Korean Journal of Life Science
Vol. 13. No. 3. 252~257, 2003

Drosophila melanogaster 자연 및 실험집단내의 유해유전자 분석

최우영 · 권은전 · 박희정 · 이원호*

부산대학교 생물학과

Analysis of deleterious genes in natural and experimental populations of *Drosophila melanogaster*

Woo-Yong Choi, Eun-Jeong Kwon, Heui-Jeong Park and Won-Ho Lee*

Department of Biology, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

Abstract

The genetic variabilities of second chromosomes of *Drosophila melanogaster* concealed in Busan natural and experimental populations have been analyzed by the *Cy//Pm* method. The experimental population was composed of *D. melanogaster* which had the lethal-free second chromosome, collected Sasang natural population in 1982. The frequencies of deleterious genes were estimated to be 14.3~25.4% in Busan natural population and 26.5~27.2% in experimental population. The allelism rates in lethal genes isolated from the natural and experimental populations were calculated to be about 0.76% and 9.76~14.17%, respectively. The value of elimination by the frequencies of deleterious genes and allelism rate was 0.0106 and the effective population size estimated to be about 430 flies at the 6570 days population.

Key words – *Drosophila melanogaster*, experimental population, allelism rate, effective population size.

서 론

대기, 토양, 수분 및 태양 에너지로서 구성된 환경기반 속에서 형성되고 있는 생태계에 의하여 유지되고 있는 여러 생명들은 그 환경기반의 조성과 각 존재량의 비율등에 변화가 발생하여 자연이 가진 순환기구에 따르지 않거나 물질 이동의 평형이 깨어질 때는 중요한 영향을 가져오게 된다. 생명환경을 저해하는 대기의 오염, 수질의 오탁, 각종소음과 진동, 악취, 토양의 오염, 상하수도, 폐기물, 연료의 과다소비는 자연의 파괴 등과 같은 환경에 대한 공해들이 인간을 비롯한 여러 동·식물에 미치는 영향이 문제시되고 있는 현 시점에서 현존하는 동물 중에서 그 종과 수적인 면에서 가장 우위를 점하고 있는 곤충을 대상으로 자연집단과 실험집단에 있어서 환경에 대한 적응도에 해로운 영향을 주는 유해 유전자를 지표로 하여 그 변이기구를 유전학적 방법으로 분석함으로써 환경의 악화와 같은 생태계의 변화와 더불어 보여지는 영향을 조사할 수 있다.

곤충류는 그 생식공간, 빛에 대한 제 요인, 식물상, 토양적 조건, 수역의 성질등에 의하여 제한되고, 각각 또는 이들의 조합에 의한 조건에 의하여 생활을 지배당하게 되며, 이들 조건의 평형이 깨어질 때 큰 장해를 받아 이 군의 존속에도 영향을 받게 된다. 이러한 곤충류는 서식처가 다

*To whom all correspondence should be addressed
Tel : 051-510-2257, Fax : 051-581-2962
E-mail : whlee45@hanmail.net

양하고 자연환경에 있어서 그 적응성이 우수하여 농업, 임업 등을 통하여 인간과 깊은 관련을 맺고 있기 때문에 이들을 지표로 분석한 결과는 인간에게 직접적인 활용성이 높다고 보겠다.

