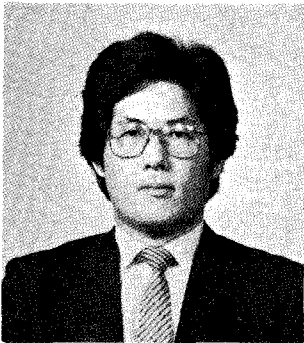


염색체의 분리와 분석



여 정 수

영남대 축산과 교수

- 영남대 졸
- 서울대 대학원 박사학위
- 미네소타대 Post Doc.

인간은 항상 신기원을 이룩하려는 욕망과 도전에서 새로운 결과를 얻게 되고 또한 인류의 식량난 해소라는 대 명제를 놓고 역시 다양한 분야에서 상상하기 어려운 고지를 점령하려고 노력하고 있다.

금세기의 인류 식량난 해소를 위해서 값싼 단백질 원으로서 닭의 능력을 개량시키는데 가금육종학의 다양한 기술은 대단한 기여를 하여왔지만 1980년 이후 종래의 집단유전학에 의한 육종에서 유전물질의 총합체인 염색체를 분리, 분석하고 직접 유전인자를 찾아내어 인간이 원하는 바대로 조작하는 연구가 가금육종학의 최신 첨단연구로 전환되고 있다.

이러한 첨단 연구동향을 염색체의 분리와 분석, 유전인자의 규명, 그리고 유전인자의 조작단계로 나누어 소개하고자 한다.

1. 염색체 (染色體)

모든 경제 형질에 관여하는 유전인자가 저장되어 있는 염색체는 생명체의 기본단위인 세포(cell)내의 핵(nucleus) 속에 존재하여 그림 1에서와 같이 DNA (Deoxyribo Nucleic Acid)와 히스톤(histone)이라는 단백질로서 구성되어 있다.

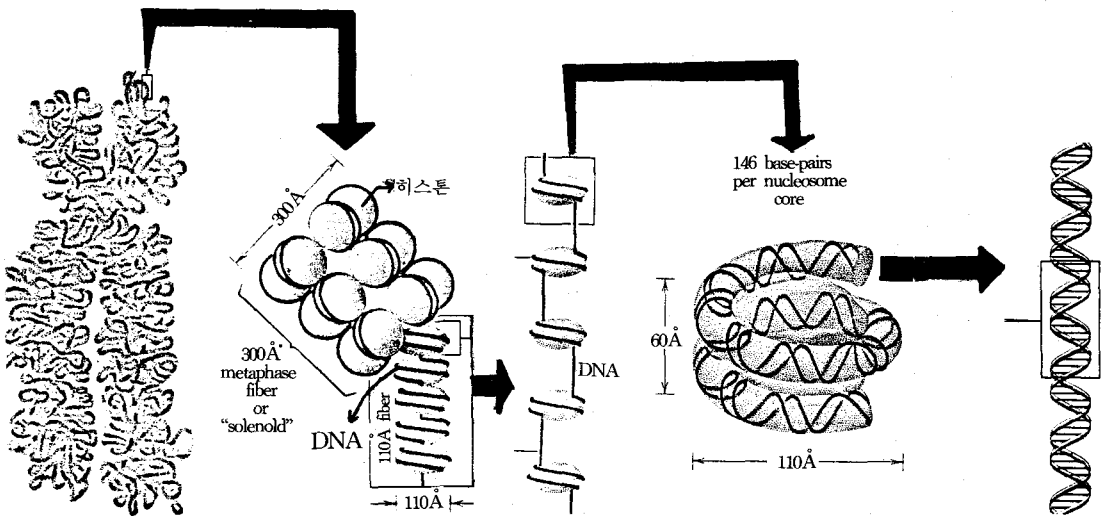
닭의 염색체는 78개 (39쌍) 즉 암컷과 수컷으로부터 전달받은 동일한 2개의 염색체가 39종류로 76개 (38 쌍)는 모든 유전인자를 갖춘 상염색체 (常染色體)이고 2개 (1 쌍)는 성을 결정하는 성염색체로 수컷은 ZZ, 암컷은 ZW의 염색체를 가지고 있다.

그림 2, 3에서 보는 바와 같이 크기의 순으로 나열할 때 1~5번까지의 염색체는 크기로 봐서 대형 염색체 (macro chromosome)이고 6~10번은 중형염색체 (intermediate chromosome), 11~38번까지는 거의 점의 상태로서 소형 염색체 (micro chromosome)로서 소형염색체들은 상동의 염색체로 짝을 지을 수가 없다.

이러한 염색체 중 1~10번까지의 염색체가 닭의 전체 유전인자 중 75% 정도를 가지고 있음이 추정되었다.

2. 염색체 분리

세포내의 핵속에 들어있는 염색체를 분리하는 방법은 1970년 이후 서서히 개발되어 모든



중간기의 염색체

히스톤단백질을 싸고 있는 DNA

펼쳐진 DNA

그림 1. 중간기의 염색체와 확대된 염색체의 세부구조

동물에 이용되는 골수배양(bone marrow culture), 혈액배양(blood culture) 그리고 조직배양(tissue culture) 등이 있고 가금류에서만 이용되는 간편한 방법으로 배아배양(embryo culture)과 깃털을 이용한 방법(feather pulp technique)이 있다.

