

韓國在來鷄의 染色體 分染分析에 關한 研究

吳熙晶 · 吳鳳國*

順天大學 畜産學科

(1989. 12. 1. 接受)

Studies on the Chromosomal Banding Analysis of Korean Native Fowl

H. J. Ohh and B. K. Ohh

Department of Animal Science, Sun Cheon College

(Received December 1, 1989)

SUMMARY

This study was carried out to identify the chromosome morphological structure and G-, C-banding pattern of Korean native fowl.

The samples used in this study were early chick embryos, and the method of chromosomal analysis quoted from the protocol of Ohio univ. with more or less modified.

The results were summerized as follow as;

1. In each of macrochromosomal morphorogy, the arm-ratio, centromeric index, and relative length of Korean native fowl were more or less different from improved breeds, but the designations were the same.
2. The graphical pecks, by densitometric recordings, in each macrochromosome number of 1, 2, 3, 4, Z, and 5, numbered 21, 14, 12, 8, 11, and 4 in G-banded, and 16, 13, 9, 9, 9, and 4 in C-banded, respectively. Those pecks could be explained as a consequence of chromosome condensation during mitosis and of genetic material differences.

I. 結 論

1970年代에 들어서서 分子遺傳學과 함께 染色體에

對한 研究가 활발히 遂行되고 있고, 特히 DNA의 物質構造에 따라 多樣한 形態로 表現되는 banding誘導 方法과 分析, 遺傳物質과의 關係 等に 對한 研究가

* 서울대학교 農科大學(College of Agri., Seoul National Univ.)

많이 報告되고 있다. 이러한 研究의 目的은 家畜의 形質에 關與하는 遺傳的 標識을 究明하는 데에 있다.

닭에 대한 研究 材料로서는 骨髓, feather pulp, 白血球 및 鷄胚兒 등으로, 細胞를 培養하여 染色體의 形態와 그 內部 物質構造를 分析하고 있다.

그간의 研究 結果에서 닭의 染色體數는 78個임이 밝혀졌고, 길이에 따라 Bloom(1981)은 1~5번을 macro, 6~10번은 intermediate, 11번以下는 micro chromosome으로 分類하면서 差異가 他家畜에 比하여 크다고 하였다.

또한 染色體의 形態에서 中心粒의 位置는 重要한데, 吳等(1986)은 Levan等(1964)의 腕比 및 中心粒指數式에 依해서 染色體의 形態의 名稱을 區分할 때 1번은 metacentric, 2번은 submetacentric, 3번은 acrocentric, 4번은 subtolocentric, Z, W는 metacentric, 6, 7, 8은 acrocentric이었으며 9번은 submetacentric이라고 報告하면서 11번以下는 光學현미경下에서 點의 狀態로서 區分이 어렵다고 하였다.

한편 染色體 異狀은 細胞分裂 過程中 染色體에 따라 發生 頻도가 다르며, 이러한 結果는 大部分 家畜에게 不利한 結果를 초래한다. Korf와 Bloom(1974)은 肉鷄와 產卵鷄에 대한 研究에서 產卵鷄에 比해서 肉鷄가 異狀頻도가 높다고 하였고, Fechtmeier(1981)은 品種間 異狀頻도 및 이들의 marker를 示唆한 바가 있으며, Bitgood等(1981, 1982)도 轉位를 報告하였다.

染色體 分染分析 研究에서 Pollock와 Fechtmeier(1981)는 C-banding으로 heterochromatin의 位置와 頻도를 調査하였고, Shofner(1981)는 DNA와 non-histon protein 相互作用으로 發現되는 G-banding으로 1번 染色體의 long-arm에 卵殼色에 關여하는 protoporphyrin 遺傳子와 short-arm에 blue egg 遺傳子의 各 座位를 밝혀주었으며, Stock과 Bunch(1982)는 8種의 家禽類 進化過程을 G-, C-banding으로 究明하였다. 또한 吳等(1985)은 G-banding으로 1~4번과 Z 染色體의 G-banding 樣相을 究明하면서 能力과 關係가 있음을 示唆하였다.

