

멸종위기의 백한우(체세포복제 포함)의 성장 및 혈액학적 특성 분석

김 현 · 최창용 · 성환후*

농촌진흥청 국립축산과학원 가축유전자원센터

Analysis of Growth and Hematologic Characteristics of Endangered Korean Native Cattle

Hyun Kim, Changyong Choe and Hwan-Hoo Seong[†]

Animal Genetic Resources Research Center, National Institute of Animal Science, RDA, Namwon 590-832, Korea

ABSTRACT

The objective of this study was to monitor health conditions of genetically identical somatic cells cloned Korean white cattle, endangered indigenous cattle (EIC) and indigenous cattle (IC) by analysis of hematologic characteristics. Naturally ovulated oocytes and donor cells were used for somatic cell nuclear transfer (SCNT). Donor cells and enucleated oocytes were followed by electric fusion, chemical activation and surgical embryo transfer into the oviducts of surrogate females. Two recipients became pregnant; two maintained pregnancy to term, and one live cattle were delivered by caesarean section. The cloned Korean white cattle were genetically identical to the nuclear donor cattle. As a result, the mean values of RBC and platelet of cloned cattle and white cattle were significantly decreased by age ($P<0.05$). The mean values of RBC, HCT, MCV and MCHC between cloned cattle and IC of the same age (1~2 years) showed the statistical significance ($P<0.05$). Also, in the WBC of Korean white cattle, the estimated values were decreased according to the age from $12.0 \times 10^3/\mu\text{l}$ under 1 year to $11.0 \times 10^3/\mu\text{l}$ over 1 years respectively. Although clone-cattle had lower numbers of RBC than reference range, the most of RBC and WBC related hematologic results of cloned cattle were not different when compared to reference range. This study suggests that cloned Korean white cattle derived from SCNT did not have remarkable health problems, at least in the growth pattern and hematological parameters. In addition, this study provides a valuable resource for further investigations of the preservation of rare genetic stocks underlying traits of interest in cattle.

(Key words : cloned Korean white cattle, somatic cell nuclear transfer, hematological characteristics)

서 론

가축의 체세포 핵이식에 의한 복제 가축 생산은 1997년 영국의 Wilmut 등(1997)에 의해 세계 최초로 면양의 유선 상피 세포를 이용한 복제 면양 “Dolly”가 생산된 이래 많은 연구가 진행되어 현재까지 소(Kato *et al.*, 1998), 생쥐(Wakayama *et al.*, 1998), 돼지(Polejaeva *et al.*, 2000), 고양이(Shin *et al.*, 2002), 토끼(Chesne *et al.*, 2002), 말(Galli *et al.*, 2003), 사슴(Eurekalert *et al.*, 2005), 개(Lee *et al.*, 2005) 및 늑대(Kim *et*

al., 2007) 등 여러 포유동물에서 산자를 생산하기에 이르렀다. 이러한 체세포 복제 가축 생산의 주 목적은 우량한 가축을 대량 복제하는 것뿐만 아니라, 체세포 내로 유전자를 도입하거나, 제거하는 기술의 개발 등과 접목하여 멸종위기의 동물 등을 복원하는데도 중요한 도구로 이용되고 있다. 일반적으로 체세포 복제 가축의 생산율은 0~5% 정도로 매우 낮고, 이러한 원인은 “복제 증후군(cloning syndrome)”이라고 불리는 일련의 발생과정 이상 및 높은 유산율로서, 향후 극복해야 할 분야이다. 이러한 문제점들은 분화된 체세포를 이용하여 핵 이식을 함

* 본 논문은 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호 PJ009418)에서 연구비를 지원 받았습니다.

* This work was carried out with the support from the “Agenda Program (No. PJ009418)” Rural Development Administration, Republic of Korea.

* This work was supported by 2014 PostDoctoral Fellowship Program of National Institute of Animal Science, Rural Development Administration, Republic of Korea.

[†] Correspondence : kim7268@korea.kr

으로써 몇몇 불활성 유전자(inactivated genes)의 재활성(reactivation) 즉, 체세포 핵의 불완전한 리프로그래밍(Rideout *et al.*, 2001)에 기인한 것으로 추정되며, 아직 정확한 기전에 대하여는 알고 있지 못하다. 특히 소와 면양에서는 임신 초기에 나타나는 높은 유산율은 태반의 혈관화 결핍(placental vascularization deficiencies) (Hill *et al.*, 2000; 2002; De Sousa *et al.*, 2001) 및 태반 내에 주 조직적합성 복합체(MHC: major histocompatibility complex) Class I 항원의 존재(Hill *et al.*, 2002) 등이 원인이라는 보고도 있다.

한편, 낮은 생산효율을 극복하고 체세포 복제과정을 통하여 생산된 체세포 복제 동물이 자연적인 수정과정에 의해 태어난 동물과 동일하게 정상적인 성장과 건강 상태를 나타낼 것인가에 대한 의문을 가지고 있다. 2세의 체세포 복제소를 이용하여 생리적인 건강상태를 나타내는 혈청의 생화학적 및 혈액학적 비교 분석을 한 경우, 일반 소와 차이가 없었다(Wells *et al.*, 2004). 또한 체세포 복제 소의 성장률 및 번식 능력을 살펴보면 일반 소와 차이가 없었으며, 체세포 복제소로부터 생산한 후대의 경우도 일반 인공수정에 의하여 생산된 일반 소가 후대를 생산한 경우와 마찬가지로 체세포 복제소에서 나타나는 거대 산자 징후군(large offspring syndrome)이나 높은 폐사율을 보이지 않았다.

