

한국 재래닭 염색체의 텔로미어 분포 양상

손시환[†] · 조은정

진주산업대학교 동물생명과학과

Distribution of Telomeric DNA in Korean Native Chicken Chromosomes

Sea Hwan Sohn[†] and Eun Jeong Cho

Department of Animal Science & Biotechnology, Jinju National University, Jinju 660-758, Korea

ABSTRACT Telomeres are nucleoprotein structures at the ends of chromosomes consisting of DNA sequences arranged in tandemly repeated units (TTAGGG)_n. However, this hexamers can also occur at non-telomeric sites in some avians and vertebrate. This study was carried out to present the distribution of telomeric DNA sequences in Korean Native Chicken chromosomes. The fluorescence *in situ* hybridization technique using a telomeric DNA probe was performed to the metaphase spreads of chicken early embryonic cells. Telomeric DNA signals were detected at the ends of chromosomes including macrochromosomes and microchromosomes. In chicken, surprisingly, chromosome 1 showed very distinct interstitial telomeric DNA hybridization patterns which located two interstitial sites in the p-arm at 1p11 and 1p23, and one in the q-arm at 1q32. In chromosome number 2 and 3 also displayed interstitial telomeric signals (ITS) in the long arms at 2q24 and 3q32, respectively. The pattern of telomeric DNA distribution in Korean Native Chicken chromosomes was in agreement with a previously reported in *Gallus domesticus*. The relative amount of telomeric DNA sequences in each macrochromosomes ranged from 4.6% to 16.3%. Distribution of telomeric DNAs at the end of p-arm was much more than that of q-arm in almost chicken chromosomes. The distribution of ITS in chicken chromosomes implicate to tandem chromosome fusions that might have occurred during the process of karyotype evolution.

(Key words : telomere, chromosomes, FISH, interstitial telomeric signal, chicken)

서론

텔로미어(telomere)는 대부분의 진핵생물 염색체 양 말단에 위치하는 것으로 DNA와 단백질의 복합 구조 형태이고, 고등생물의 DNA는 주로 TTAGGG의 단순 반복 염기 서열로 이루어져 있다. 텔로미어의 역할은 염색체의 안정성을 유지하도록 하여 정상적인 생명주기를 가질 수 있도록 하나, 세포 분열 때마다 DNA 말단 부위의 복제 손실로 인해 그 길이가 짧아지게 되어 세포의 노화를 야기하게 된다(Blackburn, 1991; Zakian, 1995; Shay, 1999; Weng and Hodes, 2000). 그러므로 텔로미어는 세포 노화의 시작을 결정하는 시계 역할(mitotic clock)로서 세포 분열시마다 대략 50~200 bp 정도 소실되고, 더 이상 세포 분열을 할 수 없을 만큼 짧아지면 세포 사멸(apoptosis)이 일어나 전반적 세포의 노화가 진행된다(Harley, 1991; Wright et al., 1997; Faragher and Kipling, 1998).

텔로미어에 대한 연구는 1978년 *Tetrahymena*의 telomeric sequence를 처음으로 발표한(Blackburn and Gall, 1978) 이래, 2009년 Blackburn, Greider, Szostak이 텔로미어와 텔로머레이스(telomerase)의 발견에 대한 과학적 업적으로 노벨생리의학상을 공동으로 수상하였다. 텔로미어의 길이는 사람의 경우 5~25 kb(Harley et al., 1990), 마우스는 50~200 kb(Kipling and Cooke, 1990), 소는 약 15 kb, 돼지는 18 kb 정도(Kozik et al., 1998)로 밝혀졌으며, 닭은 0.5 kb~20 Mb로 다른 종에 비해 매우 긴 텔로미어를 함유한 것으로 알려져 있다(Delany et al., 2000). 또한, 닭의 TTAGGG sequence는 계놈당 3~4% 정도로 사람의 0.3%와는 거의 10배 이상의 차이를 보이고 있다(Delany et al., 2003). 일반적으로 텔로미어는 염색체의 양 말단에 분포된 것을 지칭하는 것으로, 일부 몇몇 동물을 제외하고 거의 대부분의 포유동물은 telomeric sequence가 염색체 양 말단에만 나타난다. 그러나 조류의 경우, 특히 닭을 비롯

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

한 타조, 거위, 오리, 꿩 등 대부분의 가금류에서는 염색체의 양 말단 부위의 특정 위치에 telomeric sequence가 존재하는 간질적 텔로미어(interstitial telomere)가 분포하는 것으로 밝혀졌다(Nanda et al., 2002). 이는 종 성립의 계통 분화 양상을 간접적으로 설명할 수 있는 좋은 증거이기도 하다. 이와 같이 조류는 세포의 분화와 노화에 관련되어 매우 좋은 시스템을 가진 동물로서 다른 실험 동물들에 비해 세포의 수명이 엄격히 제한 조절되어 있고, 특히 닭의 경우 포유류와 다른 척추동물의 모델로서 상대적으로 많은 텔로미어의 함량과 다양한 분포 양상으로 인해 텔로미어 연구에 매우 훌륭한 재료로 제공될 수 있다.