이러한 모든 분리방법은 크게 3 단계의 처리로서 나눌 수 있다.

첫째 우리가 육안으로 쉽게 염색체의 모양을 볼 수 있도록 세포가 분열성장하는 과정 중 중간기(metaphase)에서 염색체를 분리하여야 된다. 많은 중간기의 염색체상을 얻기 위해서는 많은 세포가 중간기에 머물도록 하는 단계로 분열성장 중인 모든 세포가 중간기에 멈추도록 하기 위해서 colchicine 또는 colcemid라는 극약을 중류수에 용해하여 0.05% 용액으로 준비하여 1 시간 정도 처리한다.

둘째로는 중간기에 모인 세포를 부풀리어 세포막을 파열시키기 위해서 hypotonic 처리를 한다. 여기에 사용되는 용액은 0.45% sodium citrate나 0.075M 염화칼륨(KCl)을 15~20 분간 처리한다.



그림 2. 암탉의 염색체

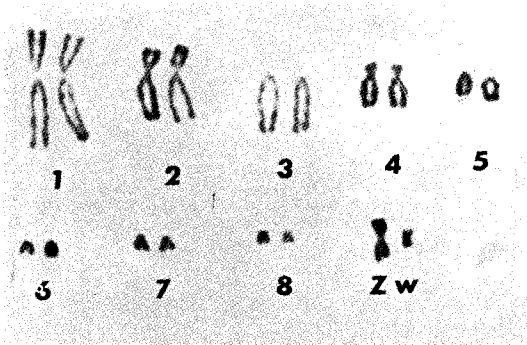


그림 3. 암탉의 염색체를 크기순으로 나열한 상동 염색체

셋째로 많은 염색체상 서로가 먹이지 않도록 고정(fixation)을 시키고 피펫으로 으깬(suspension)으로써 염색체를 세포로부터 분리시킨다. 여기서 조정용액은 메칠 알콜 3과 아세트산 1의 비율로 섞은 용액이나 50% (acetic acid)이 이용된다.

이러한 3단계 처리 후 slide에 도달하여 염색액으로 염색한 후 현미경 하에서 염색체의 상을 볼 수가 있다.

위의 여러가지 방법중 가장 간단하게 가끔류의 염색체를 분리할 수 있는 깃털을 이용한 방법을 소개하면 다음과 같다.

① 체중 30g당 0.05% colchicine을 0.04 cc 예방접종과 같은 방법으로 근육이나 복강에 주입한다. 예로서 체중 1kg인 닭은 1.3cc, 1.5kg인 닭은 2cc를 주입시킨다.

Colchicine은 독성이 강하여 산란이 계속되는 닭은 4~6일 정도 산란에 영향을 받고 성장중인 깃털이 많지 않기 때문에 10주령 이하의 닭을 대상으로 하는 것이 용이하다.

② Colchicine처리 후 1시간만에 성장중인 깃털을 어느 부위에서나 뽑아서 깃털 끝부분을 0.5mm정도 자르고 끝의 1.5cm정도에서 깃털의 내용물(feather pulp)을 짜 낼 수 있다.

③ 이렇게 3~4개의 깃털에서 뽑은 pulp를 미리 준비된 0.45% sodium citrate의 hypotonic 용액에 10~15분간 담근다.

④ 다음으로 고정용액인 50% 아세트산에 30분간 정지시킨다.

⑤ 고정이 끝난 후 pulp덩이를 핀셋으로 건져내어 깨끗한 슬라이드(slide)에 올려놓고 으깬으로써 넓게 퍼지게 된다. 넓게 퍼진 pulp 위에 cover glass를 놓고 더욱 넓게 퍼지도록 깨끗한 종이를 cover glass위에 덮어서 양쪽 엄지손가락으로 힘껏 눌러준다.

⑥ 마련된 slide를 탄산가스(CO₂)나 dryice에서 30~40초 열려서 cover glass를 제거한다.

⑦ 염색준비를 위해서 slide를 70% 에칠알콜에 1분간, 다시 증류수에 1분간 담근 후 카보푸신(carbo fuchsin)염색액에 4~5분간 담구어서 염색시킨다.

※ Carbo fuchsin 용액 : A=70% 에칠알콜에 용해시킨 3% fuchsin용액
B=10ml의 A용액 + 90cc의 증류수에 용해시킨 5% carbolic산

⑧ 현미경 하에서 염색체를 관찰할 수 있다.