백한우 및 미니한우 등과 같은 희소가축의 체세포 복제소에 대한 모니터링 연구는 현재까지 전무한 실정이다. 또한, 미국(Chavatte-Palmer *et al.*, 2004; Heyman *et al.*, 2007), 일본(Yamaguchi *et al.*, 2008), 우리나라(Hwang *et al.*, 2007; Lee *et al.*, 2010) 등이 포함된 복제 기술 선진국에서는 체세포 복제 가축, 특히 복제 소의 생산물을 이용하여 일반 소의 생산물과 성분의 비교실험 결과, 모든 결과에서 복제 소 생산물은 일반 소 생산물과 그 성분에 있어 차이가 인정되지 않았다. 따라서 체세포 핵이식에 의해 생산된 백한우에 대한 성장단계별 생리적인 건강상태를 나타내는 혈액학적 분석을 통해 복제소의 건강상태를 모니터링하는 것과 동시에 복제 소의 생산물 안정성 비교연구 등의 기초 자료를 제공하는 것을 목적으로 본 연구는 수행되었다.

재료 및 방법

1. 공시동물

본 실험에 사용된 공시축은 2013년 1월부터 2014년 12월까지 국립축산과학원 가축유전자원센터에서 사육 중인 모색을 기준으로 일반한우(황우) 10두와 백한우(복제백한우 포함) 8두를 대상으로 건강상태, 나이, 임신 유무, 성별 등을 조사한 다음, 임상적으로 건강한 소의 경정맥에서 채혈하여 검사목적에 따라 ethylenediaminetetraacetic acid(EDTA)처리 및 비 처리 용기

에 보존하였다. 이때 건강상태가 불량하다고 판단된 소는 혈액 채취 시 제외하였다. 혈액 검사는 채취 당일 6시간 이내에 모두 완료하였다. 또한, 공시된 일반한우(황우) 및 백한우의 사양관리는 가축유전자원센터 사양표준에 따라 실시하였으며, 연구에 사용된 동물 관리 및 절차에 관해서는 국립축산과학원 동물복지위원회(Suwon, Korea)의 승인(승인번호: 2014-078)을 얻어 그에 준하여 실시하였다.

2. 복제소의 생산

복제소 생산을 위해 공여세포는 가축유전자원센터에서 사육 중 폐사한 수컷 백한우의 귀 피부 섬유아세포를 이용하였다. 체세포 복제에 사용된 소 체외성숙 난자는 제 1극체가 확인된 성숙 난자만을 선별하여 핵 이식에 공시하였다. 탈핵, 핵 이식 및 세포 융합 과정을 통하여 생산된 복제 수정란은 1 μ M calcium ionophore(Sigma, St. Louise, MO, USA)에서 5분간 그리고 2 μ l/ml Cycloheximide(Sigma, St. Louise, MO, USA)에서 5시간 동안 처리하여 활성화를 유도하였다. 복제수정란은 mSOF 배양액에 45 μ l/l BME amino acids, 0.5 μ l/l MEM amino acids, 3 mg/ml BSA (fatty acid free) 또는 5% FBS를 첨가한 배양액에 넣어 5% CO₂, 5% O₂, 90% N₂ 39°C 인큐베이터에서 배반포 단계까지 7일간 체외 배양하였다.

공시동물은 남원 가축유전자원센터에서 과배란 유기 및 사양관리를 실시하였다. 대리모의 발정동기화를 위하여 Progesterone 제제인 CIDR(Progesterone 0.3 g)를 8일간 질 내에 삽입하여 일정량의 Progesterone이 계속 분비 되도록 유도하고, 삽입 8일 째에 25 mg PGF₂ α (Lutalyse)를 투여함과 동시에 CIDR를 제거하여 황체퇴행을 유도하였다. 그 후, 10일째 Gonadotropin-releasing hormone1(GnRH) 500 μ g을 투여하여 발정동기화 시작 18일째 되는 날 복제수정란을 비 외과적인 방법으로 자궁에 이식하였다. 임신진단은 이식일로부터 제 14일과 30일, 60일째에 초음파임신진단기로 임신진단을 실시하였다. 복제소는 2마리의 대리모로부터 1두가 임신 280일째 제왕절개 수술을 통하여 생시체중 약 25 kg으로 정상적으로 분만하였다.

