

환경성 돌연변이원에 의한 Mouse의 X-Y 염색체 조기분리에 관한 연구

윤 경 희 · 이 원 호
부산대학교 생물학과
(1998년 5월 16일 접수)

Studies on X-Y Chromosome Dissociation Induced by Environmental Mutagens in Mouse

Kyoung-Hee Yun and Won-Ho Lee

Dept. of Biology, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea
(Manuscript received 16 May 1998)

The purpose of this work was to examine whether X-Y chromosome dissociation in the primary spermatocytes of mice could be used as an *in vivo* short-term assaying system that detect environmental mutagens.

Four alkylating agents(EMS, MMS, MMC and MNNG) which were known as strong mutagens were administered to BALB/c male mice 3-4 months old.

In the control group, the mean frequencies of previously dissociated X and Y chromosomes and autosomes were 7.17% and 2.12%, respectively. Compared to the control group, mutagen-treated groups have no significant differences in dissociation rate of autosomes, while these groups were about 1.2-2.5 times higher in the frequencies of X-Y dissociation.

Generally, X-Y dissociation frequency increased consistently with the concentration of mutagens whereas the tendency of autosome dissociation frequency was variable among several mutagens. These results suggest that X-Y dissociation in the primary spermatocytes of mice is applicable as an *in vivo* short-term assaying system for environmental mutagens.

There were significantly distinct increase in dissociation of X-Y chromosome in both the hybrid and parents but the X-Y previous dissociation of hybrid appeared higher frequency than BALB/c and wild mice. These results indicate that the factor related to binding X-Y chromosome is specific to strains.

Key words : X-Y chromosome dissociation, environmental mutagens, BACB/c, wild mice, *in vivo* short-term assaying system

1. 서 론

화학공업의 발달과 함께 우리의 생활 주변은 많은 종류의 화학물에 노출되어 있다. 암 발생 과정에서 돌연변이의 역할이 매우 중요하다는 것이 명백한 사실로 드러나면서, 이러한 주변의 각종 화학 물질이 돌연변이원인지를 검색하고, 이미 알려진 돌연변이원도 체내 영향 정도를 조사할 필요성이 요구되면서, 다양한 *in vivo*와 *in vitro* 검출계들이 고안, 사용되고 있다.

Ames *et al.*(1975)에 의해 개발된 *Salmonella/mammalian-microsome* 돌연변이 검출계는 환경성 돌연변이원을 검출하는데 성공적이었고, 발암성이 확실히 밝혀진 300종이상의 화합물이 Ames의 검출법에 의해 재확인되어 그 중 90% 이상이 돌연변이원으로 밝혀져, 돌연변이와 발암기구의 공통성이 시사되었다(McCann

et al., 1975). 그러나, 발암성이 높은 것으로 알려진 물질의 임상 실험에서 원핵 생물과 진핵 생물간에 발암 정도의 차이를 보였고, 진핵 생물내에서도, 정량적인 불일치를 보였다(Ames *et al.*, 1982; Sugtmura, 1982; Styles and Penman, 1985).

이러한 불일치성은 화학물질의 해독 기구와 활성화 기구, 많은 단계의 내성기구의 유무등에서 유래된다고 보고 된 바 있다(Würigler *et al.*, 1975).

따라서, 고등동물에 적용되는 검출계의 필요성이 요구되면서 화학 발암작용에 대한 생체 실험이 발표되었다(Fujimura *et al.*, 1970; Hirono and Shibuya, 1972). 그러나 이들은 장기간에 이루어지는 방법으로 이후 이를 대체하기 위해 짧은 시간내에 수행가능한 각종 검출법들도 다양하게 개발되어 사용되고 있다.

