

양적형광접합보인법(Q-FISH)에 의한 돼지 백혈구 세포의 텔로미어 함량 분석

손시환 · 정현진 · 최덕순

진주산업대학교 동물생명과학과

Amount of Telomeric DNA on Pig Lymphocytes by Quantitative Fluorescence in situ Hybridization

Sea Hwan Sohn, Hyun Jin Jung and Duk Soon Choi

Department of Animal Science and Biotechnology, Jinju National University

ABSTRACT

The amount of telomeric DNA was quantified across different breeds (Landrace, Duroc, Yorkshire and Berkshire), at different ages (90 days old and 180 days old) and among sexes (male and female) in pigs raised at the Performance Testing Station of Korea Swine Association, Jinkyo, Korea. The telomeric DNA amount was quantified by Quantitative Fluorescence In Situ Hybridization (Q-FISH) using a porcine telomeric DNA probe on interphase nuclei of lymphocytes. Analysis revealed that the amount of telomeric DNA on the pig lymphocytes was found to decrease with age. The quantity of telomeres significantly differed among breeds at 90 days of age. The colored breeds such as Berkshire and Duroc had higher amount of telomeric DNA than the Yorkshire and Landrace breed. In addition, the amount of telomeric DNA in male lymphocytes was significantly higher than that of females. In the correlation coefficients between the telomere quantity and their productive traits; average daily gain, loin percent and index value were positively correlated, whereas body length, feed efficiency and back fat thickness correlated negatively. However, the correlation coefficients were very low and not significant. Therefore, this study suggests that the amount of telomeres on lymphocytes can be considered as a physiological marker but not as a productive marker in pig.

(Key words : Telomeres, Q-FISH, Chromosomes, Pig)

I. 서 론

텔로미어 (telomere)는 염색체의 양 말단에 존재하는 고도의 반복 염기서열을 가진 영역을 말하며, 텔로머레이스 (telomerase)란 효소에 의해 신장된다. 이를 구성하는 telomeric DNA는 반복 G-rich sequence로서 짧게는 1Kb에서 수백 Kb의 길이로 직렬식으로 연결되어있다 (Moyzis

등, 1988). 동물의 경우 종이나 조직에 따라 다소 이들의 구조적 차이가 있기는 하나 대부분 TTAGGG로 구성된 특징적 형태로 존재한다 (Brown 등, 1990). 텔로미어의 길이에 있어 인간은 5~15 Kb 정도이고, 대부분의 포유동물은 평균 7~19 Kb 정도의 길이를 가진다 (De Lange 등, 1990; Kozik 등, 1998; Nasir 등, 2001; McKevitt 등, 2002; Argyle 등, 2003). 반면 설치

Corresponding author : S. H. Sohn, Dept. of Animal Science & Biotechnology, Jinju National University, Jinju 660-758, Korea.

Tel : (+82)55-751-3264, E-mail:shsohn@jinju.ac.kr

류의 경우 mouse (*mus musculus*)는 이 보다 훨씬 긴 50~150 Kb로 보고되고 있다 (Kipling과 Cooke, 1990).

텔로미어는 핵 내 염색체의 보호 및 다른 염색체와의 비정상적 결합을 방지하고, 감수분열 시 상동염색체간 접합 때 정확한 결합을 이루게 함으로서 염색체의 안정성에 직접적으로 관여하는 역할을 한다 (Greider와 Blackburn, 1985; Ahmed와 Tollefsbol, 2001; Cottliar와 Slavutsky, 2001; Sohn 등, 2002; Deng과 Chang, 2007). 일반적으로 진핵생물의 정상 세포의 경우 1세포 주기 당 telomeric DNA는 약 50~200 bp 정도 소실됨이 알려져 있고, 일정길이 이하에 이르면 분열이 중단되어 세포의 사멸 (apoptosis)이 유도된다 (Greider와 Blackburn, 1985; Gan 등, 2001). 그러나 줄기세포와 같은 지속적 증식세포나, 불멸 세포주, 암세포 및 생식세포에서는 거듭되는 분열에도 불구하고 텔로머레이스의 활성화와 더불어 텔로미어 길이가 짧아지지 않는 특성을 지닌다 (Ulaner와 Giudice, 1997; Wright와 Shay, 2002). 이러한 연구로 최근 텔로미어 길이 및 텔로머레이스 활성화도와 관련한 연구들이 매우 포괄적으로 진행되고 있고, 특히 암과 세포의 노화와 관련한 연구가 매우 활발하게 추진되고 있는 추세이다 (Robinson, 2000; Pathak 등, 2002; Parkinson과 Minty, 2007; Londoño-Vallejo, 2008).

