한국가금학회지 제 36권 제 4호, 293～300 (2009)
Korean J. Poult. Sci. Vol. 36, No.4, 293～300 (2009)


# 닭의 모체 연령에 따른 생산 배아의 염색체 이상 빈도 및 텔로미어 함량 분석

이수희 · Vinod K. Subramani · 손시환†
진주산업대학교 동물생명과학과

# Effect of Maternal Age on Chromosome Aberrations and Telomere Quantity in Chick Embryos

Soo Hee Lee, Vinod K. Subramani and Sea Hwan Sohn†
*Department of Animal Science and Biotechnology, Jinju National University, Jinju 660-758, Korea*

***ABSTRACT*** The rate of fetus with abnormal chromosomes increase with maternal age. Nondisjunction of aging oocyte chromosome is a major reason for the increased rate of abnormalities. Telomeres are the ends of eukaryotic chromosome, which are essential for chromosome stability and are related in cell senescence. This study was carried out to analyze the chromosome aberration rate and amount of telomeric DNA in chick embryo along with maternal age. Fertilized eggs and blood were sampled from White Leghorn layers starting at 20 weeks through to 70 weeks age at 10 weeks interval. Chromosome aberration rate was analyzed by karyotyping. The amounts of telomeric DNA in embryonic cells and lymphocytes were quantified by Quantitative Fluorescence *in situ* Hybridization method. The chromosome aberration rate in chick embryos significantly differed with maternal age. The chromosome aberration rate increased at early laying period and beyond 70 weeks of maternal age. Therefore, chromosome aberration rate was affected by maternal age due to ovulated oocytes state. However, the amount of telomeric DNA on embryonic cells did not differ significantly with maternal age. Thus, maternal age does not affects telomere quantity in their embryos due to cellular reprograming at early embryonic stage after fertilization.
(Key words : oocyte, aging, chromosome aberration, telomere, Q-FISH)

## 서 론

임신 초기 배아 사망은 상당수가 염색체 이상이 그 원인인 것으로 알려져 있으며, 이는 모체 출산 연령과 밀접한 관련이 있는 것으로 보고되고 있다(Dorland et al., 1998). 초기 발생 과정 중 염색체 이상에 기인된 배아 사망은 사람뿐만 아니라 소, 돼지, 말, 양 등 포유 가축들에서도 이의 발생 빈도가 매우 높은 것으로 알려져 있는데(McFeely, 1967; Gustavsson, 1990; King, 1990; Long, 1990; Power, 1990), 조류인 닭에 있어서도 부화 과정 중 초기 배아의 사망은 염색체 이상이 그 주된 원인임을 보고하고 있다(Bloom, 1969; Fechheimer, 1981, 1990; Miller et al., 1971, 1976). 이러한 초기 배아의 염색체 이상은 생식 세포 형성 과정 중 모체의 노화에 따른 난포 소모(Faddy et al., 1992; Faddy, 2000)와 난자의 유전적 안정성 감소로 인한 염색체 비분리(Hasslod and Hunt, 2001)가 가장 큰 원인이며, 이밖에도 다정자 침입, 세포질 분할 실패 및 제 2극체의 방출 억제 등이 그 원인으로 알려져 있다(Bloom and Buss, 1966; Fechheimer et al., 1968; Bloom, 1972, 1974; Lodge et al., 1973; Mong et al., 1974; Snyder et al., 1975).

한편, 노화와 관련하여 텔로미어(telomere)에 대한 연구가 최근 활발히 진행되고 있는데, 텔로미어는 진핵생물 염색체 말단부에 존재하는 TTAGGG의 단순 반복 염기서열과 특정 단백질로 구성된 nucleoprotein으로서 염색체의 안정성에 직접적 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Zakian, 1995; Blackburn, 1991; Shay, 1999). 진핵생물의 경우, 세포분열시 말단 복제 문제(end replication problem)로 인해 텔로미어의 소실을 초래하게 되고, 일정 길이 이하의 감축이 진행될 경우 염색체를 보호하는 기능을 잃게 되어 세포 사멸(apotosis)이 일어나 세포 노화가 진행된다는 것이다(Greider and Blackburn, 1985; Wright et al., 1996; Faragher and Kipling, 1998). 닭에 있어 텔로미어에 대한 연구는 매우 제한적이기는 하나, 포유동물에서 마찬

† To whom correspondence should be addressed : shsohn@jinju.ac.kr

가지로 발생 후 개체가 성장 노화되면서 거의 모든 조직에서 텔로미어 함량이 지속적으로 감소된다고 하였고(조은정 등, 2005; 정길선 등, 2006), 텔로미어를 신장시키는 효소인 텔로머레이스(telomerase)의 활성도는 수정 후 기관 형성 때까지 거의 지속적인 활성을 나타내다가 기관 형성 이후 신생 개체에서부터는 이의 활성이 낮아지거나 없어지는 것으로 보고하고 있다(Taylor and Delany, 2000; Swanberg and Delany, 2003; 조은정 등, 2005). 따라서 닭에 있어서도 개체 연령이 증가함에 따라 명확하고 뚜렷한 텔로미어의 소실이 일어나 이를 노화의 표지로 제시하고 있다(김영주, 2008).