3. 복제소의 혈액학적 분석

혈액은 생후 2개월 째 복제소의 경정맥에서 EDTA 용기를 이용해 채혈(Jugular Vein blood collection)하였고, 혈액학적 분석은 혈액일반성분 자동분석기(IDEXX ProCyte DX, Tokyo, Japan)를 이용하여 결과의 정확성을 기하기 위하여 6시간 이내에 채취된 시료에 한하여 롤 믹서 위에서 교반하면서 적혈구(RBC, red blood cell), 적혈구 용적(HCT, hematocrit), 혈색소(HGB, hemoglobin concentration), 적혈구 평균 용적(MCV, mean corpuscular volume), 적혈구 평균혈색소(MCH, mean corpuscular hemoglobin), 적혈구 혈색소 평균 농도(MCHC, mean cor-

puscular hemoglobin concentration), 혈소판(PLT, platelet count), 백혈구(WBC, white blood cell), 호중구(NEU, neutrophils), 림파구(LYM, lymphocytes), 단핵백혈구(MONO, monocytes), 기호성 백혈구(EOS, eosinophils), 염기성 백혈구(BASO, basophils)를 분석하였다.

4. 통계 처리

실험에 이용된 개체들은 연령별(1년 이하 그리고 1~2년) 2개군과 종별(일반한우, 백한우) 2개군으로 구분하였다. 또한 상기와 같이 분류된 이들 군들에 대한 성적의 평균치와 표준편차를 각각 구하였으며, 분류된 각 군들 간의 통계적 유의성은 SAS package program(2000)을 이용하여 분산 분석을 실시하였으며, 처리 간의 유의성 검정은 Duncan's multiple range test를 이용하여 실시하였다. 혈청 생화학 분석 결과는 보고된 참고치와 비교하였다(Kim *et al.*, 2014). 통계 분석은 student's T-test를 이용하여 복제소의 평균치와 참고치의 최댓값과 비교하였으며, 유의성은 $p < 0.05$ 수준에서 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 백한우의 적혈구계 검사

한우의 연령에 따른 혈액학적 검사 자료가 제시되어 있는 연구로는 한우의 성장에 따른 적혈구상의 변동에 관한 연구(Lee, 1974)와 생후 24시간 이내 한우 송아지의 혈액상에 관한 연구(Kim *et al.*, 1991), 한우 송아지의 질병 발생과 폐사율 조사 등이 강 등(Kang *et al.*, 2001)에 의하여 국내에 보고되어 있다. 하지만, 지금까지의 연구가 대부분 1년 이하까지의 한우 송아지에 집중되어 있고, 1년 이상 한우의 연령에 대한 연구 보고는 극히 미비한 실정이었다. 하지만 최근에 Kim 등(2014)이 송아지를 포함하여 일반한우 그리고 최소의 성장단

계에 따른 혈액학적 변화상을 제시하였다. 본 연구의 공시축은 2013년 1월부터 2014년 12월까지 국립축산과학원 가축유전 자원센터에서 장내에서 사육 중인 모색을 기준으로 일반한우(황우 n=10) 그리고 멸종위기종인 백한우(복제소 포함) 8두를 대상으로 혈액학적 변화상을 1년 이하(n=18) 그리고 1~2년(n=18)으로 구분하여 성장단계에 따른 변화상을 제시하고자 조사하였다.

백한우 그리고 일반한우 혈액내의 적혈구계 관련 6개 항목 검사결과는 Table 1과 같았다. 먼저, 대조군으로서 일반한우의 경우 연령이 증가함에 따라 RBC($\times 10^6/\mu\text{l}$)수치는 1년 이하에서 12.0 ± 0.7 , 1~2년에서 10.3 ± 1.1 로 감소하는 경향을 보였으며 분류된 각각 실험군들 간의 t test 검정 결과, 연령 변화에 따른 통계적 유의성이 인정되었다($P < 0.05$). 또한 PLT($\times 10^3/\mu\text{l}$)도 1년 이하에서 589 ± 101 , 1~2년에서 450 ± 121 로 감소하였으며, 이들 실험군들 간에서도 통계적 유의성이 인정되었다($P < 0.05$). 그리고 MCV, MCH, MCHC는 연령이 증가함에 따라 RBC 감소로 인하여 모두 약간 증가함을 보였고, Hg과 HCT는 연령에 따른 수치 변화패턴은 크지 않았다.

백한우와 복제소 혈액내의 적혈구계 관련 6개 항목 검사결과, RBC($\times 10^6/\mu\text{l}$)는 1년 이하에서 11.2 ± 1.1 , 11.1 ± 0.1 으로 각각 나타났고, 1~2년에서 10.1 ± 1.0 , 9.9 ± 0.1 으로 감소하는 경향을 보였으며, 복제소가 포함된 백한우군과 일반 한우군 간의 t test 검정 결과, 연령 변화에 따른 통계적 유의성이 인정되었다($P < 0.05$). 또한 PLT($\times 10^3/\mu\text{l}$)도 1년 이하에서 백한우(592 ± 120), 복제소(590 ± 101)로 각각 나타났으며, 1~2년에서 448 ± 120 , 445 ± 101 의 유사한 결과를 확인하였다. 복제소를 포함하는 백한우군과 일반 한우군 간의 t test 검정 결과, 연령 변화에 따른 통계적 유의성이 인정되었다($P < 0.05$). 그리고 MCV, MCH, MCHC는 연령이 증가함에 따라 RBC 감소로 인하여 모두 약간 증가함을 보였고, Hg과 HCT는 성장단계에 따른 측정치의 변화패