돼지의 텔로미어 연구는 극히 제한되어 있는데 de la Sena 등 (1995) 및 손 등 (2004)이 형광접합보인법 (Fluorescence *in situ* Hybridization; FISH)으로서 돼지 염색체상 텔로미어 분포 양상을 제시한 바 일반적으로 대부분의 포유류의 텔로미어 분포가 염색체의 양 말단부에만 위치하고 있는 양상과 달리 돼지의 경우 염색체의 양 말단 부위뿐만 아니라 6번 염색체 동원체 하단부에 interstitial telomere가 분포하고 있음을 보고하였다. 또한 돼지의 telomeric DNA를 cloning하고 sequencing한 결과 이들 역시 TTAGGG의 반복 염기로 구성되어 있음이 밝혀졌다 (Chen 등, 2000; Fradiani 등, 2004). 돼지의 폐, 림프구, 난소, 심장, 근육 및 비장세포의 텔로미어 길이를 분석한 바 10~30 kb로 나타났고,

뇌의 경우 10~20 kb, 신장의 경우 9~50 kb로 분석되었다. 또한 생식세포인 정소의 경우 13~44 kb로 나타나 조직간 특이적 차이는 없는 것으로 조사되었으나 이의 길이는 인간에서의 분석값 보다 훨씬 길며, mouse 보다는 다소 짧다고 보고하였다 (Fradiani 등, 2004).

돼지는 생리적 측면에서 인간과 가장 유사성을 지닌 동물로서 현재 인간의 장기이식을 위한 가장 대표적인 대체 동물로 이용되고 있다 (Evans 등, 2001). 뿐만 아니라 국내 축산업에서 가장 대표적인 축종으로 연간 1,000만두 정도의 사육 규모를 가지고, 산업적 규모 역시 단일 품목으로 농업 전체에서 두 번째를 차지하고 있다 (농림부, 2006). 따라서 돼지의 텔로미어에 대한 연구는 생리적 연구 측면에서나 산업적 활용을 위한 선발 및 도태의 표지 개발 측면에서 매우 가치 있는 주제라 사료된다.

그러므로 본 연구에서는 돼지의 세포 분화 및 활성화 특이성과 개체의 성장, 노화의 생물학적 특성을 구명하고자 국내 대표적인 종돈을 대상으로 telomeric DNA probe를 이용한 양적 형광접합보인법 (Quantitative Fluorescence *in situ* Hybridization; Q-FISH)으로서 연령 별, 품종 별, 성 별 각 개체들의 백혈구 세포의 텔로미어 함량을 분석 고찰하고, 텔로미어 함유율과 개체 별 각 생산 능력과의 상관성을 비교 분석하여 이들 간의 관련성도 검토하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 공시 동물

돼지의 백혈구 세포 내 텔로미어 함량 분석을 위하여 대한양돈협회 제2종돈능력검정소 (경남 하동군 진교면)에서 검정 사육된 Yorkshire, Landrace, Duroc 및 Berkshire종을 대상으로 능력 검정 개시 시 (약 90일령) 암수 162두와 검정 후 (약 180일령) 암수 100두를 대상으로 하였다.

2. Telomeric DNA probe 제작

Porcine telomeric DNA probe 제작을 위하여

TTAGGG의 상보적 염기서열인 CCCTAA가 7번 반복 (42 mers)된 단일 oligomers를 primer로 이용하였다. FISH용 probe의 제작은 Dig-PCR probe synthesis 방법으로 제조사 (Roche, Mannheim, Germany)의 지침에 따라 시행하였다. 즉, primer를 첨가 후 변성 (denaturation), 접합 (annealing), 신장 (extension) 과정을 반복 후 대상염기서열을 증폭하는 것으로 증폭 과정 중 Dig-labeled nucleotide가 결합되게 하는 것이다. PCR의 반응조건은 94°C에서 5분간 최초 변성을 시키고, 94°C 30초간 변성, 56°C에서 30초간 접합, 그리고 72°C에서 30초간 신장하는 과정을 35회 순환시킨 후 마지막 신장을 72°C에서 5분간 실시하였다. 증폭된 PCR 산물은 2% agarose gel로 전기 영동하여 band의 위치와 크기로서 농도를 확인하였다.

3. FISH를 위한 백혈구 세포 표본 제작

채혈한 혈액을 30분간 1,500 rpm으로 원심 분리한 후 혈장층과 적혈구층간에 나타나는 buffy coat만을 취하여 백혈구 세포 표본을 준비하였다. 채취한 백혈구들은 0.06M KCl (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) 용액으로 실온에서 15분간 저장처리하고, methanol과 acetic acid를 3:1로 섞은 고정액으로 3회 이상 반복 고정처리를 실시하였다. 고정 처리가 끝난 세포들을 냉장 보관된 슬라이드에 3~4 방울 떨어뜨려 표본을 제작하였다. 이후 슬라이드 건조기에서 3~4시간 건조 후 곧바로 FISH에 공시하였다.

4. 양적형광접합보인법

본 연구에 시행한 Q-FISH는 조 등 (2005)이 닭의 telomeric DNA 분포양상을 분석하기 위해 수행한 방법을 다소 변형하여 시행하였다.