포유동물에서 모체 출산 연령이 늦어짐에 따라 수정률의 감소와 배아 사망률이 증가하는데, 이는 배란 난자의 노화가 주된 요인으로 알려져 있다. 또한 초기 배아 사망의 주된 원인은 배아의 염색체 이상에 기인된 것이므로 출산 연령에 따른 배아의 염색체 이상 빈도와 텔로미어의 함량 분석은 개체의 노화와 발생에 관한 기작을 밝히는데 중요한 연구 주제라 사료된다. 조류인 닭은 지속적 배란과 더불어 수정란 생산이 용이하고, 포유동물에 비해 세포주기가 짧고 세포의 수명이 엄격히 제한 조절되어 있으므로 발생 및 노화 관련 연구에 가장 이상적인 모델 동물이라 하겠다. 따라서 본 연구에서는 닭의 산란 연령별 생산된 초기 배아의 염색체 이상빈도 및 배아 세포의 텔로미어 함량을 분석하고, 더불어 이들 생산 개체의 연령별 백혈구 세포의 텔로미어 함량을 분석하여 모체 노화가 배아의 염색체 이상과 텔로미어 함량에 미치는 영향을 살펴보고, 이들의 연관성을 구명하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 공시동물 및 재료

모계 연령에 따른 초기 배아의 염색체 이상 빈도 및 텔로미어 함량 분석을 위하여 진주산업대학교 종합농장에서 사육중인 단관백색레그혼(Single Comb White Leghorn) 순계 암수 70수를 20주령부터 70주령까지 공시하였다. 초기 배아의 획득은 공시기간 중 10주 간격으로 생산한 수정란으로부터 분리하였으며, 모체의 텔로미어 함량은 상기 주령에 개체의 익 정맥으로부터 채혈한 혈액을 이용하였다.

### 2. 닭 초기 배아로부터 염색체 분석

닭 초기 배아로부터 염색체 분리는 손시환 등(2000)이 제시한 방법을 다소 변형하여 수행하였다. 공시된 수정란은 둔단부를 위로 향하게 하여 37.5 ℃의 배양기에서 16시간 배양하고, 배양 종료 1시간 45분 전에 난의 둔단부에 구멍을 뚫어 개당 0.2 mg colchicine(Sigma, St Louis, MO, USA)을 주입하였다. 배양이 종료되면 난각을 파각한 후 가위와 핀셋을 이용하여 배자를 떼어내고 D-PBS(Gibco, Invitrogen Corp., Grand Island, NY, USA) 용액으로 세척한 후 동일 용액이 포함된 원심분리관으로 옮겨 1,200 rpm으로 10분간 원심분리시켰다. 세포의 저장 처리는 0.9% sodium citrate(Sigma) 용액으로서 37.5 ℃에서 15분간 처리하였다. 이후 고정 처리는 Carnoy's 용액(methanol과 acetic acid, 3:1)을 이용하여 연속 3회 반복 처리하였다. 표본의 제작은 냉장 보관된 slide의 가장자리에 고정된 세포현탁액 3~4방울을 떨어뜨리고 자연 건조시켰다. 건조된 표본은 10% Leishman 염색액(Sigma)에 5분간 염색하고, 광학현미경(BX-50, Olympus, Tokyo, Japan)으로 검경 후 표본별 20개 이상의 중기상을 획득하여 각 중기상에 대한 핵형분석을 수행하였다.

### 3. 형광보인을 위한 표본 제작

형광보인(Fluorescence *in situ* Hybridization; FISH)을 위한 닭 배아 및 백혈구 세포의 표본 준비는 다음과 같다. 배아 세포의 분리는 산란된 수정란을 배양없이 파각하고, 가위와 핀셋을 이용하여 배강(blastocoele)만을 떼어내었다. 이후 닭 초기 배아로부터 염색체 분석에서와 같이 저장 및 고정 처리를 하고 표본 slide를 제작하였다. 혈액으로부터 백혈구 세포의 표본 준비는 닭의 익 정맥으로부터 혈액을 채혈하고 혈액과 D-PBS(Gibco)를 2:3의 비율로 섞은 후 이를 Ficoll(GE Healthcare, Sweden)이 담긴 원심분리관에 서로 섞이지 않도록 천천히 첨가하였다. 첨가된 혼합액을 1,550 rpm으로 35분간 원심분리한 후 Ficoll층 위에 형성된 buffy coat만 조심스럽게 적출하고, 이를 D-PBS로 2회 정도 세척하였다. 이후 0.06 M KCl(Sigma) 용액으로 15분간 저장처리하고, Carnoy's 용액으로 3회 이상 반복 고정처리를 실시하였다. 고정된 세포현탁액 3~4방울을 냉장 보관된 슬라이드의 가장자리에 도말하고 슬라이드 건조기에서 1시간 이상 건조 후 FISH에 공시하였다.

