연령과 거의 관계없는 것으로 나타났는데, 이는 배아 시기 때 재형성된 텔로미어 길이가 발생 이후까지도 이의 길이가 그대로 유지된다는 것을 시사한다.

적 요

텔로미어는 진핵 세포의 염색체 말단으로, 직렬 반복 DNA 염기 서열과 shelterin 단백질 복합체로 구성되어 있다. 텔로미어의 기능은 염색체를 보호하는 것으로 체세포의 텔

로미어 길이는 세포 분열시 DNA 복제 결실로 인해 연령이 증가함에 따라 감소하는 경향이 있다. 그러나 유전적, 후생 유전학적 및 환경적 수준에서 여러 가지 요인이 텔로미어 길이에 영향을 미친다. 따라서 본 연구에서는 닭의 텔로미어 길이의 유전력을 추정하고, 이들의 유전력이 양상을 살펴보고자 하였다. 텔로미어 길이는 백혈구를 이용하여 양적 형광 접합보인법(Q-FISH)과 양적 중합효소 연쇄반응법(qRT-PCR)으로 분석하였다. 분석 결과, 텔로미어 길이의 유전력은 자손과 부모 회귀 분석에 의해 출생 시 0.9로 추정되었고, 10주령 및 30주령 때 부분산 분석에 의해 0.03과 0.04로 추정되었다. 부와 자손 간($r=0.348$) 및 모와 자손 간($r=0.380$) 텔로미어 길이는 모두 유의한 정의 상관 관계를 보였다. 따라서 닭 텔로미어의 유전 전이 양상은 부모 양쪽 모두로부터 비슷하게 자식에 영향을 미치는 것으로 판단된다. 더불어 암수 자손에 미치는 영향 또한 유사한 것으로 나타났다. 이러한 결과는 부모의 텔로미어 길이의 각인이 성염색체의 유전자가 아닌 상염색체의 유전자에 의해 조절되는 것을 의미한다. 또한, 산모 연령에 따른 출생 자손의 텔로미어 길이는 차이가 없는 것으로 나타났다. 따라서 모체의 연령이 출생 자손의 텔로미어 길이에 영향을 미치지 않는데, 이는 수정란의 초기 배아 단계에서 세포적 reprogramming이 이루어지기 때문으로 사료된다.

사 사

본 논문은 GSP사업 및 2014년도 경남과학기술대학교 기성회 연구비 지원에 의하여 연구되었음.

REFERENCES

- Andrew T, Aviv A, Falchi M, Surdulescu GL, Gardner JP, Lu X, Kimura M, Kato BS, Valdes AM, Spector TD 2006 Mapping genetic loci that determine leukocyte telomere length in a large sample of unselected female sibling pairs. *Am J Hum Genet* 78:480-486.
- Aviv A 2006 Telomeres and human somatic fitness. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 61:871-873.
- Beloor J, Kang HK, Kim YJ, Subramani VK, Jang IS, Sohn SH, Moon YS 2010 The effect of stocking density on stress related genes and telomeric length in broiler chickens. *Asian-Aust J Anim Sci* 23:437-443.
- Benetos A, Okuda K, Lajemi M, Kimura M, Thomas F, Skurnick J, Labat C, Bean K, Aviv A 2001 Telomere length

