

Telomere의 양적 분석을 이용한 닭의 bio-marker 개발

조은정, 최철환¹, 전익수¹, 박철, 손시환
 진주산업대학교 동물생명과학과, 축산연구소¹

Abstract

Telomeres are the end of chromosomes and consist of a tandem repeat sequence of (TTAGGG)_n and associated proteins. Telomeres are essential for chromosome stability and are related with cell senescence and apoptosis. This study was carried out to analyze the amount of telomeric DNA of chicken lymphocytes, which is to considered as bio-marker. The amount of telomeric DNA of lymphocytes in Korean Native Chicken and White Leghorn was analyzed by quantitative-fluorescence in situ hybridization (Q-FISH) technique using the chicken telomeric DNA probe.

Telomere quantities were compared among breeds, ages and sex, and the relationship between the amount of telomeres and their productive trait was also analyzed. Comparing the amount of telomeric DNA on lymphocytes during growing period, the amount of telomeres was gradually decreased as growing older.

The telomere quantity was also significantly different in breeds and sex. Estimating correlation coefficient, the amount of telomeres was positively correlated to sexual maturity and body weight but negatively correlated to hen day egg production and egg weight. These results implicate the telomere quantity is considered as an individual bio-marker.

Key word : chicken, bio-marker, telomere, lymphocyte, Q-FISH

서론

Telomere는 진핵세포염색체 말단부에 TTAGGG 반복 염기서열을 가지는 DNA-protein 복합체로 세포 분열시마다 짧아지며, 발생 및 노화와 밀접한 관련이 있다(Robinson, 2000). 최근, telomere가 고등생물의 생명현상을 나타내는 bio-marker로서의 역할이 점차 밝혀지고 있으며, 수많은 연구에서 telomere가 genome의 guardian임을 입증하고 있는 실정이다. 하지만 축산분야에서 유용유전자 탐색을 위한 telomere의 응용연구가 미진하므로 이에 대한 연구가 시급히 이루어져야 되리라 생각된다.

따라서 본 연구에서는 닭의 우수 유전자원 확보 및 유전적 개량을 위한 연구의 일환으로 telomere가 bio-marker로서의 가능성이 있는가를 탐색하고자 한국재래계 및 레그혼종의 백혈구를 대상으로 주령간, 품종간 및 성간 telomere 양적 분포양상을 검정하고, 이들의 생산능력과 telomere간의 상관관계를 분석하였다.

재료 및 방법

축산연구소 가금과에서 지난 10여 년간 육종되어온 한국재래계 황갈종 200수 및 화이트레그혼 순계 100수와 진주산업대에서 사육 중인 한국재래계 100수를 공시계로 이용하였다.

Telomere 양적 분석을 위하여 이들의 각 개체별 혈액을 채취하고, 손과 류(1999)가 제시한 방법에 따라 ficoll을 이용하여 순수 백혈구를 분리했다. 분리된 세포는 0.06M KCl을 이용하여 저장 처리하고, Carnoy's 용액(methanol 3 : acetic acid 1)으로 고정 처리한 후 표본을 제작했다. 각 표본은 본 실험실에서 직접 제작한 Dig-labelled chicken

telomeric DNA probe를 이용 FISH를 시행하여 상을 획득하였다. 획득된 상은 이미지분석 프로그램(MetaMorph)을 이용하여 핵 대비 텔로미어의 분포비에 대한 평균값으로 이들의 상대적 함량을 정량 분석하였다.

결 과

한국재래계 10주령, 30주령, 60주령 및 120주령 개체의 telomere 함량을 분석한 결과, 주령이 증가함에 따라 telomere 양이 유의적으로 감소함을 확인하였다(Table 1). 닭의 품종간 및 성간에도 telomere 함유율의 유의적 차이가 있었다. 동일 주령에서 레그혼에 비해 한국재래계의 telomere 함유율이 높게 나타났고(Table 2), 성간 비교시 암컷이 수컷에 비해 telomere 함량이 높게 나타났다(Table 3). 또한, 각 개체의 telomere 함량과 생산능력과의 상관관계를 분석한 바 산란수 및 난중과는 약한

부(-)의 상관관을 보이고 성성숙 일령 및 체중과는 정(+)의 상관관을 나타내었다(Table 4).