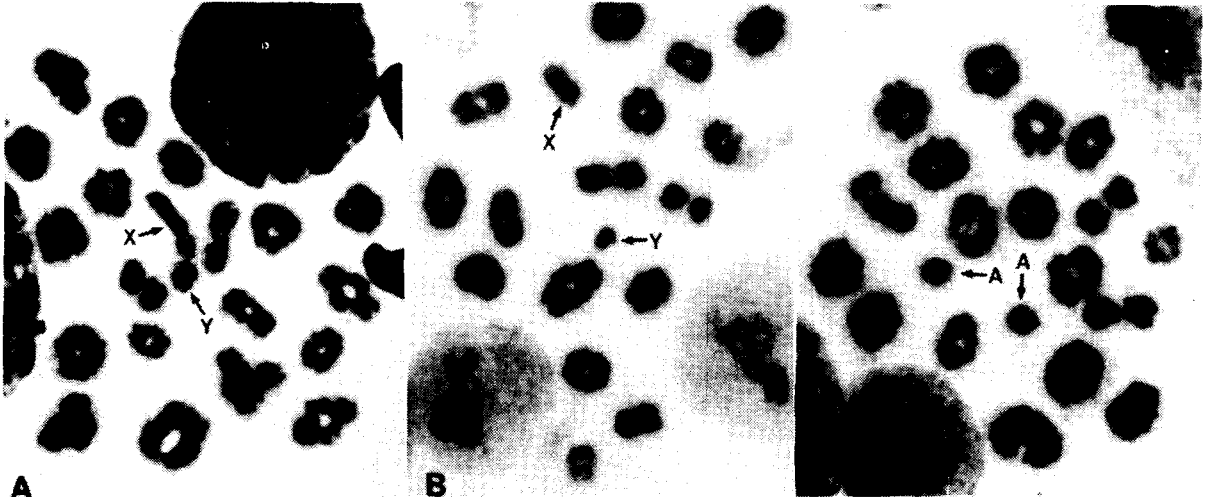


Fig. 1. X-Y chromosomes and autosomes dissociation in spermatocytes of BALB/c at M1(1000X). A: A normal cell with paired chromosomes(Arrows; sex chromosome present as a bivalent type). B: A cell with dissociated X and Y chromosomes(Arrows; Sex chromosome present as univalent type). C: A cell with dissociated autosome(Arrows; Autosome present as univalent type).

일반적으로 감수분열은 유전적으로 다양한 생식세포를 만들어 다음 세대에 유전적 변이성을 부여하므로 체세포 염색체 연구에서 얻을 수 없는 많은 정보를 감수분열 연구에서 얻을 수 있다(Choi et al., 1994b; Liang et al., 1986).

불임을 유발한다고 보고되고 있는 요인 중에서 1가 염색체의 빈도는 수컷의 제 1 감수분열 이동기와 중기 단계에서 일어나는 X-Y 염색체 조기분리에 의해 증가되며 이런 불임이 염색체 결합과 연관성을 가진다는 것이 보고되어 왔다(Rapp et al., 1977; Beechey, 1973; Choi et al., 1994a).

감수분열 과정에서 XY형의 성염색체를 가지는 다양한 동물들의 성염색체 결합은 X와 Y 염색체의 크기와 상동성의 정도에 따라 다양하나(Purnell, 1973), 많은 동물에서 제 1 감수분열 중기동안에 end-to-end 형태로 결합을 하고 있다(Chandley and Speed, 1987; Purnell, 1973). 이 결합은 제 1 감수분열 후기말동안에 분리되는 것이 일반적이나, 중기 1단계에서 미리 분리되기도 하는데 이런 현상을 X-Y 염색체 조기분리(X-Y dissociation)라 한다(Bempong and Trower, 1975; Rapp et al., 1977).

그리고 X-Y 염색체 조기분리가 복사기, 이동기, 중기 1로 갈수록 그 빈도가 증가함을 보이므로 해서 그 과정이 premeiosis 단계에서 X-Y 염색체의 결합 실패로 인한 무대합이 아닌, 조기분리에 의한 desynapsis 과정이라는 결과가 보고된 바 있다(Mutsuda et al., 1992).

이런 X와 Y 염색체의 결합에 관여하는 특정 유전인자의 존재와 그 특이성에 관한 여러 보고들이 나왔는데 그 유전인자가 Y 염색체상에 존재한다는 주장(Boer and Nijhoff, 1981)과 함께 Sxc라고 명명하면서 그 위치를 언급한 바도 있으며 X-Y 염색체 조기분리와 상염색체 조기분리가 서로 연관성을 지닌다는 보고를 하기도 하였다(Matsuda et al., 1983; Imai et al., 1990).

본 연구에서는 이미 알려진 4가지 돌연변이원을 적정량 회색시켜, mouse에 주사한 후, 중기 1단계에서 나타나는 조기분리빈도의 증가를 농도별, 시간별로 조사, 비교하여 X-Y 염색체 조기분리가 돌연변이원의 short-term 검출제로 응용 가능한지를 조사하였고, 이 결합에 관여하는 유전인자가 존재하는지의 여부와 계통간에 특이성을 지니는지의 여부를 분석하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 실험 재료

본 실험에 사용된 동물로써 동계교배 계통인 BALB/c는 한국생명과학 연구소에서 구입하여 사육한 생후 3-4개월된 30g 내외의 수컷을 사용하였고, 한국산 wild mice(*Mus musculus* subspecies)는 야외에서 채집된 개체들을 실험실에서 계대 사육한 F₁₁ 계통들 중 수컷을 사용하였다.

본 실험에 사용된 환경성 돌연변이원은 alkylating agents인 EMS(Ethyl methanesulfonylformate), MMS(Methyl methanesulfonylformate), MMC(Mitomycin C) 및 MNNG(N-Methyl-N-nitro-N'-nitrosoguanidine)의 4종류였다.

2.2 실험 방법

본 실험에 사용된 4가지 alkylating agents는 적정량을 PO₄ 완충액(pH 6.8)에 회색시켜 사용하였다. 투여는 Tates와 Natarajan(1976)의 방법을 응용하여 BALB/c의 각 개체당 회색된 돌연변이원을 1ml씩 복강주사하였으며, 대조군은 동일량 1ml PO₄완충액만을 투여하여, 농도별, 처리 후의 일수별 개체를 대상으로 염색체 표본을 작성하였다.

