

## 日本産 메추리(*Coturnix coturnix japonica*)의 核型研究

손시환<sup>1</sup> · 이경희<sup>2</sup> · N. S. Fechheimer<sup>1,2</sup>

Ohio 州立大學校, 酪農學科<sup>1</sup>, 分子遺傳學科<sup>2</sup>

### Karyological Study of Japanese Quail (*Coturnix coturnix japonica*)

Sea H. Sohn<sup>1</sup>, Kyung H. Lee<sup>2</sup> and N. S. Fechheimer<sup>1,2</sup>

Department of Dairy Science<sup>1</sup>, Molecular Genetics<sup>2</sup>

The Ohio State University

#### ABSTRACT

Chromosome complements of Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) were studied using several tissues which involving testis, leukocytes and embryos. The diploid count was estimated to be  $2n=78$ . Analyzing the metaphase of secondary meiosis in spermatocytes, the haploid count estimated to be  $n=39$ . Morphometric analysis were studied by the centromeric index and relative length of 8 macrochromosomes and Z, W chromosomes. The differences of morphological feature were not significant among tissues. Exceptionally the chromosome 4 showed a considerable variety in the presence of it's short arm.

#### I. 緒 論

20C 初 染色體가 유전자의 운반체임을 밝힌 이래 이들에 대한 數的, 形態的, 構造的 및 有絲分裂, 感數分裂의 기능적 역할에 대한 연구가 활발히 추진되어 왔다. 조직절편의 준비와 squash preparation의 기술적 성공이 細胞遺傳學的 研究에 큰 轉期를 주었으며 더우기 組織培養기술 및 細胞培養기술의 급진적 발전에 따라 간편한 조직의 배양으로부터 또는 적은 혈액 시료로부터도 염색체 분석이 용이하게 되었다(Arakaki와 Sparkes, 1963; Hungerford, 1965; Jovanovic과 Atkins, 1969; Zartman, 1973). 특히 지난 30여년간 사람에게 있어 細胞遺傳學 研究는 방대한 유전병리학적 진단 및 분석에 적용되어 괄목할만한 성과를 거둔 바 있고 많은 포유동물들에서도 이에 대한 연구가 활발하게 진행되어 왔다. 한편 조류의 세포유전학적 연구는 이들 염색체들의 많은 수가 小型染色體(microch-

romosomes)로 구성되어 있고, 포유동물들의 염색체 분석에 이용되는 발전적 기법들의 적용에 어려움이 있으며, 염색체 분석을 위한 이용가능한 조직의 선택에 문제가 있음에 따라 사람 및 포유동물들에 대한 연구에 비해 상대적으로 지체된 상황이다.

家禽類에 있어 日本産 메추리는 빠른 성성숙일령과 많은 난자의 생산, 사육의 편리함 등으로 인해 면역학, 생리학, 유전학, 조직배양 등 모든 생물학적 기초 연구를 위한 실험동물로서 가장 유용하게 쓰이는 것 중 하나이다. 細胞遺傳學的 研究를 위한 실험동물로서 역시 日本産 메추리에 대한 여러 연구보고들이 있다. Talluri와 Vegni(1965)가 日本産 메추리의 染色體 數 및 形態的 考察을 처음으로 제시한 이래 이들 核型에 관한 연구들이 꾸준히 진행되고 있으나 염색체의 수 및 형태적 양상에 대해 아직까지 다소의 異見을 보이고 있다(Sahai와 Pani, 1970; Takahashi와 Yoshiaki, 1974). 이밖에도 Wolowodiuk 등(1985)은 일본산 메추리의 선발 계통간의 染色體異常頻度에 대해

조사하였고, 염색체내의 DNA 구성이나 이들의 化學的組成에 따라 나타나는 여러가지 banding 樣相들에 대해서도 활발히 연구중이다(Comings와 Wyandt, 1976; Sasaki와 Nishida, 1980; 1981; Takashima 등, 1985; Mayr 등, 1989).