- as an indicator of biological aging: The gender effect and relation with pulse pressure and pulse wave velocity. *Hypertension* 37:381-385.
- Bischoff C, Graakjaer J, Petersen HC, Hjelmberg Jv, Vaupel JW, Bohr V, Koelvraa S, Christensen K 2005 The heritability of telomere length among the elderly and oldest-old. *Twin Res Hum Genet* 8(5):433-439.
- Blackburn EH 1991 Structure and function of telomere. Review article. *Nature* 350:569-573.
- Blackburn EH 2001 Switching and signaling at the telomere. *Cell* 106: 661-673.
- Blasco MA 2007 Mammalian telomeres and telomerase: Why they matter for cancer and aging. *Eur J Cell Biol* 82:441-446.
- Broer L, Codd V, Nyholt DR, Deelen J, Mangino M, Willemssen G, Albrecht E, Amin N, Beekman M, de Geus EJ, Henders A, Nelson CP, Steves CJ, Wright MJ, de Craen AJ, Isaacs A, Matthews M, Moayyeri A, Montgomery GW, Oostra BA, Vink JM, Spector TD, Slagboom PE, Martin NG, Samani NJ, van Duijn CM, Boomsma DI 2013 Meta-analysis of telomere length in 19,713 subjects reveals high heritability, stronger maternal inheritance and a paternal age effect. *Eur J Hum Genet* 21(10):1163-1168.
- Brummendorf TH, Mak J, Sabo KM, Baerlocher GM, Dietz K, Abkowitz JL, Lansdorp PM 2002 Longitudinal studies of telomere length in feline blood cells: implications for hematopoietic stem cell turnover *in vivo*. *Exp Hematol* 30:1147-1152.
- Choi DS, Cho CY, Sohn SH 2008 The amount of telomeric DNA and telomerase activity on cattle cells. *J Anim Sci Technol* 50(4):445-456.
- Choi NE, Kim HS, Choe CY, Jeon GJ, Sohn SH 2010 Cattle age prediction by leukocytes telomere quantification. *J Anim Sci Technol* 52:367-374.
- de Lange T 2005 Shelterin: the protein complex that shapes and safeguards human telomeres. *Genes Dev* 19:2100-2110.
- Faragher RG, Kipling D 1998 How might replicative senescence contribute to human ageing? *Bioassays* 20:985-991.
- Greider CW, Blackburn EH 1985 Identification of a specific telomere terminal transferase activity in Tetrahymena extracts. *Cell* 43:405-413.
- Horn T, Robertson BC, Gemmell NJ 2010 The use of telomere length in ecology and evolutionary biology. *Heredity* 105: 497-506.
- Horn T, Robertson BC, Will M, Eason DK, Elliott GP, Gemmell NJ. Gemmell. 2011. Inheritance of telomere length in a bird. *PLoS ONE* 6(2):e17199.
- Kim YJ, Subramani VK, Sohn SH 2011 Age prediction in the chickens using telomere quantity by quantitative fluorescence *in situ* hybridization technique. *Asian-Aust J Anim Sci* 24(5):603-609.
- Kimura M, Cherkas LF, Kato BS, Demissie S, Hjelmberg JB, Brimacombe M, Cupples A, Hunkin JL, Gardner JP, Lu X, Cao X, Sastrasin M, Province MA, Hunt SC, Christensen K, Levy D, Spector TD, Aviv A 2008 Offspring's leukocyte telomere length, paternal age, and telomere elongation in sperm. *PLoS Genet* 4(2):e37.
- Kotrschal A, Ilmonen P, Penn DJ 2007 Stress impacts telomere dynamics. *Biology Letter* 3:128-130.
- Lanza RP, Cibelli JB, Blackwell C, Cristofalo VJ, Francis MK, Baerlocher GM, Mak J, Schertzer M, Chavez EA, Sawyer N 2000 Extension of cell life-span and telomere length in animals cloned from senescent somatic cells. *Science* 288:665-669.
- Lee SH, Subramani VK, Sohn SH 2009 Effect of maternal age on chromosome aberrations and telomere quantity in chick embryos. *Korean J Poult Sci* 36(4):293-300.
- Livak KJ, Schmittgen TD 2001 Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) method. *Methods* 25:402-408.
- Monaghan P, Haussmann MF 2006 Do telomere dynamics link lifestyle and lifespan? *Trends Ecol Evol* 21(1):47-53.
- Nawrot TS, Staessen JA, Gardner JP, Aviv A 2004 Telomere length and possible link to X chromosome. *Lancet* 363: 507-510.
- Njajou OT, Cawthon RM, Damcott CM, Wu SH, Ott S, Garant MJ, Blackburn EH, Mitchell BD, Shuldiner AR, Hsueh WC 2007 Telomere length is paternally inherited and is associated with parental lifespan. *Proc Natl Acad Sci USA* 104 (29):12135-12139.
- Nordfjall K, Larefalk A, Lindgren P, Holmberg D, Roos G 2005 Telomere length and heredity: Indications of paternal inheritance. *Proc Natl Acad Sci USA* 102:16374-16378.
- Nordfjäll K, Svenson U, Norrback KF, Adolfsson R, Roos G