Table 1. Erythrocyte profiles from 1 or 1~2 years old of YC, WC and CC

Years	Type	Sex	RBC ($\times 10^6/\mu\text{l}$)*	Hg (g/dl)	HCT (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (g/ μl)	PLT ($\times 10^3/\mu\text{l}$)
1	YC	M	12.0 ± 0.7	12.4 ± 1.1	42.9 ± 7.0	39.6 ± 2.5	11.6 ± 0.4	28.3 ± 0.5	589 ± 101
	WC	M	11.2 ± 1.1	12.3 ± 1.0	42.8 ± 6.5	39.0 ± 2.1	11.1 ± 0.2	27.3 ± 0.9	592 ± 120
	CC	M	11.1	12.1	42.9	39.7	11.6	29.0	590
1~2	YC	M	10.3 ± 1.1	12.7 ± 1.3	43.5 ± 2.0	46.5 ± 4.0	13.9 ± 1.1	28.9 ± 0.7	450 ± 121
	WC	M	10.1 ± 1.0	12.9 ± 1.0	43.9 ± 1.2	46.0 ± 3.1	13.2 ± 1.1	28.3 ± 0.9	448 ± 120
	CC	M	9.9	12.5	43.0	47.2	13.8	29.0	445

YC: Yellow cattle (n=10), WC: White cattle (n=7), CC: Clone cattle (n=1); M: male; Mean \pm S.D.

* RBC: red blood cell count, Hb: hemoglobin concentration, HCT: hematocrit, MCV: mean corpuscular volume, MCH: mean corpuscular hemoglobin, MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration, PLT: platelet count.

턴은 크지 않았다. 1~2년의 일반 한우군과 백한우 그리고 복제소의 혈액 내 적혈구 관련 인자의 비교 결과, 각각의 RBC ($\times 10^6/\mu\text{l}$)는 10.3 ± 1.1 , 10.1 ± 1.0 그리고 9.9 ± 0.1 , Hg(g/dl)는 12.7 ± 1.3 , 12.9 ± 1.0 그리고 12.5 ± 1.1 , MCHC(g/dl)는 28.9 ± 0.7 , 28.3 ± 0.9 그리고 29.0 ± 0.1 , PLT($\times 10^3/\mu\text{l}$)는 450 ± 121 , 448 ± 120 그리고 446 ± 101 , MCH(pg)는 13.9 ± 1.1 , 13.2 ± 1.1 그리고 13.8 ± 1.5 로 일반 한우군과 백한우군 및 복제소 사이에 유의적인 차이는 각각 인정되지 않았고, 복제소를 포함하는 백한우군과 일반 한우군 간의 *t*-test 검정 결과, 역시 유의적인 차이는 없었다. MCV(fl)의 측정결과도 HCT(%)와 유사한 변화패턴이 관찰되었다. 이런 결과들은 이 등(Lee et al, 1994)이 제시한 송아지($8.9 \times 10^6/\mu\text{l}$)와 성우($8.2 \times 10^6/\mu\text{l}$)의 적혈구수에 비하여 다소 증가된 수치이지만, 성우의 연령이 명확히 제시되지 않아서, 본 연구의 결과와 직접적으로 비교는 할 수 없었다. 하지만 최근에 Kim 등(2014)이 제시한 2~3년의 동일한 시기에 조사한 최소의 적혈구 관련 인자의 분석 결과와 비교해 HCT(%), MCV(fl), MCH(pg) 항목의 수치가 백한우군에서 높았고, Hg(g/dl), MCHC(g/dl), PLT($\times 10^3/\mu\text{l}$)에서는 최소와 비교해 낮은 결과 값을 알 수 있었다. 혈액 성분은 계절, 기후, 유전적 동종성의 정도, 사료와 사양 관리 시스템, 나이와 품종(Britney et al., 1984; Correa et al., 1988; Curtis et al., 1989; Martin et al., 1990; Simensen, 1983) 그리고 Kim 등(2014)이 제시한 임신 유·무에 따른 혈액상의 변화 관찰 등에 따라 특성이 달라지게 되므로, 좀 더 정확한 분석 결과를 확보하기 위해서는 보다 장기적인 계획을 가지고 다양한 분석을 하여야 할 것으로 생각된다.

2. 백한우의 백혈구계 검사

복제소, 백한우 그리고 일반한우 혈액내의 백혈구계 관련 7개 항목 검사결과는 Table 2와 같았다. 먼저, 대조군으로서 일반한우의 동일연령에 따른 변화상은 다음과 같다. 총 백혈구 수치($\times 10^3/\mu\text{l}$)의 결과는 1년 이하에서는 13.6 ± 1.4 로, 1~2년에서 11.0 ± 1.1 로 연령이 증가함에 따라 WBC 수치가 감소하는

경향을 보였고, 이러한 감소경향에 따라 호중구와 림프구 역시 감소하는 경향이였다. 또한 백혈구 감별진단의 백분율은 각각 분엽형 호중구가 $32.5 \sim 34.5\%$ (mean= 33.5 ± 5.1), band형 호중구가 $2.8 \sim 3.0\%$ (mean= 2.9 ± 1.1), 림프구가 $45.1 \sim 48.1\%$ (mean= 46.6 ± 3.1), 단핵구가 $6.5 \sim 7.0\%$ (mean= 6.75 ± 1.1), 그리고 호산구가 $8.8 \sim 10.5\%$ (mean= 9.65 ± 1.2)로 나타났다. 즉, 백혈구계의 검사 결과에서는 연령에 따른 일관된 변화패턴이 관찰되지는 않았지만, 전반적으로 림프구가 46.6%를, 분엽형 호중구가 33.5%, 단핵구가 6.75%, 그리고 band형 미성숙 호중구가 2.9% 정도의 비율로 분포되어 있었다. 한편, 1년 이하군과 1~2년군과 비교한 *t*-test 검정 결과에서 호중구와 림프구에서 유의성이 인정되었다($P < 0.05$).