따라서 본 연구는 닭의 분자세포유전학적 기초 자료 제공을 목적으로 한국 재래닭 염색체의 텔로미어 분포 양상을 구명하고자 한 것으로 재래닭 초기 배아세포로부터 핵형을 분석하고, 이에 telomeric DNA probe를 이용한 양적 형광 보인법(Quantitative Fluorescence *in situ* Hybridization; Q-FISH)으로 염색체 상 텔로미어의 분포 위치 및 분포 정도와 각 염색체별 telomeric DNA의 상대적 함유율을 제시하였다.

재료 및 방법

1. 공시동물

닭 염색체 분리 및 텔로미어 분포 양상을 분석하기 위하여 진주산업대학교 종합 농장에서 사육 중인 한국 재래닭 암, 수 100수를 대상으로 이들이 생산한 수정란을 이용하였다.

2. 염색체 표본 제작

염색체 표본은 한국 재래닭의 수정란으로부터 초기 배아를 분리하여 이용하였다. 닭 초기 배아로부터 염색체 분리는 손 등(2000)이 제시한 방법을 다소 변형하여 수행한 것으로 수정란을 37.5°C의 배양기에서 24~48시간 배양하고, 배양 종료 1~2시간 전에 난의 둔단부를 천공하여 0.2 mg colchicine (Sigma Chem, St Louis, MO, USA)을 주입하였다. 배양이 종료되면 가위와 핀셋을 이용하여 배아를 떼어내고, 이를 D-PBS (Gibco, Invitrogen Corp, Grand Island, N.Y, USA) 용액으로 2회 세척한 다음 RPMI 1640(Gibco) 배양액이 들어있는 시험관으로 옮겨 200×g에서 10분간 원심분리시켰다. 저장 처리는 침전된 세포에 0.9% sodium citrate(Sigma)를 첨가하고 15분간 실온에 둔 후 고정액을 10방울 정도 첨가하여 원심 분리시켰다. 고정 처리는 methanol과 acetic acid가 3:1로 혼합된 고정액을 이용하고 이를 3회 이상 반복 처리한 후 냉장 보관된 slide

의 가장자리에 3~4방울 떨어뜨려 표본을 제작하였다.

3. 형광 보인 분석

본 연구에서 이용한 형광 보인법(Fluorescence *in situ* Hybridization; FISH)은 Sohn et al.(2007)이 소 수컷 특이 프로브(bovine male specific probe)를 이용하여 수행한 FISH 방법을 다소 변형하여 적용하였다.

본 연구를 위한 닭 telomeric DNA probe의 제작은 CCCTAA가 7번 반복(42 mers)된 단일 oligomers를 primer로 하여 증폭된 PCR산물을 Dig-PCR probe synthesis kit(Roche, Mannheim, Germany)를 이용하여 제조사 지침에 따라 labeling하였다. Dig-PCR probe synthesis 방법은 PCR을 하면서 dig-labeling을 시행하는 것으로 증폭 후 labeling된 DNA를 대량으로 얻을 수 있는 장점이 있다. FISH는 준비된 염색체 표본을 5 mg RNase A(Roche)가 함유된 2×SSC 용액에 넣고 37°C의 항온 수조에서 30분간 처리하여 RNA를 제거한 후 초자수로 세척하고, 에탄올로 탈수시켜 상온에서 건조시켰다. 접합 용액(hybridization solution)은 13 μ L formamide와 5 μ L의 hybridization buffer에 2 μ L(100 ng/ μ L)의 상기 telomeric DNA probe를 넣어 제조하고 표본 슬라이드에 떨어뜨린 후 커버글라스를 덮고 가장자리를 rubber cement로 밀봉한 다음 72°C에서 10분간 처리하여 probe와 표본 DNA를 변성시키고 38.5°C에서 12시간 이상 접합시켰다. 이후 슬라이드를 2×SSC 액에 담귀 72°C에서 5분간 정지 후 실온의 PN buffer(0.1% sodium phosphate, 0.1% Nonidet P-40)로 세척하였다. 접합 탐지를 위하여 슬라이드에 anti-digoxigenin-fluorescein(Roche)을 떨어뜨리고 38.5°C에서 30분간 처리한 후 PN buffer로 세척하고 암실에서 건조시켰다. 배경 염색을 위해 propidium iodide solution(Sigma) 20 μ L를 떨어뜨린 후 커버 글라스를 덮고 nail polish로 밀봉하였다. 처리가 끝난 표본은 적녹 파장대의 검용 필터를 부착한 형광 현미경(model AX-70 with WIB filter, Olympus, Tokyo, Japan)으로 probe의 접합 양상을 관찰하고 최소 50여개의 중기상을 디지털 카메라(Model DP-70, Olympus)로 촬영하여 컴퓨터에 저장한 다음 이미지 분석 프로그램(MetaMorph, UIC, Pennsylvania, USA)을 이용하여 telomeric DNA의 상대적 함량을 분석하였다.

