

# 닭에서 2배數性 配遇子 生成에 의한 4배數性 生命體의 生産

呂正秀 · 鄭暉辰 · 鄭鎰鉦 · 鄭船富\*

嶺南大學校 畜産學科

(1990. 3. 15 接受)

## Production of Tetraploid Embryos with Induction of Diploid Gametes in Chicken

J. S. Yeo, K. J. Chung, I. C. Cheong\*, and S. B. Chung\*

Department of Animal Science, Yeungnam University

(Received March 15, 1990)

### SUMMARY

For the production of tetraploid embryos in chicken through induction of diploid gametes. This experiment was found results as follows ;

1. Induction of diploid sperm was observed 11% from embryos of normal females and males at 12 days after injection of 0.37mg per 2kg body weight for three days.
2. 3 among 109 embryos from crosses of diploid gametes induced by TEM were found as tetraploid.
3. Genetic structures of tetraploid embryos were indentified as normal 4 pairs chromosomes without certain variation.

Key word : Tetraploid embryo, Diploid gametes, Chicken

### I. 緒 論

地球上에 存在하지 않던 新種의 生命體를 生産하여 高能力의 食糧資原을 開發하려는 今世紀末의 研究는 눈부신 發展을 하고 있다.

Palmiter 등(1982), Wagner 등(1981)이 처음으로

로 實驗動物인 생쥐의 成長호르몬(growth hormone) 調節遺傳子를 이용한 super mouse의 生産이 報告되었으나 이들이 계속성을 갖지 못하므로 해서 더 이상의 結果를 얻기에 어려움이 있었던 것이다. 植物에서와 같이 家畜에서도 遺傳物質(染色體)의 倍數性 增加에 따른 生産能力 向上을 꾀한 Wang 과 Shoffner

\* 農村振興廳 畜産試驗場(Livestock Experiment Station, R. D. A.)

(1980), 呂等(1989)이 밝힌 바와 같이 生産能力이 正常個體의 거의 2倍가 되는 3倍數性(3n)의 個體가 大量으로 生産될 수 있었으나 이들 또한 繁殖性(reproductivity)의 缺如로 實用性的 限界를 보여 더 이상의 돌파구를 찾지 못하고 있다.

따라서 본 研究에서는 實驗材料의 취급이 용이할 뿐만 아니라 遺傳物質의 機能과 生理的인 機能의 研究가 다른 畜種에 비하여 精確히 규명된 닭을 대상으로 하여 遺傳物質을 人爲的으로 倍加시킴으로, 正常닭(2倍數性)에 비하여 能力改良은 물론 繁殖能力을 가질 수 있는 理論確立과 실제 生命體의 生産을 目的으로 遂行되었다.