한편, G-banding 發現數에 대한 報告에서 Shoffner(1985)는 1번의 경우 13, 2와 3번 12, 4번 5, 5번과 Z에서는 4種類의 band를 報告한 反面, 呂(1985)는 1번 染色體의 경우 20層以上, Z에서는 7層以下의 검은 band가 나타났다고 報告하

면서 G-banding으로 個體間의 遺傳的 差異를 究明키 위해서는 더 많은 band層을 만들어 分析하므로서 可能하다고 하였다. 한편, 孫과 吳(1987)는 G-banding에 依한 닭 染色體 標識因子에 關한 研究에서 1, 2번에서 8~11, 3번 6~9, 4번 5~8, 6번 3~4, Z는 4~6種類의 band數를 나타내어 Shoffner(1985)와 비슷한 結果였다고 했다.

姜等(1985)은 烏骨鷄의 染色體 G-banding에 따른 核型分析 結果 macrochromosome의 크기 및 形態는 一般 닭에 대한 研究報告 內容과 같은 樣相을 나타냈다고 하였으며, 呂等(1985)은 卵用種 近交系統에 대한 研究에서 高能力系統과 低能力系統間의 G-band 樣相에 差異가 있음을 報告하였고, 徐等(1985)도 交雜種과 純種間의 比較에서 F₁은 兩親과 差를 밝혔다.

本 研究은 染色體 分染分析方法和 아울러 在來鷄의 band 樣相을 究明하고자 하였다.

II. 材料 및 方法

本 試驗의 材料는 畜產試驗場에서 保有하고 있는 在來鷄의 受精卵을 1989年 9月부터 10月까지 蒐集 培養하여 初期段階의 鷄胚兒를 採取 分析하였다.

1. 染色體 分析

分析方法是 美國 Ohio 大學에서 施行하고 있는 chromosome analysis protocol을 다소 變形시켜 遂行하였다.

1) 受精卵의 培養

37.5°C의 恒溫器에서 18時間 培養한 後 0.05% colchicine을 氣室內에 0.1~0.3 cc 注入하고 2時間 追加 培養하므로서 有絲分裂의 中期像을 誘導하였다.

2) 前處理

採取한 胚盤을 McCoy's 5A (또는 TC199, Hank's balanced Sol.)에 10分 浸漬하여 低脹處理를 도왔으며, 0.3% Sodium citrate와 Calf serum 3:1로 混合한 液에 15~20分間, 37.5°C에서 低脹處理하였다.

3) 固定 및 標本製作

低脹處理시킨 胚兒를 methanol과 acetic acid를 3:1로 混合한 固定液에 옮겨 최소 30分以上 冷藏 定置시킨 다음 遠心分離(1,000 rpm/min)하여 浮遊液을 버리고 다시 신선한 固定液을 넣어 교루 섞어 주었

으며, 固定液의 交換은 3회以上 反復하였다. 處理된 試料는 1 cc 정도의 固定液을 넣은후 冷蔵된 깨끗한 slide에 3~4 滴下, 塗抹시킨후 自然乾燥시켜 Giemsa 溶液(Giemsa's blood stain stock 1:Wright's buffer 20)에 9分間 染色後 水洗하여 檢鏡하였다.

2. G - banding

最少 1週日間 自然乾燥시킨 試料를 Wang等(1980)이 提示한 方法을 다소 變形시켜 다음과 같이 實施하였다.

Ca⁺⁺와 Mg⁺⁺을 除去시킨, pH 7.0의 HBSS 溶液에 0.075% trypsin을 溶解시켜 여기에 slide를 30秒~2分間 둔후, slide를 0.9% saline 溶液으로 2回 씻은後 2% Giemsa 液으로 6~7分동안 染色後 水洗 檢鏡하였다.

3. C - banding

1週日間 自然乾燥시킨 slide를 利用하여 Sumner(1972)가 提示한 方法에 依해서 다음과 같이 實施하였다.