### 4. 텔로미어 프로브를 이용한 양적형광보인법

초기 배아 및 백혈구 세포의 텔로미어 함량 분석을 위하여 Sohn et al.(2007)이 제시한 양적형광보인법(Quantitative Fluorescence *in situ* Hybridization; Q-FISH)을 일부 수정하여 실시하였다. Q-FISH를 위한 닭의 telomeric DNA probe의 제작은 $(CCCTAA)_7$로 구성된 42 mers 단일 oligomers를 primer로 하여

Polymerase Chain Reaction(PCR)을 수행하고, 증폭된 산물을 PCR-DIG Probe Synthesis Kit(Roche, Mannheim, Germany)를 이용하여 digoxigenin labeling을 하였다. 슬라이드 표본을 10 μg의 RNase A(Sigma)가 함유된 2× SSC 용액에 넣고 37 ℃의 항온 수조에서 30분간 처리한 후 초자수로 세척하고 80%, 90%, 100% 에탄올로 탈수시켰다. Hybridization 용액을 13 μL formamide와 5 μL 4× hybridzation solution(8× SSC, dextran sulphate 40%, DNA MBB grade 4 mg/mL; Roche) 및 telomeric DNA probe 2 μL(200 ng)으로 제조한 다음 표본 슬라이드의 가장자리에 떨어뜨리고 커버글라스로 밀봉하였다. 이를 78 ℃에서 10분간 처리하여 probe와 표본 DNA를 변성시키고, 이후 38.5 ℃에서 12시간 이상 접합시킨 후 2× SSC, PN buffer(7 mM sodium phosphate, pH 8.0, containing 0.1% Nonidet; Roche)로 세척하였다. 접합 탐지를 위하여 anti-dig-fluorescein isothiocyanate(FITC; Roche)를 떨어뜨리고 38.5 ℃에서 30분간 배양하고 PN buffer로 세척 후 암실에서 건조시켰다. 배경 염색은 propidium iodide(PI)를 이용하여 도포 후 커버글라스를 덮고 nail polish로 밀봉하였다. 형광접합 발현 양상은 PI와 FITC 파장대의 겸용 필터를 부착한 형광현미경(Model AX-70, Olympus, Tokyo, Japan)으로 관찰하고 probe의 접합 양상을 분석하였다. 관찰된 핵을 디지털 카메라(Model PM-70, Olympus)로 촬영 후 이미지 분석 프로그램(MetaMorph, UIC, Pennsylvania, USA)을 이용하여 핵(PI) 대비 핵 내 telomeric DNA (FITC)의 농도비를 분석하는 방법으로 텔로미어의 상대적 함량을 계산하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 모계 연령에 따른 생산 배아의 염색체 이상 빈도

모계 노화에 따른 생산 난자의 영향이 수정란의 염색체 이상에 어떠한 영향을 미치는지 알아보기 위하여 화이트 레그혼 20주령에서 70주령까지 10주 간격으로 생산된 1,072개의 수정란을 분석하였다.

산란 연령에 따라 생산된 초기 배아의 염색체 이상 빈도와 이상 형태는 Table 1과 같고, 이들의 핵형 양상들은 Fig. 1에 나타난 바와 같다. 본 연구 결과, 모계 연령별 생산 배아의 염색체 이상 빈도는 0.49~5.17%로 산란 연령에 따른 유의적 차이가 있었다($p<0.05$). 성 성숙 도달 직후 산란 초기(20주령)에 상대적으로 높은 염색체 이상 빈도를 보이다가 산란 중기(30~60주령)에서 안정된 빈도를 유지하고, 산란 후기(70주령) 이후 다시 이상 빈도가 높아지는 양상을 나타내었다.

**Table 1.** Frequencies and types of chromosome aberration in embryos with maternal age in White Leghorn layers

| Age | No. of embryos with normal karyotype | No. of embryos with abnormal karyotypes | Types of chromosome aberration |
|---|---|---|---|
| 20 wks | 165 (94.8%) | 9 (5.2%) | mos,n/2n; 1<br>mos,n/3n; 1<br>n=39,Z; 3<br>3n=117,ZZW; 2<br>3n=117,ZZZ; 1<br>3n=117,ZWW; 1 |
| 30 wks | 162 (99.4%) | 1 (0.6%) | mos,n/3n; 1 |
| 40 wks | 202 (99.5%) | 1 (0.5%) | mos,n/2n; 1 |
| 50 wks | 177 (99.4%) | 1 (0.6%) | 2n=77,ZZ,-4; 1 |
| 60 wks | 202 (99.5%) | 1 (0.5%) | n=39,Z; 1 |
| 70 wks | 145 (96.0%) | 6 (4.0%) | mos,n/2n; 2<br>n=39,Z; 2<br>3n=117,ZZZ; 1<br>3n=117,ZZW; 1 |

염색체의 이상 형태로는 일배체(monoploid), 삼배체(triploid) 및 배수성 모자이시즘(1n/3n, 2n/3n mosaicism)이 대부분을 차지하고, 낮은 빈도이기는 하나 이수성의 이상 배자도 발견되었다.

