

## Influence of Chromosome Number on Cell Growth and Cell Aging in Yeast

Yeon-Hee Kim \*

Department of Biotechnology and Bioengineering, Dong-Eui University, Busan 47340, Korea

Received February 12, 2016 / Revised March 10, 2016 / Accepted March 18, 2016

The influence of chromosome number on cell growth and cell aging was investigated in various yeast strains that have many artificial chromosomes constructed using a chromosome manipulation technique. Host strain FY833 and the YKY18, YKY18R, YKY24, and YKY30 strains harboring 16 natural chromosomes, 18 chromosomes, 18 chromosomes containing rDNA chromosome, 24 chromosomes, and 30 chromosomes, respectively, were used, and the specific growth rate of each strain was compared. The specific growth rates in the YKY18 and YKY24 strains were indistinguishable from that in the host strain, while those of the YKY18R and YKY30 strains were reduced to approximately 25% and 40% of the host strain level, respectively. Subsequently, the replicative life span was examined to investigate the relationship between the number of chromosomes and cell aging, and the life span was decreased to approximately 14% and 45% of the host strain level in the YKY24 and YKY30 strains, respectively. Moreover, telomere length, well known as a senescence factor, was shorter and more diversified in the strain, showing decreased life span. Therefore, these results suggest the possibility that an increase in the number of chromosomes containing artificial chromosomes caused cell aging, and we expected these observations would be applied to improve industrial strain harboring of versatile and special artificial chromosomes.

**Key words** : Artificial chromosome, cell growth rate, life span, telomere length, *Saccharomyces cerevisiae*

### 서 론

출아효모 *Saccharomyces cerevisiae*는 세포 내 노화(aging)의 메커니즘을 조사하기 위한 가치 있는 모델 생물로 널리 알려져 있다[2, 7, 8, 17]. 효모 노화에 대한 연구는 효모세포가 제한된 복제능(replicative capacity)을 가진다는 보고에서부터 시작되었는데[14], 노화가 일어나는 동안 효모세포는 세포 크기의 증가, bud scar (발아 흔적) 수의 증가, 세대 시간(generation time)의 증가 및 대사활성의 감소 등 다양한 형태학적, 생리학적 변화가 생긴다고 알려져 있다[6]. 효모세포에서 "life span (수명)"은 하나의 효모세포가 더 이상 출아(budding)를 하지 않을 때까지 생성된 daughter cell (딸세포)의 수 또는 generation number (세대수)로 나타낼 수 있는데, 대부분 야생형의 *S. cerevisiae*는 최대 약 40번의 분열을 하지만 평균 수명은 약 25회 정도라고 할 수 있다. 효모세포의 life span은 두 가지 형태로 나눌 수 있는데, 노화가 되기 전까지 모세포(mother cell)에서 생성된 딸세포의 수로 정의되는 replicative life span (RLS)과 더 이상 분열하지 않는 상태로 살아

있는 cell의 성장시간(기간)으로 정의하는 chronological life span (CLS)으로 나뉜다. 효모세포가 분열 할 때 모세포의 복제 나이는 증가하게 되고, 오래된 모세포에서 생성된 딸세포는 대체적으로 life span이 줄어드는 경향을 보이는데, 여기에는 다양한 "senescence factor (노화인자)"가 작용한다고 보고되고 있다[5]. 현재 보고되고 있는 senescence factor는 노화된 세포에서 보여지는 extrachromosomal ribosomal DNA circles (ERCs)의 축적, 염색체의 양쪽 말단부분인 telomere (텔로미어, 말단소립) 길이의 감소, nucleolus (핵소체)의 거대화 및 단편화, 과도한 영양 섭취, reactive oxygen species (ROS, 활성 산소)에 의한 산화적 손상 등 다양하게 보고되어 있다[10, 12, 13, 18].

출아효모의 12번 염색체에 위치하고 있는 ribosomal DNA (rDNA)는 9.1 kb repeat sequence가 100-200 copy 정도 반복되어 있는 구조로 되어 있는데, 여러 번의 복제과정 동안 발생되는 상동성 재조합(homologous recombination)에 의해 rDNA의 반복서열 하나가 절제(excision)되어 분리되면 ERC가 형성되게 된다. 생성된 ERC는 출아 시, 우선적으로 모세포 내에 비대칭적으로 축적되게 되고, 과도하게 많은 ERC를 가진 모세포는 성장에 저해를 받게 되어 수명이 짧아지는 결과를 초래하게 된다[18]. 이전의 연구에서 염색체 분단 기술(chromosome splitting technique)을 이용하여 rDNA cluster의 양쪽 염색체부분을 제거하고, rDNA를 12번 염색체로부터 분리하여 새로운 rDNA 반복서열만 가진 염색체(rDNA chromosome)를 구축하였다[10]. rDNA chromosome을 가진 균주