결과 및 고찰

1. 핵형 분석

닭 염색체 상에서 텔로미어의 위치를 확인하기 위하여

우선 한국 재래닭의 초기 배아로부터 염색체를 유도하여 표본을 제작하고 동일 표본으로서 G-banding을 실시한 후 핵형 분석을 하였다.

한국 재래닭의 핵형 양상은 Fig. 1과 같다. 한국 재래닭 염색체는 $2n=78$ 로서 약 8쌍의 대형 염색체(macrochromosomes)와 31쌍의 소형 염색체(microchromosomes)로 구성되고, 성 염색체는 수컷이 ZZ, 암컷이 ZW이다. 한국 재래닭의 대형 염색체들에 대한 형태적 특징을 Levan et al.(1964)이 제시한 동원체 지수로 구분하면, 1번 염색체는 가장 긴 metacentric chromosomes이고, 2번 염색체는 그 다음 크기인 submetacentric chromosomes, 3번, 5번 및 7번 염색체는 단완이 거의 없는 acrocentric chromosomes이며, 4번 및 6번 염색체는 단완이 다소 짧은 acrocentric chromosomes이다. 한편, 성 염색체인 Z와 W 및 8번 염색체는 단완과 장완의 길이가 거의 비슷한 metacentric chromosomes이다. 이상과 같이 한국 재래닭 염색체의 형태적

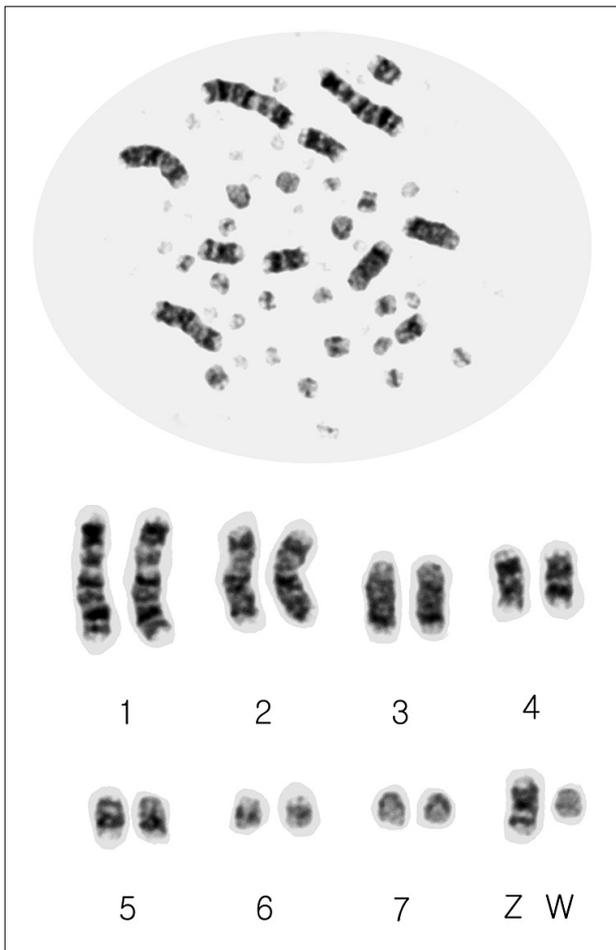


Fig. 1. Metaphase spread and partial karyotype of the Korean Native Chicken after G-banding.

특징은 백규흠 등(2003)이 제시한 한국 재래닭의 핵형과 일치하고, 지금까지 보고된 닭(*Gallus domesticus*)의 핵형 양상(Ohno, 1961; Pollock and Fehheimer, 1976; 손시환과 오봉국, 1987; Ladjali-Mohammedi et al., 1999)과 비교할 때도 한국 재래닭 만의 고유한 핵형적 특징은 없는 것으로 판단된다.