FISH를 위한 전 처리로 준비된 슬라이드 표본을 RNase A (Sigma-Aldrich)가 함유된 2×SSC 용액에 담구어 37.5°C 항온수조에서 30분간 정치시켜 RNA를 제거하였다. 이후 초자수로 2~3번 수세하고 연이어 80%, 90%, 100% ethanol로 수세하여 탈수시키고 슬라이드 표본을 실온에

서 건조시켰다. Hybridization 용액은 13 μ l formamide와 5 μ l의 4× hybridization solution (8×SSC, dextran sulphate 40%, DNA MBB grade 4 mg/ml; Roche) 및 telomeric DNA probe 2 μ l (100 ng/ μ l)를 함유한 총 20 μ l로 제조하였다. Hybridization 용액을 건조된 슬라이드 표본의 중앙에 떨어뜨리고 커버글라스로 덮은 후 밀봉하였다. 이를 72°C aluminum block에서 10분간 처리하여 probe와 표본 DNA를 변성시키고 다시 38.5°C에서 12시간 이상 hybridization시켰다. 이후 2×SSC, PN buffer (0.1% sodium phosphate, 0.1% Nonidet P-40; Roche)로써 씻어내고, 접합 탐지를 위하여 anti-dig-fluorescein isothiocyanate conjugate (FITC; Roche)를 슬라이드 표본에 떨어뜨리고 38.5°C에서 30분간 반응시켰다. 반응이 끝난 표본은 PN buffer로 3회 연속 세척 후 암소에서 건조시켰다. 배경염색으로는 propidium iodide solution (PI; Roche)을 떨어뜨린 후 커버글라스를 덮고 밀봉하였다. 형광접합 발현 양상은 PI와 FITC 파장대의 검용 필터를 부착한 형광현미경 (Model AX-70 with WIB filter, Olympus, Tokyo, Japan)으로 관찰하였다. 관찰한 각각의 상은 디지털 카메라 (Model DP-70, Olympus, Tokyo, Japan)로 촬영하여 상을 컴퓨터에 저장하고 저장된 상은 이미지 분석 프로그램 (MetaMorph®, UIC, Pennsylvania, USA)을 이용하여 각 세포 내 telomeric DNA 함량을 분석하였다. 배경 염색된 붉은 색 (PI)의 핵 면적 대비, 핵 내 telomeric DNA probe와 접합된 녹색 (FITC)의 형광 signal의 면적을 구하여 상대적 텔로미어 함량을 계산하였다.

5. 통계 분석

각 품종 간 경제능력 검정 성적 및 텔로미어 함유율의 비교는 SAS package (SAS Institute Inc, Cary, NC, USA)를 이용한 one way와 two way ANOVA 및 Turkey 다중검정분석법으로 유의성 검증을 하였으며, 개체 별 텔로미어 함유율과 생산 능력간의 상관 관계는 단순상관계수를 추정하여 분석하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 돼지의 연령 별 텔로미어 함량 분석

돼지의 성장, 발달, 노화단계의 텔로미어 함량을 분석하기 위하여 동일 연령의 Yorkshire, Landrace, Duroc 및 Berkshire 종의 혈액을 이용하여 각 개체의 백혈구 세포의 표본을 제작하

고, telomeric DNA probe로서 FISH를 수행한 후 각 개체 별 50개 이상의 상을 획득하고 이미지 분석 프로그램 (image analyzer program; MetaMorph[®])을 이용하여 텔로미어의 상대적 함량을 분석하였다.