#### \*Corresponding author

Tel : +82-51-890-2281, Fax : +82-504-033-6356

E-mail : yeonheekim@deu.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

의 경우, wild-type 균주에 비해 ERC의 양이 상대적으로 증가되었고, 핵소체의 형상 및 배치의 이상과 life span도 약 30% 정도 감소됨을 확인할 수 있었다. 이것은 rDNA cluster를 가진 염색체의 구조변화가 노화의 senescence factor가 될 수도 있다는 것을 보고한 최초의 예이다. 또한 대표적인 노화의 원인인 telomere는 구아닌(guanine, G)과 시토신(cytosine, C)이 풍부한 배열로 5~10 nucleotides 잔기의 짧은 배열이 기본 단위가 되어, 이 기본단위가 고밀도로 반복되어 있는 구조로 되어 있으며 특히 DNA의 손상에 민감한 부분이다. DNA polymerase는 linear DNA의 끝부분을 복제할 수 있는 능력이 없는 반면에 telomerase 라는 효소(RNA의존성 DNA합성효소)는 염색체의 telomere 부분을 특이적으로 복제할 수가 있다. 하지만 대부분의 포유류 체세포는 telomerase 효소 활성을 가지고 있지 않아 복제를 거듭할수록 telomere의 길이가 짧아지고, 짧아진 telomere의 길이는 노화를 측정하는 지표가 될 수 있다.

염색체 가공기술(chromosome manipulation technique) 중의 하나인 PCS 법(PCR-mediated chromosome splitting method)은 PCR을 이용해 만든 두 개의 splitting fragments와 한번의 형질전환을 통해 하나의 염색체(natural chromosome)를 두 개의 인공염색체(artificial chromosome)로 나누는 기술로서, 자연계에 존재하는 균주 세포의 염색체 구조를 인위적으로 가공할 수 있게 되어 다양한 형태의 인공염색체를 가진 효모 균주를 제작하는 것을 가능하게 하였다[10, 19]. 따라서 PCS법을 사용하여 16개의 염색체를 가지는 wild-type *S. cerevisiae*에서부터 rDNA chromosome을 가진 균주를 포함하여 17, 18개 이상에서 최대 31개의 염색체를 가지는 새로운 효모 균주를 제작 할 수 있었고, 특정 조건하에서 인공염색체를 가진 균주를 배양함으로써 genome reconstruction의 유도를 통해 산업용 균주의 생산가능성도 보고하였다[16]. 하지만 염색체 수가 증가됨에 따라 균주의 성장 속도 저하가 관찰되었고, 이는 세포의 노화와도 깊은 관련이 있을 것이라 생각이 된다. 따라서 본 연구에서는 세포 내 염색체의 구조와 인공염색체를 포함한 총 염색체 수의 증가가 세포 노화에 미치는 영향을 조사하여 노화의 원인이 되는 새로운 senescence factor를 알아보고자 한다.

## 재료 및 방법

### 사용 균주

본 연구에 사용된 균주는 Table 1에 나타내었다. 인공염색체를 가진 모든 효모 균주는 FY833 (*MATa ura3-52 his3Δ200 leu2Δ1 lys2Δ202 trp1Δ63*) 균주[20]로부터 만들어졌으며, PCS법을 사용하여 반복적으로 염색체의 splitting (하나의 염색체를 두 개의 인공염색체화 함)이 진행되었다. YKY18 균주는 FY833 균주의 16개 염색체를 두 번의 splitting을 수행하여 총 18개로 염색체화한 균주이며, YKY18R [10] 균주는 YKY18 균주와 같은 수의 염색체를 가지고 있지만 그 중 하나가 rDNA chromosome (rDNA cluster)만으로 이루어진 인공염색체)의 형태로 가지고 있는 균주이다. YKY24 균주와 YKY30 균주는 각각 8번과 14번의 염색체 splitting을 통해 만들어진 균주로, 임의로 만들어진 인공염색체를 포함하여 총 24개와 30개의 염색체를 가지고 있는 균주들이다.

### 사용 배지 및 배양 조건

효모의 성장배지로는 YPD (1% yeast extract, 2% peptone, 2% dextrose) 배지를 사용하였으며, 각 균주의 성장속도를 비교하기 위해서 모든 균주의 specific growth rate (비성장속도, μ) 값을 측정하였다. Specific growth rate 측정을 위해서, 모든 균주는 5 ml YPD 액체배지에서 16~24시간 동안 전 배양 한 후, initial OD<sub>600</sub>가 0.1이 되도록 50 ml YPD 액체배지에 접종하여 30°C, 190 rpm에서 3일 동안 본배양하였다. 균체 농도는 일정시간마다 채취한 배양액을 적당한 비율로 희석하여 spectrophotometer (Shimadzu UV-1601, Japan)를 사용하여 600 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### Life span 측정