## II. 材料 및 方法

2倍數性 配偶子生成을 통한 4倍數性 胚兒生産의

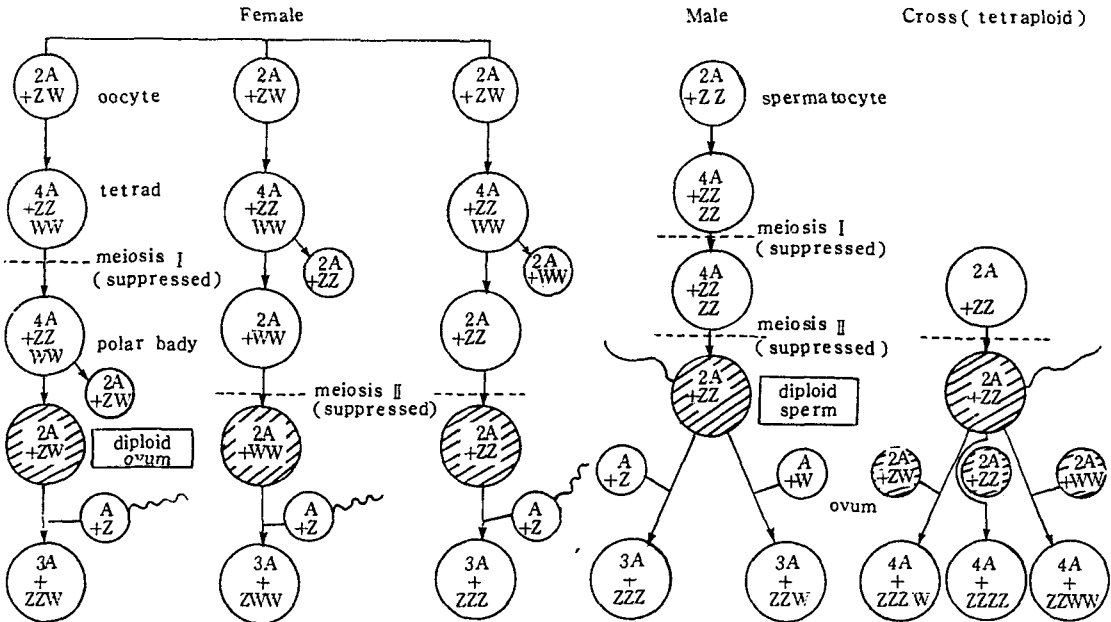


Fig. 1. Theoretical model of induction of diploid gametes and tetraploid embryos.

서 TEM의 反應效果에 따라 精子形成過程의 把握과 2倍數性 精子生産 確因이 可能하였다.

모식도는 Fig. 1과 같으며 다음과 같은 段階로 遂行되었다.

### 1. 2倍數性 配偶子の 生産

암탉에서 2倍數性 卵자의 生性を 呂(1988)와 呂等(1989)이 産卵鶏와 兼用種에서 60% 以上の 結果를 얻은 理論과 並行하여 수탉에서 2倍數性 精子의 生成을 다음과 같은 實驗過程으로 遂行되었다.

가) 實驗家畜: 20週齡 수탉 50首, 20週齡 암탉 200首

나) 精子 生性過程의 把握

精祖細胞(spermatogonium)에서 精子가 生成되는데 必要되는 時間과 減數分裂의 時間推定을 일정한 量의 방추사 억제제인 TEM(Tri-ethylen Melamine)을 수탉에 處理한 後 連續的인 精液採取... 正常암탉에 人工受精...受精卵培養...受精卵의 染色體分析으로

다) 染色體 分析

呂(1989), 呂等(1989)의 胚兒 染色體 分析方法

에 의하여 분석하였다.

## 2. 4 배수성 胚兒의 生産

가) 2 배수성 配偶子 大量生産

앞에서 밝힌 TEM의 反應結果를 利用하여 大量의 2 배수성 精子를 誘導함과 동시에 암탉에서도 呂等(1989)이 研究한 方法에 따라 2 배수성의 卵子 生産을 誘導한 후 암·수탉의 人工受精으로 얻어진 受精卵의 染色體分析으로 4 배수성 胚兒를 確因하였다.

나) 遺傳物質의 分析

胚兒의 染色體分析和 DNA 構造 및 遺傳物質의 特性 究明은 呂等(1989)의 方法으로 遺傳物質의 變化 또는 構造的 異常有無를 banding 技術로 觀察하였다.

## III. 結果 및 考察

### 1. 2 배수성 精子의 生産

수탉의 精子生性過程(spermatogenesis)은 卵子生 成過程(oogenesis)과 달리 實際적으로 確因될 수 있

는 根據가 없기 때문에 配偶子 生成過程의 減數分裂(meiosis)을 抑制하는 物質인 Tri-ethylene melamine (TEM)을 Table 1 과 같이 鷄의 生理作用에 미치는 영향이 最小化하는 體重 kg 당 0.37 ~ 0.70mg을 處理하여, 處理된 수탉에서 매일 精液採取와 人工受精으로 얻은 受精卵를 遺傳分析하므로써 2 배수성 精子 生産을 確因하였다.

