

單冠白色레그혼純系에 있어 中心粒指數, 等腕比 및 相對的 길이에 의한 染色體의 形態的 特徵과 數에 관한 研究

吳 鳳 國 · 孫 始 煥 · 崔 然 皓*

서울大學校 農科大學

新丘專門大 畜産科*

(1986. 11. 14. 接受)

Study on the Chromosome Size, Number and Shape by the
Centromeric Index, Arm Ratio and Relative Length in
Single Comb White Leghorns.

B. K. Ohh, S. H. Sohn, and Y. H. Choi*

College of Agriculture, Seoul National University

Shin Gu Junior College*

(Received November 14, 1986)

SUMMARY

Chromosome size, number and shape were studied by the centromeric index, the arm ratio and the relative length of chromosome.

The chromosomes of 50 early chick embryos which were derived from a pure line of Single Comb White Leghorns were examined. Using a colchicine, hypotonic treatment, fixation and air-drying technique, the clear prometaphase figures were obtained from the whole embryo.

The results of the present investigation of chromosome pairs were as follows,

1. Pair 1 and 2; metacentric and submetacentric chromosomes which could be clearly distinguished from each other by size.
2. Pair 3 and 4; acrocentric chromosomes of similar length but the 4th pair had a distinct short arm which was not present in the 3rd.
3. Pair 5; metacentric sex chromosomes. Z chromosome had relative 5th length but the W chromosome had slightly shorter length than 7th pair of chromosomes.
4. Pair 6; acrocentric chromosomes similar in shape to pair 3 but of little more than half the size.
5. Pair 7 and 8; acrocentric chromosomes, but the 7th pairs had a definite short arm.
6. Pair 9; similar length to the 7, 8 pairs but had a medially placed centromere.
7. microchromosomes of 30 pairs; nearly all acrocentric chromosomes which appeared as paired dots.

The total number of diploid was appeared to 72-78. But a number of observations presented the total diploid number in 78 (58 %). The inconstancy in number observed in this study was presumably due to the minute size of the microchromosomes. Thus, the modal numbers for the diploid chromosome was at least 78.

(Key word : centromeric index, relative length, chromosome number)

I. 緒 論

染色體 研究에 있어 染色體의 크기 및 形態의 研究는 種間의 分化的 特徵이나 進化論의 考察에 있어 매우 중요한 것으로 思料되며, 나아가 遺傳, 育種을 위한 가장 基礎的 資料로서 明確히 提示되어져야 한다. 그러나 家禽類의 核型分析에 있어서는 哺乳動物과 달리 이들 組織들에서 明確한 有絲分裂 中期象을 포착하는 여러 技術的 어려움과 이들 染色體들 中 많은 染色體들이 小型染色體 (microchromosome) 들로 構成됨에 따라 分析에 困難함이 많다.

닭의 染色體에 있어서 Hance (1923)가 최초로 이의 形態의 特徵 및 二倍體의 數를 40개로 제시한 이래 많은 研究者들에 의해 이의 數가 40~80개로 다양하게 發表되면서 個體間에도 一定한 양상을 나타내지 못하였다. 특히 이들 染色體에서 나타나는 많은 小型染色體에 대한 遺傳的 眞偽 與否에 관한 活潑한 論議가 있었다 (Newcomer, 1957; Ohno, 1961; Bloom 등, 1967). 最近 研究에서는 Ohno(1961) 등이 이의 染色體數를 70개 이상으로 規定하였고, Owen (1965)은 78개로 한정하였으며, Borgaonkar (1969)도 이와 같은 수로 發表하였다. 이러한 여러 主張에 따라 Pollock 과 Fechtmeier (1976)는 지금까지 發表된 여러 研究를 綜合하여 體細胞의 二倍體數는 78個, 生殖細胞에서 半數體의 數는 39個로 認定함이 妥當하다고 示唆하였다. Krishan 과 Shoffner (1966), Miller 등 (1971)은 9쌍의 大型染色體 (macrochromosome)에 대한 形態의 特徵 및 이들 中 性染色體의 特徵을 考察하였으며, Bloom(1981)은 이에 대한 構造的 및 化學的 特性을 報告한 바 있으나 小型染色體의 數와 形態의 不一致는 繼續 남아 있는 問題이다.

따라서 本 研究에서는 代表的인 產卵雞種인 單冠白色레그혼純系 染色體의 形態의 特徵을 染色體의 中心粒指數 (centromeric index), 等腕比 (arm ratio) 및 相對的 길이 (relative length)로서 提示하고, 이들의 正確한 染色體 數를 考察하고자 한다.