- 2010 Large-scale parent-child comparison confirms a strong paternal influence on telomere length. *Eur J Hum Genet* 18(3):385-389.
- Okuda K, Bardeguet A, Gardner JP, Rodriguez P, Ganesh V, Kimura M, Skurnick J, Awad G, Aviv A 2002 Telomere length in the newborn. *Pediatr Res* 52:377-381.
- Olsson M, Pauliny A, Wapstra E, Uller T, Schwartz T, Blomqvist D 2011 Sex differences in sand lizard telomere inheritance: paternal epigenetic effects increases telomere heritability and offspring survival. *PLoS One* 6(4):e17473.
- Shay JW 1999 At the end of the millennium, a view of the end. *Science* 288:1377-1379.
- Shiels PG, Kind AJ, Campbell KH, Waddington D, Wilmut I, Colman A, Schnieke AE 1999 Analysis of telomere lengths in cloned sheep. *Nature* 399:316-317.
- Slagboom PE, Droog S, Boomsma DI 1994 Genetic determination of telomere size in humans: a twin study of three age groups. *Am J Hum Genet* 55(5):876-882.
- Sohn SH, Jung HJ, Choi DS 2008 Amount of telomeric DNA on pig lymphocytes by quantitative fluorescence *in situ* hybridization. *J Anim Sci Technol* 50:465-474.
- Sohn SH, Jang IS, Moon YS, Kim YJ, Lee SH, Ko YH, Kang SY, Kang HK 2008a Effect of dietary siberian ginseng and *Eucommia* on broiler performance, serum biochemical profiles and telomere length. *Korean J Poult Sci* 35:283-290.
- Sohn SH, Cho EJ 2010 Distribution of telomeric DNA in Korean Native Chicken chromosomes. *Korean J Poult Sci* 37:247-253.
- Sohn SH, Subramani VK, Cho EJ, Son BR 2011 Genetic, epigenetic and environmental factors affecting chicken telomere length. *Proceedings of the 9th Asia Pacific Poultry Conference, Taipei*, pp.339.
- Sohn SH, Jang IS, Son BR 2011a Effect of housing systems of cage and floor on the production performance and stress response in layer. *Korean J Poult Sci* 38:305-313.
- Sohn SH, Subramani VK, Moon YS, Jang IS 2012 Telomeric DNA quantity, DNA damage, and heat shock protein gene expression as physiological stress markers in chickens. *Poult Sci* 91:829-836.
- Sohn SH, Cho EJ, Jang IS, Moon YS 2013 The effects of dietary supplementation of vitamin C and E on the growth performance and the stress response in broiler chickens. *Korean J Poult Sci* 40:31-40.
- Vasa-Nicotera M, Brouillette S, Mangino M, Thompson JR, Braund P, Clemitson JR, Mason A, Bodycote CL, Raleigh SM, Louis E, Samani NJ 2005 Mapping of a major locus that determines telomere length in humans. *Am J Hum Genet* 76:147-151.
- Voillemot M, Hine K, Zahn S, Criscuolo F, Gustafsson L, Doligez B, Bize P 2012 Effects of brood size manipulation and common origin on phenotype and telomere length in nestling collared flycatchers. *BMC Ecol* 12:17.
- Von Zglinicki T 2006 Role of oxidative stress in telomere length regulation and replicative senescence. *Ann N Y Acad Sci* 908:99-110.
- Wellinger RJ, Sen D 1997 The DNA structures at the ends of eukaryotic chromosomes. *Eur J Cancer* 33(5):735-749.
- Wilmut I, Schnieke AE, McWhir J, Kind AJ, Campbell KH 1997 Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature* 385:810-813.
- Wright WE, Piatyszek MA, Rainey WE, Byrd W, Shay JW 1996 Telomerase activity in human germline and embryonic tissues and cells. *Dev Genet* 18(2):173-179.
- Zakian VA 1995 Telomeres: beginning to understand the end. *Science* 270:1601-1607.
- Zannoli R, Mohn A, Buoni S, Pietrobelli A, Messina M, Chiarelli F, Miracco C 2008 Telomere length and obesity. *Acta Paediatr* 97(7):952-954.
- Zeichner SL, Palumbo P, Feng Y, Xiao X, Gee D, Sleasman J, Goodenow M, Biggar R, Dimitrov D 1999 Rapid telomere shortening in children. *Blood* 93:2824-2830.
- (접수: 2014. 8. 25, 수정: 2014. 9. 18, 채택: 2014. 9. 22)