Slide를 室溫下에서 0.2N HCl에 1時間동안 定置시킨 後 蒸溜水로 水洗하고, 41°C의 5% Ba(OH)₂·8H₂O에 2分동안 담갔으며, 그후 증류수로 水洗하여 Ba(OH)₂를 除去시켰다. 이 때 除去되지 않은 Ba(OH)₂ 찌꺼기를 完全 除去하기 위하여 slide를 다시 0.2N HCl에 적셔 주었다.

Ba(OH)₂가 完全 除去된 試料(slide)를 60°C의 2×SSC(NaCl 17.53 g + Na₂C₂H₃O₇ 8.82 g + 증류수 1 liter) 溶液에 1時間 담근후 蒸溜水로 水洗

하고 4% Giemsa 液(2 ml Giemsa blood stain+50 ml phosphate buffer)에 5~10分 染色後 水洗, 檢鏡하였다. phosphate buffer는 0.01M NaH₂PO₄·H₂O(1.38 g/litter) 340 ml와 0.01 M Na₂PO₄·12H₂O(3.58 g/litter) 660 g를 混合製造하였다.

4. Densitometer 分析

G- 및 C- banding 樣相을 明確하게 發現시키기 위하여 곧은 染色體像이 뚜렷한 macrochromosome 만을 graph로 나타냈다.

III. 結果 및 考察

1. 染色體의 數 및 形態

在來鷄의 染色體像은 Fig. 1과 같고, macrochromosome을 Levan, A.等(1964)의 腕比 및 中心粒指數 公式을 利用하여 形態를 區別한 것은 Table 1과 같다.

Fig. 1에서 性染色體를 包含하여 10번까지는 區別이 容易하고 19번까지도 可能하였으나 20번以後 38번까지는 區別이 어려웠다.

Table 1에서 染色體別로 r과 i, 그리고 R을 Levan等(1964)의 分類 範圍에 따라 形態를 分類할때 1과 Z는 metacentric, 2는 submetacentric, 3과 5는 acrocentric, 4는 telocentric으로서 吳等(1986)과 孫과 吳(1987)가 白色 Leghorn 純系에 대한 報告와 같으나 數値에서 多少의 差異를 볼 수 있다. 또한 姜等(1985)이 烏骨鷄에 대한 研究에서도 같은 形態를 報告한 바 있고, 앞서의 Borgao-

Table 1. Classification of K. N. F. chromosome (*Gallus domesticus*)

Chrom. No.	Arm ratio (r)	Centromeric index (i)	Designation	Relative length (R)
1	1.60 ± 0.03	38.42 ± 0.48 %	metacentric	28.01 ± 0.81 %
2	1.74 ± 0.01	36.49 ± 0.01	submetacentric	21.59 ± 0.11
3	∞	0	acrocentric	15.85 ± 0.97
4	3.74 ± 0.04	21.09 ± 0.66	subtelocentric	13.66 ± 0.28
Z	1.17 ± 0.02	46.04 ± 0.39	metacentric	12.48 ± 0.52
5	∞	0	acrocentric	8.43 ± 0.46

(note) $r = \frac{\text{the length of long arm}}{\text{the length of short arm}}$ $i = \frac{\text{length of short arm}}{\text{chromosome relative length}} \times 100$

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

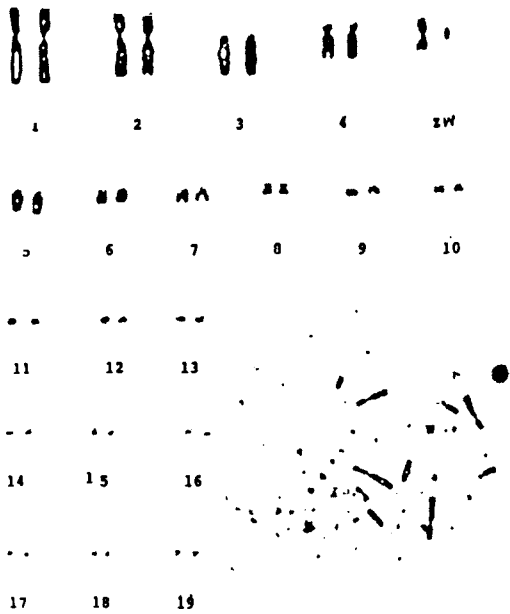


Fig. 1. The chromosome spread and karyotype of K. N. F. (Korean Native fowl).