2. 닭 염색체의 Telomeric DNA 분포 양상

닭 염색체의 텔로미어 분포 양상을 살펴보고자 제작된 염색체 표본에 telomeric DNA probe를 이용하여 FISH를 수행하였다. 분석 결과 Fig. 2와 같이 닭의 모든 염색체 양 말단부에 텔로미어가 분포하고, 양 말단 간에는 다소의 양적 변이를 나타내었다. 또한, 대형 염색체 중 1번, 2번 및 3번 염색체에 interstitial telomeric signal(ITS)의 존재가 확인되었다. 닭 염색체 상 텔로미어의 분포 위치를 보다 명확히 제시하기 위하여 Fig. 3에 이의 물리적 지도를 작성하였다. 닭의 대형 염색체 8쌍에서 텔로미어의 분포는 염색체 양 말단부와 더불어 ITS는 1번 염색체의 1q32, 1p11, 1p23과 2번 염색체의 2q24 및 3번 염색체의 3q32 부위에 존재하는 것으로 분석되었다. 특히 ITS의 위치는 닭의 C-band positive site와 거의 일치하는 것으로 나타났다. 이러한 닭 염색체 상 텔로미어의 분포 양상은 Nanda and Schmid(1994)가 제시한 양상과 거의 일치한 것으로 나타났는데, 이들은 FISH 방법을 이용하여 처음으로 닭의 telomeric DNA sequence는 염색체의 각 말단부 뿐만 아니라 1, 2, 3번 및 특정 소형 염색체에 ITS가 분포하는 것을 제시한 바 있다. 이 후 에뮤, 타조, 거위, 오리, 꿩, 메추리 등 가금류를 포함한 16종의 조류를 대상으로 telomeric DNA의 분포 양상을 분석한 바 거의 대부분의 가금류에서 염색체의 양 말단과 더불어 non-telomeric site에도 telomeric sequence가 분포함을 확인하였다(Nanda et al., 2002). 텔로미어라 함은 염색체의 양 말단 부위를 지칭하는 것으로 이들의 DNA는 거의 대부분 직렬 반복 염기 서열인 TTAGGG(tandemly repeated(TTAGGG)_n hexamers)로 구성되어 있다(Blackburn and Gall, 1978). 그러나 최근 염색체상 특정 DNA의 위치를 보다 명확하게 나타낼 수 있는 다양한 분자 세포 유전학적 기술이 개발됨에 따라 telomeric DNA sequence가 반드시 염색체 양 말단에만 존재하는 것이 아니라는 것을 여러 생물종에서 밝히고 있다. 조류를 위시한 ITS의 존재는 돼지(손시환 등, 2004; Wnuk et al., 2008), 말(Santani et al., 2002), 사슴(Lee et al., 1993) 등 여러 척추동물(Meyne et al., 1990)에서부터 개구리와 같은 양서류(Wiley et al., 1992) 및 연어와 같은 어류(Abuin et al., 1996)까지 다양한 종에서 발견되고 있다. 이러한 ITS는 진화 과정 동안 염색체 융합에 따른 결

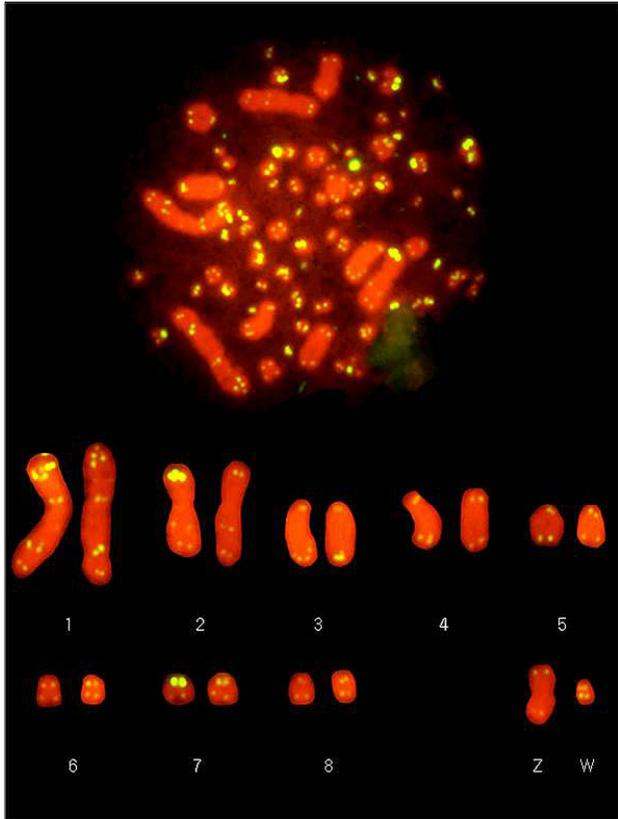


Fig. 2. Metaphase spread and partial karyotype of chicken chromosomes after FISH using telomeric DNA probe.