Life span 측정을 위해서는 Kennedy *et al.* [9]에 보고된 방법을 사용하였다. Life span은 단일 모세포(single mother cell)에서 생성된 딸세포의 수를 counting 하는 것으로 조사되었는데, micromanipulator (SINGER MSN system series 200, Singer instruments, UK)를 사용하여 모세포에서 출아되어 나온 각각의 딸세포를 하나씩 분리하고 제거하면서 그 수를 세었다. 모세포는 출아를 거듭할수록 그 세포의 크기가 커져서 딸세포와 쉽게 구별할 수 있으며, 분리한 딸세포는 모세포와

Table 1. Yeast strains used in this study

Strains	Descriptions
FY833	<i>MATa ura3-52 his3Δ200 leu2Δ1 lys2Δ202 trp1Δ63</i>
YKY18	Transformant of FY833, which has 18 chromosomes by two-rounds of chromosome splitting
YKY18R	Transformant of FY833, which has 18 chromosomes containing rDNA chromosome by two-rounds of chromosome splitting
YKY24	Transformant of FY833, which has 24 chromosomes by eight-rounds of chromosome splitting
YKY30	Transformant of FY833, which has 30 chromosomes by fourteen-rounds of chromosome splitting

다른 위치에 두어 life span 분석 동안 섞이지 않도록 하였다. Life span을 측정하기 위해 모세포로 사용될 virgin cell은 log-phase 액체배양 한 세포를 무작위적으로 선별하였으며 YPD 고체배지에 streak하여 사용하였다. Life span 곡선과 평균수명을 알아보기 위해 하나의 균주 당 적어도 40개 정도의 모세포를 사용하였다[10].

### Telomere 길이 측정

각 균주의 telomere 길이를 비교 측정해 보기 위해, 먼저 각각의 균주를 YPD 배지에서 18시간 정도 배양한 후, DNA miniprep method [3]를 사용하여 genomic DNA를 추출하였다. 추출한 각각의 genomic DNA 2 μg을 *XhoI* 제한효소로 6시간정도 처리하여 1% agarose gel 전기영동을 실시하고, telomere 영역 및 길이를 확인하기 위해 southern hybridization을 수행하였다. Southern hybridization을 위해 DNA를 Hybond-N+ membranes (Amersham Biosciences, Piscataway, NJ, USA)으로 transfer하였고 probe DNA는 41 nucleotide strand-specific sequence (TELO-G1: 5'-TGTGTGGTGTGTGGGTGTGTGTGGGTGTGTGGGTGTGTGGGTGTGTGGGT-3')를 포함하는 Y' subtelomere DNA[11]를 사용하였다. Probe의 labelling과 signal detection은 Gene images 3'-oligolabelling과 CDP-Star detection system (Amersham Biosciences, UK)을 사용하여 수행하였다.

### 결과 및 고찰

#### 염색체 수에 따른 세포 성장속도의 변화

염색체 수가 각각 다른 균주들의 성장속도(specific growth rate, 비증식속도)를 비교하여 염색체 수가 균주의 성장속도에 미치는 영향에 대해서 조사해보았다. 일반적으로 자연계에 존재하는 정상적인 출아효모(haploid)는 16개의 염색체를 가지고 약 0.37~0.45 h<sup>-1</sup> 정도의 specific growth rate를 나타낸다고 보고되어있다[10, 15]. 본 연구에 사용된 FY833 균주(16개 염색체, host strain)의 경우, YPD 배지에서 3일간 배양하여 specific growth rate를 측정한 결과 0.44 h<sup>-1</sup>의 값을 나타내었고, 염색체 수가 늘어난 YKY18 균주(18개 염색체)와 YKY24 균주(24개 염색체)의 경우는 FY833 균주에 비해 약 10% 내외의 specific growth rate 감소가 관찰되었다(Table 2). 이 결과는 염색체 수가 인공 미니염색체를 포함하여 24개까지 증가되어

도 성장속도에는 크게 영향을 미치지 않음을 시사하며, 염색체 수가 증가되어도 세포분열(mitotic division) 동안 염색체 segregation은 정상적으로 일어났음을 나타낸다. 하지만 염색체 수가 18개인 YKY18 균주의 경우는 FY833 균주에 비해 약 25% 정도 저하된 성장속도를 보였는데, 이는 증가된 염색체수가 원인이 아니라 12번 염색체에서 분리된 rDNA chromosome의 rDNA cluster내 hyper-recombination 및 세포분열 동안 rDNA chromosome 자체의 부분결실에 의한 cell death가 원인일 것으로 생각되어진다[10]. 한편, FY833 균주에 비해 염색체 수를 약 2배로 가지고 있는 YKY30 균주는 FY833 균주에 비해 거의 40% 이상 성장이 감소되었음을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 염색체 31개를 가지는 SH6310 균주 [16]의 specific growth rate가 0.25 h<sup>-1</sup>정도인 수준과 비교하였을 때, 염색체를 30개 이상 가지는 균주는 세포분열 시 염색체의 segregation 이상 및 일부 인공염색체의 결실 등으로 인해 세포성장 속도가 급속도로 저하될 수 있다는 것을 시사한다.