염색체 표본 작성은 Imai et al.(1981)의 방법을 다소 변형한 방법을 따랐다.

정소의 적출, colchicine—저장액처리, 고정, 재고정

Table 1. Effects of EMS and MMS on the induction of X-Y chromosomes and autosomes dissociation in spermatocytes at M1

Mutagens (mM)	No. of cells observed	Mean % \pm SD of dissociation	
		X-Y chromosomes	Autosomes
Control	814	7.17 \pm 1.44	2.12 \pm 1.50
EMS(5.0)	878	9.50 \pm 3.18	2.53 \pm 1.72
EMS(10.0)	701	14.14 \pm 2.52	2.38 \pm 1.55
MMS(5.0)	823	15.61 \pm 2.60	1.88 \pm 1.77
MMS(10.0)	758	15.15 \pm 2.17	4.23 \pm 1.41

Table 2. Effects of MMC and MNNG on the induction of X-Y chromosomes and autosomes dissociation in spermatocytes at M1

Mutagens	No. of cells observed	Mean % \pm SD of dissociation	
		X-Y chromosomes	Autosomes
Control	814	7.17 \pm 1.44	2.12 \pm 1.50
MMC(0.25mM)	1055	8.33 \pm 2.20	1.89 \pm 1.22
MMC(0.50mM)	753	11.67 \pm 3.64	1.53 \pm 1.07
MNNG(1mg/ml)	650	15.77 \pm 1.73	2.26 \pm 1.66
MNNG(2mg/ml)	669	17.63 \pm 3.64	2.45 \pm 1.36

등의 과정을 거쳐 세포부유액을 얻고 slide glass상에 파스퇴르 피펫으로 상기 세포 부유액을 적하하여 확산시키고, 거의 증발이 끝날때쯤 acetic acid를 적하하여, 실온에서 24시간 공기 건조시킨 다음에 4% Giemsa 염색액에 17분간 염색하였다.

염색된 표본에서 X-Y 염색체 조기분리의 여부는 X와 Y 염색체간의 간격이 Y 염색체의 길이보다 길 때 조기 분리되었다고 간주된다.

돌연변이원의 효과를 비교하기 위해 총 6287개의 중기1세포들을 대상으로 관찰하였고, BALB/c(♂)와 wild mice(♀)간의 교배에 의한 잡종에서의 조기분리빈도 조사를 위해 BALB/c 중기1세포 950개와 wild mice 중기1세포 262개 및 잡종의 중기1세포 395개를 대상으로 조사하였다.

3. 결과 및 고찰

감수 분열의 중기 1단계에서 상염색체는 일반적으로 chiasma의 위치에 따라 8자형, O자형, -자형, +자형의 4가지 형태로 존재하는데 반해, 성염색체는 -자형으로 end-to-end 결합을 하고 있는데, X 염색체가 Y 염색체 2-3배의 길이로 나타나기 때문에 구별이 용이하다. Fig. 1은 BALB/c 계통에서 정상적인 중기1의 세포 [A]와 X-Y 염색체 조기분리가 일어난 세포[B] 및 상염색체가 조기분리된 세포[C]를 보여주고 있는데, X-Y 염색체 조기분리의 경우에는 그 분리된 간격이 1.5-2배로 Y 염색체보다 긴 것을 볼 수가 있다.

3.1 X-Y 염색체 조기분리의 돌연변이원 검출계로서의 응용 가능성

4종류의 돌연변이원을 처리한 후, 감수분열 단계 중 중기 1에서 나타나는 X-Y 염색체 조기분리의 빈도를 대조군과 비교한 결과는 다음과 같았다.

Table 1은 BALB/c를 재료로하여 강력한 돌연변이원으로 알려진 EMS와 MMS 처리에 대한 농도별, X-Y 염

색체와 상염색체의 조기분리 빈도를 나타낸 것이다.

EMS는 다양한 생물들에 있어서 강력한 영향을 주는 돌연변이원으로서, *Drosophila*에서는 성연관 열성치사를 유발하고, 식물에서는 점돌연변이를 일으키는데 이런 돌연변이의 기작은 염기 중 대부분 guanine을 ethylation시킴으로써 GC-AT transition을 유발, 이것은 depurination에 연결이 되어 단일 염기쌍 결실을 일으키게 된다(Cattanach et al., 1968).