II. 材料 및 方法

本 試驗은 서울大學校 農科大學 附屬牧場에서 飼育中인 單冠白色레그혼純系 암컷 20首와 수컷 5首를 供試하고 이들을 授精시켜 50個의 受精卵에 대

하여 染色體 分析을 하였다.

染色體의 分析方法은 Shoffner (1982)가 提示한 初期 胚兒 染色體 分析方法을 다소 修正하여 實施하였으며 이의 方法은 다음과 같다.

1) 受精卵을 孵化시킨 後 孵卵 24時間째 氣孔을 通하여 0.05% colchicine 0.1~0.3 ml을 주입시킨 다음 다시 1~3時間 더 培養시킨다.

2) 受精卵을 깨어 卵黃에 浮上된 胚 (embryo)를 조심스럽게 떼어낸다.

3) hypotonic 處理: 떼어낸 胚를 0.45% sodium citrate 溶液에 15~20分間 定置시킨다.

4) 固定 (fixation): 處理된 胚를 methanol 과 acetic acid를 3:1로 混合한 固定液에 漬긴 後 最少 30分以上 冷藏 定置시킨 다음 3回程度 신선한 固定液으로 交換시킨다.

이들 各 工程間에는 반드시 遠心分離와 squashing을 하여준다.

5) slide 標本: 固定된 處理液을 깨끗한 slide에 塗抹시키고 자연 乾燥시킨다.

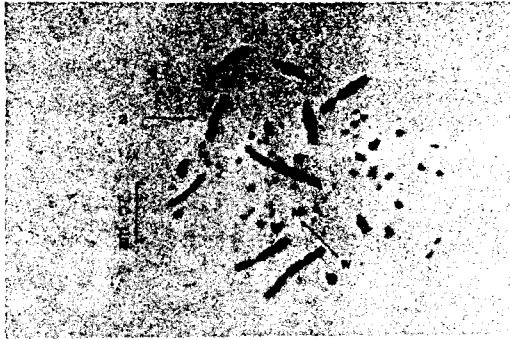
6) 染色: 完全히 乾燥된 slide를 2% Giemsa 溶液에 약 10分間 染色한다.

7) 處理된 slide는 光學顯微鏡下에서 觀察하고 잘 퍼진 中期象을 포착하여 寫眞 撮影 (ASA 25, Microfilm, Fuji)을 한 다음 이들 寫眞으로서 개개 染色體의 核型分析을 한다.

III. 結果 및 考察

本 實驗 結果 Fig. 1은 약 1,600倍의 光學顯微鏡下에서 觀測撮影한 初期 metaphase (prometaphase)의 染色體像을 나타내었다. Fig. 1에서 나타난 바와 같이 이들 染色體들은 中心粒의 位置와 크기로서 各 相同染色體들을 쉽게 區別할 수 있고, 核型分析에 있어 大型染色體들의 나열에는 별 問題가 없을 것으로 생각된다. Fig. 1.a에서는 5번째 크기로서 metacentric인 Z性染色體와 8~9번째 크기로서 역시 metacentric인 W性染色體가 나타남에 따라 ZW hetero型 性染色體인 암컷임을 提示하고 Fig. 1.b에서는 Z性染色體가 2개인 ZZ homo型 性染色體인 수컷임을 나타낸다.

Fig. 2도 Fig. 1과 같은 암컷의 染色體 中期像이지만 metaphase 中 조금 늦은 metaphase (late metaphase)의 像을 나타내고 있다. 이를 Fig. 1과 比較時 各 染色體들의 凝縮 (condensation)이 進行됨



(a)



(b)

Fig. 1. Prometaphase figures of female(a) and male(b) chick.

에 따라 相同染色體의 識別과 小型染色體들의 區分이 初期metaphase 像보다 바람직하지 못한 것 같다. 따라서 染色體 分析을 위한 中期 像의 포착은 metaphase 중에서도 初期metaphase의 像을 誘導함이 보다 중요한 것으로 생각된다.