TEM處理別 2 首의 수탉을 利用하여 매일 採取된 精液으로 90% 이상 産卵能力을 가진 5 首의 암탉에 매처리별로 人工受精하여 15日間 300 首의 암탉을 利用하였다.

그리고 受精된 1 首의 암탉에서 連續 7日間 受精 卵을 採取하여 매 TEM處理別 平均 420 個의 受精 卵을 分析하므로써 4 處理 모두 1,658 個의 受精卵에서 染色體分析을 하였다.

이 結果로 2 배수성 精子를 生産한 結果를 Table 2 에 제시하였는데 여기서 是 受精率의 變化가 있었고 中止率이 높으면서 2 배수성 精子가 觀察되었던 期間, 즉 TEM 첫 處理後 8 ~ 14 日間의 記錄을 나

Table 1. Semen collection, injection of Tri-ethylene melamine (TEM) and artificial insemination for the male chicks

Treatment	Days													
	-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5	.....	19	
0.37mg	2 males		-semen collection			-TEM injection			-semen collection					
0.45mg	of each					-semen collection			-artificial insemination					
0.55mg	treatment								-analysis of fertilized eggs					
0.70mg														

타내었다. 2 배수성 精子生産은 TEM處理된 수탉의 精液을 正常암탉에 受精하여 分析된 3 배수성 胚兒로서 確因될 수 있는데 各 處理別 3 배수성 生産은 TEM 첫 處理後 10 ~ 13 일에 觀察되었다.

3 배수성이 觀察될 때의 受精卵에서 發育中止率이 높았으며 0.37mg 處理의 12일째 精液에서 11%에 달하는 높은 3 배수성 胚兒生産이 이루어져 여기서 最大의 2 배수성 卵子生産이 되고 있음을 짐작할 수 있었다.

2 배수성 精子를 통한 生命體의 낮은 發生率은 精

子生産過程의 수많은 精母細胞(spermatocyte)중 部分的으로 TEM의 影響을 받고 있음이 짐작되며, 또한 Wang 등(1982)이 沈澱方法의 일종인 DNA 량의 差異로서 2 배수성 精子의 分離가 可能함을 報告한 바와 같이 수탉의 1 회 사정시 수집된 精子중 2 배의 遺傳物質을 가진 巨大한 2 배수성 精子의 活動性 減少로 인한 受精能力低下 현상도 짐작할 수 있었다.

### 2. 4 배수성 胚兒의 生産

Table 2에서 얻어진 2 배수성 精子生産의 最適方

Table 2. Observation of diploid sperm at 8~14 days after TEM 1st injection

days after TEM 1st treat	treatment 0.37mg				0.45mg				0.55mg				0.70mg			
	fertility	dead	2n	3n	fertility	dead	2n	3n	fertility	dead	2n	3n	fertility	dead	2n	3n
8	100%	0%	100%	-	97.3%	12.9%	100%	-	100%	22.2%	100%	-	100%	23%	100%	-
9	92.6	20	100	-	100	26.9	100	-	81.3	12.5	100	-	94.4	47.1	100	-
10	100	26.9	100	-	100	28.6	97	3	93.8	13.3	100	-	71.0	30.3	100	-
11	88.9	33.3	100	-	96.2	12.0	100	-	63.0	41.7	95	5	70.6	33.3	95	5
12	89.3	44.0	89	11	84.0	28.6	100	-	70.8	23.5	100	-	76	21.1	100	-
13	80	15	100	-	83.3	33.3	100	-	94.4	35.3	97.5	2.5	95.0	21.1	100	0
14	95.4	8.3	100	-	95.8	14.1	100	-	100	5.6	100	-	95.0	10.3	100	-

법인 0.37 mg의 TEM을 수탉 12 후에 처리한 후 12 일째 精液과 呂等(1989)이 제시한 2 배數性 卵子生産方法을 利用한 200 隻의 암탉에 대한 交配를 통하여 얻어진 4 배數性 胚兒의 觀察結果는 Table 3 과 같다.