먼저 대조군의 경우에는 처리후의 시간에 따라 X-Y 염색체 분리 빈도는 약 6.38%에서 8.54%로서, 평균 약 7.17%의 빈도를 보였고, 상염색체의 경우에는 1.74%에서 2.55%로 평균 약 2.12%의 낮은 빈도를 보였다. EMS 처리군의 경우에는 5.0mM에서 처리 시간에 따라 약 7.14%에서 12.19%로서 평균 약 9.50%의 X-Y 염색체 조기분리 빈도를 보여 대조군의 약 1.3배의 빈도 증가를 보였고 10.0mM 처리시 12.03%에서 15.15%로서 평균 약 14.14%의 조기분리 빈도를 보여 대조군의 약 2배의 빈도 증가를 보였다. 한편, 상염색체의 경우에는 EMS 5.0mM과 10.0mM에서 각각 평균 2.53%와 2.38%의 빈도를 보여 대조군의 2.12%에 비해 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

Choi et al.(1995)의 결과와 비교해 볼 때, ICR strain에 EMS 10.0mM을 처리한 경우의 X-Y 염색체 조기분리의 빈도가 본 연구에서 BALB/c에 EMS 10.0mM을 처리시 나온 빈도보다 2.4배 높은 것을 볼 수 있었고, 상염색체는 1.49%로 본 결과 2.38%의 0.6배에 해당하는 빈도로 유의적인 차이를 보였는데 이는 계통에 따른 돌연변이원의 작용기작의 차이에 의한 것이라 사료된다. 그리고, EMS의 작용이 정자 발생 과정 중 후기 단계인 정세포와 정자 단계에서 그 영향이 큰 것으로 보고되고 있는데, 우성치사 돌연변이, 유전적 전좌, SLM(specific loci mutation)를 유도하며(Antony, 1982), F₁에서는 전좌의 빈도를 더욱더 증가시켜준다고 알려져 있다(Cattanach et al., 1968).

MMS 5.0mM 처리의 경우, X-Y 염색체 조기분리 빈도는 13.70-16.73%로 평균 15.61%의 빈도를 보였는데, 이것은 대조군에 비하여 약 2.2배 정도의 빈도 증가를 보인데 반해, 상염색체에서는 평균 1.88%로 대조군에 비하여 다소 감소하는 빈도를 나타내었다.

그리고, MMS 10.0mM 처리군에서는 14.55-16.09%로 평균 15.15% 빈도를 보이는데 이 빈도는 대조군과 비교할 때 2.1배의 빈도 증가를 보이는 것이다. 상염색체의 조기분리 빈도는 평균 4.23%로 대조군에 비하여 다소 높은 빈도를 나타내었다.

MMS 처리군에서 특이할 만한 점은 시간별, 농도별 X-Y 염색체 조기분리의 빈도가 유의적인 차이를 보이지 않았다는 점이다.

Choi et al.(1995)의 연구에서 ICR strain에 MMS 5.0mM를 처리해서 얻은 결과와 BALB/c에 MMS 5.0mM을 처리해서 얻은 결과를 비교해 볼 때 X-Y 염색체 조기분리 빈도는 1.5배 높게 나타났고, 상염색체의 조기분리 빈도는 2.6배 정도의 증가를 보였다. 그리고, EMS와 같이 정자 발생단계중 정세포와 정자에서 우성치사 돌연변이, 유전적 전좌, SLM등을 유도한다고 알려져 있다(Antony, 1982; Generoso, 1982). MMS에 의해 일어나는 정세포에서의 chromosome-type aberration은 정자의 성숙과 저장 단계에서 새로운 충격에 alkylated된 염기를 포함하는 DNA에 nonenzymatic conversion이 유도되어 DNA strand의 breaking이 초래된다고 언급되어진 바가 있다(Tanaka et al., 1981). 그리고, Nagao와 Mizutani(1983)은 mouse embryo의 hepatocytes에서 MMS가 유도하는 embryo lethality와 염색체 이상이 caffeine에 의해 감소된다는 보고를 하기도 하였다.

Table 2는 MMC와 MNNG의 농도별 처리에 따른 염색체 조기분리 빈도의 변화를 대조군과 비교한 결과이다.

MMC는 bifunctional alkylating agent로서 *Streptomyces caespitosus (griseovinaceus)*에 의해 생성되는 항생물질의 일종이며, *in vivo*에서 alkylating metabolites로 transformation을 한 후 DNA 합성에 영향을 주는 것으로 잘 알려져 있으며(Adler, 1976), mouse에서 LD₅₀이 5 mg/kg으로 보고되고 있다(Bempong and Trower, 1975).

MMC 0.25mM 처리군에서 X-Y 염색체 조기분리 빈도는 처리후의 시간에 따라 7.85-8.73%의 범위로서 평균 8.33%로 1.2배의 빈도 증가가 나타났지만 유의적인 차이는 없었고, 상염색체도 1.89%로 대조군과 유사한 빈도를 나타내었다. 그리고, MMC 0.5mM 처리군에서 나타나는 평균 11.67%(11.13-12.03%)의 상염색체의 조기분리 빈도는 대조군의 1.6배의 빈도 증가를 보였다. 그러나 상염색체의 조기분리 빈도는 1.53%로 다소 감소하는 경향을 보였으며, 처리 후의 시간별 조기분리 빈도의 유의적인 차이는 없었다. 이러한 결과는 Table 1의 MMS 10.0mM 처리군에서 나온 상염색체의 조기분리 빈도의 증가와 함께 다른 결과들과 대조적이었다.