따라서 本 研究에서는 日本産 메추리에 대한 체계적인 세포유전학적 연구를 위하여 染色體의 數 및 形態的 構造樣相을 減數分裂상태에서 분석하고 또한 각기 다른 組織들로부터 이들 細胞들의 有絲分裂 中期狀을 비교분석 하고자 한다. 아울러 각 염색체들의 動原體指數(centromeric index) 및 相對的 길이比(relative length)들을 분석하므로써 이들에 대한 형태적 표준체계를 제시하고자 한다.

## II. 材料 및 方法

본 시험은 Ohio 주립대학 농업개발연구센터(OA-RDC)에서 사육중인 10~20주령된 일본산 메추리 암수 각 50수씩을 염색체 분석에 이용하였다. 白血球培養에 의한 염색체 분석을 위해서 첫 3개월 동안 모든 개체들에 대한 혈액을 채취하여 분석에 이용하고, 이후 이들간에 인공수정을 통하여 수정란을 수집하여 初期胚兒에 대한 염색체 분석을 수행하였다. 한편 減數分裂 中期狀의 관찰을 위하여 25~30 주령된 수컷 10수를 무작위로 추출하여 도살하고 표본을 채취 분석하였다

### 1. 白血球培養에 의한 염색체 분석

白血球培養에 의한 염색체 분석은 Sohn 등(1990)이 제시한 방법에 따라 실시하였다.

먼저 頸靜脈으로부터 1ml 정도의 혈액을 채취한 다음 원심분리 하여 적혈구 층 위에 부유하는 얇은 milky層(buffy coat)만을 수집한다. 채취된 buffy coat를 5ml 정도의 RPMI 배양액에 넣고 41°C로 72시간 배양한다. 이때 배양액에는 10% calf serum, 2% Pokeweed mitogen, 1% heparin 및 100IU penicillin/ml을 첨가 조성한다. 배양종료 2시간 전에 0.2% colchicine 0.05ml을 첨가시켜 증기상을 포착하게 한 후 원심분리시켜 부유액을 버리고 低張處理를 약 20분간 실온에서 시킨다. 저장처리액으로는 0.3% sodium citrate와 calf serum을 3:1로 혼합하여 사용하고 이후 methanol과

acetic acid를 3:1로 혼합한 Carnoy's液으로 固定시킨다. 동일한 고정액으로 2~3회 반복하여 고정시킨 후 slide상에 4~5 방울 정도 떨어뜨려 도말시켜 건조시킨 후 5% Giemsa 용액으로 염색하여 관찰한다.

### 2. 初期胚兒로 부터 염색체 분석

39°C로 16시간 배양된 수정란에 기공을 통하여 0.2% colchicine 0.07ml을 주입하여 증기상을 유도한다. 이후 2시간 더 재배양시킨 후 scalpel blad로서 胚兒만을 떼어 TC 199을 함유한 원심분리관으로 옮긴다. 원심분리 후 低張 및 固定處理는 白血球培養에 의한 염색체 분석에서와 동일한 방법으로 수행한다.

### 3. 減數分裂 中期狀의 分析

감수분열 증기상의 분석방법은 Pollock과 Fechtner(1978)가 제시한 방법을 다소 수정하여 다음과 같이 실시하였다. 각 개체에 0.2% colcemid를 0.3ml씩 腹腔注射 후 2시간이 지난 다음 도살하였다. 도체를 腹開시킨 후 양쪽 정소를 절단하고 精巢外層 表皮組織을 얇게 절편화 시킨 후 2.2% sodium citrate 용액으로 수세시킨 다음 작은 비이커 내에 침지시키고 미세하게 으개어 준다. 현탁된 세포액 0.5ml 정도를 원심분리관에 넣고 0.7% sodium citrate 용액으로 약 10분 정도 低張處理 시킨 후 원심분리시키고 전술한 방법과 동일하게 固定處理한다.