닭의 정상 핵형은 2n=78, ZZ 또는 ZW로서 38쌍의 상 염색체와 2개의 성 염색체로 구성되어 있다. 염색체의 형태는 metacentric, submetacentric, acrocentric 모든 형태가 존재하며, 핵형이 가능한 대형 염색체는 8~10쌍 정도이고, 나머지는 거의 점의 형태인 소형 염색체로 나타난다. 성 염색체인 Z염색체는 5번째 크기로 metacentric이며, W염색체는 7~8번째 크기인 metacentric 형태였다(Ohno, 1961; Owen, 1965; Borgaonkar, 1969; Pollock and Fechheimer, 1976; 손시환과 오봉국, 1987; 백규흠 등, 2003). 닭의 초기 배아의 염색체 이상 양상과 빈도는 산란계, 육계 공히 배수성 이상의 발생이 높고, 이상 빈도는 육계가 산란계에 비해 다소 높으나 평균 2~5% 정도이다(Fechheimer, 1981; Bloom, 1974; 오희정 등, 1993). 본 결과에서 나타난 평균 염색체 이상 빈도는 1.8% 정도로 기존 연구에 비해 다소 낮은 경향을 보이나, 염색체 이상 형태는 배수성인 monoploid와 monoploid-diploid mosaic이 가장 높게 나타나 상기 보고들과 거의 일치되는 양상이었다. 이러한 배수성의 생성 원인은 난자 내에서 웅성전핵만의 발생으로 인

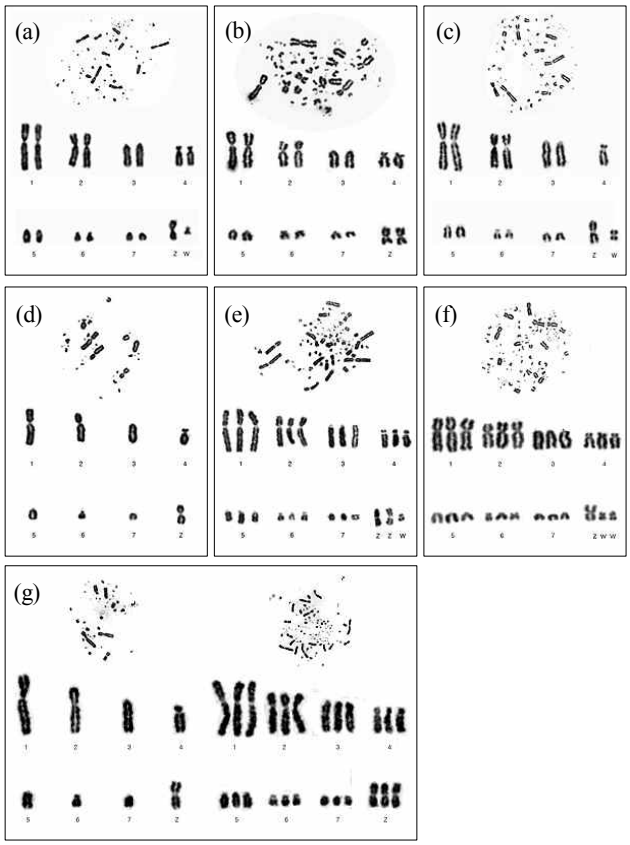


**Fig. 1.** Chick normal and abnormal karyotypes obtained from embryonic culture; Normal female karyotype 2n=78, ZW (a), Normal male karyotype 2n=78, ZZ (b), Abnormal karyotypes 2n=77, ZW,-4 (c), n=39,Z (d), 3n=117, ZZW (e), 3n=117, ZWW (f), n/3n mosaicism (g).

한 일배체 배아의 생성이나 닭에서만 나타나는 특수 현상인 다정자 침입에 따라 일차적으로 웅성전핵만이 유사 분열을 하여 n상태의 세포가 형성된 후 두 번째의 다른 정자에 의해 정상 수정체를 형성함으로서 동일 배아 내 n/2n mosaicism 또는 chimerism 현상이 나타나는 것으로 알려져 있다(Fechheimer, 1990).