Fig. 1은 돼지의 백혈구 간기 세포의 텔로미어 분포양상을 나타낸 것으로 이미지 분석 프로그램에 의한 분석 값을 제시한 것이다. 본

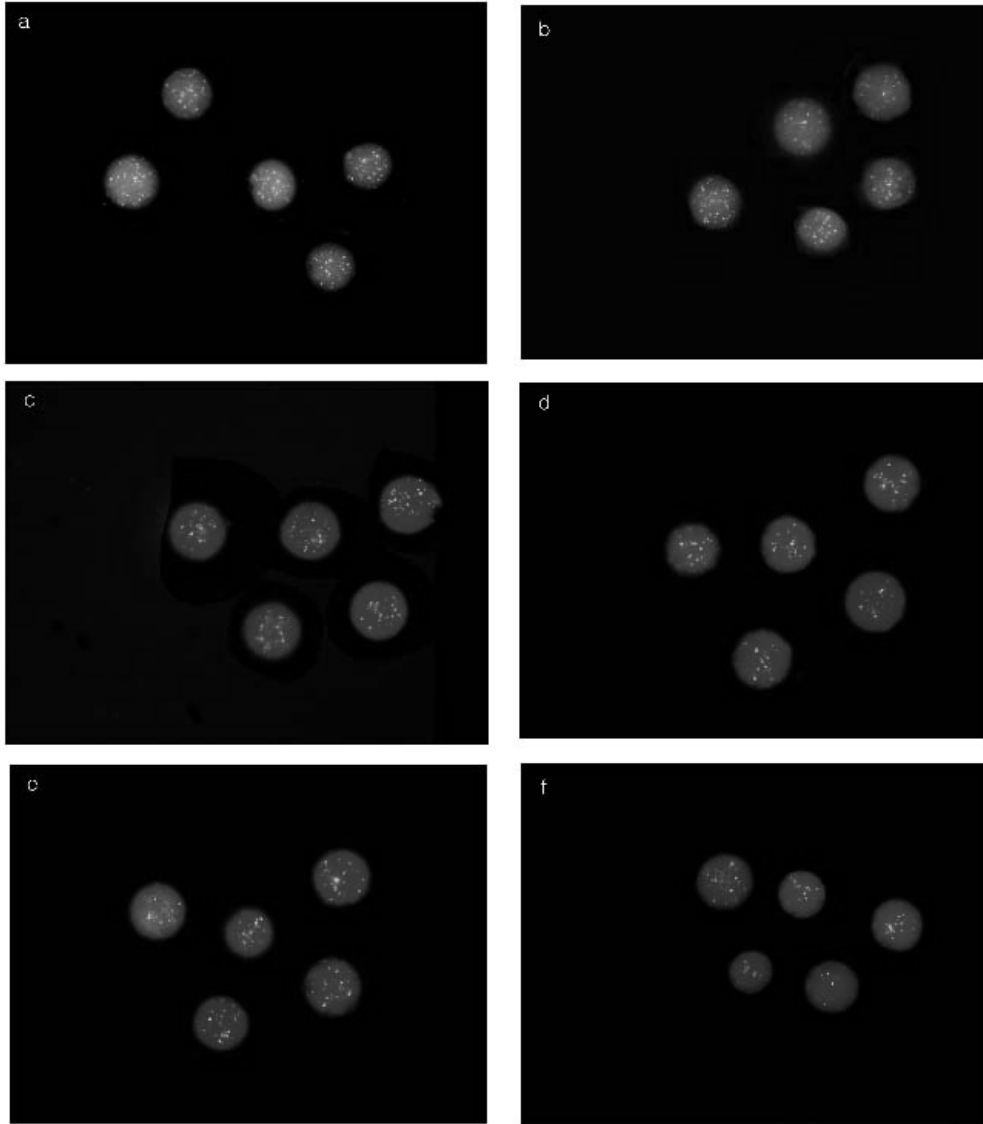


Fig. 1. Distribution of telomeres on interphase nuclei of pig lymphocytes by FISH using telomeric DNA probe. The relative amount of telomeric DNA calculated using the image analyzer program MetaMorph[®] (a) 3.15%, (b) 1.93%, (c) 1.67%, (d) 1.43%, (e) 1.11% and (f) 0.63%.

분석방법에 따른 공시 개체의 90일령 및 180일령 백혈구 세포의 텔로미어 함유율은 Table 1과 같다. 90일령 돼지의 백혈구 세포 내 평균 텔로미어 함유율은 1.86% 정도이고, 180일령에는 평균 1.75%로서 연령이 증가함에 따라 세포 내 telomeric DNA의 함유율은 유의적으로 감소되는 양상을 나타내었다. 공시된 모든 품종에 있어 텔로미어 함량은 연령 증가에 따라 감소되나 이의 감축율은 품종 간에 심한 차이를 나타내었는데 특히 Berkshire 종의 감축율은 타 품종에 비해 현격한 저하를 보였다.

본 연구에서 제시한 돼지의 연령별 각 백혈구 세포내의 텔로미어 함량분석 결과는 연령이 증가함에 따라 텔로미어의 길이가 줄어드는 결과로서 이러한 결과가 축종 간 단순 비교는 어려우나 Miyashita 등 (2002)이 제시한 0~18년생 소의 백혈구 세포 내 텔로미어 길이를 분석한 결과와 최와 손 (2007)이 제시한 한우에서의 연령별 분석 결과 및 정 등 (2006)이 닭에서 분석한 결과와 동일한 양상임에 따라 모든 축종에서 개체의 연령이 증가함에 따라 텔로미어 길이는 유의적으로 감소한다는 것을 나타내는 것이다. 특히 최와 손 (2007)이 제시한 한우에서의 텔로미어 함유율의 경우 2년생의 백혈구 내 텔로미어 함유율이 1.80%, 4년생의 경우 1.73%로 분석된 결과와 본 분석에서 제시된 돼지의 90일령 및 180일령 분석 값과 거의 유사한 함유율임에 따라 본 연령대가 두 축종 간에 생리적

으로 비슷한 나이로 추정된다. 따라서 돼지의 성장 발달 단계별 백혈구 세포 내 telomeric DNA 함량 분석을 통하여 돼지에 있어서도 연령이 증가함에 따라 텔로미어 길이가 점진적으로 감소함을 입증하였다.