혈액 내 복제소 및 백한우의 동일연령에 따른 백혈구계의 변화상은 다음과 같다. 총 백혈구 수치($\times 10^3/\mu\text{l}$)의 결과는 1년 이하에서는 각각 12.0 ± 1.0 , 12.5 ± 1.3 으로 1~2년에서는 각각 11.0 ± 1.0 , 10.0 ± 1.5 로 연령이 증가함에 따라 WBC 치가 감소하는 경향을 보였고, 이러한 감소 경향에 따라 호중구와 림프구 역시 감소하는 경향이였다. 이 결과는 동일 연령의 일반한우의 측정수치와 비슷한 양상임을 확인했다. 또한 백혈구 감별진단의 백분율은 각각 분엽형 호중구가 각각 $29.0 \sim 32.0\%$ (mean= 35.1 ± 1.1), $30.9 \sim 33.9\%$ (mean= 32.4 ± 4.1)를 나타내고 band형 호중구가 $2.8 \sim 3.4\%$ (mean= 3.1 ± 1.1), $3.0 \sim 3.3\%$ (mean= 3.15 ± 1.0)로 확인되었다. 림프구의 경우는 $39.0 \sim 41.0\%$ (mean= 40.0 ± 2.1), $41.6 \sim 43.1\%$ (mean= 42.4 ± 1.1)이고 단핵구가 $6.2 \sim 7.1\%$ (mean= 6.65 ± 1.3), $11.0 \sim 11.5\%$ (mean= 11.3 ± 1.1) 그리고 호산구가 $10.2 \sim 10.9\%$ (mean= 10.6 ± 0.5), $11.0 \sim 11.5\%$ (mean= 11.3 ± 0.5)로 나타났다. 즉, 백혈구계의 검사 결과에서는 동일연령에 따른 일관된 변화패턴이 관찰되지는 않았지만, 전반적으로 림프구가 42.4%를, 분엽형 호중구가 30.9%, 단핵구가 11.3%, 그리고 band형 미성숙 호중구가 3.15% 정도의 비율로 분포되어 있었다. 한편, 1년 이하군과 1~2년 군 간의 비교한 *t*-test 검정 결과에서 호중구와 림프구에서 유의성이 인정되었다($P < 0.05$). 동일

Table 2. Leukocyte profiles from 1 or 1~2 years old of YC, WC and CC

Years	Type	Sex	WBC ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	Seg (%)	Band (%)	Lymph (%)	Mono (%)	Eosin (%)	Baso (%)
1	YC	M	13.6 ± 1.4	34.5 ± 9.5	3.0 ± 3.0	48.1 ± 1.0	6.5 ± 6.2	10.5 ± 3.2	0±0
	WC	M	12.5 ± 1.3	33.9 ± 9.5	3.3 ± 3.0	43.1 ± 1.0	6.9 ± 6.2	11.5 ± 3.2	0±0
	CC	M	12.0	32.0	3.4	41.0	6.2	10.9	0
1~2	YC	M	11.0 ± 1.1	32.5 ± 1.1	2.8 ± 2.1	45.1 ± 1.0	7.0 ± 4.9	8.8 ± 5.5	0±0
	WC	M	10.0	30.9	3.0	41.6	7.3	11.0	0
	CC	M	11.0	29.0	2.8	39.0	7.1	10.2	0

* WBC: white blood cell count, NE: neutrophils, LY: lymphocytes, MO: monocytes, EO: eosinophils, BA: basophils.

한 연령의 백한우와 복제소 간에는 백혈구 관련 7개의 인자의 측정수치가 모두 정상수치 범위 내이고, 비슷한 경향을 나타내었다. 복제소를 포함한 백한우군과 일반 한우군 간의 백혈구 관련인자 및 백혈구 감별계산 결과, 모두 정상치 범위 내이고, 품종 간에 통계적 유의적인 차이는 없었다.