## III. 結果 및 考察

日本産메추리의 染色體 數 및 이의 形態的 樣相을 살펴보고자 각기 다른 조직들의 細胞로부터 세포분열 증기상을 유도하여 Fig. 1에 제시하였다. Fig. 1-a는 精巢組織으로부터 精原細胞의 有絲分裂 中期狀態이고, Fig. 1-b는 제2 감수분열에서의 제2정모세포 증기상이다. 또한 Fig. 1-c는 白血球培養으로부터 中期分裂 狀態의 染色體 양상이며 Fig. 1-d는 初期胚兒로 부터의 有絲分裂 中期狀이다.

中期狀態 染色體들의 형태적 특징을 보다 체계적이고 구체화하기 위하여 각 염색체들의 動原體指數(centromeric index)와 相對的 길이比(relative length)를 분석하였다. Table 1에서는 精原細胞의 유사분열 증기상과 감수분열 II期에서의 第2精母細胞의 中期狀



Fig. 1. Metaphase spreads from several tissues :

- a. spermatogonial metaphase, b. metaphase of secondary meiosis in spermatocyte,
- c. metaphase spreads from leukocyte culture, d. metaphase spreads from embryonic tissue

에 대한 각 염색체별 분석결과로서 인지가 가능한 5개의 大型染色體와 Z染色體에 대한 것으로 각 분석치는 10개의 관측염색체로 부터의 평균값이다.

**Table 1.** Morphometric analysis of the macrochromosomes during spermatogenesis in the Japanese quails

Chromosome No.	Spermatogonial metaphase		Spermatocyte(II)	
	C. I.	R. L.	C. I.	R. L.
1	27.36	28.9	26.87	28.6
2	37.47	21.9	35.80	20.6
3	-	14.6	-	15.2
4	-	13.4	-	13.4
5	-	8.2	-	8.4
Z	47.54	12.9	48.70	13.7

Note ; 1. C. I. is Centromeric Index  
Centromeric index(%)

$$= \frac{\text{the length of short arm}}{\text{length of short and long arm}} \times 100$$

2. R. L. is Relative Length  
Relative length (%)

$$= \frac{\text{the length of each chromosome}}{\text{total length of macrochromosomes}} \times 100$$

분석된 결과에 따라 精原細胞의 有絲分裂 中期狀에서의 1번 염색체는 전체 대형염색체 길이의 28.9%를 차지하며 submetacentric 염색체이고, 2번 염색체는 metacentric 염색체이며, 그밖의 3, 4, 5번은 acrocentric 염색체였다. 반면 Z염색체는 4번염색체와 비슷한 크기이나 동원체가 거의 중앙에 있는 metacentric 상태이다. 또한 반수체(n) 상태인 감수분열 II기에서의 중기상태의 제2정모세포 염색체는 분석결과 이배체(2n) 상태인 정원세포의 중기염색체상과 거의 유사한 양상을 보이고 있어 형태적 차이점이 없는 것으로 생각된다. 그러나 모든 염색체들의 길이는 염색체의 응축 정도에 따라 상당히 변이가 심한 것으로 나타났다. Table 2는 白血球培養 및 初期胚兒로 부터의 中期 염색체 상의 분석 결과이다.

**Table 2.** Morphometric analysis of the macrochromosomes from leukocyte culture and embryonic tissues in the Japanese quails

Chromosome No.	Leukocyte Culture		Embryonic Tissues	
	C. I.	R. L.	C. I.	R. L.
1	28.90	21.50	28.31	24.43
2	42.05	17.36	41.75	17.84
3	-	11.93	-	11.94
4	7.14	11.05	4.32	10.34
5	-	7.2	-	6.38
6	-	4.93	-	4.36
7	-	4.54	-	3.91
8	37.50	3.94	42.20	3.44
Z	47.00	9.86	45.69	9.37
W	5.13	7.69	7.38	7.94

(C. I. ; Centromeric Index(%), R. L. ; Relative Length(%))