2. 돼지의 품종 별 텔로미어 함량 분석

돼지의 품종 별 텔로미어 함량을 비교 분석하기 Yorkshire, Landrace, Duroc 및 Berkshire 종을 대상으로 품종 별 동일 연령 개체의 혈액을 이용하여 텔로미어 함량을 Q-FISH 방법으로 분석하였고, 이들의 상대적 함량의 비교 분석 값을 Fig. 2에 나타내었다. 돼지 품종 별 텔로미어 함유율을 90일령 및 180일령으로 나누어 분석한 바, 성장 초기 (90일령)에 순종버크셔가 다른 종에 비해 유의적으로 높은 텔로미어 함량을 나타내었으며 ($p<0.05$), 유색 종이 백색 종에 비해 높은 텔로미어 함유율을 보였으나 후기 성장 시 (180일령) 품종 간 함유율의 차이는 없는 것으로 나타났다 (Table 1, Fig. 2). 이는 조와 손 (2005)이 재래 닭과 Leghorn종 간의 텔로미어 함량 비교 분석에서 재래 닭의 백혈구 세포 내 telomeric DNA 함량이 Leghorn종에 비해 높게 나타났다는 품종 간 차이 및 최와 손 (2007)이 한우와 홀스타인의 비교에서 한우가 홀스타인에 비해 높은 텔로미어 함유율을 보인다는 보고와 유사한 결과로서 돼지에서도 품종

Table 1. The relative amount of telomeric DNA in pig lymphocytes at 90 days old and 180 days old

	90 days (%)	180 days (%)	Mean (%)
Berkshire	2.15±0.39 (n=11)	1.77±0.53 (n=6)	2.01±0.47 ^a (n=17)
Duroc	1.88±0.37 (n=86)	1.77±0.27 (n=60)	1.83±0.33 ^{ab} (n=146)
Yorkshire	1.79±0.38 (n=44)	1.70±0.31 (n=22)	1.76±0.36 ^b (n=66)
Landrace	1.77±0.30 (n=21)	1.71±0.32 (n=12)	1.75±0.31 ^b (n=33)
Mean	1.86±0.37 ¹ (n=162)	1.75±0.30 ² (n=100)	1.81±0.35 (n=262)

The values are means ± standard deviations

^{1,2} Means with different superscripts in same row significantly differ at $p<0.05$.

^{a,b} Means with different superscripts in same column significantly differ at $p<0.05$.

The bracket (n) is analyzed number of animal.

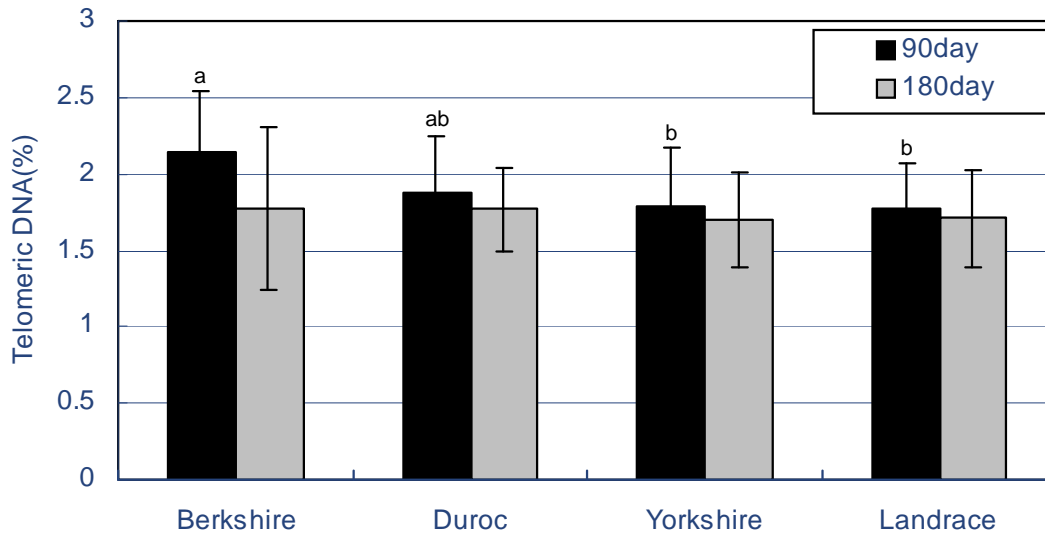


Fig. 2. The relative amount of telomeric DNA across breed and age in pig lymphocytes. Means with different letters are significantly different ($p < 0.05$).

간 차이를 재 확인한 것이다. 이러한 차이는 돼지의 세포 증식, 노화, 분화 현상을 품종 간에 비교할 수 있는 생리학적 품종 특이성의 지표로 사료된다.

3. 돼지의 성 별 텔로미어 함량 분석

Yorkshire, Landrace, Duroc 및 Berkshire 종 수 돼지와 암돼지의 동일 연령 대비 성별 백혈구 세포 내 telomeric DNA의 상대적 함량 분석 값을 Table 2에 제시하였다.

돼지 성 별 텔로미어 함유율을 90일령 및

180일령으로 나누어 비교 분석한 바 수컷의 텔로미어 함유율은 평균 1.84%, 암컷은 1.72%로 나타나 수컷이 암컷에 비해 유의적으로 높은 telomeric DNA 함량을 보였다 ($p < 0.05$). 90일령에 비해 180일령에 성 별간 텔로미어 함유율의 차이가 줄어들어서 초기 성장기에는 성 간의 차이가 현저하나 성장이 진행됨에 따라 암수간의 차이가 줄어드는 것으로, 특히 성숙 후 동일 체중 간에는 암수간 차이가 거의 없는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 사람의 경우 남자와 여자의 염색체내 텔로미어 길이를 분석한 결과 여자가 남자에 비해 유의적으로 높았다는

Table 2. The relative amount of telomeric DNA of lymphocytes in male and female pigs

	Male (%)	Female (%)	Total (%)
90 d	1.88±0.34 (n=126)	1.75±0.37 (n=36)	1.86±0.37 ^a (n=162)
180 d	1.77±0.30 (n=79)	1.68±0.32 (n=21)	1.75±0.30 ^b (n=100)
Mean	1.84±0.35 ¹ (n=205)	1.72±0.33 ² (n=57)	1.81±0.35 (n=262)

The values are means ± standard deviations

^{1,2} Means with different superscripts in same row significantly differ at $p < 0.05$.