본 연구의 결과를 Choi et al.(1995)의 결과와 비교해

보면, ICR strain에 MMC 0.5mM을 처리한 경우, 평균 14.82%의 X-Y 염색체 조기분리 빈도로, BALB/c보다 1.2배 높은 빈도로 나타난 반면, 상염색체의 조기분리 빈도는 BALB/c의 0.6배에 해당하는 0.98%를 보였다.

3종류의 alkylating agents를 ICR 과 BALB/c strain에 각각 처리한 Choi et al.(1995)의 결과와 본 연구의 결과를 전체적으로 비교해 보면, X-Y 염색체 조기분리 빈도는 EMS 10.0mM, MMS 5.0mM., MMC 0.5mM 처리한 모든경우에서 ICR strain이 BALB/c보다 높은 분리 빈도를 보인 반면, 상염색체의 조기분리 빈도는 EMS 10.0mM, MMC 0.5mM 에서는 오히려 감소 추세를 보이고, MMS 5.0mM의 경우에서는 2배 이상의 빈도 증가를 나타내는 특이성을 조사할 수 있었다.

이것은 돌연변이원의 작용이 계통간에 차이를 보이는 것으로, 앞에서 언급한 바와 같이 화학 물질에 대한 해독과 활성화 기구, 여러 단계에서의 내성기구의 유무등의 차이에 의한 것이라 사료된다.

Adler(1976)의 보고에 따르면 MMC는 복사기-중기 I에서 1가염색체, gaps, fragments, 재배열을 초래한다는 결과와 함께 세포변이 빈도가 농도와 시간에 따라 증가되며, 가장 높은 빈도는 처리후 12일 후에 나타나며, MMC는 DNA 복제에 여러 영향을 주어 이 세포가 수정이 되면 접합체의 우성치사를 유도하고, 재배열, 상호전좌를 유도하여 수정 후 접합자 사망을 유도하기도 한다는 것이다. 또한 이런 MMC는 정자 발생 과정에서 그 작용의 정도가 다르며, 발생 초기에서는 우성치사와 SLM의 빈도를 증가시키고, 후기에는 상호전좌의 빈도를 증가시킨다는 보고도 있었다.

MNNG 1mg/ml 처리군은 X-Y 염색체 조기분리의 빈도가 대조군의 2.2배 정도인 15.77%의 평균 빈도를 보였고, 상염색체에서는 2.26%로 대조군과 유사한 빈도를 보였다. 2mg/ml 처리군에서의 빈도는 17.63%로 대조군의 약 2.6배에 해당하는 빈도로 농도별 증가 양상을 보이는 반면 상염색체는 2.45%로 1mg/ml의 경우와 유사한 빈도를 보였다.

MNNG의 돌연변이원성에 관하여는 실험재료와 작용기작 해석에 있어서 다소 불일치한 보고들을 볼 수 있다(Park et al, 1976; Kim et al, 1980).

이상의 결과에서 볼 수 있는 바와 같이 4종의 돌연변이원에 의한 염색체 조기 분리 빈도의 변화는 상염색체 조기분리 빈도 변화에 다소간의 차이는 있었지만, 모든 돌연변이원 처리에서 특정 농도 이상에서만 X-Y 염색체의 조기분리 빈도가 증가하는 일관된 경향성을 보였다. 그리고, 시간의 경과에 따른 염색체의 조기 분리 빈도의 변화는 없었다.

따라서, 이런 결과들은 환경성 돌연변이원을 검색하고, 영향 정도를 알아내기 위한 short-term 돌연변이원 검출계로서, X-Y 염색체 조기분리가 응용 가능성을 시사하는 것이다.

3.2 X-Y 염색체 결합에 관여하는 유전자의 계통간 특이성
wild mice와 동계교배계통간의 잡종을 이용하여 염

Table 3. Frequency of dissociation of X-Y chromosomes and autosomes in spermatocytes at M1 (BACB/c, wild mice and their hybrid)

Mice	No. of cells observed	Mean % \pm SD of dissociation	
		X-Y chromosomes	Autosomes
BACB/c	950	7.33 \pm 0.72	1.10 \pm 0.73
wild mice	262	14.12 \pm 4.98	7.63 \pm 4.27
hybrid	395	19.24 \pm 3.28	3.69 \pm 2.68

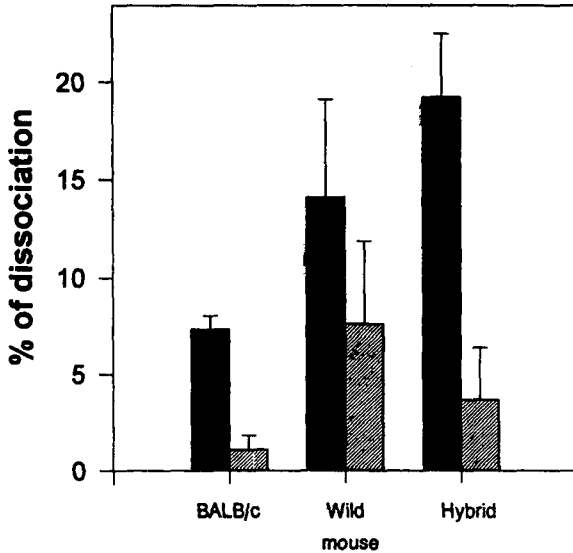


Fig. 2. Frequency of dissociation of X-Y chromosomes (■) and autosomes(▨) in spermatocytes at M1 (BALB/c, wild mice and their hybrid).