白血球培養에 의한 중기염색체의 형태적 분석은 약 100개의 관측염색체로 부터의 평균치이고 初期胚兒에 의한 염색체의 형태적 분석은 30여개의 관측염색체로 부터의 평균치로서 8개의 大型染色體 및 Z, W 性染色體의 분석결과이다. Table 2에 나타난 바와 같이 2번 염색체, 8번 염색체 및 Z염색체는 metacentric 형태이고, 1번은 submetacentric, 그밖의 3, 4, 5, 6, 7 및 W는 acrocentric 형태이다. 염색체 분석에 이용된 조직간의 動原體指數 및 相對的 길이비는 거의 같은 양상을 띄고 있으나 4번 염색체에서 다소의 차이를 나타내고 있다. 이는 4번 염색체의 p-arm의 存在有無 및 길이의 큰 변이에 기인된 것으로 이에 대한 명확한 究明이 있어야 할 것 같다. 또한 精原 및 精母細胞에서의 상대적 길이비와 달리 4번 염색체의 길이가 Z염색체보다 다소 길게 나타나고 있다. W염색체는 5번 염색체의 길이와 거의 유사한 양상을 보이나 p-arm의 존재에 따라 식별에 큰 어려움은 없다.

한편 분석에 이용된 大型染色體 이외 30여쌍의 小型染色體들은 거의 점의 형태로 나타나 형태적 분석이 불가능하였으나 많은 수의 염색체들이 acrocentric 형태로 구성되고 소수 염색체들은 metacentric 또는 submetacentric 형태를 지닌 것 같다.

이상의 결과들을 Talluri와 Vagni(1965), Sahai와 Pani(1979) 및 Ansari와 Singh(1983)의 연구보고들과 거의 일치하는 것으로 4번과 Z염색체간 및 5번과 W염색체간의 상대적 길이비에서만 본 연구결과와 차이를 보이고 있다. 이는 4번 염색체의 개체간 p-

arm의 變異性和 W염색체의 細胞分化에서의 濃축 정도에 기인된 차이인 것으로 생각된다. 이들 8개의 大型染色體와 Z, W染色體에 대한 核型分析은 Fig. 2에 제시한 바와 같다.

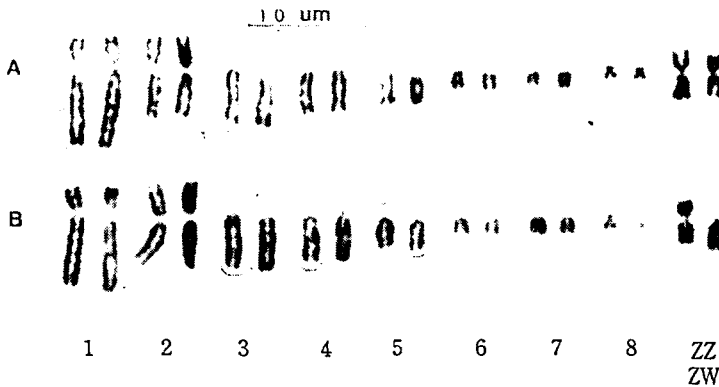


Fig. 2. Partial karyotypes of a diploid cell having the ZZ(A) and ZW(B) sex chromosome complement

日本産메추리의 염색체 수를 정확히 규명하기 위하여 여러조직으로부터 자기 다른 세포들의 증기상을 관찰한 결과 精原細胞, 白血球培養 및 初期胚兒로부터의 분석가능한 총 92개의 증기상중 49개(53.3%)의 증기상에서 78개 染色體 數를 나타내었고, 소수를 제외한 나머지는 73~77개로 나타났다. 이러한 결과는 小型染色體들에 있어 뚜렷한 형태의 식별이 불가능하였기 때문인 것으로 기술적 미흡함에 기인된 것 같다. 본 연구결과는 Ansari와 Singh(1983)가 보고한 27%가 78개의 염색체로 구성되어 있다는 것과는 많은 차이가 있으나 Sahai와 Pani(1970)가 보고한 53%와는 거의 일치된다. 그러나 이들 또한 여러 고찰로서 日本産메추리의 염색체를 78개라 규정함에 따라 本研究견해와 일치된다. 특히 감수분열 II期에서 제2정모세포 증기상의 관찰 결과 총 10개의 像중 8개(80%)에서 39개의 染色體가 나타나고 나머지에서 37개씩 나타남에 따라 이배체의 염색체수가 78개임을 보다 입증적으로 시사하고 있다.