유전 실험용 곤충으로써 오래 전부터 널리 사용되어져 왔으며, 전 세계적으로 분포되어 있는 인가성 종인 노랑초파리를 대상 재료로 하여 유해 유전자의 변이성 등을 조사한 많은 연구 결과들을 볼 수 있는데 일본 국내에서 매우 넓은 포도원 지대의 자연집단과 실험실 상태에 형성시켜둔 사육상 집단을 수년간 계속 분석한 연구[15,18]와 치사, 불임 등의 유해 유전자를 전연 갖지않은 계통만으로 형성시킨 실험 집단 내에서의 자연 돌연변이에 의한 이들 유전자의 빈도를 분석한 실험[7]과 이들의 제 2 염색체상의 암수별 불임 유전자의 좌위를 결정한 실험결과[19]도 볼 수 있다. 또한, 이들에 대한 여러 지역의 계절적 변이성 분석[3]과 동형과 이형접합체 상태로서의 생존도, 불임, 발생속도 등도 분석한바[1] 있고, 이들에 부가하여 동형접합체화에 의한 치사 및 불임인자의 제거율을 밝히기도[15] 하였다. 본 종에 대한 실험집단내의 생존도와 생산력과의 관계, 자연집단내의 생존도와 생산력 그리고 불임과의 상관관계에 관한 연구[16,17]들도 볼 수 있으며, 수년간에 걸친 암수별 불임유전자 빈도변화[18], 그 생존도에 있어서 유해 유전자의 빈도 증가와 그 동좌율 감소현상에 관한 분석[9] 등 노랑초파리의 제 2 염색체 변이성에 관한 여러 연구보고가 나와 있다.

한편 직접적으로 관련되는 집단의 연구로서는 사상지역의 분석[12,13], 울산, 언양 등[2,12]에 대한 조사와 사육상 집단의 해석[6] 등의 예가 있다.

본 연구의 목적은 인가성 종인 노랑초파리를 재료로 하여 부산지역의 자연집단과 장기간 실험실내에서 세대를 거듭 유지시켜온 사육상 집단을 대상으로, 전 게놈 중에서 많은 부분을 접하고 있는 제 2 염색체상의 유해 유전자 빈도와 그 동좌율, 동형접합체화에 의한 소실율 등을 분석하여 주변 환경의 변화를 감안한 그 유해성의 정도를 비교분석하고 장기 유지시켜온 실험집단내의 변이성의 추이를 해석하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료는 집단내의 유전적 변이 보유 기구 해석에 널리 사용되고 있는 노랑초파리(*Drosophila melanogaster*) 로써 부산 일원을 대상으로 채집한 것과 항온실 상태에서 장기간 유지되어온 사육상 집단으로부터 임의 추출한 재료들이었다.

각 집단으로부터 채집 및 추출된 개체들로부터 수컷 1개체씩을 취하여 표지 유전자 계통인 *Cy//Pm* virgin과 1:3의 비율로 교배 시키되 1회 100 이상의 반복 교배조를 실시하였다. P 교배로부터의 F_1 *Cy//+* 수컷 1개체를 선발하여 다시 *Cy//Pm*과 역교배시키고, F_2에서 *Cy//+*인 암수를 수 쌍씩 선발하여 교배 시킨 후 F_3에서 각 line별로 출현되는 전체 개체(Curly wing + normal) 중에서 정상 개체의 비율을 조사하여 정해진 지수에 따라 제 2염색체 동형접합체 계통의 생존도를 조사 하였고, 그 기준 지수에 의한 각 생존도에 따른 염색체들을 분류하였다. 그 외 각 실험별 구체적 방법은 각 항목별로 부연하였고, 본 실험은 표준 배지로써 25℃ 항온 항명 조건하에서 실시 하였다.

결과 및 고찰

부산 일원의 야생 노랑초파리와 장기 유지되어온 사육상 집단을 대상으로 그 개체들의 개체 유지와 종족 유지 등의 적응도에 여러 영향을 주고 있는 유해 유전자에 대한 변이성을 제2염색체상의 동형 접합체 상태로서의 생존도 조사를 중심으로 하여 분석하였다.

제 2 염색체 동형접합체의 생존도 변이성과 치사 유전자 계통간의 동좌율

노랑 초파리의 전 게놈 중에서 매우 큰 비율을 차지하는 제 2 염색체상의 생존도에 관한 변이성을 분석하고 그 중 완전 정상적인 생존도를 보유한 동형 접합체 계통을 선발하여 열성의 불임 유전자 빈도를 조사해야 하기 때문에 우선 생존도상의 변이성을 분석하여 각 지수에 따른 그 빈도 분포를 조사 하였다.