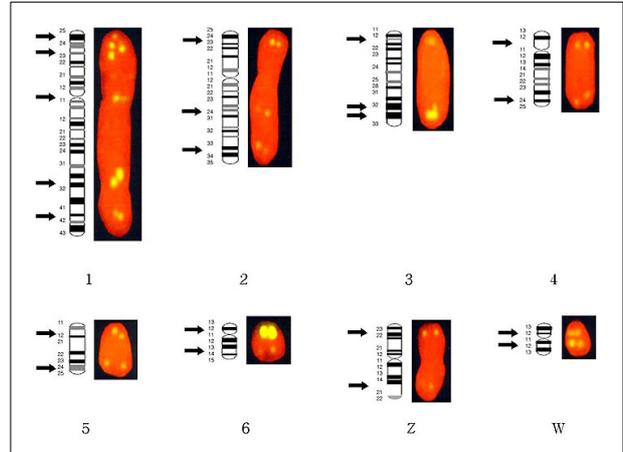


Fig. 3. Distribution and location of telomeric DNA in Korean Native Chicken macrochromosomes.

과이거나 염색체의 말단이 아닌 부위에서 DNA의 절단에 따른 복구 과정 중 불안정한 위치 내 telomeric DNA가 삽입함으로써 나타난 결과로 사료된다(Hastie and Allshire, 1989; Bolzan and Bianchi, 2006). 일반적으로 ITS는 동원체를 포함하는 협동원체 영역(pericentric region)과 이질 염색질(constitutive heterochromatin) 부위에 보다 많이 존재하는 것으로 알려져 있다(Meyne and Moyzis, 1994; Santani et al., 2002).

Table 1은 한국 재래닭의 대형 염색체에 분포된 각 telo-

Table 1. The locations and amount of telomeric DNAs in each macrochromosomes of chicken

Chro. No.	Relative amounts of telomeric DNA(%) in ^a				Ratio of q/p	p values ^b
	p-arm	Interstitial	q-arm	Total		
1	1.03±0.09	3.00±0.28	0.93±0.10	4.96±0.39	0.90	0.0001
2	2.01±0.67	1.35±0.22	1.48±0.26	4.84±1.00	0.74	0.0001
3	1.63±0.24	1.78±0.26	1.90±0.31	5.31±0.64	1.17	0.0001
4	2.04±0.38		2.52±0.60	4.57±0.94	1.24	0.0001
5	3.11±0.55		2.77±0.45	5.88±0.93	0.89	0.0031
6	4.94±0.84		5.63±1.05	10.57±1.82	1.14	0.0016
7	10.95±2.22		5.34±0.93	16.29±2.67	0.49	0.0001
8	7.36±1.83		5.07±0.82	12.43±2.36	0.69	0.0001
Z	3.69±0.97		2.47±0.50	6.16±1.39	0.67	0.0001
W	9.57±2.99		6.48±1.78	16.05±4.34	0.68	0.0003
Mean	4.41±0.83	2.04±2.21	3.35±1.97	8.78±4.56	0.76	0.0001

^aValues are means±S.D.

^bP values are the probability by t-test for the means of telomeric DNA quantity on the p- and q-arm.