^{a,b} Means with different superscripts in same column significantly differ at $p < 0.05$.

The bracket (n) is analyzed number of animal.

보고 (Benetos 등, 2001; Perner 등 2003)와 상반된 결과이다. 그러나 소에 있어서 성 별간 텔로미어 함유율을 1년 및 2~4년생으로 나누어 비교 분석 한 바 모든 연령에서 성별 간에 유의적 차이가 나타났는데 수컷은 평균 2.47%, 암컷은 1.90%로 수컷이 암컷에 비해 텔로미어 함량이 높은 것으로 분석되어 (최와 손, 2007) 본 실험의 결과와 동일한 양상이었다. 따라서 본 분석 결과에서 나타난 돼지에서 성별 간 텔로미어 함유율의 차이는 성 간 생리학적 특이성에 기인된 결과로 사료되어 이의 원인 구명을 위해서는 연령대별 보다 많은 수의 개체 분석과 호르몬과의 연관성 등이 비교 검토되어야 하겠다.

4. 돼지의 경제 형질과 텔로미어 함량 분석

돼지 각 경제 형질 별 성적과 백혈구 세포 내 텔로미어 함량간의 연관성을 비교 분석하기 위하여 30 kg 검정 개시 (90일령)부터 90 kg 도

달 일령 (180일령)까지 각 개체의 체장, 등지방 두께, 일당 증체량, 사료 요구율, 정육율 및 선발지수 값을 조사하고 이들 개체의 혈액 내 백혈구의 텔로미어 함량을 분석하였다. Table 3은 공시돈의 각 품종 별 경제능력검정 성적 및 텔로미어 함유율로서 체장, 일당 증체량, 사료 요구율 및 선발지수에서 품종 간 유의한 차이를 나타내었는데 체장에서는 Landrace가 가장 좋은 성적을 보였으며, 일당 증체량, 사료 요구율 및 선발지수에서는 Duroc종이 가장 양호한 성적을 나타내었다 ($P<0.01$). 각 품종 별 90 kg 검정개체 (약 180일령)의 텔로미어 함유율은 평균 1.75%로서 품종 간 차이는 없는 것으로 분석되어 생산능력과 텔로미어 함유율 간의 연관성은 결부시키기가 어려울 것으로 사료된다.

Table 4는 각 개체 별 능력검정 성적과 텔로미어 함유율 간의 상관관계를 분석한 결과로서 이들 간의 상관 계수를 제시하였다. Table 4에 제시한 바와 같이 성숙에 있어서 백혈구 세포 내 텔로미어 함유율과 일당 증체량, 정육율 및

Table 3. The productive performance and relative amount of telomeric DNA of pig breeds at the age of 90kg live weight

Breed	Telomeric DNA (%)	Body length (cm)	Average daily gain (g/d)	Feed efficiency	Back fat thickness (cm)	Loin percent (%)	Index value
Berkshire	1.77±0.53	105.00±0.01 ^c	1004.43±67.12 ^{ab}	2.40±0.08 ^b	1.23±0.20	57.96±2.97	230.08±0.08 ^b
Duroc	1.77±0.27	106.00±0.01 ^b	1088.76±112.44 ^a	2.29±0.11 ^a	1.24±0.13	58.38±1.84	241.36±18.66 ^a
Yorkshire	1.70±0.31	105.19±0.40 ^c	980.59±175.87 ^b	2.37±0.13 ^{ab}	1.23±0.17	58.60±1.84	228.18±16.95 ^b
Landrace	1.71±0.32	107.86±0.36 ^a	1026.36±175.87 ^{ab}	2.33±0.16 ^{ab}	1.30±0.17	58.17±2.96	236.34±22.51 ^{ab}
Means	1.75±0.30	105.90±0.82	1046.67±128.66	2.32±0.13	1.25±0.15	58.38±2.06	236.10±19.29

The values are means ± standard deviations

^{a,b,c} Means with different superscripts in same column significantly differ at $p<0.01$.

Table 4. The correlation coefficients between the relative amount of telomeric DNA in pig lymphocytes at the age of 90kg live weight and their productive traits

	Body length	Average daily gain	Feed efficiency	Back fat thickness	Loin %	Index value
r	-0.02	0.09	-0.06	-0.11	0.002	0.12
p	0.87	0.38	0.57	0.27	0.98	0.22

선발지수와는 정(+)의 상관, 체장, 사료 요구율 및 등지방 두께와는 부(-)의 상관을 보여 선발 지표로서 매우 바람직한 양상을 보이거나 이들 간의 상관계수가 낮고 또한 모든 계수가 유의성이 없는 것으로 분석되어 분석 값의 의미가 크지 못함을 나타내었다. 따라서 각 경제형질과 개체의 텔로미어 함유율 간에는 큰 연관성이 없는 것으로 나타나 이를 이용한 생산표지로서의 활용에는 다소 어려움이 있는 것으로 생각되나 생리 표지로서의 활용 가치는 매우 높은 것으로 사료된다.