nkari (1969)는 Z染色體의 中心粒指數를 49%, 相對的 長이를 11%로 報告하여 本 研究의 46%와 12.48%와 다소의 差異를 보이고 있으나 다같이 metacentric 이었다. 따라서 本 研究의 在來鷄도 既 報告內容들과 形態上의 差異가 없는 것으로 생각된다.

2. G-banding의 分析

在來鷄의 G-banding 處理한 현미경사진과 그것을 擴大하여 만든 karyotype은 Fig. 2와 같았고, G-band의 樣相을 보다 正確하고 자세하게 나타내기 위하여 macrochromosome에 대한 densitometric recording시킨 Graph는 Fig. 3과 같고, recording에 쓰인 擴大 macrochromosome은 Fig. 4와 같다.

Fig. 3에서 보면, 1번 染色體의 頂點數는 p-arm에서 8, q-arm에서 13으로 總 21個이고, 2번은 p-arm에서 3, q-arm에서 11로서 總 14個이며, 3번은 q-arm에서 12個, 4번은 p-arm에서 2, q-arm에서 6으로 總 8個, Z는 p-arm에서 3, q-arm에서 8로서 總 11個, 5번은 q-arm에서 4個, W는 1個의 높은 頂點을 볼 수 있었다. 이러한 頂點은 黑帶로 볼 수 있으며, 그 높이는 濃度의 差

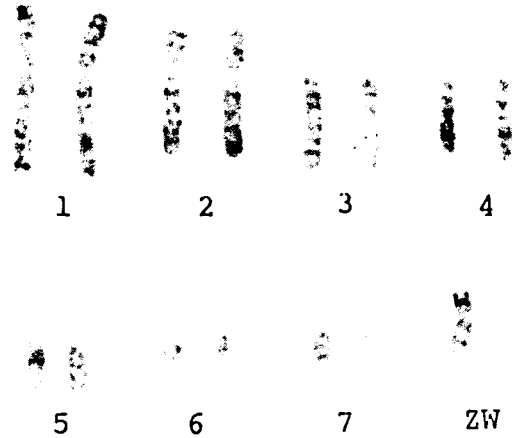


Fig. 2. G-banded chromosome spread and karyotype of K. N. F.

異에 起因되며 曲線의 幅은 바로 黑帶의 幅임을 알 수 있다. 이러한 G-band의 數는 既 報告(Shoffner, 1985; 孫과 吳, 1987)와 다른 것으로 DNA의 denaturing과 renaturing 處理로 G-band를 導出시킬때 品種, 系統間 差異나 染色體가 凝縮됨에 따라 分割될 band가 UNG쳐지기 때문에 數에서 差異가 날 수 있다는 報告들(Schnedl, 1971; 孫과 吳, 1987)을 立證하는 것이며, 또한 呂(1985)도 1번 染色體에서 20層以上, Z染色體에서 7層以上의 黑 band가 나타났다고 報告한 바 그 內容을 뒷받침 해 주