染色體分析이 可能했던 受精卵중 69 %는 정상적인 2n 의 胚兒였고 卵子生産過程이나 精子生成過程 중 한 過程에서만 人爲적으로 影響을 받았던 胚兒로 判斷되는 3n 이 28.4 %였으며 本實驗의 目的인 2n 의 精子和 2n 의 卵子로서 生成된 4n 의 胚兒는 2.8 %였다.

實驗적으로 人爲적으로 4 배數性 生命體의 生性은 지금까지 報告된 바가 없지만 本實驗에서 얻어진 結果는 2A + ZW인 2 배數性 卵子和 2A + ZZ精子에서 얻은 4A + ZZZW胚兒 2個와 2A + ZZ인 2 배數性 卵子和 2A + ZZ 精子에서 얻어진 完전한 수탉의 遺傳構造인 4A + ZZZZ生命體가 1개 觀察되었으며 이들의 染色體常은 Fig. 2에 그리고 banding樣相은 Fig. 3에 제시되었다.

일반적으로, 비정상적인 遺傳構造로서 4 배數性 胚兒가 判明될 수도 있는데 이 경우 정상배아(2A+AA

또는 2A+ZW)가 細胞分裂過程의 細胞質 不分離(cytokinesis)現象으로 4A + ZZZZ, 4A + ZZWW로 나타날 수 있는 理論의 可能性이 있다고 Fehchheimer (1985)가 報告하였으나 本實驗의 結果 4A + ZZZW는 自然的으로 生性이 있을수 없는 分명한 2 배數性인 精子和 卵자의 結合에서 生成된 生命體임이 確信된다.

이러한 4 배數性 生命體의 遺傳構造는 Fig. 3의 banding 形態로 보아 Shoffner (1981), Bitgood 등 (1981), 吳等(1985)이 提示한 正常構造에서 變化가 없이 동일한 染色體가 4쌍으로 形成된 遺傳的 構造를 가진 形態임을 알 수 있었다.

이로써 4 배數性 胚兒生産이 앞으로 補完되어 大量 確保되므로써 4 배數性 닭의 生産이 이루어지면서 植物體의 倍數性 增加에 따른 生産性 增加와 마찬가지로 닭의 遺傳的인 生産能力의 增加는 물론, 繁殖能力이 있어 自力에 의한 後代生産으로 維持될 것으로 判斷되어 만약 4 배數性의 遺傳的 能力의 增加가 없고 連續性이 없다고 하더라도 正常 닭의 配遇子(2n)와의 結合으로 3 배數性 닭이 大量 生産되어 이미 呂等(1990)이 報告한 바와 같이 正常個體 보다 生産

Table 3. Frequency of polyploid embryos of males and females treated TEM

No. of TEM treated		No. of		Chromosome analysis(%)			
male	female	eggs	fertilized	No.	2n	3n	4n
12	200	186	112	109	75 (68.8%)	31 (28.4)	3 (2.8)
				4A + ZZZZ(1) 4A + ZZZW(2)			

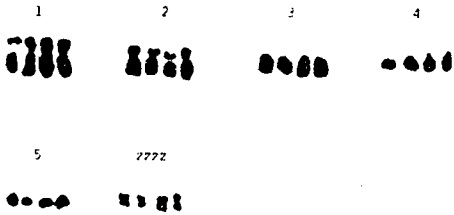


Fig. 2. Chromosome spread and karyotype of tetraploid embryo (4A+ZZZZ)