인간에 있어 모체 연령이 증가함에 따라 생산 난자의 양적 및 질적 감퇴와 더불어 수태율이 격감하게 된다(te Velde and Pearson, 2002). 연령에 따른 수태율의 감소는 크게 수정율의 저하와 수정 또는 착상 직후 배아의 발생 중지로 인한 자연 유산율의 증가가 이의 원인으로 알려져 있는데, 이들 중 나이에 따른 자연 유산율의 증가가 수태율 감소에 더욱 큰 원인으로 보고되고 있다(Miller et al., 1980; Wilcox et al., 1988; Hakim et al. 1995). 닭에 있어서도 연령 증가에 따른 수정율 및 부화율의 감소는 익히 알려진 사실로서 육용종계의 경우 28주령, 45주령 및 65주령시 산란한 수정란의 경우 수정율은 각각 98%, 92% 및 73%로 나타났고, 부화율은 92%, 84% 및 63%로 나타나 산란 후기에서 수태율의 급격한 저하 양상을 보고한 바 있다(Yilmaz-Dikmen and Sahan, 2009). 한편, 출산 연령이 증가함에 따라 다운증후군과 같은 이수성 염색체 이상 빈도가 증가하는데, 특히 35세 이후에 출산하는 경우 이의 빈도는 급격히 높아진다(Cuckle et al., 1987; Hecht and Hook, 1996; Olsen et al., 1996). 이는 모체 연령이 증가함에 따라 난자의 노화가 유기되고 노화된 난자의 경우 감수 분열 과정 중 불분리 현상과 같은 분열 이상의 빈도가 높아지면서 염색체 이상을 수반하게 되므로 수정 후 초기 배아의 염색체 이상은 상당수가 비 분리된 분열 이상 난자에 기인한 것으로 사료된다(Lamb et al., 1997; Volarcik et al., 1998; Wells and Delhanty, 2000). 가축 및 가금에 있어서도 발생 과정 중 초기 배아의 사망은 상당수가 염색체의 수적 및 구조적 이상에 기인되고 이의 발생 빈도가 모든 축종에서 매우 높은 것으로 보고되고 있다(McFeely, 1967; Miller et al., 1976; Fechheimer, 1981, 1990; Gustavsson, 1990; King, 1990; Long, 1990; Power, 1990). 가축 및 가금류에 있어 노화에 따른 배아의 염색체 이상 발생 빈도나 형태에 관한 연구는 거의 보고된 바가 없으나, 닭 초기 배아의 염색체 이상 형태나 발생 기전은 인간에서 유기되는 양상과 크게 다르지 않고, 노화에 따른 생산 배자의 염색체 이상 빈도의 변화 역시 인간의 양상과 마찬가지로 모계 연령에 따라 증가되는 것으로 사료된다.

## 2. 모계 연령에 따른 생산 배아의 텔로미어 함량 분석

닭의 연령에 따른 개체별 및 생산 배아의 텔로미어 함량 변화 양상을 살펴보고자 White Leghorn을 대상으로 20주령에서 70주령까지 10주 간격으로 개체별 백혈구 세포와 동일 시기에 산란한 이들 수정란의 초기 배아 세포의 텔로미어 함량을 Q-FISH 방법으로 분석하였다.

모계 연령별 백혈구 세포와 이들 생산 배아의 텔로미어 함량은 Table 2에 제시된 바와 같고, 이들의 FISH 양상은 Fig. 2와 같다. 분석 결과 닭의 백혈구 세포의 평균 텔로미어 함유율은 1.72%인 반면 초기 배아는 2.67%로 조직별 세포에 따라 텔로미어 함유율의 차이를 나타내었다. 백혈구 세포를 기준으로 개체의 연령이 증가함에 따라 세포내 telomeric DNA의 함유율은 점진적이고 유의적으로 감소되는 양상을 볼 수 있다. 이러한 양상은 대부분의 진핵 생물들에서 연령이 증가함에 따라 텔로미어 길이가 감소한다는 연구 결과들과 거의 일치하는 양상으로서 사람(Frenck et al., 1998), 소(최덕순 등, 2008), 돼지(손시환 등, 2008) 등에서도 비슷한 양상을 보이고 있다.

**Table 2.** Relative amount of telomeric DNA in chicken lymphocytes and their embryonic cells along with maternal age

| Maternal age | Amount of telomeric DNA (%) on | |
|---|---|---|
| | Lymphocytes | Embryonic cells from their fertilized egg |
| 20 wks | 2.30±0.09[a] (n=19) | 2.65±0.05 (n=41) |
| 30 wks | 1.80±0.09[b] (n=9) | 2.66±0.06 (n=29) |
| 40 wks | 1.64±0.21[c] (n=36) | 2.67±0.04 (n=29) |
| 50 wks | 1.58±0.14[c] (n=8) | 2.65±0.06 (n=30) |
| 60 wks | 1.27±0.16[d] (n=9) | 2.71±0.14 (n=32) |
| 70 wks | 1.40±0.09[d] (n=10) | 2.66±0.06 (n=56) |
| Mean | 1.72±0.36 (n=91) | 2.67±0.21 (n=217) |

[a~d] Values (Means ± SD) with different superscripts in same column significantly differ ($p$<0.01).

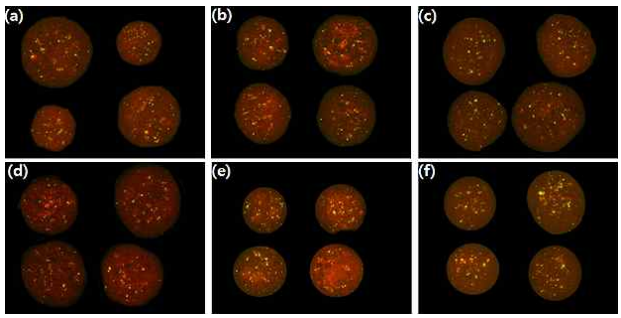


**Fig. 2.** Telomeres on chick embryonic nucleus by FISH using a telomeric DNA probe; Embryo from 20wks hen and the amount of telomeric DNA (ATM) is 2.65 (a), from 30 wks, ATM 2.66 (b), from 40 wks, ATM 2.67 (c), from 50 wks, ATM 2.65 (d), from 60 wks, ATM 2.71 (e) and from 70 wks, ATM 2.66 (f).