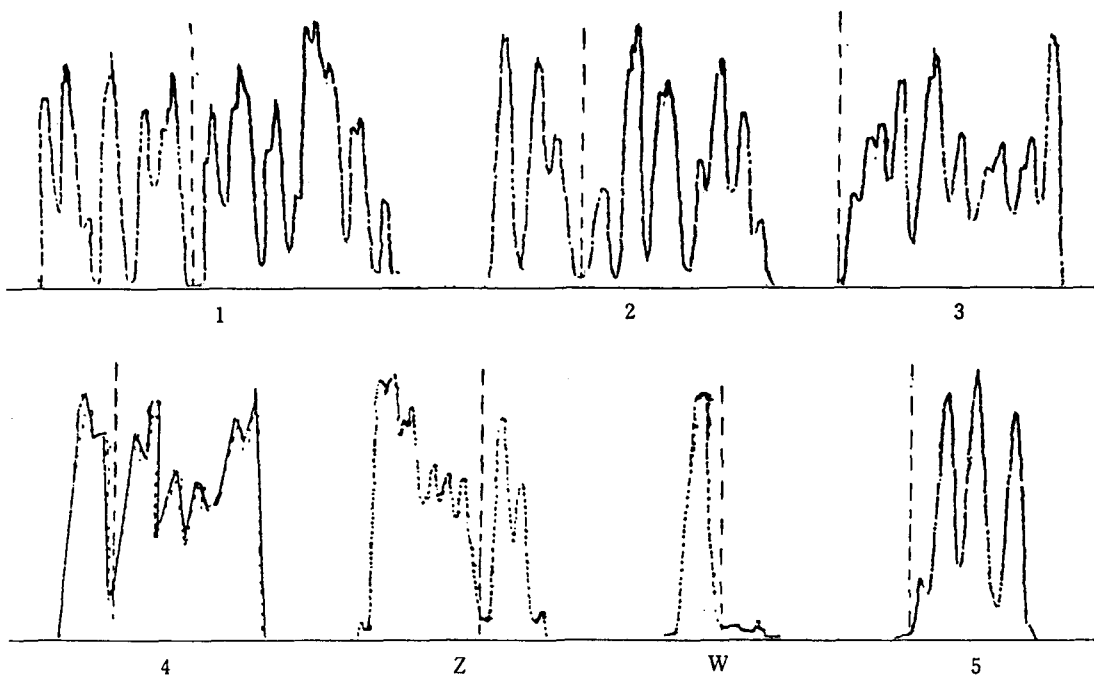


Fig. 3. Densitometric recordings of G-banded chromosomes of K. N. F.

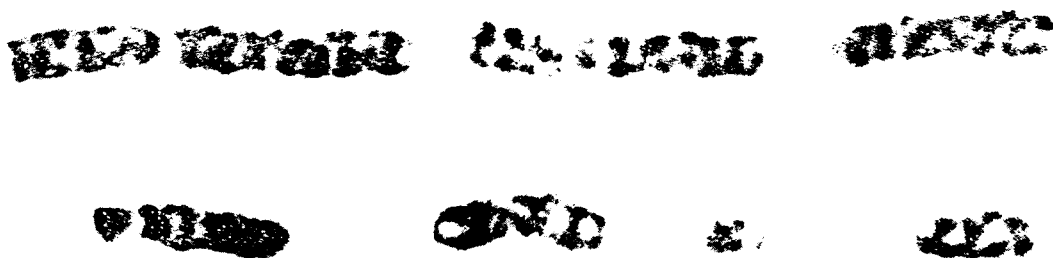


Fig. 4. The enlarged photo of macrochromosomes for densitometric recordings of K. N. F.

는 것이다.

現在로서는 在來鷄에 대한 染色體의 banding pattern의 研究報告가 없어 그 位相 定立이 어려우므로 앞으로 在來鷄에 대한 研究가 더욱 遂行되어야 할 것이다. 다만, 本 研究 結果만 가지고 孫과吳 (1987)가 報告한 W. Leghorn과 W. Cornish 品種의 G-banding pattern과 比較하여 볼때 p-arm과 q-arm의 길이나, Graph 樣相이 대체로 비슷하였

다.

