

## FISH기법 적용을 위한 Y 염색체 특이 DNA Probe의 개발

조은정, 류란숙, 류은정, 손시환

진주산업대학교 동물생명과학과 · 동물생명산업연구센터

Fluorescence *in situ* Hybridization(FISH)는 특정 염기서열을 이용하여 염색체나 염색체상의 DNA위치를 확인하는 기술로서, 면역세포화학 기술과 결합되어져 현미경으로 이들의 유전적 활성도를 직접 확인할 수 있는 방법으로 지금까지의 radioisotopes 대신 non-radioactive labeling 방법으로서 fluorescence을 이용한 분자세포유전학적 검정 방법이다. 따라서 특정 염색체의 FISH probe의 개발은 FISH 기법을 이용하여 조직 또는 세포내 특정 염색체나 DNA의 존재나 이상 유무를 신속하고 정확하게 파악할 수 있다. 본 연구는 소와 사람을 대상으로 Y-염색체 특이 DNA probe를 개발하고 이를 이용하여 FISH를 시행함으로써 본 probe의 신뢰성을 확인하고 임상적 적용 가능성을 제시하고자 하였다.

Probe의 제작은 대표적 Y-염색체 특이 반복 염기서열로 알려진 소의 BC1.2의 54bp를 포함하는 총 250bp 단편과 사람의 Y-염색체에 위치한 3,564bp DYZ-1 반복염기서열 중 400bp를 대상으로 하였다. 이들 대상 염기에 대한 적합한 primer를 제작하여 PCR로서 이의 존재를 확인함과 동시에 FISH probe의 제작을 위해 digoxigenin-dUTP를 이용한 PCR를 수행함으로써 다량의 FISH probe를 성공적으로 확보할 수 있었다. 확보된 FISH용 probe를 대상 표본의 다양한 세포에 접합시킨 결과, 모든 세포에서 성공적으로 Y 염색체에만 형광 접합 발현 양상을 보임으로 본 probe의 신뢰성과 유용성을 검정할 수 있었다. 본 연구에 이용된 세포로서는 백혈구 세포, 수정란, 정자 및 사람의 양수, 음모, 구강상피, 모근세포로 이들 모든 세포에서 Y 염색체에만 특이적 형광 접합 양상을 관찰할 수 있었고, 중기상 세포뿐만 아니라 배양하지 않은 간기상의 세포에서도 명확한 구분이 가능하였다. 따라서 염색체 특이 반복 염기 서열의 경우 probe의 제작이 용이하고, 이의 접합과 발광양상이 명확함에 따라 기존의 세포유전학적 분석 기법과 함께 동물의 발생 및 분자 생물학적 연구에 유용하게 이용될 수 있을 것이다. 또한, Y-염색체 특이 probe를 이용한 FISH 기법은 세포유전학적 분석 기법이나 PCR 방법의 대체 방법으로서 동물에 적용할 경우 빠르고 정확한 성판별 방법으로 발전시킬 수 있는 유용한 기법이 될 것으로 기대된다.

Key words) Cattle, Human, FISH, Y-specific DNA, DYZ, BC2.1