최근에 Kim 등(2014)이 제시한 1~2년의 동일한 시기에 조사한 최소의 백혈구 관련인자의 분석 결과와 비교해 복제소($11.0 \times 10^3/\mu\text{l}$), 백한우군($10.0 \times 10^3/\mu\text{l}$) 그리고 일반 한우군($11.0 \times 10^3/\mu\text{l}$)의 총 백혈구 수치가 최소군($11.5 \times 10^3/\mu\text{l}$)과 거의 유사한 패턴을 확인했다. 이러한 백혈구계의 변화상과 분포율은 기존의 선행연구에 비하여 커다란 차이점은 인정되지 않았다(Lee, 1974; Lee *et al.*, 1994). 특히 림프계, 혈액, 골수 등에 존재하며, B세포와 T세포로 분류되어 정상적으로 세균, 바이러스나 질병을 일으키는 물질과 싸움 감염과 질병으로부터 보호하고, 면역계와 깊은 관련이 있다고 잘 알려져 있는 림프구 값은 본 연구와 동일한 연령(1~2년)의 최소군의 조사 결과, $52.2 \pm 6.5\%$ (Kim 등, 2014)와 비교해 복제소군(39.0%), 백한우군($41.6 \pm 2.1\%$), 일반한우군($45.1 \pm 1.0\%$)의 측정수치의 차이가 인정된다. 이런 차이점에 대해서는 아직까지 전혀 아는 바가 없는 실정이지만 유전적인 원인, 임신과 분만, 사양관리 등과 같은 여러 요인(Britney *et al.*, 1984; Correa *et al.*, 1988; Curtis *et al.*, 1989; Martin *et al.*, 1990; Simensen, 1983)으로부터 기인한다고 생각된다.

복제 동물의 건강상태를 모니터링 한 연구 결과를 살펴보면 복제 돼지의 경우, 암·수의 번식 능력이 일반 돼지와 차이가 없었으며, 복제돼지 간 교배 시 산자 수, 생시 체중, 이유자돈 수 등에 있어서도 일반 돼지와 뚜렷한 차이가 없는 것으로 보고되고 있다(Martin *et al.*, 2004). 복제 생쥐의 경우에는 체중, 활동성, 학습능력 등에 일반 생쥐와 비슷하였으며, 생쥐의 수명도 복제 생쥐와 일반 생쥐 간에 차이가 없는 것으로 보고되고 있다(Tamashiro *et al.*, 2000; Ogura *et al.*, 2002). 복제견의 경우에는 체중, 체장 및 골격의 방사선 분석 그리고 혈액학적 분석을 통하여 동일 연령의 일반견과 차이가 없는 것으로 조사되었다(Park *et al.*, 2010; Kim *et al.*, 2013).

Heyman 등(2007)은 복제소의 혈액학적 검사 결과, 일부 항목에서 일반소와 차이는 있었지만, 정상치 범위 내인 것으로 확인했다. 그리고 성장 상태와 암·수의 번식 능력 등도 일반소와 뚜렷한 차이가 없는 것으로 조사되었다(Panarace *et al.*, 2007; Watanabe, 2008). 현재 국내에서 유일하게 국립축산과학원 가축유전자원센터에서만 보유하고 있는 멸종위기 단계의 백한우(14두)는 털이 흰색인 외래품종 샤롤레(Charolais) 등과 엄연히 다른 유전적인 특징을 가진 우리 고유의 품종인 한우의 변이종이다. 폐사한 백한우 개체로부터 귀 체세포를 핵이식기술 Somatic Cell Nuclear Transfer(SCNT) 등을 이용해

생산된 복제소와 완전히 동일한 연령의 백한우 및 일반 한우와의 혈액학적 검사 결과 비교 등을 통해서 적혈구 수치가 참고치의 최댓값에 가깝거나, 복제소는 수치가 낮게 나타났다. 그러나 다른 혈액학적 수치는 정상치 범위 내인 것으로 확인하였다. 따라서 혈액학적 분석 결과를 기준으로 복제소의 건강상에는 문제점이 없음을 확인하였다. Park 등(2010)은 복제소의 혈청 생화학 분석 결과, ALP와 무기인(inorganic phosphate)의 수치가 참고치보다 높았지만, 성숙으로 성장해 가면서는 그 수치가 정상적인 수치로 낮아졌다고 보고하고 있다. 자축시기의 뼈 성장 및 조골세포의 활성화와 깊은 관련이 있는 ALP(Harper *et al.*, 2003; Mundim *et al.*, 2007)와 세포 및 골격성장을 위해 필수적인 무기인(inorganic phosphate) (Caverzasio and Bonjour, 1993) 등의 혈청 생화학 분석이 향후 추가적으로 수행되어야 할 것으로 판단된다. 이는 복제소의 성장, 건강 상태, 수명 번식 등에 지속적인 관찰 및 전생애주기에 대한 장기적인 연구 등의 분석을 통해 복제소가 자연적인 수정과정에 의해 태어난 일반개체와 차이점이 없는 것을 입증함으로써 복제소의 안정성에 대한 논란을 방지하기 위해서 매우 중요하다. 또한 한우 유전자원에 대한 차별적 특성을 구명해 나가는 연구에 기초자료로서 유용하게 이용될 것으로 기대된다.