그러나 생체 조직 내 세포의 텔로미어 함량 변화 양상과는 달리 모계 연령에 따른 생산 배아의 텔로미어 함량은 2.65~2.71%로 산란 연령 간에 차이가 없이 거의 일정한 함량을 유지함으로 모체 노화의 영향을 받은 난자가 배아의 텔로미어 함량에는 거의 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다. 이러한 양상은 최근 포유동물 배아 발생 시 텔로미어 길이에 대한 연구에서도 논란이 되고 있는 것으로 최초의 체세포 복제 동물인 Dolly(Wilmut et al., 1997)의 경우, 공여 세포의 짧은 텔로미어가 개체 노화에 직접적 원인이라 제시함으로 공여체의 연령이 수정란의 텔로미어 길이에 영향을 준다는 것이다(Shiels et al., 1999; Miyashita et al., 2002). 즉, 이미 짧아진 텔로미어를 가진 핵을 주입한 수정란으로부터 발생된 개체는 노화가 촉진된다는 것으로 노화된 개체의 텔로미어가 배아의 텔로미어에 직접적으로 영향을 미친다. 하지만 이러한 결과와는 달리 체 세포 복제시 어떤 공여 개체의 세포를 이용하든 간에 수정란의 경우 텔로미어 길이는 정상 혹은 심지어 더욱 신장된 양상으로 복구된다는 많은 상반된 연구 결과들도 제시하고 있다(Lanza et al., 2000; Tamashiro et al., 2000; Betts et al., 2001; Tian et al., 2000; Jiang et al., 2004). 이는 공여 핵의 텔로미어 길이와는 상관없이 발생시 조직 형성 전단계인 배반포 단계에서 텔로미어의 reprograming이 일어나 태아 조직을 생성하는데 필요한 일정한 길이만큼 신장된다는 것이다. 이러한 양상들과 본 연구 결과를 종합해볼 때, 닭의 경우에도 모체의 산란 연령과는 무관하게 수정 후 배아는 초기 발생 과정 중 세포내 텔로미어의 reprograming이 일어나 길이의 항상성을 유지하는 것으로 사료된다.

## 적 요

모체 출산 연령이 늦어짐에 따라 태아의 염색체 이상 빈도는 증가하는 것으로 알려져 있는데, 이는 난자의 노화에 따른 염색체의 비분리 현상의 증가 등이 주된 원인이다. 염색체 양 말단에 존재하는 텔로미어는 염색체의 안정성에 관여하고 세포분열이 진행됨으로써 이의 길이가 짧아져 노화의 지표로 활용되고 있다. 따라서 본 연구는 모체의 노화가 생산 배아에 미치는 영향을 알아보기 위하여 닭의 산란 연령별 배아의 염색체 이상 빈도와 이들의 텔로미어 함량을 분석하였다. 시험 분석은 20주령에서부터 70주령까지의 화이트 레그혼 종을 공시하고 10주 간격으로 생산된 수정란의 초기 배아에 대한 핵형 분석과 양적형광보인법(Q-FISH)을 이용한 모계 및 생산 배아의 텔로미어 함량을 분석하였다. 분석 결과, 초기 배아의 염색체 이상 빈도는 산란 연령에 따른 유의적인 차이가 있었는데, 산란 초기에 상대적으로 높은 염색체 이상 빈도를 보이다가 산란 중기에서 안정된 빈도를 유지하고, 후기부터 다시 이상 빈도가 증가하는 양상을 보여 모체의 노화가 태아의 염색체 이상 빈도에 영향을 미치는 것으로 나타났다. 개체의 텔로미어 함량은 연령이 증가함에 따라 점진적 감소 양상을 나타내는 반면, 모계 연령에 따른 생산 배아들의 텔로미어 함량은 연령 간에 차이가 없는 것으로 나타나 모체의 노화가 수정 배아의 텔로미어 함량에는 영향을 미치지 않는 것으로 보여진다. 이는 배란 후 수정이 된

배아는 초기 발생 과정 중 세포들의 reprograming이 일어나 텔로미어가 복구됨을 의미한다.

## 사 사

본 논문은 농림수산식품부 농림기술개발사업의 지원에 의해 수행되었습니다.

## 인용문헌

Betts DH, Bordingnon V, Hill JR, Winger Q, Westhusin ME, Smith LC, King WA 2001 Reprogramming of telomerase activity and rebuilding of telomere length in cloned cattle. Proc Natl Sci USA 98:1077-1082.

Blackburn EH 1991 Structure and function of telomere. Nature 350:569-573.

Bloom SE 1969 Chromosome abnormalities in early chicken (*Gallus domesticus*) embryos. Chromosoma 28:357-369.

Bloom SE 1972 Chromosome abnormalities in chicken (*Gallus domesticus*) embryo: Types, frequencies and phenotypic effects. Chromosoma 37:309-326.

Bloom SE 1974 The origins and phenotypic effects of chromosome abnormalities in avian embryos. Proc 15 World Poult Cong: 316-320.

Bloom SE, Buss EG 1966 Triploid-diploid mosaic chicken embryo. Science 153:759-760.

Borgaonkar DS 1969 Observations on the chromosomes of one chicken (*Gallus domesticus*). Poult Sci 48:331-333.