Table 1 에서와 같이 본 집단 내에 있어서 개체 유지 기능인 생존도에 가장 치명적인 영향을 주는 치사 유전자 빈도는 2001년도에 있어서는 약 9.5%, 2002년도에는 약 8.7%의 비율이었고, 반치사 유전자의 빈도는 각각 4.8과 16.7%의 비율이었으며, 치사와 반치사를 합한 유해 유전자 비율은 14.3~25.4%로서 자연집단에서의 불안정한 변이의 범

Table 1. Frequencies of homozygotes for second chromosomes with various viability genes in Busan natural population of *D. melanogaster*

	Lethal chromosome	Semilethal	Subvital	Normal	Supervital
Viability index	0~0.03	0.04~0.50	0.51~0.75	0.76~1.20	1.21~
Frequency (%)					
2001. 6.	9.5	4.8	20.6	65.1	0
2002. 6.	8.7	16.7	17.5	54.4	2.6

위를 볼 수 있다.

1979년에서 1981년 경우의 부산의 사상 집단의 치사유전자 분석 결과[12,13]인 16.5%~24.4%와 비교하면, 본 집단의 경우가 비교적 낮은 비율을 나타내고 있으나 동일지역에서의 1984년부터 3년 연속 조사한 경우의 결과[12]인 12.2, 8.5 및 8.5%와 비교하면 거의 유사한 결과를 보여주고 있다.

또한, 언양 집단에서의 1993~1994년의 경우는 각각 12.3 및 11.6%의 치사 염색체 빈도를 보여 주었다[2]. 한편 사육상 집단의 경우는 본 실험실에서 제2염색체상에 Lethal-free, Sterile-free 상태의 계통들로서 실험집단을 형성시켜 연속적으로 세대를 이어가게한 그 이후 약 6,570일(약 440세대)과 7,300여일(약 490세대) 된 집단으로부터 각각 1 개체의 숫초파리가 지니고 있던 상염색체 중의 하나인 제2염색체를 동형으로 가지는 초파리를 작성하는 전술의 실험방법에 준하여 우화해 나오는 F_3 개체수를 조사하여 분석한 제2염색체 치사를 포함하는 생존도 변이는 다음과 같다.

본 실험 집단의 최초 형성 시에는 개체 유지나 종족 유지를 위한 어떤 유해 유전자도 보유하고 있지 않았으나 세대를 거듭할수록 자연 돌연변이에 의해 치사 등의 생존도 관련 유전자들이 집단 내에 유발 축적되어 가게 된다. Lee와 Watanabe[7]의 실험에서 이와 같은 치사, 불임 등의 유해 유전자는 집단의 유지 전반에는 유발, 축적이 계속되어 그 빈도가 서서히 증가하는 경향을 나타내며 집단의 크기에 따라서 일정한 범위를 가진 변이를 보이다가 약 2,000일(약 135세대) 정도로서 거의 평형상태에 도달하게 된다고 보고 하였으며, 변이가 축적되는 과정에서 치사인자의 빈도는 숫 불임의 빈도보다 높고, 숫 불임의 빈도는 암컷에서의 빈도보다 높게 된다는 견해[18]와 일치되고 있음을 밝힌바 있다. Table 2에서 볼 수 있는 바와 같이, 금번 2회의 실험에서는 자연 집단과는 달리 장기 유지되어온 실험집단 내에는 치사유전자의 빈도가 14.5~16.3% 그리고 정상 유전자의 빈도는 43.6%~58.2% 정도로써, 거의 평형 빈도에 가까운 비율을 보이고 있음을 알 수 있었다. 또한, 장기간 유지되어 오고 있는 실험집단의 특성이라 볼 수 있는 D/N 비율(즉, 저 생존력 이상의 준 정상 생존력 계통에 대한 치사 및 반치사의 유해유전자 보유 계통의 비율) 도 35.9~37.4% 정도의 안정된 범위를 나타내고 있었다.