요 약

본 연구에 사용된 공시축은 2013년 1월부터 2014년 12월 까지 국립축산과학원 가축유전자원센터에서 사육 중인 모색을 기준으로 동일연령인 일반한우(황우), 백한우 및 복제소 18두(황우 10두, 백우 7두 그리고 복제소 1두)를 대상으로 혈액학적 수치를 확인하였다. 동일연령의 복제소와 백한우의 성장 단계별 혈액학적 검사 결과에서 1년 이하에서 1~2년으로 연령이 증가됨에 따라 RBC 관련 6개의 인자의 측정수치가 정상치 범위내 임을 확인했다. 또한 일반한우와의 비교에서도 차이점이 인정되지 않았다. 하지만, 복제소를 포함하는 백한우군과 일반 한우군 간의 RBC($11.2 \sim 10.1 \times 10^6/\mu\text{l}$, $12.0 \sim 10.3 \times 10^6/\mu\text{l}$)와 PL치($592 \sim 448 \times 10^3/\mu\text{l}$, $589 \sim 450 \times 10^3/\mu\text{l}$)에서 각각 유의성 있는 감소($P < 0.05$)가 인정되었다. 또한, 복제소와 백한우의 백혈구계 검사 결과에서도 1년 이하에서 1~2년으로 연령이 증가함에 따라 WBC 수치($12.0 \sim 11.1 \times 10^3/\mu\text{l}$, $12.5 \sim 10.0 \times 10^3/\mu\text{l}$)가 감소했지만, 정상치 범위 내의 결과를 확인했다. 백혈구 분포의 백분율에서는 전반적으로 복제소 및 백한우의 림프구가 $41.0 \sim 39.0\%$, $43.1 \sim 41.6\%$ 이며, 분엽형 호중구 수치는 $32.0 \sim 29.0\%$, $33.9 \sim 30.9\%$ 로 나타났다. 일반 한우군과 복제소를 포함하는 백한우군 간의 백혈구계의 림프구 수치의 비교에서는 백한우군(41.6%)로, 일반한우(45.1%)에 비하여 유의적으로 낮음($P < 0.05$)을 확인하였다. 본 연구결과를 통하여 백한우의

귀체세포 유래의 복제소의 혈액학적 분석 결과로 건강상에 문제점이 없음을 확인하였다.

(Key words : 복제 백한우, 멸종 위기종, 혈구 분석)

REFERENCES

- Britney JB, Martin SW and Stone JB. 1984. Analysis of early calthood health status and subsequent dairy herd survivorship and productivity. *Prevent. Vet. Med.* 3:45-52.
- Caverzasio J and Bonjour JP. 1993. Growth factors and renal regulation of phosphate transport. *Pediatr. Nephrol.* 7:802-806.
- Chavatte-Palmer P, Remy D, Cordonnier N, Richard C, Issenman H, Laigre P, Heyman Y and Mialot JP. 2004. Health status of cloned cattle at different ages. *Cloning Stem Cells.* 6:94-100.
- Chense P, Adenot PG and Viglietta C. 2002. Cloned rabbits produced by nuclear transfer from adult somatic cells. *Bio-technol.* 20:366.
- Correa MT, Curtis CR and Erb HN. 1988. Effects of calthood morbidity on age at first calving in New York Holstein herds. *Prevent. Vet. Med.* 6:253-262.
- Curtis CR, White MEM and Erb HN. 1989. Effects of calthood morbidity on long term survival in New York Holstein herds. *Prevent Vet Med.* 7:173-186.
- De Sousa PA, Walker S and King TJ. 2001. Evaluation of gestational deficiencies in clone sheep fetus and placenta. *Biol. reprod.* 65:23.
- Eurekalert. 2005. Texas A&M scientists clone world's first deer.
- Galli C, Lagutina I and Crotti G. 2003. Pregnancy: A clone horse born to its dam twin. *Nature.* 424:635.
- Harper EJ, Hackett RM, Wilkinson J and Heaton PR. 2003. Agerelated variations in hematologic and plasma biochemical test results in Beagles and Labrador Retrievers. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 223:1436-1442.
- Hwang S, Lee NJ, Hwang JS, Yang BC, Im GS, Ko YG, Park EW, Park SB, Kang JK and Seong HH. 2010. Effects of cloned-cattle meat on reproductive physiology in rats. *Animal.* 4:218-223.
- Heyman Y, Chavatte-Palmer P, Fromentin G, Berthelot V, Jurie C, Bas P, Dubarry M, Mialot JP, Remy D, Richard C, MartignatL, Vignon X and Renard JP. 2007. Quality and safety of bovine clones and their products. *Animal.* 1:963-972.
- Hill JR, Burghardt RC and Jones K. 2000. Evidence for placental abnormality in first-trimester somatic cell cloned bovine fetuses. *Biol. Reprod.* 63:1787.
- Hill JR, Schlafer DH and Fisher PJ. 2002. Abnormal expression of trophoblast major histocompatibility complex class I antigen in cloned bovine pregnancies is associated with a pronounced endometrial lymphocytic response. *Biol. Reprod.* 67:55.
- Kato Y, Tani T and Sotomaru Y. 1998. Eight calves cloned from somatic cells of a single adult. *Science.* 282:2095.
- Kang ML, Han DY and Chung YU. 2001. Survey on Korean-native calves diseases and mortality. *Kor. J. Vet. Serv.* 24:223-241.
- Kim JH, Byun MJ, Kim JK, Suh SW, Kim YSin, Ko YG, Kim SW, Jung KS, Kim DH and Choi BK. 2013. Phylogenetic analysis of Korean black cattle based on the mitochondrial cytochrome b gene. *J. Life Sci.* 23:24-30.
- Kim H, Cho YM, Ko YG and Seong HH. 2014. Analysis of hematologic characteristics of Korean native striped cattle *Chickso* according to the ages. *J. Emb. Trans.* 29:313-319.
- Kim MK, Jang G, Oh HJ, Yuda F, Kim HJ, Hwang WS, Hossein MS, Kim JJ, Shin NS, Kang SK and Lee BC. 2007. Endangered wolves cloned from adult somatic cells. *Cloning Stem Cells.* 9:130-137.
- Lee BC, Kim MK and Jang G. 2005. Dogs cloned from adult somatic cells. *Nature.* 436:641.
- Lee JM, Kwon OD and Choi JS. 1994. Project to increase productivity of livestock in Honam area against UR. *Kor. J. Vet. Res.* 43:195-212.
- Lee NJ, Yang BC, Hwang JS, Im GS, Ko YG, Park EW, Seong HH, Park SB, Kang JK and Hwang S. 2010. Effects of cloned-cattle meat diet on reproductive parameters in pregnant rabbits. *Food and Chemical Toxicology.* 48:871-876.
- Lee YS. 1974. Erythrocytic blood picture of the Korean native cattle from birth to maturity. *Kor. J. Vet. Res.* 14:1-7.
- Martin SW, Bateman KG and Shewen PE. 1990. A group level analysis of the association between antibodies to putative pathogens and respiratory disease and weight gain in Ontario feedlot calves. *Can. J. Vet. Res.* 54:337-342.
- Martin M, Adams C and Wiseman B. 2004. Pre-weaning performance and health of pigs born to cloned (fetal cell derived) swine versus non-cloned swine. *Theriogenology.* 62:113-122.
- Mundim AV, Coelho AO, Hortêncio SM, Guimarães EC and