색체의 조기 분리 빈도를 조사한 여러 경우의 연구에서 계통간 잡종의 경우 정상 수준과 유사한 X-Y 염색체의 조기 분리 빈도를 가지는 경우도 많으나, 어떤 계통간 교배에 의한 불임 개체의 경우는 모든 세포에서 조기 분리된 상염색체를 가지는 경우도 있으며(Beechey, 1973), 일본산 wild mice와 동계교배계통간의 교배에 의한 잡종에서의 조기분리 정도는 특이적으로 50% 이상의 높은 빈도를 나타내었다(Imai et al., 1981; Imai et al., 1990; Matsuda et al., 1982; Matsuda et al., 1983).

본 연구에서는 한국산 야생종인 *Mus musculus* subspecies와 동계교배계통인 BALB/c간의 잡종을 이용하였다.

Table 3과 Fig. 2는 wild mice(*Mus musculus* subspecies)와 BALB/c간의 잡종을 형성한 후 각각 부모종과 잡종의 X-Y 염색체 조기분리와 상염색체의 조기분리를 관찰, 비교한 결과로, 상염색체의 조기분리빈도는 3.69%로 wild mice의 7.63%보다는 낮은 비율이지만 BALB/c의 경우보다는 높은 비율로서 대략 부모종의 중간값을 지나는 것으로 나타났고, X-Y 염색체 조기분리 빈도는 부모종의 빈도, wild mice 14.12%와 BALB/c 7.33%보다 1.4배에서 2.6배나 높은 19.24%의 빈도를 나타내었다.

이러한 결과로부터 짐작할 수 있는 사실은 계통간의 특이한 유전자가 X-Y 염색체 결합에 관여하는 것으로, 잡종 형성시 비상동염색체로 인한 특정유전자의 발현이 이루어지지 않아 X-Y 염색체 조기분리의 빈도가 증가된 것이라 짐작된다.

X-Y 염색체 결합에 관여하는 인자에 관한 여러 연구들이 진행되었고, 그것에 상응하여 여러 가지 요인들이 주장되어졌다.

Krzanowska (1989)는 X-Y 염색체의 조기 분리가 다른 두 strain 즉 CBA strain(29%)과 KE strain(7-11%)를 이용하여 CBA의 Y 염색체만을 가지는 congenic strain KE.CBA를 만들어 KE strain과 비교하였을때, 같은 빈도의 X-Y 염색체 조기분리가 일어나, X-Y 염색체 결합관여 인자는 Y 염색체와 무관하다고 주장하였고, X-Y 염색체의 1가성의 빈도는 translocation heterozygosity에 의한 것이 아니라, Y 염색체에 의해 결정된다는 주장(Boer and Nijhoff, 1981)과 정세포에서 두 염색체 사이의 결합에 관여하는 인자를 Sxr로 명명하면서 Y 염색체 상에 있다는 주장도 있었다(Evans and Burtenshaw, 1982; Mahadevaiah, 1988). 그리고, Matsuda et al.(1983)과 Imai et al.(1990)등도 end-to-end 형태의 결합이 어떤 유전인자(Sxc)에 의하며, 그러한 조기분리를 지배하는 유전인자의 위치와 계통간의 차이에 관해 언급한 바가 있고 잡종의 경우에는 상염색체와 X-Y 염색체 조기분리빈도에 있어 상호 관련성을 가진다는 보고(Matsuda et al., 1992)도 있으나 좀 더 다양한 계통간의 잡종형성하에서의 분석이 요구된다고 보겠다.

4. 결 론

mouse에서 일어나는 X-Y 염색체 조기분리가 돌연변이원 검출제로 응용 가능한지를 조사하기 위해 동계교배계통인 BALB/c를 이용하여, 4종의 돌연변이원(EMS, MMS, MMC 및 MNNG)을 처리한 후 제 1 감수분열 동안에 나타나는 X-Y 염색체 조기분리와 상염색체 조기분리 빈도를 대조군과 비교하였고, X-Y 염색체 결합관여 유전자의 계통간 특이성을 조사하였다.