IV. 요약

본 연구에서는 돼지의 세포 분화 및 활성적 특이성과 개체의 성장, 노화의 생물학적 특성을 구명하고자 국내 대표적인 종돈을 대상으로 telomeric DNA probe를 이용한 양적형광접합보인법(Q-FISH)으로서 백혈구 세포의 연령 별, 품종 별, 성 별 텔로미어 함량을 분석 고찰하고, 텔로미어 함유율과 개체 별 각 생산 능력과의 연관성을 검토하고자 하였다.

본 연구에 공시된 품종은 대한양돈협회 제2종돈능력검정소에서 검정 사육된 Yorkshire, Landrace, Duroc 및 Berkshire종 암수 100두 이상으로서 분석 결과, 돼지의 연령이 증가함에 따라 유의한 텔로미어 함유율의 감소를 나타내었고, 품종 간에 있어서도 유색 종이 백색 종에 비해 유의적으로 높은 텔로미어 함유율을 보였으며, 성 간에도 수컷이 암컷에 비해 높은 텔로미어 함유율을 나타내었다. 한편 각 개체 별 능력검정 성적과 텔로미어 함유율 간의 상관관계를 분석한 바 일당 증체량, 정육율 및 선발지수와는 정(+)의 상관을 보이고, 체장, 사료 요구율 및 등지방 두께와는 부(-)의 상관을 보여 선발 지표로서 매우 바람직한 양상을 보이거나 이들 간의 상관계수가 낮고 또한 모든 계수가 유의성이 없는 것으로 분석되어 각 경제형질과 개체의 텔로미어 함유율 간에 큰 연관성이 없는 것으로 나타났다. 이상의 결과들을 종합하여 볼 때 텔로미어 함유율이 돼지의 생리 표지로서 활용은 가능하나 생산능력의 표지

로서 이용하기에는 다소 어려움이 있는 것으로 사료된다.

V. 사 사

본 연구는 진주산업대학교 2007년도 기성회 연구비 지원 및 산업자원부/한국산업기술평가원 지정 진주산업대학교 동물생명산업센터의 연구비 지원에 의한 것입니다. 또한 본 연구를 위하여 재료를 제공하여 주신 대한양돈협회 제2종돈능력검정소 홍성광 소장님 이하 직원 여러분들께 심심한 사의를 표합니다.

VI. 인용 문헌

1. Ahmed, A. and Tollefsbol, T. 2001. Telomeres and telomerase: basic science implications for aging. *J. Am. Geriatr. Soc.* 49(8):1105-1109.
2. Argyle, D., Ellsmore, V., Gault, E. A., Munro, A. F. and Nasir, L. 2003. Equine elomeres and telomerase activity in cellular immortalisation and ageing. *Mech Ageing Dev* 124:759-764.
3. Benetos, A., Okuda, K., Lajemi, M., Kimura, M., Thomas, F., Skurnick, J., Labat, C., Bean, K. and Aviv, A. 2001. Telomere length as an indicator of biological aging: The gender effect and relation with pulse pressure and pulse wave velocity. *Hypertension* 37(2):381-385.
4. Brown, W. R. A., MacKinnon, P. J., Villasantè, A., Spurr, N., Buckle, V. J. and Dobson, M. J. 1990. Structure and polymorphism of human telomere associated DNA. *Cell* 63:119-132.
5. Chen, J. L., Blasco, M. A. and Greider, C. W. 2000. Secondary structure of vertebrate telomerase RNA. *Cell* 100:503-514.
6. Cottliar, A. S. and Slavutsky, I. R. 2001. Telomeres and telomerase activity: their role in aging and in neoplastic development. *Medicina* 61:335-342.
7. de la Sena, C., Chowdhary, B. P. and Gustavsson, I. 1995. Localization of telomeric (TTAGGG)_n sequences in chromosomes of some domestic animals by fluorescence *in situ* hybridization.