3. C-banding의 分析

染色體內 遺傳物質中 constitutive heterochromatin部分을 選擇的으로 染色시킨 C-band像의 현미경 사진과 karyotype은 Fig. 5와 같고, C-banding 樣相을 보다 자세히 糾明하기 위하여 densitometric reading시킨 것은 Fig. 6과 같았으며, re-

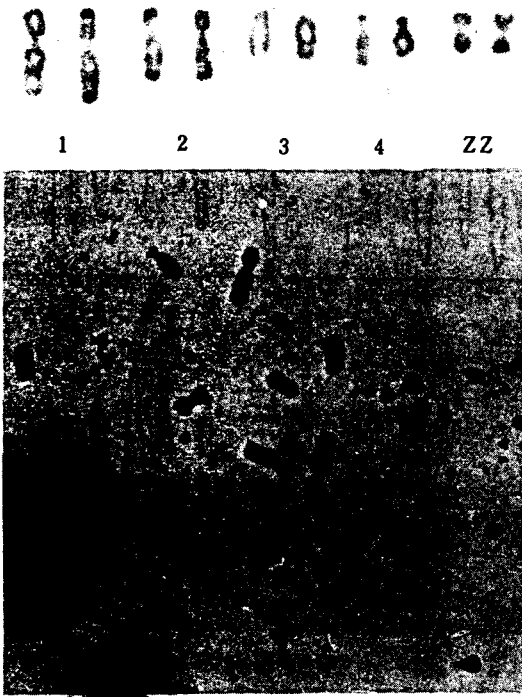


Fig. 5. C-banded chromosome spread and karyotype of K. N. F.

ading을 위해서 擴大시킨 macrochromosome은 Fig. 7과 같다.

C-banding에 의해 나타나는 heterochromatin은 interphase 期間中 凝縮된 部位로서 replication이 늦고, 이에 含有된 DNA는 遺傳子 發現作用이 없는 것으로 주로 highly repetitive DNA로 構成된다(Brown, 1966).

따라서 heterochromatin 部位의 識別은 遺傳的 特性研究에 매우 중요하다.

Fig. 6에서 大型染色體들은 中心粒部位와 末端部位가 모두 높은 頂點을 가지고 있어 짙은 C-band를 나타내고 있고, Z와 5번의 q-arm에도 다량의 heterochromatin이 存在함을 알수 있어 既報告者들(Pollock과 Fehhheimer, 1981; Stock과 Bunch, 1982; 孫, 1987)의 研究內容과 비슷한 結果였다. Fig. 6에서 頂點의 數는 1번 16, 2번 13, 3번 9, 4번 9, Z 9, 그리고 5번 染色體에서 4個를 識別할 수 있었다. 그러나 在來種의 C-banding 樣相을 定立하기 위해서는 多量의 研究가 遂行되어야 한다고 보며, 이러한 基礎資料가 쌓여진 後 遺傳的 特性을 究明하여야 한다고 생각한다.

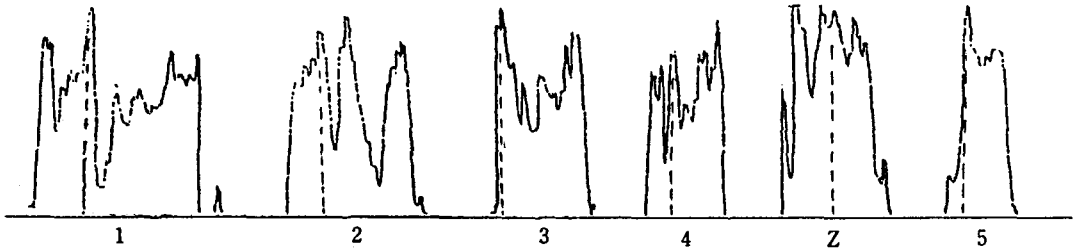


Fig. 6. Densitometric recordings of C-banded chromosomes of K. N. F.



Fig. 7. The enlarged photo of macrochromosome for densitometric recordings of K. N. F.

IV. 摘 要

本實驗은 우리나라 在來鷄의 育種 基礎 資料를 얻고자 染色體의 形態와 G-, C-banding pattern을 調査하여 보았다.