한편 Lee 등[6]의 본 실험 집단 대상의 분석 결과에서 보면 집단 형성 초기부터 약 430여일 까지는 약 10% 미만의 치사 유전자 보유 빈도를 나타내었으나, 그 후 점차 증가가 계속되어 750여일 경에는 약 15% 정도의 빈도를 보였고, Lee와 Watanabe[7]의 사육상 집단 분석에서는 2,600여일 경에 약 18% 정도의 빈도를 보고 하기도 하였다.

다음으로 각 집단에 있어서 치사 계통간의 동좌율 분석은 각 평형치사 계통간의 상호교배를 실시하여 정상계통의

Table 2. Viability distribution of homozygotes for second chromosome of *D. melanogaster* isolated from an experimental population

Days	% Frequency						D/N ratio
	L	SL	SV	N	SUV	L + SL	
6570	14.5	12.7	29.1	43.6	0	27.2	0.374
7300	16.3	10.2	15.6	58.2	0	26.5	0.359

D : L + SL, N = SV + N + SUV.

Table 3. Frequencies of lethal chromosomes and their allelisms in experimental and natural population

Populations	Chromosomes	% Lethal	Crosses	% Allelism	References
Sasang cage (756 Days)	140	15.00	205	9.76	[6]
Sasang cage (6570 Days)	110	14.50	120	14.17	Present study
Sasang, Busan	200	16.70	528	0.76	[8]

출현이 전혀 없는 교배조를 치사유전자의 동좌로 확인하여 그 비율을 조사하였다. Table 3은 본 집단들과 기 조사된 몇 집단간들에 있어서 치사유전자 빈도와 그 동좌율들을 나타낸 것이다.

본 실험에서 조사한 집단형성 후 6570일째의 사상 실험집단의 경우 평형치사 계통간의 120 교배로부터 17 교배조가 정상계통(+) 의 출현이 전혀 없는 동좌를 나타내어 그 비율은 약 14.2%로서 동일 집단의 형성 756일째의 동좌율 9.76%[6]와는 유의적 차이가 없이 유한의 실험집단상태의 특징을 보이는 반면 사상지역 자연집단의 경우는 0.76%[13]로써 실험집단과는 큰 차이를 나타내었다.

실험집단 내 치사유전자의 축적

최초의 집단 형성 시에는 치사와 불임 등의 유해유전자가 전연 없는 계통들로서 구성되어 있었으나 유한의 일정 사육상 내에서 세대를 거듭할수록 자연 돌연변이에 의해 치사, 반치사, 저 생존력 등 생존도 관련 유전자들이 집단 내에 새로이 유발 축적되어가게 되는데 Lethal-free와 Sterile-free 인 집단으로부터 제2염색체상의 이들 중의 치사유전자 빈도변화는 Table 4와 같다.

Table 4에서 보는 바와 같이 유한의 실험집단 내에서의 경우는 타 집단들에 비하여 비교적 높은 동좌율을 보이고 있어서 Murata[10]의 주장인 한정된 집단 내에서 집단의 크기가 작으면 작을수록 동좌율이 높아진다는 견해와 일치하고 있음을 알 수 있었다.

Table 4. Frequencies of lethals and their allelism in L-F experimental population

Days	Chromosomes	% Lethal	% Allelism	References
0		0	0	[7]
162	169	7.10	9.09	〃
430	224	10.71	9.42	[6]
720	217	15.21	10.61	[7]
1374	210	16.67	8.57	〃
2347	203	11.30	5.85	〃
6570	110	14.50	14.17	Present study

치사 돌연변이율과 동형접합체화에 의한 선택

노랑초파리의 제2염색체상의 치사 및 반치사 돌연변이율과 그 동좌율로부터, 집단 내에서 유해유전자를 가진 이형접합체 상태의 개체가 무작위 교배를 통하여 동형접합체화 함으로써 집단으로부터 제거되는 선택율을 알 수 있는데, 본 실험집단의 경우와 타 집단과의 비교를 Table 5에 나타내었다.

집단 내에서의 유전적 변이성은 돌연변이와 선택의 균형에 의하여 유지되며 동형접합체 상태에 있어서 유해유전자에 대한 선택율은 동형접합체의 제거율에 의하여 추정될 수 있다.