#### IV. 摘 要

日本産메추리(*Coturnix coturnix japonica*)의 核型研究을 위하여 精巢組織 및 白血球, 初期胚兒組織들로서 染色體 分析을 수행하였다. 이들 염색체의 수는 정상 이배체(2n)가 78개로 나타나고, 제2 감수분열 증기상태의 精母細胞의 관찰에서 반수체(n)가 39개로 나타났다.

한편 8개의 大型染色體 및 性 染色體에 대한 形態的 分析은 動原體指數 및 相對的 길이比로서 측정하였다. 이용된 여러 조직간의 염색체의 형태적 차이는 거의 없는 것으로 나타났으나 4번 염색체에서 p-arm의 存在有無에 따라 상당한 변이를 나타내었다.

#### V. 引用文獻

1. Ansari, H. A. and H. Singh. 1983. The chromosome complements of Japanese quail (*Coturnix coturnix*

- japonica*). Avian Res. 67 : 81-84
2. Arakaki, D. T. and R. S. Sparkes. 1963. Microtechnique for culturing leukocytes from whole blood. Cytogenetics 2 : 57-60
  3. Comings, D. E. and H. E. Wyandt. 1976. Reverse banding of Japanese quail microchromosomes. Exptl Cell Res. 99 : 183-185
  4. Hungerford, D. A. 1965. Leukocytes cultured from small inocula of whole blood and the preparation of metaphase chromosomes by treatment with hypotonic KCl. Stain Tech. 40 : 333-338
  5. Jovanovic, V. and L. Atkins. 1969. A tissue culture technique for the study of avian chromosomes. The Auk 86 : 696-700
  6. Mayr, B., M. Lambrou and W. Schleger. 1989. Further resolution of the quail karyotype and characterization of microchromosomes by counterstain-enhanced fluorescence. J. of Heredity 80 : 147-150
  7. Pollock, D. L. and N. S. Fechheimer. 1978. The chromosomes of cockerels (*Gallus domesticus*) during meiosis. Cytogenetic Cell Genet. 21 : 267-281
  8. Sahai, R. and P. K. Pani. 1979. Somatic Karyotype of Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). Indian J. Hered. 11 : 1-6
  9. Sasaki, M. and C. Nishida. 1980. C-band heteromorphism in the Z chromosome of the Japanese quail, *Coturnix coturnix japonica*. Chromosome Info. Service 29 : 21-22
  10. Sasaki, M. and O. Nishida. 1981. Nucleola chromosomes of the domestic chicken and the Japanese quail. Chromosome Info. Service 30 : 25-27
  11. Sohn, S. H., N. S. Fechheimer and B. K. Ohh. 1990. Leukocyte culture technique for the study of chromosomes in the Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). Kor. J. Anim. Sci. 32(12) : 747-750
  12. Takahashi, E. and K. Yoshiaki. 1974. The karyotype of the Japanese quail. Chromosome Info. Service 17 : 11-13
  13. Takashima, Y., S. Takahashi, H. Takahashi and Y. Mizuma. 1985. High resolution G-banding chromosomes of Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). Tohoku J. of Agricultural Res. 36 : 75-78
  14. Talluri, M. V. and L. Vegni. 1965. Fine resolution of the karyogram of the quail *Coturnix coturnix japonica*. Chromosoma (Berl.) 17 : 264-272
  15. Zartman, D. L. 1973. A microculture technique for chick leukocytes. Cytogenet. Cell Genet. 12 : 136-142