meric DNA의 함유율을 분석 제시한 것이다. 한국 재래닭의 각 염색체별 텔로미어 함유율은 4.6~16.3% 정도로 분석되었다. 특히 7번 염색체가 16.3%로 가장 높은 함유율을 나타내었고, 6, 8번 및 W 염색체가 1~5번 및 Z 염색체에 비해 상대적으로 telomeric DNA의 분포 함량이 높게 나타났다. 또한, 3, 4, 6번 염색체를 제외한 모든 대형 염색체는 장완(q-arm) 말단보다 단완(p-arm) 말단 부위의 telomeric DNA 함유율이 상대적으로 높았고, 특히 7번 염색체에서는 단완 말단의 함량이 장완 말단 부위에 비해 거의 2배 가량 높게 나타났다. 한편, 1번 염색체의 경우, 양 말단의 텔로미어 함유율보다 interstitial 텔로미어의 함유율이 훨씬 높게 나타남을 확인하였다. 닭 세포의 텔로미어 함량 및 길이에 대한 정량 분석은 Bloom et al.(1993)이 telomeric restriction fragment(TRF) 분석으로 이의 길이가 250 kb~2.2 Mb임을 보고한 이래 다양한 분석 값들이 제시되고 있는데, Lejnine et al.(1995)은 3~100 kb로 분석하였고, Venkatesan and Price(1998)는 8~20 kb임을 보고하였다. 그러나 최근 보다 정밀한 southern blot 방법을 이용한 닭의 telomeric sequence 분석으로 Delany et al.(2000)은 이의 길이가 0.5 kb~2 Mb 정도임을 밝히고, genome 상 TTAGGG sequence의 상대적 함량이 3~4% 정도로 다른 동물에 비해 매우 높은 수준임을 보고하였다. 또한, 이들은 텔로미어의 크기 및 위치를 기준으로 southern blot 방법에 의해 닭의 telomeric DNA 배열을 3개의 집단으로 나누고, Class I은 0.5~8/10 kb의 sequence로서 이들은 산재된 telomeric DNA로서 연령에 따른 감축 텔로미어와는 관련이 없는 DNA로서 주로 interstitial telomeric DNA sequence에 해당하는 것이고, Class II는 10~35/40 kb의 크기로 연령에 따른 감축 텔로미어로 구분하며, Class III는 40 kb~2 Mb로 개체 간 매우 큰 변이를 가지는 sequence로 microchromosome의 telomeric DNA가 이에 해당하는 것으로 구분하였다. 이와 같이 닭의 telomere 길이에 대한 분석은 거의 southern blot 방법으로 TRF의 길이를 측정하였다. 그러나 이러한 분석법은 blotting하는 동안 DNA의 소실이 발생하고(Gan et al., 2001), 닭과 같이 텔로미어 길이가 극단적으로 길 경우, 측정하는데 해석상의 문제점이 있다. 따라서 이러한 문제점을 보완하고자 최근에는 표본에 직접 텔로미어의 발현을 관찰할 수 있는 FISH 기법을 이용하여 발현량을 상대적으로 정량하는 Quantitative Fluorescence *in situ* Hybridization(Q-FISH) 기법이 개발되어 telomeric DNA의 함량 분석에 이용된다. 본 연구에서 이용된 Q-FISH 방법은 TTAGGG oligonucleotides를 probe로 이용하여 형광 접합된 signal의 양을 digital image analysis system으로 분석하는 방법으로 염색체뿐만 아니라 간기 세포에서도 텔

로미어의 상대적 함량 측정이 가능하다(Rufer et al., 1998; Poon et al., 1999; Law and Lau, 2001). 이들은 각 염색체별 텔로미어 분포 양상 제시는 물론이고, 장완과 단완의 텔로미어 분포 및 아주 미세하게 텔로미어가 나타나는 염색체까지 분석하여 핵형을 제시할 수 있는 장점이 있으며, 또한 다양한 세포에 적용하여 보다 빠르고 정확하게 분석이 가능함으로 그 이용 가치가 매우 높다고 사료된다(Slijepcevic, 2001).

결론적으로 한국 재래닭 염색체의 텔로미어 분포 양상은 염색체 양 말단을 포함한 특정 염색체에 ITS가 존재하고, 다른 동물 중에 비해 telomeric DNA의 함유율이 상대적으로 높으며, 소형 염색체를 포함한 대부분의 염색체 단완 말단부의 telomeric sequence의 분포가 장완 말단부보다 많이 분포되어 있다. 이러한 각 염색체 상 텔로미어의 분포율에 대한 분석은 본 연구에서 Q-FISH 방법에 의해 처음 시도한 내용으로 개개 염색체에 대한 텔로미어의 상대적 함량을 제시할 수 있는 매우 유용한 분자 세포 유전학적 기법으로 생각된다. 또한, 1번 염색체의 경우, 동원체 부위가 염색체 양 말단 부위보다 강한 signal을 보이는데, 이는 Nanda et al.(2002)도 유사한 결과를 제시함으로써 한국 재래닭을 포함하는 닭(*Gallus domesticus*)의 종 분화에 대한 핵형적 근거로 진화 과정 중 소형 염색체 간의 융합으로 인한 본 염색체가 형성되었을 가능성을 시사한다.