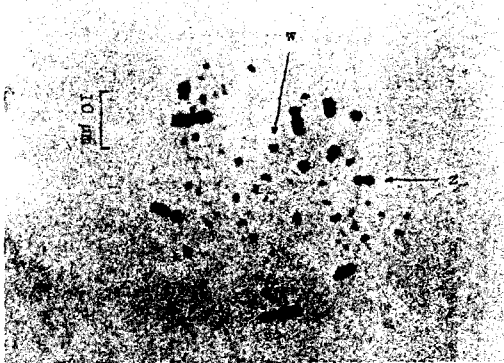


Fig.2. Late metaphase figure in a female cell

Fig. 3은 Fig.1.a의 初期metaphase 암컷의 plate 像을 核型分析 (karyotype) 한 것으로서 染色體의 크기 및 中心粒의 위치에 따라 配列한 것이다. 여기서 가장 큰 1番 染色體는 12~13 μm 정도이고 性染色體인 Z 染色體는 4~5 μm 이며 10番 以下는 소위 小型染色體로서 거의 點의 形態이다. 따라서 本 研究에서는 大型染色體는 中心粒의 위치나 크기에 따라 明確히 區分지을 수 있었지만 몇개를 除外한 大部分의 小型染色體는 상대적인 크기로 밖에 나열할 수 없었다.

染色體의 크기에 따라 보통 1~6番까지를 大型染色體라 하고 나머지를 小型染色體로 區分짓고 있으나 (Newcomer 와 Brant, 1954; Borgaonkar, 1969

; Pollock 과 Fechheimer, 1976), Bloom (1981)은 이를 細分하여 1~5番을 macrochromosome, 6~10番을 intermediate, 11~39番을 microchromosome으로 區分짓기도 한다. 또한 Z 染色體는 5番으로 區分짓고, W 染色體는 8番과 9番 染色體의 크기이지만 주로 Z 染色體 다음에 둔다. 닭에 있어 1~10番까지의 染色體들이 全體染色體 크기의 75~80%를 차지하고 있으며, 이들이 全體 構造 遺傳子 (structural gene)의 약 95%를 차지하고 있다 (Abbott 와 Yee, 1975).



Fig. 3. Karyotype drawn up from the cell in Fig.1. a.

Table 1은 各 染色體의 形態의 特徵을 中心粒의 位置로서 나타내기 위한 中心粒의 位置에 따른 染色體의 命名法을 제시한 것이다. 여기서 等腕比라 함은 染色體에 있어 中心粒을 中心으로 짧은 부위, 즉 短腕 (short arm)의 길이에 대한 長腕 (long arm)의

길이 비를 말하고, 中心粒指數는 各 染色體의 全體 길이에 대한 短腕의 길이가 차지하는 百分比率로서 이들 모두가 染色體의 中心粒 位置를 나타내기 위한 指數로서 利用된다. Table 1에서와 같이 Levan 等

(1964)은 等腕比 및 中心粒指數에 따라 染色體의 形態의 名稱을 區分 命名하였으나 이들중 等腕比가 3.0 ~ 7.0 일때 subtelocentric 이라 區分되던 것을 最近에는 이의 區分 없이 等腕比 3.0 以上을 모두

Table 1. Chromosome arm ratio (r) and centromeric index (i) as related to the nomenclature (Levan, A. et al., 1964)

centromeric position	chromosome designation	arm ratio (r)	centromeric index (i)
median region (m)	metacentric	1.0 - 1.7	50.0 - 37.0 (%)
submedian region (sm)	submetacentric	1.7 - 3.0	37.0 - 25.0
subterminal region (st)	subtelocentric	3.0 - 7.0	25.0 - 12.5
terminal region (t)	acrocentric	7.0 - ∞	12.5 - 0.0

(Note)

$$r = \frac{\text{the length of long arm}}{\text{the length of short arm}}$$

$$i = \frac{\text{length of short arm}}{\text{chromosome relative length}} \times 100$$

acrocentric 에 包含시키기도 한다.

本 研究에서 나타난 核型分析 結果 總 50 個의 受精 卵中 43 個에서 大型染色體의 等腕比 및 中心粒指數를 測定할 수 있었고, 이들 總 測定值의 指數의 平均은 Table 2 와 같다.

여기에서 相對的길이 (relative length) 라 함은 總 6 個의 大型染色體中 個個의 染色體가 차지하는 相對的 크기 比率를 말한다.

이와 같이 染色體의 等腕比, 中心粒指數 및 相對的 길이와 더불어 Fig. 3 에 나타난 核型分析 結果를 綜合하여 個個 染色體의 形態의 特徵을 살펴보면 1, 2 番 染色體는 meta 및 submetacentric 으로서 이들 둘간에는 크기에 따라 明確히 區分된다. 3, 4 番

染色體는 길이는 서로 비슷하나 4 番 染色體에서는 짧은 短腕이 나타나고, 3 番은 acrocentric 狀態이다. 5 番 染色體는 性染色體(Z)로서 metacentric 狀態이다. 6 番 染色體는 3 番과 같이 acro 狀態이나 3 番 染色體 크기의 半程度이다.