- Hereditas 123:269-274.
8. De Lange, T., Shiue, L., Myers, R. M., Cox, D. R., Naylor, S. L., Killery, A. M. and Varmus, H. E. 1990. Structure and variability of human chromosome ends. *Mol Cell Biol* 10:516-527.
 9. Deng, Y. and Chang, S. 2007. Role of telomeres and telomerase in genomic instability, senescence and cancer. *Lab Invest.* 87(11):1071-1076.
 10. Evans, R. W. 2001. In: J. L. Platt, Editor, *Xenotransplantation*, ASM Press, Washington, DC. pp. 29-51.
 11. Fradiani, P. A., Ascenzioni, F., Lavitrano, M. and Donini, P. 2004. Telomeres and telomerase activity in pig tissues. *Biochimie* 86:7-12.
 12. Gan, Y., Engelke, K. J., Brown, C. A. and Au, J. L. 2001. Telomere amount and length assay. *Pharma. Res.* 18(12):1655-1659.
 13. Greider, C. W. and Blackburn, E. H. 1985. Identification of a specific telomere terminal transferase activity in *Tetrahymena* extracts. *Cell* 43:405-413.
 14. Kipling, D. and Cooke, H. J. 1990. Hypervariable ultra-long telomeres in mice. *Nature* 347:400-402.
 15. Kozik, A., Bradbury, E. M. and Zalensky, M. 1998. Increased telomere size in sperm cells of mammals with long terminal (TTAGGG)_n arrays. *Mol Reprod Dev* 51:98-104.
 16. Londoño-Vallejo, J. A. 2008. Telomere instability and cancer. *Biochimie.* 90(1):73-82.
 17. McKeivitt, T. P., Nasir, L., Devlin, P. and Argyle, D. J. 2002. Telomere lengths in dogs decrease with increasing donor age. *J Nutr* 132:1604S-1606S.
 18. Miyashita, N., Shiga, K., Yonai, M., Kaneyama, K., Kobayashi, S., Kojima, T., Goto, Y., Kishi, M., Aso, H., Suzuki, T., Sakaguchi, M. and Nagai, T. 2002. Remarkable difference in telomere lengths among cloned cattle derived from different cell types. *Biol. Reprod.* 66:1649-1655.
 19. Moyzis, R. K., Buckingham, J. M., Cram, L. S., Dani, M., Deaven, L. L., Jones, M. D., Meyen, J., Ratliff, R. L. and Wu, J. R. 1988. A highly conserved repetitive DNA sequence, (TTAGGG)_n, at the telomeres of human chromosomes. *Pro Natl Acad Sci USA* 85:6622-6626.
 20. Nasir, L., Devlin, P., McKeivitt, T., Rutteman, G. and Argyle, D. J. 2001. Telomere lengths and telomerase activity in dog tissues: a potential model system to study human telomere and telomerase biology. *Neoplasia* 4:351-359.
 21. Parkinson, E. K. and Minty, F. 2007. Anticancer therapy targeting telomeres and telomerase : current status. *BioDrugs.* 21(6):375-385.
 22. Pathak, S., Mutani, A. S., Furlong, C. L. and Sohn, S. H. 2002. Telomere dynamics, aneuploidy, stem cells and cancer. *Int. J. Oncology* 20(3): 637-641.
 23. Perner, S., Bruderlein, S., Hasel, C., Waibel, I., Holdenried, A., Ciloglu, N., Chopurian, H., Nielsen, K. V., Plesch, A., Hogel, J. and Moller, P. 2003. Quantifying quantitative telomere lengths of human individual chromosome arms by centromere-calibrated fluorescence *in situ* hybridization and digital imaging. *American Journal of Pathology* 163(5):1751-1756.
 24. Robinson, M. O. 2000. Telomerase and cancer. *Genet. Eng.* 22:209-222.
 25. Sohn, S. H., Multani, A. S., Gugnani, P. K. and Pathak, S. 2002. Telomere erosion-induced mitotic catastrophe in continuously grown Chinese hamster Don cells. *Exptl. Cell Res.* 279(2):271-276.
 26. Ulaner, G. A. and Giudice, L. C. 1997. Developmental regulation of telomerase activity in human fetal tissues during gestation. *Mol. Hum. Reprod.* 3(9):769-773.
 27. Wright, W. E. and Shay, J. W. 2002. Historical claims and current interpretations of replicative aging. *Nat Biotechnol* 20:682-688.
 28. 농림부. 2006. 농림통계연보. 행정간행물 31000-1023-26-01
 29. 손시환, Multani AS, Pathak S, 조은정, 하해봉. 2004. 소, 돼지 염색체의 telomeric DNA 분포 양상. *한국동물자원과학회지* 46(4):547-554.
 30. 정길선, 조은정, 최덕순, 이민정, 박철, 전익수,

- 손시환. 2006. 한국재래닭의 주령별 각 조직의 텔로미어 양적분포 양상과 텔로머레이스 활성도 분석. 한국가금학회지 33(2):97-103.
31. 조은정, 손시환. 2005. 닭의 생리적 특성에 따른 telomere 양적 변화. 2005 한국동물자원과학회 학술발표회 Proceedings II:55 전북대학교, 전주
32. 조은정, 최철환, 손시환. 2005. 닭의 발생 단계별 세포내 telomere의 양적 분포양상과 telomerase 활성도 분석. 한국동물자원과학회지 47(2):187-194.
33. 최덕순, 손시환. 2007. 소의 생리적 특성에 따른 세포내 텔로미어 함량과 텔로머레이스 활성도 분석. 2007 한국동물자원과학회 학술발표회 Proceedings Vol. II:64. 중앙대학교, 안성
(접수일자 : 2008. 5. 23. / 수정일자 : 2008. 7. 21. / 채택일자 : 2008. 7. 24.)