Table 5에서와 같이 본 실험에서의 실험집단 내 치사 및 반치사 유전자 빈도는 약 0.272이고 그 동좌율은 0.1429로서 동형접합체화에 의한 제거율(IcQ^2)은 0.0106으로 계산되어진다.

이 결과를 자연집단의 경우와 비교하면 동일지역 자연집단의 제거율은 0.0004인데[13] 대하여 유의적으로 높은 비율임을 알 수 있는데, 이는 자연집단의 경우보다 그 크기가 유한한 실험집단의 경우가 치사 동좌율이 높기 때문에 동형접합체화에 의한 제거율이 훨씬 큰 값을 가진다는 것을 알 수 있다.

집단의 유효크기

실험 집단에 있어서 유효크기(Ne)의 계산은 Nei의 계산식[11] 즉 $Ne = (1-Ig)/[4\ (IgU-u)]$에 의하며 여기서 Ig는 1세대 1 유전자당의 치사동좌율이기 때문에 이것의 값을 알기 위하여 여기에 제시되어 있는 염색체당의 동좌율(Ic)을 유전자당 (Ig) 으로 환산하기 위한 계산식 $Ig = -\ln (1 - IcQ^2) / [\ln (1 - Q)]^2$을 사용하게 된다.

Table 5. Elimination frequencies (IcQ^2) of deleterious chromosomes due to homozygosis in natural and experimental populations

Populations	Frequency of L + SL (Q)	Allelic rate (Ic)	IcQ^2	References
Sasang	0.240	0.0076	0.0004	[8]
Suyama cage	0.217	0.0515	0.0019	[4]
Sasang cage (756 Days)	0.185	0.0975	0.0033	[6]
Sasang cage (6570 Days)	0.272	0.1429	0.0106	Present study

최초 집단형성시 암수별 각각 400개체로 형성되었던 집단에서 여러 세대를(약 438세대) 거듭하는 사이에 동좌율, 염색체당 돌연변이율 및 유전자당 돌연변이율간의 변이에 의해 유효 크기를 달리하게 되었고, 본 집단의 경우(약 6570일)의 치사염색체의 빈도(Q)는 0.272이고 그 치사염색체 동좌율은 0.1429로서, 이로부터 계산된 Ig는 0.1052이며, 여기서 사용한 치사 염색체 당 돌연변이율(U)은 상례에 따라 0.005로, 그리고 치사유전자당 돌연변이율(u)은 10^{-5}을 사용하여 계산한 본 실험집단의 약 6570일경의 유효크기는 약 430개체로 환산된다.

요 약

인가성 종인 노랑 초파리의 제2염색체를 대상으로, 자연집단과 장기 유지시켜온 실험집단의 생존도 관련 유해유전자의 빈도를 조사하였다. 2년간 연속 조사한 부산 일원 자연집단내의 치사 및 반치사를 포함한 유해유전자의 빈도는 약 14.3~25.4% 정도로서 년도 의존적 불안정 변이를 보인 반면 집단 형성 후 약 6570일과 약 7300일째의 실험집단내의 동 빈도는 약 26.5~27.2% 정도로서 매우 안정적인 변이를 나타내고 있었다. 치사유전자 보유 염색체를 대상으로한 동좌율 조사에서는 자연집단에서 0.76%의 낮은 비율인데 반하여 실험집단에서는 9.76~14.17%의 높은 동좌 비율을 보였다. 완전 정상 유전자 보유 계통만으로 형성, 장기 유지시켜온 실험집단내의 치사유전자의 유발과 축적은 세대를 거듭함에 따라 자연 돌연변이에 의해 6570일 현재 약 14.5%의 안정적 빈도를 보여주었다. 집단 내 치사 유전자의 동형접합체화로 인한 집단 내에서의 제거율은 6570일 현재 약 0.0106 정도이며, 이로부터 환산되는 실험집단내의 유효크기는 약 430개체 정도 였다.