Cuckle HS, Wald NJ, Thompson SG 1987 Estimating a woman's risk of having a pregnancy associated with Down's syndrome using her age and serum alpha-fetoprotein level. Br J Obstet Gynaecol 94:387-402

Dorland M, van Kooij RJ, te Velde ER 1998 General ageing and ovarian ageing. Maturitas 30:113-118.

Faddy MJ 2000 Follicle dynamics during ovarian ageing. Mol Cell Endocrinol 163:43-48.

Faddy MJ, Gosden RG, Gougeon A, Richardson SJ, Nelson JF 1992 Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life: implications for forecasting menopause. Hum Reprod 7:1342-1346.

Faragher RG, Kipling D 1988 How might replicative senescence contribute to human ageing? Bioassays 20:985-991.

Fechheimer NS 1981 Origins of heteroploidy in chicken embryos. Poul Sci 60:1365-1371.

Fechheimer NS 1990 Chromosomes of chickens. Advances in Veterinary Sci and Comparative Medicine 34:167-207.

Fechheimer NS, Zartman DL, Jaap RG 1968 Trisomic and haploid embryos of the chick (*Gallus domesticus*). J Reprod Fertil 19:215-217.

Frenck RW Jr, Blackburn EH, Shannon KM 1998 The rate of telomere sequence loss in human leukocytes varies with age. Proc Natl Acad Sci USA 95:5607-5610.

Greider CW, Blackburn EH 1985 Identification of a specific telomere terminal transferase activity in Tetrahymena extracts. Cell 43:405-413.

Gustavsson I 1990 Chromosome of the pig. Advances in Veterinary Sci and Comparative Medicine 34:73-107.

Hakim RB, Gray RH, Zacur H 1995 Infertility and early pregnancy loss. Am J Obstet Gynecol 172:1510-1517.

Hassold T, Hunt P 2001 To err (meiotically) is human: the genesis of human aneuploidy. Nat Rev Genet 2:280-291.

Hecht CA, Hook EB 1996 Rates of Down syndrome at livebirth by one-year maternal age intervals in studies with apparent close to complete ascertainment in populations of European origin: a proposed revised rate schedule for use in genetic and prenatal screening. Am J Med Genet 62:376-385.

Jiang L, Carter DB, Xu J, Yang X, Prather RS, Tian XC 2004 Telomere lengths in cloned transgenic pigs. Biol Reprod 70:1589-1593.

King WA 1990 Chromosome abnomalities and pregnancy failure in domestic animals. Advances in Veterinary Sci and Comparative Medicine 34:229-250.

Lamb NE, Feingold E, Savage A, Avramopoulos D, Freeman S, Gu Y, Hallberg A, Hersey J, Karadima G, Pettay D, Saker D, Shen J, Taft L, Mikkelsen M, Petersen MB, Hassold T, Sherman SL 1997 Characterization of susceptible chiasma configurations that increase the risk for maternal nondisjunction of chromosome 21. Hum Mol Genet 6:1391-1399.

Lanza RP, Cibelli JB, Blackwell C, Cristofalo VJ, Francis MK, Baerlocher GM, Mak J, Schertzer M, Chavez EA, Sawyer N 2000 Extension of cell life-span and telomere length in animals cloned from senescent somatic cells. Sci 288:665-669.

Lodge JR, Fechheimer NS, Miller RC 1973 Deletion, monosomy, and multiple monosomy-trisomy mosaicism in chicken embryos. Poult Sci 52:397-399.

Long SE 1990 Chromosomes of sheep and goats. Advances in Veterinary Sci and Comparative Medicine 34:109-129.

McFeely RA 1967 Chromosome abnormalities in early embryos of the pig. Reprod Fertil 13:579-581.

Miller JF, Williamson E, Glue J, Gordon YB, Grudzinskas JG, Sykes A. 1980 Fetal loss after implantation. A prospective study. Lancet 2:554-556.

Miller RC, Fechheimer NS, Jaap RG 1971 Chromosome abnormalities in 16- to 18-hour chich embryos. Cytoegenetics 10: 121-136.

Miller RC, Fechheimer NS, Jaap RG 1976 Distribution of karyotype abnormalities in chick embryo sibships. Biol Reprod 14:549-560.

Miyashita N, Shiga K, Yonai M, Kaneyama K, Kobayashi S, Kojima T, Goto Y, Kishi M, Aso H, Suzuki T, Sakaguchi M, Nagai T 2002 Remarkable difference in telomere lengths among cloned cattle derived from different cell types. Biol Reprod 66:1649-1655.

Mong SF, Snyder MD, Fechheimer NS, Jaap RG 1974 The origin of triploidy in chick (*Gallus domesticus*) embryos. Can J Genet Cytol 16:317-322.

Ohno S 1961 Sex chromosomes and microchromosomes of *Gallus domesticus*. Chromosoma 11:484-498.

Olsen CL, Cross PK, Gensburg LJ, Hughes JP 1996 The effects of prenatal diagnosis, population ageing, and changing fertility rates on the live birth prevalence of Down syndrome in New York State, 1983-1992. Prenat Diagn 16:991-1002.