이밖의 小型染色體에 대한 認知는 다소 어려움이 있지만 7 番 染色體는 6 番 크기의 半程度로서 짧은 短腕을 가지고 있으며, 8 番은 7 番과 비슷한 크기지만 acrocentric 染色體이다. 여기서 7 番과 8 番 染色體의 配列 順에 관하여는 研究者들 간에 많은 論難이 있다. Owen (1965) 과 Eldridge (1985) 등은 本 研究와 같은 나열방법을 提示하고 있으나, Krishan 과 Shoffner (1966), Borgaonkar (1969), Mill-

Table 2. Classification of S.C.W. Leghorn chromosomes (*Gallus domesticus*)

Chr. No.	arm ratio	centromeric index	designation	relative length (R)
1	1.61 ± 0.21 ^a	38.60 ± 2.84 (%)	metacentric	29.27 ± 1.71 (%)
2	1.83 ± 0.31	35.55 ± 3.19	submetacentric	21.79 ± 1.07
3	∞	0	acrocentric	15.10 ± 0.96
4	3.01 ± 0.60	24.94 ± 3.95	subtelocentric	13.13 ± 1.39
5(Z)	1.20 ± 0.15	45.66 ± 2.92	metacentric	13.02 ± 1.64
6	∞	0	acrocentric	7.70 ± 1.27
W	1.28 ± 0.23	44.41 ± 4.12	metacentric	

Number of chromosome : 78(72-78)

a : mean ± standard deviation

$$R = \frac{\text{the length of the whole chromosome}}{\text{total length of macrochromosome}} \times 100$$

er 등 (1971), Pollock 과 Fechtmeier (1981), 呂 (1985) 등은 본 연구와 달리 7番과 8番이 바뀐 配列方法을 나타내었다. 이같은 論難에 따라 일단의 크기 順으로서 본 연구에서는 7番과 8番을 配列하였으나 여기에 대해서는 研究者들 간에 수렴된 의견으로서 統一을 기하여야 할 것으로 思料된다. 9番은 7番과 8番의 크기와 비슷하나 metacentric 樣相이다. 以外 30 쌍의 小型染色體들은 대부분 acro 狀態이나 正確한 中心粒의 위치나 形態의 特徵을 識別하기가 용이하지 않았다.

그리고 이들 43 sample 에 대한 각 sample 當 染

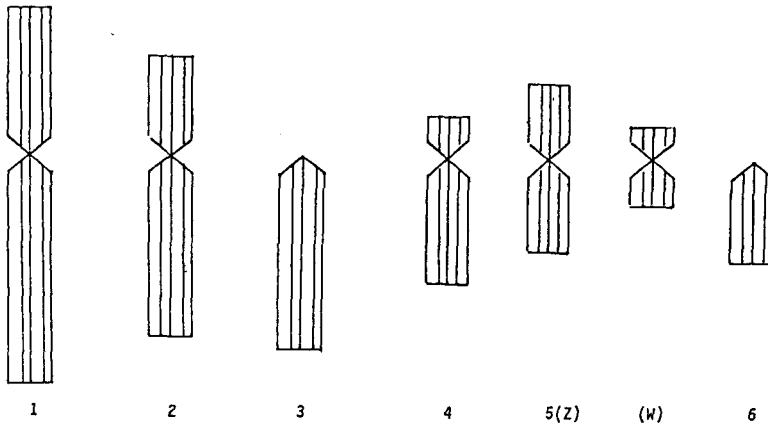


Fig. 4. An idiogram of macrochromosomes of S. C. W. Leghorn constructed from data in Table 2.

IV. 摘 要

本 연구는 單冠白色레그혼純系 染色體의 形態의 特徵과 크기를 明確히 究明하기 위하여 中心粒指數, 等腕比 및 相對的長이를 測定하여 利用하고 이들의 染色體 數를 밝혔다.

試驗材料로서는 서울大學校 附屬牧場에서 飼育中인 單冠白色레그혼純系 암컷 20 首와 수컷 5 首를 供試하고 이들을 受精시켜 50 個의 受精卵에 대하여 染色體 分析을 하였다. 分析方法으로서는 中期像의 捕捉을 위하여 colchicine을 利用하고, hypotonic, fixation, air-drying 處理를 하여 나타난 初期metaphase 像으로서 核型分析하였다.

試驗 結果 分析된 各 染色體의 形態의 特徵은 다음과 같다.