EMS 5.0mM 처리 후의 X-Y 염색체 조기분리 빈도는 평균 9.50%, 10.0mM 처리군에서는 평균 14.14%로 대조군과 비교할 때, 각각 1.3배와 2배로 10.0mM에서만 대조군과 유의적인 차이를 보인 반면, 상염색체는 대조군과 유사한 빈도를 보였다.

MMS 처리군의 경우, X-Y 염색체 조기분리 빈도는 5.0mM, 10.0mM 처리후에 각각 평균 15.61, 15.15%로 대조군과 비교할 때, 약 2.2배의 빈도증가를 보이지만

농도별, 시간별 유의적인 차이는 보이지 않았고, 상염색체의 조기분리는 평균 4.23%로 대조군에 비해 약 2.0배 정도로 높은 빈도를 나타내었다.

MMC 처리군의 경우, X-Y 염색체 조기분리 빈도는 0.25mM 처리군에서 평균 8.33%로 대조군의 1.2배, 0.5mM 처리군에서 평균 11.67%로 대조군의 1.6배의 빈도 증가를 보였다.

MNNG 1mg/ml와 2mg/ml 처리후의 X-Y 염색체 조기분리 빈도는 각각 15.77%, 17.63%로 대조군에 비해 약 2.2배, 2.5배의 빈도 증가를 보였으며, 상염색체의 조기분리 빈도는 농도에 따른 대조군과의 유의적 차이는 없는 것으로 나타났다.

위의 결과로부터, X-Y 염색체 조기분리 빈도는 돌연변이원의 농도에 따라 일관된 빈도 증가를 보인 반면 상염색체는 돌연변이원 종류에 따라 특이적이었다. 이러한 결과는 X-Y 염색체 조기분리가 short-term 돌연변이원 검출계로서 응용가능함을 시사한다.

그리고 X-Y 염색체의 결합에 관여하는 특정 인자가 계통간에 특이적인가를 조사하였는데 BALB/c(7.33%)와 wild mice(14.12%)의 X-Y 염색체 조기분리 빈도보다 이 두 계통간의 잡종에서 19.24%로 높은 빈도 증가의 결과로 보아 X-Y 염색체의 결합에 계통간 특이적인 인자와 관련되어 있다는 것을 시사한다.

참고 문헌

- Adler, I. D., 1976, Aberration induction by mitomycin C in early primary spermatocytes of mice, *Mut. Res.*, 35, 247-256.
- Ames, B.N., J. McCann and E. Yamasaki, 1975, Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella/mammalian-microsome* mutagenicity test, *Mut. Res.*, 31, 347-369.
- Ames, B.N., L.S. Gold, C.B.S. Awyer and W. Havender, 1982, Carcinogenic potency, In : *Environmental Mutagens and Carcinogens* (T. Sugimura *et al.*, editors) Alan R. Liss, Inc. 663pp.
- Antony G. Searle, 1982, Germ-cell sensitivity in the mouse: A comparison of radiation and chemical mutagens, *Mut. Res.*, 12, 167-177.
- Beechey, C.V. 1973, X-Y chromosome dissociation and sterility in the mouse, *Cytogenet. Cell Genet.*, 12, 60-67.
- Bempong M. A. and E. C. Trower, 1975, Sensitivity of rat tests to inhibitors of nucleic acid synthesis, III. The inheritance of mitomycin C-induced structural rearrangements of chromosomes, *J. Heredity*, 66, 285-289.
- Boer, P. and J.H. Nijhoff, 1981, Incomplete sex chromosome pairing in oligospermic male hybrids of *Mus musculus molossinus* in relation to the source of the Y chromosome and the presence or absence of a reciprocal translocation, *J. Reprod. Fert.*, 62, 235-243.
- Cattanch, B.M., C.E. Pollard and J.H. Isaacson, 1968, Ethyl methanesulfonate induced chromosome breakage in the mouse, *Mut. Res.*, 17, 297-307.
- Chandley A.C. and R.M. Speed, 1987, Cytological evidence that the Sxr fragment of XY, Sxr mice pairs homologously at meiotic prophase with the proximal testis-determining region, *Chromosoma*, 95, 345-349.
- Choi, Y.H., B.T. Choi, Jo, U.B. and W.H. Lee, 1994a, Chromosome dissociation and histological study of testis in the sterile male ICR mice, *Kor. J. Lab. Ani. Sci.*, 10, 25-31.
- Choi, Y.H., Y.W. Kwon and W.H. Lee, 1994b, Analysis of chiasma, univalents and X-Y dissociation in Korean wild mice(*Mus musculus* subspecies), *Kor. J. Zoology*, 37, 104-112.
- Choi, Y.H., Y.W. Kwon, B.T. Choi, U.B. Jo and W. H. Lee, 1995, Application of X-Y dissociation of mice as the *in vivo* assaying system for environmental mutagens, *Kor. J. Toxicol.*, 11, 51-55.
- Evans, E.P. and M.D. Burtenshaw, 1982, Meiotic crossing-over between the X and Y chromosomes of male mice carrying the sex-reversing (Sxr) factor, *Nature*, 300, 443-445.
- Fujimura, S., K. Kogure, T. Sugimura and S. Takayama, 1970, The effect of limited administration of N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine on the induction of stomach cancer in rats, *Cancer Res.* 128, 117-130.
- Generoso, W.M., 1982, A possible mechanism for chemical induction of chromosome aberrations in male meiotic and postmeiotic germ cells of mice, *Cytogenet. Cell Genet.*, 33, 74-80.
- Hirono, I. and C. Shibuya, 1972, Induction of stomach cancer by a single dose of N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine through a stomach tube, In : *Topics in Chemical Carcinogenesis* (W. Nakahara *et al.*, editors) University Park Press, Tokyo, 121pp.
- Imai, H.T., M.Y. Wada and K. Moriwaki, 1990, The sex chromosome association(Sxc) gene is located on the X-chromosome in mice, *Jpn. J. Genet.*, 65, 65-69.
- Imai, H.T., Y. Matsuda, T. Shiroishi and K. Moriwaki, 1981, High frequency of X-Y chromosome in primary spermatocytes of F1 hybrids between Japanese wild mice(*Mus musculus molossinus*) and inbred laboratory mice,