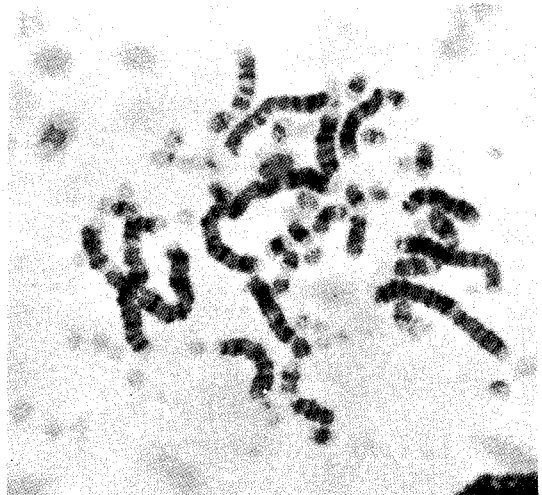


그림 4. 유전물질의 구성을 나타내는 각 염색체의 band

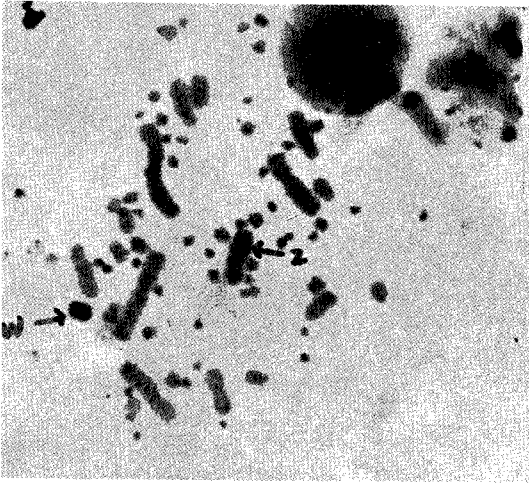


그림 5. 유전인자가 없는 부분을 나타낸 검은 band가 각 염색체의 양끝부분이나 중심립에 나타난다.

3. 염색체 분석

앞에서 기술된 여러가지 염색체 분리 방법으로 분리된 염색체를 염색체 내 유전물질인 DNA와 히스톤 단백질의 상호작용으로 나타내는 여러 종류의 banding기술로서 염색체가 가지고 있는 유전물질의 특성을 밝힐 수가 있다.

많은 banding 방법 중 가장 널리 적용되고 있는 방법으로 그림 4와 같이 트립신(trypsin) 효소를 처리하여 각 염색체 별로 띠(band)를 나타내게 하는 G-banding과 그림 5와 같이 염색체 내에서 유전인자가 존재하지 않는 부분인 heterochromatin 위치를 검게 나타내는 C-banding이 있다.

G-banding의 경우 각염색체별로 많은 띠를 나타내게 할수록 정상개체의 표준을 정확히 규명할 수 있고 어떤 특징을 가진 개체나 계통과의 비교에서 band에 의한 유전적 표식(genetic marker)을 찾아낼 수가 있다. 이러한 방법으로 밝혀진 닭의 주요 결과들은 마렉병의 일종인 MSB- tumor cell의 1번 염색체의 경우 가운데 잘룩한 부분(중심립)의 상부와 하부의 band

구성이 동일한 특징을 가지고 있음이 밝혀졌고 또한 염색체의 일부가 다른 염색체로 전위된 경우에서 그림 6과 같이 1번 염색체 중심립의 상부 2번째 띠에 완두벳, 하부의 4번째 띠에 갈색란의 난각색을 나타내는 유전인자가 있음이 밝혀졌다.

C-banding의 경우 성염색체인 W는 염색체 전체가 검게 나타나서 유전자 작용을 하지 않는 것으로 밝혀졌고, Z염색체의 경우 양끝부분에 C-band를 보이고 있으며, 6번 염색체의 경우도 상부 끝부분이 검게 나타나 이런 부분에서는 유전자 작용이 없음이 밝혀졌다. 위의 W, Z, 6번 염색체를 제외한 다른 염색체에서는 개체, 계통, 품종에 따라서 C-band를 나타내는 빈도의 차이가 있음이 밝혀짐으로써 특정 형질을 가진 개체나 계통과 정상 닭의 C-banding면에서 유전적 표식을 밝혀낼 수가 있는 것이다.

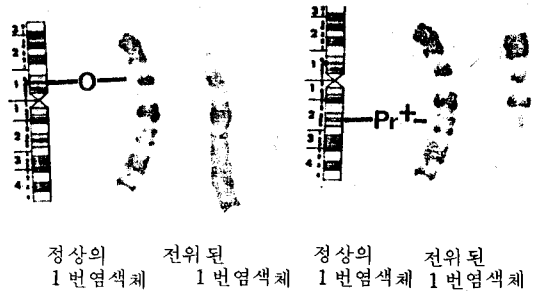


그림 6. 완두벳(0)과 난각색(Pr+)에 관여하는 유전인자의 규명과정

이상에서 간략하게 서술된 유전물질 분리, 분석을 통한 닭의 능력 개량은 민간을 대상으로 하는 의학분야에 비해서는 초보적인 상태에 지나지 않고 있다.

앞으로 가장 간편한 분석 방법으로 조직적이고 다양한 연구가 이뤄질 때 예측할 수 없는 결과를 얻을 수 있을 것으로 기대된다. (계속)