감사의 글

본 연구는 부산대학교 기성회 재원 연구비의 지원으로 이루어졌음.

참 고 문 헌

1. Hoenigsberg, H. F. and Y. G. DE Navas. 1965. Population genetics in the American tropics. I. Concealed recessives in different bioclimatic regions. *Evolution* **19**, 506-513.
2. Kim, Y. P., Y. H. Choi and W. H. Lee. 1996. Analysis of frequencies of deleterious chromosomes in n-yang natural population of *Drosophila melanogaster*. *J. Kor. Environ. Sci. Soc.* **5**, 1-6.
3. Kosuda, K., O. Kitagawa and D. Moriwaki. 1969. A seasonal survey of the genetic structure in natural populations of *Drosophila melanogaster*. *Japan. J. Genetics* **44**, 247-258.
4. Lee, W. H. 1975. Genetic variability in a cage population of *Drosophila melanogaster*. *J. Colle. Educa. Nat. Sci.* **2**, 51-55
5. Lee, W. H. and H. S. Park. 1982. Genetic studies on the effects of adverse environmentals in animals. *J. Sci. PNU.* **33**, 120-126.
6. Lee, S. Y., M. A. Yoo and W. H. Lee. 1986. The study of deleterious genes in an experimental population of *Drosophila melanogaster*. *J. Environ. Studies* **4**, 75-90.
7. Lee, W. H. and T. K. Watanabe. 1977. Accumulation of deleterious genes in a cage population of *Drosophila melanogaster*. *Genetics* **86**, 657-664.
8. Lee, W. H. and Y. W. Son. 1980. The study of deleterious genes in a natural population of *Drosophila melanogaster*. *J. Colle. Educa. Nat. Sci.* **7**, 47-54.
9. Minamori, S. K., K. Ito, A. Nakamura, Y. Ando and

H. Shiomi. 1973. Increasing trend in frequencies of lethal and semilethal chromosomes in a natural population of *Drosophila melanogaster*. *J. Kor. Environ. Sci. Soc.* **3**, 297-304.

10. Murata, M. and I. Tobari. 1973. Changes in frequency of lethal second chromosome in experimental populations of *Drosophila melanogaster* with radiation histories. *Japan. J. Genetics* **48**, 349-359.
11. Nei, M. 1968. The frequency distribution of lethal chromosomes in finite populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **60**, 517-524.
12. Park, T. D., Y. H. Choi and W. H. Lee. 1987. Genetic variabilities of second chromosomes in Sasang and Ulsan natural populations of *Drosophila melanogaster*. *J. Environ. Studies PNU.* **5**, 75-85.
13. Sohn, S. K., Y. H. Choi and W. H. Lee. 1994. Comparative studies on genetic variabilities of second chromosomes in Sasang natural and experimental populations of *Drosophila melanogaster*. *J. Kor. Environ. Sci. Soc.* **3**, 297-304.
14. Watanabe T. K. 1969. Frequency of deleterious chromosomes and allelism between lethal genes in Japanese natural populations of *Drosophila melanogaster*. *Japan. J. Genetics* **44**, 171-187.
15. Watanabe T. K. 1977. Genetic variation in reproductive ability in natural populations of *Drosophila melanogaster*. *Advances in invertebrate reproduction.* **1**, 25-35.
16. Watanabe T. K. and C. Oshima. 1973. Fertility genes in natural populations of *Drosophila melanogaster*. II., Correlation between productivity and viability. *Japan. J. Genetics* **48**, 337-347.
17. Watanabe T. K. and S. Ohnishi. 1975. Genes affecting productivity in natural populations of *Drosophila melanogaster*. *Genetics* **80**, 807-819.
18. Watanabe T. K., T. Watanabe and C. Oshima. 1976. Genetics in natural populations of *Drosophila melanogaster*. *Evolution* **30**, 109-118.
19. Watanabe T. K. and W. H. Lee. 1977. Sterile mutation in *Drosophila melanogaster*. *Genetical Research* **30**, 107-113.

(Received March 11, 2003; Accepted May 19, 2003)