- Espindola FS. 2007. Influence of age and sex on the serum biochemical profile of Doberman dogs in the growth phase. *Comp. Clin. Pathol.* 16:41-46.
- Ogura A, Inoue K, Ogonuki N, Lee J, Kohda T and Ishino F. 2002. Phenotypic effects of somatic cell cloning in the mouse. *Cloning Stem. Cells.* 4:397-405.
- Park JE, Kim MK, Kang JT, Oh HJ, Hong SG, Kim DY, Jang G and Lee BC. 2010. Growth and hematologic characteristics of cloned dogs derived from adult somatic cell nuclear transfer. *Cell. Reprogram.* 12:141-150.
- Panarace M, Agüero JI, Garrote M, Jauregui G, Segovia A, Cané L, Gutiérrez J, Marfil M, Rigali F, Pugliese M, Young S, Lagioia J, Garnil C, Forte Pontes JE, Ereno Junio JC, Mower S and Medina M. 2007. How healthy are clones and their progeny: 5 years of field experience. *Theriogenology.* 67:142-51.
- Polejaeva IA, Chen SH and Vaught TD. 2000. Cloned pigs produced by nuclear transfer from adult somatic cells. *Nature.* 407:86.
- Rideout WM, Eggan K and Jaenisch R. 2001. Nuclear cloning and epigenetic reprogramming of the genome. *Science.* 293:1093.
- Simensen E. 1983. An epidemiological study of calf health and performance in Norwegian dairy herds. *Acta. Agr. Scand.* 33:137-142.
- Shin T, Kraemer D and Pryor J. 2002. Cell biology: A cat cloned by nuclear transplantation. *Nature.* 415:859.
- Wakayama T, Perry AC and Zuccotti M. 1998. Full-term development of mice from enucleated oocytes injected with cumulus cell nuclei. *Nature.* 394:369
- Wilmut I, Schnieke AE and McWhir J. 1997. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature.* 386:810.
- Sakai RR, Tamashiro KL, Yamazaki Y and Yanagimachi R. 2005. Cloning and assisted reproductive techniques: Influence on early development and adult phenotype. *Birth. Defects. Res. C. Embryo. Today.* 75:151-62.
- Swanson KS, Kuzmuk KN, Schook LB and Fahey GC Jr. 2004. Diet affects nutrient digestibility, hematology, and serum chemistry of senior and weanling dogs. *J. Anim. Sci.* 82:1713-1724.
- Tamashiro KL, Wakayama T, Blanchard RJ, Blanchard DC and Yanagimachi R. 2000. Postnatal growth and behavioral development of mice cloned from adult cumulus cells. *Biol. Reprod.* 63:328-334.
- Watanabe S and Nagai T. 2008. Health status and productive performance of somatic cell cloned cattle and their offspring produced in Japan. *J. Reprod. Dev.* 54:6-17.
- Wells DN, Forsyth JT, McMillan V and Oback B. 2004. The health of somatic cell cloned cattle and their offspring. *Cloning Stem Cells.* 6:101.
- Yamaguchi M, Itoh M, Ito Y and Watanabe S. 2008. A 12-month feeding study of reproduction/development in rats fed meat/milk powder supplemented diets derived from the progeny of cloned cattle produced by somatic cell nuclear transfer. *J. Reprod. Dev.* 54:321-334.

Received January 30, 2015, Revised June 30, 2015, Accepted September 4, 2015