Owen JJ 1965 Karyotype studies on *Gallus domesticus*. Chromosoma 16:601-608.

Pollock DL, Fechheimer NS 1976 The chromosome number of *Gallus domesticus*. Br Poult Sci 17(1):39-42.

Power MM 1990 Chromosome of the horse. Advances in Veterinary Sci and Comparative Medicine 34:131-167.

Shay JW 1999 At the end of the millennium, a veiw of the end. Sci 288:1377-1379.

Shiels PG, Kind AJ, Campbell KH, Waddignton D, Wilmut I, Colman A, Schnieke AE 1999 Analysis of telomere lengths in cloned sheep. Nature 399:316-317.

Snyder MD, Fehheimer NS, Jaap RG 1975 Incidence and origin of heteroploidy, especially haploidy in chick embryos from intraline and interline matings. Cytogenet Cell Genet 14: 63-75.

Sohn SH, Cho EJ, Son WJ, Lee CY 2007 Diagnosis of bovine freemartinism by fluorescence *in situ* hybridization on interphase nuclei using a bovine Y chromosome-specific DNA probe. Theriogenology 68:1003-1011.

Swanberg SE, Delany ME, 2003 Dynamics of telomere erosion in transformed and non-transformed avian cells *in vitro*. Cytogenet Genome Res 102:318-325.

Tamashiro KL, Wakayama T, Blanchard RJ, Blanchard DC, Yanagimachi R 2000 Postnatal growth and behavioral development of mice cloned from adult cumulus cells. Biol Reprod 63:328-334.

Taylor HA, Delany ME 2000 Ontogeny of telomerase in chicken: Impact of down regulation on pre- and postnatal telomere length *in vivo*. Dev Growth Differ 42:613-621.

te Velde ER, Pearson PL 2002 The variability of female reproductive ageing. Hum Reprod Update 8:141-154.

Tian XC, Xu J, Yang X 2000 Normal telomere lengths found in cloned cattle. Nat Genet 20:272-273.

Volarcik K, Sheean L, Goldfarb J, Woods L, Abdul-Karim FW, Hunt P 1998 The meiotic competence of *in-vitro* matured human oocytes is influenced by donor age: evidence that folliculogenesis is compromised in the reproductively aged ovary. Hum Reprod 13:154-160.

Wells D, Delhanty JD 2000 Comprehensive chromosomal analysis of human preimplantation embryos using whole genome amplification and single cell comparative genomic hybridization. Mol Hum Reprod 6:1055-1062.

Wilcox AJ, Weinberg CR, O'Connor JF, Baird DD, Schlatterer JP, Canfield RE, Armstrong EG, Nisula BC 1988 Incidence of early loss of pregnancy. N Engl J Med 319:189-194.

Wilmut I, Schnieke AE, McWhir J, Kind AJ, Campbell KH 1997 Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. Nature 385:810-813.

Wright WE, Piatyszek MA, Rainey WE, Byrd W, Shay JW 1996 Telomerase activity in human germline and embryonic tissues and cells. Dev Genet 18(2):173-179.

Yilmaz-Dikmen B, Sahan U 2009 The relationship among age, yolk fatty acids content, and incubation results of broiler breeders. Poult Sci 88(1):185-190.

Zakian VA 1995 Telomeres:beginning to understand the end. Sci 270:1601-1607.

김영주 2008 닭의 텔로미어 함량 분석을 이용한 연령예측지표 개발. 진주산업대학교 석사학위 졸업 논문.

백규흠 이철영 상병돈 최철환 김학규 손시환 2003 한국재래계의 염색체 분염 표지 분석. 한국동물자원과학회지 45(1): 1-12.

손시환 류은경 백규흠 2000 닭 초기배자로부터 염색체 분리기법의 개발 : Ethidium bromide를 이용한 고정도 염색체의 유도. 한국동물자원과학회지 42:157-164.

손시환 오봉국 1987 닭(*Gallus domesticus*) 염색체의 수 및 형태적 고찰. 한국축산학회지 29(12):524-531.

손시환 정현진 최덕순 2008. 양적형광접합보인법(Q-FISH)에 의한 돼지 백혈구 세포의 텔로미어 함량 분석. 한국동물자원과학회지 50:465-474.

오희정 손시환 최성복 정선부 정일정 1993 가금류 초기배자의 염색체 이상양상과 빈도. 한국축산학회지 35:363-369.

정길선 조은정 최덕순 이민정 박철 전익수 손시환 2006 한국 재래닭의 주령별 각 조직의 텔로미어 함량과 텔로머레이스 활성도 분석. 한국가금학회지 33(2):97-103.

조은정 최철환 손시환 2005 닭의 발생 단계별 세포내 telomere의 양적 분포양상과 telomerase 활성도 분석. 한국동물자원과학회지 47(2):187-194.

최덕순 조창연 손시환 2008 소의 생리적 특성에 따른 세포내 텔로미어 함량과 텔로머레이스 활성도 분석. 한국동물자원과학회지 50:445-456.

(접수: 2009. 11. 11, 수정: 2009. 12. 16, 채택: 2009. 12. 16)