- Cytogenet. Cell Genet., 2, 166-175.
- Kim, C.K. and C. B. Lee, 1980, The repair of MNNG-induced DNA damages and its relation to chromosome aberration in mammalian Cells, Kor. J. Zoology, 3, 115-123.
- Krzanowska, H., 1989, X-Y chromosome dissociation in mouse strains differing in efficiency of spermatogenesis: elevated frequency of univalents in pubertal males, Gamete Res., 23, 357-365.
- Liang, J.C., D.A. Sherron and D. Johnston, 1986, Lack of correlation between mutagen-induced chromosomal univalency and aneuploidy in mouse spermatocytes, Mut. Res., 163, 285-297.
- Mahadevaiah, S., L.A. Setterfield and U., Mittwoch, 1988, Univalent sex chromosomes in spermatocytes of Sxr-carrying mice, Chromosoma, 97, 145-153.
- Matsuda, Y., H.T. Imai, K. Moriwaki and K. kondo, 1983, Modes of inheritance of X-Y dissociation in interspecies hybrids between BALB/c mice and *Mus musculus molossinus*, Cytogenet. Cell Genet., 35, 209-215.
- Matsuda, Y., H.T. Imai, K. Moriwaki, K. kondo and E. Bonhomme, 1982, X-Y chromosome dissociation in wild derived *Mus musculus molossinus* subspecies, laboratory mice, and their F₁ hybrid, Cytogenet. Cell Genet., 34, 241-252.
- Matsuda, Y., P.B. Moens and V.M. Chapman, 1992, Deficiency of X and Y chromosomal pairing at meiotic prophase in spermatocytes of sterile interspecific hybrids between laboratory mice (*Mus domesticus*) and *Mus spretus*, Chromosoma, 101, 483-392.
- McCann, J., E. Choi, E. Yamazaki and B.N. Ames, 1975, Detection of carcinogens as mutagens in the *Salmonella*/microsome test: Assay of 300 chemicals, Proc. Nat. Acad. Sci. USA., 72, 5135-5139.
- Nagao, T. and M. Mizutani, 1984, Studies on the relation between alkylating agents-induced chromosomal aberration and their embryo toxicities in mice, Jpn. J. Genet., 59, 97-101.
- Park, S.D., K.I. Um and K.H. Choi, 1976, Studies on the chemical mutagen-induced DNA repair synthesis in relation to chromosome exchanges, Kor. J. Zoology, 19, 179-186.
- Purnell, D.J., 1973, Spontaneous univalence at male meiosis in the mouse, Cytogenet. Cell Genet., 12, 327-335.
- Rapp, M., E. Therman and C. Denniston, 1977, Nonpairing of the X and Y chromosomes in the spermatocytes of BDF₁ mice, Cytogenet. Cell Genet., 19, 85-93.
- Styles, J.A. and M.G. Penman, 1985, The mouse spot test : Evaluation of its performance in identifying chemical mutagens and carcinogens, Mut. Res., 154, 183-204.
- Sugimura, T., 1982, Mutagens, carcinogens and tumor promoters in our daily foods, Cancer, 49, 1970-1984.
- Tanaka, N., M. Katoh and S. Iwahara, 1981, Formation of chromosome-type aberrations at the first cleavage after MMS treatment in late spermatids of mice, Cytogenet., 31, 145-154.
- Tates, A.D. and A.T. Natarajan, 1976, A correlative study on the genetic damage induced by chemical mutagens in bone marrow and spermatogonia of mice, I. CNU-ethanol, Mut. Res., 37, 267-278.
- Würgler, F.E., U. Graf and W. Berchtold, 1975, Statistical problems connected with the sex-linked recessive lethal test in *Drosophila melanogaster*, I. The use of the Kastenbaum-Bowman test, Anch. Genet., 48, 158.