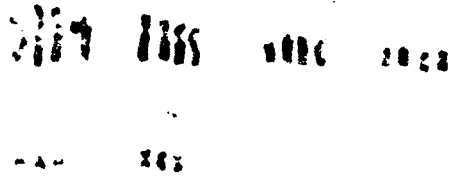
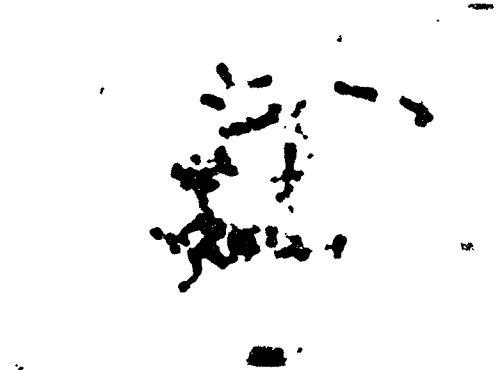


Fig. 3. G-banded chromosome spread and karyotype of tetraploid embryo(4A+ZZZZ)

성이 배가되는 3배수성 個體 生産에 利用이 可能할 것으로 期待된다.

#### IV. 摘 要

닭에서 2배수성 配子( gametes )의 生成을 통해서 4배수성 胚兒 生産을 위한 本 實驗의 結果는 다음과 같다.

1. 2배수성 精子生産 TEM(Tri-ethylene melamine) 0.37 mg을 연속 3일 注射한 후 9일째(최초 TEM처리 후 12일째)에 11%로 가장 높았다.
2. 2배수성 配子를 誘導한 후 受精을 통하여 109개의 受精卵 중 4배수성 胚兒를 3개(2.8%) 觀察할 수 있었다.
3. 4배수성 個體의 遺傳構造는 正常構造에서 變化가 없이 同一한 染色體가 4쌍으로 構成된 形態였다.

#### V. 引用 文 獻

1. Bitgood, J. J., J. S. Otis, R. N. Shoffner and N. S. Fechheimer, 1981. A cyclic translocation, t(1:8:5), in the domestic chicken. *Cytogenetics and cell genetics*, 30 : 243~247.
2. Fechheimer, N. S., 1985. Normal and aberrant chromosome complements of domestic animals. *World Animal Sci.*, 4 : 313~334.
3. Palmiter, R. D., R. L. Brinster, R. E. Hammer, M. E. Trumballer, M. G. Rosenfeld, N. C. Brinberg and R. M. Evans, 1982. Dramatic growth of mice the develop from egg microinjected with metallothionein-growth hormone fusion genes. *Nature*, 300 : 611~615.
4. Shoffner, R. N., 1981. Marker chromosomes and G-banded for location of genes in the chicken. *Poultry Sci.*, 60 : 1372~1375.
5. Wagner, T. E., P. C. Hoppe, J. D. Jollick, D. R. Scholl, R. L. Hodinlea and J. B. Gault, 1981. Microinjection

- of rabbit B-globin gene into zygotes and its subsequent expression adult mice and their offspring. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 78 : 6376~6380.
6. Wang, N., J. R. Sheppard, T. Wang and R. N. Shoffner, 1980. The induction and detection of diploid spermatozoa in *Gallus domesticus*. Mutation Research, 73 : 279~290.
  7. Wang, N. and R. N. Shoffner, 1980. Induction of heteroploidy in *Gallus domesticus*. Mutation Research, 69 : 263~273.
  8. 呂政秀, 1988. 닭에서 2배數性 卵子の 生成에 關한 研究. 韓國家禽學會誌, 15 : 67~71.
  9. 呂政秀, 鄭船富, 吳鳳國, 鄭鎰鉉, 1989. 染色體의 倍數性 增加에 의한 닭의 新品種開發. (I) 多倍數性 胚兒의 生産. 韓國畜産學會誌, 31 : 309~313.
  10. 呂政秀, 鄭船富, 吳鳳國, 鄭暎辰, 1990. 染色體의 倍數性 增加에 의한 닭의 新品種開發. (II) 多配數性 닭의 生産. 韓國畜産學會誌, 32(投稿中)
  11. 吳鳳國, 呂政秀, 徐奉甫, 1985. 닭의 經濟形質 改良을 위한 分染分析和 標識因子의 究明에 關한 研究. 韓國育種學會誌, 17 : 70~84.