적 요

Telomere는 진핵세포염색체 말단부에 TTAGGG 반복 염기서열을 가지는 DNA-protein 복합체로 세포 분열시마다 짧아지며, 발생 및 노화와 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있다. 본 연구는 닭에 있어 telomere의 양적 분포양상을 구명함으로써 이를 이용한 개체의 생명표지(bio-marker)의 가능성을 탐색코자 하였다.

본 분석에 이용된 계종으로는 한국재래계와 단관 백색화이트 레그혼종을 대상으로 하였고, 주령간, 품종간 및 성간 백혈구내 telomere 함량을 비교 분석하였으며, 또한 분석개체들의 생산능력과의 telomere 함유율 간의 상관관계를 조사하였다.

Table 1. The amount of telomeric DNA of lymphocytes during aging in adult chicken

	10wks	30wks	60wks	120wks
Number of chicken	10	10	25	10
Amount of telomeric DNA (%)	2.61 ± 0.05 ^a	2.20 ± 0.03 ^b	2.17 ± 0.03 ^b	2.02 ± 0.06 ^c

The values are means ± standard error. / ^{a,b,c} Means with different superscripts in same row significantly differ at p<0.01.

Table 2. The amount of telomeric DNA of lymphocytes between chicken breed

Breed	Number of chicken	Amount of telomeric DNA (%)
Korean Native Chicken	121	2.33 ± 0.01 ^b
White Leghorn	121	2.23 ± 0.01 ^a

The values are means ± standard error. / ^{a,b} Means with different superscripts in same column significantly differ at p<0.01.

Table 3. The amount of telomeric DNA of lymphocytes between male and female chicken

Sex	Number of chicken	Amount of telomeric DNA (%)
Male	125	2.26 ± 0.01 ^a
Female	117	2.30 ± 0.01 ^b

The values are means ± standard error. / ^{a,b} Means with different superscripts in same column significantly differ at p<0.05.

Table 4. The correlation coefficients between the amount of telomeric DNA and their productive traits

	Age at first egg	Egg production (first egg ~39Wks)	Egg weight at 39Wks	Body weight at 39wks
r	0.26**	-0.08**	-0.07**	0.04
p	0.0001	0.0001	0.0001	0.0102

** p<0.01

Telomere의 양적 분석은 chicken telomeric DNA probe를 이용한 양적 형광접합보인법(Quantitative fluorescence in situ hybridization : Q-FISH)을 이용하였다.

Telomere 양적 분석결과, 주령이 증가함에 따라 telomere 함량이 유의적으로 감소됨을 확인하였고, 품종간 및 성간에도 유의적인 차이가 나타났다. 또한 생산능력과 각 개체의 telomere 함량간의 상관 분석에 있어 성성숙 일령 및 체중과는 정(+)의 상관관, 산란수 및 난중과는 약한 부(-)의 상관관계를 나타내었다.

이러한 결과는 telomere 함유율이 닭의 생명표지 및 생산능력의 표지로서의 개발 가능성을 시사한다 하겠다.

참고문헌

- Delany, M. E., Daniels, L. M., Swanberg, S. E. and Taylor, H. A. 2003. Telomeres in the chicken : Genome Stability and Chromosome Ends. Poultry Science 82:917-926
- Robinson, M. O. 2000. Telomerase and cancer. Genet. Eng. 22:209-222
- 손시환, 류은경. 1999. Ficoll을 이용한 닭 염색체 분리기법에 관한 연구. 진주산업대학교 농업기술연구소보 12:131-140