1. 1,2番 染色體 : meta 및 submetacentric 으로서 이들 둘 간에는 크기에 따라 明確히 區分된다.
2. 3,4番 染色體 : 길이는 서로 비슷하나, 4番 染

色體의 數를 觀察한 結果 25 sample (58%)에서 78 個로 나타났고, 나머지는 72~77 個로 나타났는데 이들은 小型染色體의 크기가 光學顯微鏡의 限界解像力 (limited resolving power)에 달하는 탓으로 나머지 소수의 染色體를 認知하지 못한 것으로 생각된다.

Fig. 4는 Table 2에서 提示한 相對的 長이와 中心粒指數를 基準으로 닭의 1~6番까지의 大型染色體를 圖示 (idiogram) 한 것으로 이를 單冠白色레그혼純系 染色體의 標準 (standard) 으로 提示하고자 한다.

色體에서는 짧은 短腕이 나타나고, 3番은 acrocentric 形態이다.

3. 5番 染色體 : 性染色體 (Z)로서 metacentric 形態이다. W 染色體 역시 metacentric 이지만 7~8番 染色體 크기 程度이다.

4. 6番 染色體 : 3番과 같이 acro 形態이나 3番 染色體 크기의 반정도이다.

5. 7,8番 染色體 : 6番 크기의 반정도로써 길이는 서로 비슷하나 7番은 짧은 短腕을 가지고, 8番은 acrocentric 染色體이다.

6. 9番 染色體 : 7番과 8番의 크기와 비슷하나 metacentric 樣相이다.

7. 나머지 30 쌍의 小型染色體 : 점의 形態로서 대부분 acrocentric 形態이다.

이밖에도 染色體의 數에 있어서 觀察된 sample 의 58%가 78 個로 나타났고, 나머지는 72~77 個로 나타남에 따라 이의 染色體 數는 最小 78 個로 思料된다.

V. 引用文獻

1. Abbott, U.K. and G.W. Yee. 1975. Handbook of Genetics. Vol. 4. Ch. 8. Avian Genetics. Plenum Pub. Co.
2. Bloom, S.E. 1981. Detection of normal and aberrant chromosome in chicken embryo and in tumor cell. Poultry Sci. 60:1355-1361.
3. Bloom, S.E. and E.G. Buss. 1967. A Cytological Study of mitotic chromosomes in chicken embryos. Poultry Sci. 46:518-522.
4. Borgaonkar, D.S. 1969. Observations on the chromosomes of one chicken (*Gallus domesticus*). Poultry Sci. 48:331-333.
5. Eldridge, F.E. 1985. Cytogenetics of Livestock, Ch. 15. Bird Cytogenetics by R.N. Shoffner. AVI Publishing company, Inc. Westport, Connecticut.
6. Hance, R.T. 1923. Chick chromosomes and sex determination. Anat Rec. 26:348 (recited)
7. Krishan, A. and R.N. Shoffner. 1966. Sex chromosomes in the domestic fowl (*Gallus domesticus*), turkey (*Meleagris gallopavo*) and the chinese pheasant (*Phasianus colchicus*). Cytogenetics 5:53-63.
8. Levan, A., K. Fredga and A.A. Sandberg. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas 52:201-220.
9. Macgregor, H.C. and J.M. Varley. 1983. Working with Animal Chromosomes. Ch. I. Chromosome size, number and shape. John Wiley & Sons. New York.
10. Miller, R.G., N.S. Fechheimer and R.G. Jaap. 1971. Chromosome abnormalities in 16 to 18 hour chick embryos. Cytogenetics 10:121-136.
11. Newcomer, E.H. 1957. The mitotic chromosomes of domestic fowl. J. Hered. 48:227-234.
12. Newcomer, E.H. and J.W.A. Brant. 1954. Spermatogenesis in the domestic fowl. J. Hered. 45:79-87.
13. Ohno, S. 1961. Sex chromosomes and microchromosomes of *Gallus domesticus*. Chromosoma (Berl.) 11:484-498.
14. Owen, J.T. 1965. Karyotype studies on *Gallus domesticus*. Chromosoma (Berl.) 15:601-608.
15. Pollock, D.L. and N.S. Fechheimer. 1976. The chromosome number of *Gallus domesticus*. Br. Poul. Sci. 17:39-42.
16. Shoffner, R.N. 1982. Personal communication.
17. 姜泰錫, 吳鳳國, 孫始煥. 1985. 烏骨鷄의 染色體 分染法 (G - banding) 에 따른 核型分析에 관한 研究. 家禽誌 12(2): 83-87.
18. 呂政秀. 1985. G-, C-banding 에 의한 닭의 染色體 分析. 韓禽誌 27(12):745-748.