적 요

텔로미어(telomere)는 염색체 양 말단에 위치하는 DNA와 단백질의 복합체로서 (TTAGGG)_n의 단순 반복 염기 서열로 이루어져 있다. 그러나 일부 조류 및 척추동물의 경우 염색체의 양 말단 부위의 간질적 위치에도 telomeric DNA sequence가 분포한다. 본 연구는 닭 염색체에 있어 telomeric DNA의 분포 양상을 제시하고자 한국 재래닭의 초기 배아로부터 염색체 표본을 제작하고, telomeric DNA probe를 이용한 FISH를 수행하여 염색체 상 텔로미어의 분포 양상을 분석하였다. 분석 결과, 닭의 모든 염색체 양 말단부에 텔로미어가 분포하는 것으로 나타났으며, 더불어 대형 염색체 중 1번의 1q32, 1p11, 1p23 위치와 2번 염색체의 2q24 및 3번 염색체 3q32에 interstitial telomeric signal(ITS)이 존재하는 것이 확인되었다. 이러한 한국 재래닭 염색체의 텔로미어 분포 양상은 이전 *Gallus domesticus*에서 발표한 분포 양상과 거의 일치한 것으로 나타났다. 한국 재래닭의 각 염색체별 텔로미어 함유율은 4.6~16.3% 정도로 분석되었으며, 거의 대부분의 염색체에

서 단완 말단부의 telomeric DNA의 함량이 장완 말단부보다 높은 것으로 나타났다. 닭 염색체에서 ITS의 존재와 분포 양상은 핵형학적으로 진화 과정 중 염색체 간의 융합에 의해 신생 염색체가 형성되었을 가능성을 시사한다.

(색인어 : 텔로미어, 염색체, 형광보인법, 간질적 텔로미어, 닭)

사 사

본 논문은 농림수산식품부 농림기술개발사업 및 2010년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구입니다.

인용문헌

- Abuín M, Martínez P, Sánchez L 1996 Localization of the repetitive telomeric sequence (TTAGGG)_n in four salmonid species. *Genome* 39(5):1035-1038.
- Blackburn EH 1991 Structure and function of telomere. *Nature* 350:569-573.
- Blackburn EH, Gall JG 1978 A tandemly repeated sequence at the termini of the extrachromosomal ribosomal RNA genes in *Tetrahymena*. *Mol Biol* 120(1):33-53.
- Bloom SE, Delany ME, Muscarella DM 1993 Constant and variable features of avian chromosomes. pp 39-59 In: Manipulation of the Avian Genome. Etches RJ and Verrinder Gibbins AM, CRC Press Inc, Boca Raton, FL.
- Bolzan AD, Bianchi MS 2006 Telomeres, interstitial telomeric repeat sequences, and chromosomal aberrations. *Mutat Res* 612:189-214.
- Delany ME, Daniels LM, Swanberg SE, Taylor HA 2003 Telomeres in the chicken: genome stability and chromosome ends. *Poultry Sci* 82(6):917-926.
- Delany ME, Krupkin AB, Miller MM 2000 Organization of telomere sequences in bird: evidence for arrays of extreme length and for *in vivo* shortening. *Cytogenet Cell Genet* 90: 139-145.
- Fragher RG, Kipling D 1998 How might replicative senescence contribute to human ageing? *Bioessays* 20:985-991.
- Gan Y, Engelke KJ, Brown CA, Au JL 2001 Telomere amount and length assay. *Pharma Res* 18(12):1655-1659.
- Harley CB 1991 Telomere loss: Mitotic clock or genetic time bomb? *Mutat Res* 256:271-282.
- Harley CB, Fitcher AB, Greider CW 1990 Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts. *Nature* 345:458-460.
- Hastie ND, Allshire RC 1989 Human telomeres: Fusion and interstitial sites. *Trends Genet* 5:326-331.
- Kipling D, Cooke HJ 1990 Hypervariable ultra-long telomeres in mice. *Nature* 347:400-402.
- Kozik A, Bradbury EM, Zalensky Z 1998 Increased telomere size in sperm cells of mammals with long terminal (TTAGGG)_n arrays. *Mol Reprod Dev* 51:98-104.
- Ladjali-Mohammedi K, Bitgood JJ, Tixier-Boichard M, Ponce de Leon FA 1999 International system for standardized avian karyotypes (ISSAK): Standardized banded karyotypes of the domestic fowl (*Gallus domesticus*). *Cytogenet Cell Genet* 86:271-276.
- Law HKW, Lau YU 2001 Validation and development of quantitative flow cytometry-based fluorescence *in situ* hybridization for intercenter comparison of telomere length measurement. *Cytometry* 43:150-153.
- Lee C, Sasi R, Lin CC 1993 Interstitial localization of telomeric DNA sequences in the Indian muntjac chromosomes: further evidence for tandem chromosome fusions in the karyotypic evolution of the Asian muntjacs. *Cytogenet Cell Genet* 63 (3):156-159.
- Lejnine S, Vladimir L, Langmore JP 1995 Conserved nucleoprotein structure at the ends of vertebrate and invertebrate chromosomes. *Proc Natl Acad Sci USA* 92:2393-2397.
- Levan A, Fredga K, Sandberg AA 1964 Nomenclature for centromeric on chromosomes. *Hereditas* 52:201-220.
- Meyne J, Baker RJ, Hobart HH, Hsu TC, Ryder OA, Ward OG, Wiley JE, Wurster-Hill DH, Yates TL, Moyzis RK 1990 Distribution of non-telomeric sites of the (TTAGGG)_n telomeric sequence in vertebrate chromosomes. *Chromosoma* 99(1):3-10.
- Meyne J, Moyzis RK 1994 *In situ* hybridization using synthetic oligomers as probes for centromere and telomere repeats. *Methods Mol Biol* 33:63-74.
- Nanda I, Schmid M 1994 Localization of the telomeric (TTAGGG)_n sequence in chicken (*Gallus domesticus*) chromosomes. *Cytogenet Cell Genet* 65(3):190-193.