試料는 成長중인 初期胚兒를 利用하였고 染色體 分染分析은 現在 Ohio 大學에서 施行하고 있는 方法을 다소 수정하여 行하였다.

實驗結果 macrochromosome의 armratio와 centromeric index 그리고 relative length에서 다소 改良種과 差가 있으나 designation에는 差異가 없었다.

Densitometric recording에 나타난 graph의 頂點은 G-banding에서 1, 2, 3, 4, Z, 그리고 5번의 各 染色體에서 各各 21, 14, 12, 8, 11 그리고 4個였고, C-banding에서는 各各 16, 13, 9, 9, 9, 그리고 4個였다.

이러한 banding pattern은 分染分析 方法에 따라 더 많이 發現시킬 수 있으리라 생각하며, banding pattern에 依해서 genetic marker를 示唆하기 위해서는 더 많은 研究가 이루어져야 할 것이다.

V. 引 用 文 獻

1. Bitgood, J. J., J. S. Otis, R. N. Shoffner and N. S. Fechheimer. 1981. A cyclical translocation, t(1; 8; 5) in the domestic chicken (*Gallus Domesticus*). Cytogenet. Cell Genet. 30: 243-247.
2. Bitgood, J. J., R. N. Shoffner and J. S. Otis. 1980. Mapping of the genes for pea comb, blue egg, barring, silver, and blood groups A, E, H, and P in the domestic fowl. Poul. Sci. 59: 1686-1693.
3. Bloom, S. E. 1981. Detection of normal and aberrant chromosomes in chicken embryos and in tumor cells. Poul. Sci. 60: 1355-1361.
4. Borgaonkar, D. S. 1969. Observations on the chromosomes of one chicken (*Gallus Domesticus*). Poul. Sci. 48: 331-333.
5. Brown, S. W. 1966. Heterochromatin. Sci. 151: 417-425.
6. Comings, D. E., E. Avelino, T. A. Okada and H. E. Wyandt. 1973. The mechanism of C- and G-banding of chromosomes. Exptl Cell Res. 77: 469-493.
7. Fechheimer, N. S. 1981. Origins of heteroploidy in chicken embryos. Poul. Sci. 60: 1365-1371.
8. Levan, A., K. Fredga and A. A. Sandberg. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas 52: 201-220.
9. Pollock, B. J. and N. S. Fechheimer. 1981. Variable C-banding patterns and a proposed C-band karyotype in *Gallus domesticus*. Genetica 54: 273-279.
10. Shoffner, R. N. 1981. Marker chromosomes and G-banding for location of genes in the chicken. Poul. Sci. 60: 1372-1375.
11. Shoffner, R. N. 1985. Nomenclature of chicken chromosomes. Unpublished.
12. Stock, A. D. and T. D. Bunch. 1982. The evolutionary implications of chromosome banding pattern homologies in the bird order Galliformes. Cytogenet. Cell Genet. 34: 136-148.
13. Sumner, A. T. 1972. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. Exptl. Cell Res. 75: 304-306.
14. 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.
15. 孫始煥. 1987. 닭에 있어서 G-, C-banding 形態에 의한 染色體 標識因子에 관한 研究. 서울大學校 博士學位 論文.
16. 孫始煥, 吳鳳國. 1987. G-banding 形態에 의한 닭染色體 標識因子에 관한 研究. 韓畜誌. 29(12): 543~548.
17. 呂政秀. 1985. G, C-banding에 의한 닭 染色體 分析. 韓畜誌 27(12): 745-748.
18. 吳鳳國, 呂政秀, 徐奉甫. 1985. 닭(*Gallus domesticus*)의 經濟形質 改良을 위한 染色體 分染分析和 標識因子의 究明에 관한 研究. 韓畜誌 17(1): 70~84.
19. 吳鳳國, 孫始煥, 崔然皓. 1986. 單冠白色레그 혼純系에 있어 中心粒指數, 等腕比 및 相對의 길이에 의한 染色體의 形態의 特徵과 數에 관한 研究. 家禽誌 13(2): 167~172.