- Nanda I, Schrama D, Feichtinger W, Haaf T, Schrtl M, Schmid M 2002 Distribution of telomeric (TTAGGG)_n sequences in avian chromosomes. *Chromosoma* 111:215-227.
- Ohno S 1961 Sex chromosomes and microchromosomes of *Gallus domesticus*. *Chromosoma* 11:484-498.
- Pollock BJ, Fehhheimer NS 1976 The chromosome number of *Gallus domesticus*. *Br Poult Sci* 17:39-42.
- Poon SS, Martens UM, Ward RK, Lansorp PM 1999 Telomere length measurements using digital fluorescence microscopy. *Cytometry* 36:267-278.
- Rufer N, Dragowska W, Thornbury G, Roosnek E, Lansdorp PM 1998 Telomere length dynamics in human lymphocyte subpopulations measured by flow cytometry. *Nat Biotechnol* 16(8):743-747.
- Santani A, Raudsepp T, Chowdhary BP 2002 Interstitial telomeric sites and NORs in Hartmann's zebra (*Equus zebra hartmannae*) chromosomes. *Chromosome Res* 10(7):527-534.
- Shay JW 1999 At the end of the millennium, a view of the end. *Science* 288:1377-1379.
- Slijepcevic P 2001 Telomere length measurement by Q-FISH. *Cell Science* 23:17-22.
- 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.
- Venkatesan RN, Price C 1998 Telomerase expression in chicken constitutive activity in somatics tissues and down-regulation in culture. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:14763-14768.
- Weng NP, Hodes RJ 2000 The role of telomerase expression and telomere length maintenance in human and mouse. *J Clin Immunol* 20(4):257-267.
- Wiley JE, Meyne J, Little ML, Stout JC 1992 Interstitial hybridization sites of the (TTAGGG)_n telomeric sequence on the chromosomes of some North American hyloid frogs. *Cytogenet Cell Genet* 61:55-57.
- Wnuk M, Bugno M, Slota E 2008 Application of primed *in situ* DNA synthesis (PRINS) with telomere human commercial kit in molecular cytogenetics of *Equus caballus* and *Sus scrofa scrofa*. *Folia Histochemica et Cytobiologica* 46:85-88.
- Wright WE, Tesmer VM, Huffman KE, Levene SD, Shay JW 1997 Normal human chromosomes have long G-rich telomeric overhangs at one end. *Gen Dev* 11:2801-2809.
- Zakian VA 1995 Telomeres: beginning to understand the end. *Science* 270:1601-1607.
- 백규흠 이철영 상병돈 최철환 김학규 손시환 2003 한국재래계의 염색체 분염 표지 분석. *한국동물자원과학회지* 45(1):1-12.
- 손시환 류은경 백규흠 2000 닭 초기배자로부터 염색체 분리 기법의 개발 : Ethidium bromide를 이용한 고정도 염색체의 유도. *한국동물자원과학회지* 42(2):157-164.
- 손시환 오봉국 1987 닭 염색체의 수 및 형태적 고찰. *한국축산학회지* 29:524-531.
- 손시환, Multani AS, Pathak S 2004 소, 돼지 염색체의 telomeric DNA 분포양상. *한국동물자원과학회지* 46(4):547-554.

(접수: 2010. 8. 13, 수정: 2010. 8. 30, 채택: 2010. 8. 31)