#### 염색체 수 증가에 따른 life span 비교

자연계에 존재하는 출아효모가 가지고 있는 염색체 외에 인위적인 인공염색체화를 통해 염색체수를 최대 2배까지 증가시킨 균주는 wild-type 균주에 비해 저하된 성장속도를 보임을 확인하였는데, 이는 증가된 염색체들의 비정상적인 세포분열이 가장 큰 원인이라고 생각되어지지만, 부분적으로 일부 세포들의 노화와 관련된 phenotype일 가능성도 배제할 수 없다. 이전의 연구에 따르면 rDNA chromosome을 가지고 있는 YKY18 균주에서 세포 성장속도의 저하와 함께 세포 life span도 감소했음을 알 수가 있는데[10], 이것은 rDNA cluster 내의 hyper-recombination에 의해 생성된 ERC의 축적이 그 원인이었다. 따라서 YKY18 균주와 같은 수의 염색체를 가지는 YKY18 균주를 포함하여 YKY24 균주 및 성장속도의 저하를 보이는 YKY30 균주의 life span을 조사하여 성장속도와 life span과의 연관성을 조사해보았다. 각 균주의 life span을 알아보기 위해 모세포에서 출아되는 딸세포의 수로 life span을 측정하는 replicative life span을 비교해보았다. FY833 균주와 YKY18 균주의 life span은 거의 차이가 나지 않았으나, YKY24 균주와 YKY30 균주는 점점 life span이 감소됨을 확인할 수 있었다(Fig. 1). 각 균주들의 평균 life span을 비교해보면, YKY24 균주와 YKY30 균주에서 평균 life span이 wild type FY833 균주에 비해 약 14%와 45%가 감소된 29.5와 18.9

Table 2. Specific growth rates ( $\mu$ ) of yeast strains having different numbers of chromosomes

Strains	Number of chromosomes	Specific growth rate (h <sup>-1</sup> )
FY833	16 (original)	0.44±0.04
YKY18	18	0.41±0.05
YKY18R	17 + 1 (rDNA chromosome)	0.34±0.03
YKY24	24	0.40±0.03
YKY30	30	0.27±0.04

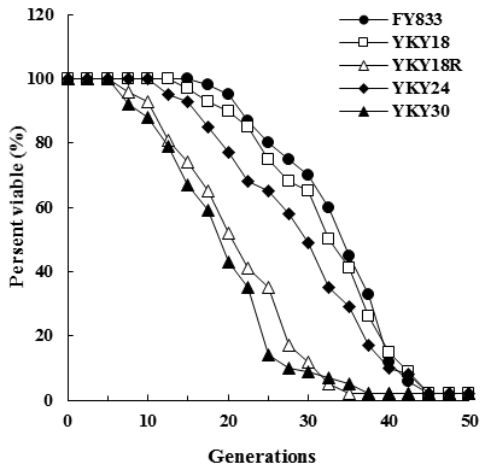


Fig. 1. Life span of various strains containing spilt-chromosomes. Life spans were determined by counting the number of daughter cells generated by a single mother cell. A micromanipulator was used to tease away and remove each daughter cell that emerged as a bud from its mother cell.

Table 3. Average life span of yeast strains having different numbers of chromosomes

Strains	Number of chromosomes	Generations
FY833	16 (original)	34.1
YKY18	18	32.6
YKY18R	17 + 1 (rDNA chromosome)	21.7
YKY24	24	29.5
YKY30	30	18.9

generation을 보임을 알 수 있었다(Table 3). 이 결과는 성장속도의 감소와 노화의 진행 정도가 비례해서 나타남을 보여주는 결과이고, 특히 염색체 수가 2배정도 증가된 YKY30 균주에서 급격한 life span의 감소를 보임을 알 수 있었다. YKY30 균주에서는 인공적으로 만들어진 인공염색체를 포함하여 30개나 되는 염색체가 세포분열의 속도를 저하시켰을 가능성을 배제할 수 없으며, 또한 노화된 세포에서 보여지는 세포크기의 증가가 관찰되는 점도 life span 감소의 원인이라고 생각할 수 있다. 따라서 rDNA chromosome과 같은 특이한 구조의 염색체를 가진 YKY18R 균주의 경우를 제외하고 염색체수의 증가가 life span을 감소시킬 수 있다는 것을 시사한 첫 보고라고 할 수 있다.

**Life span감소와 telomere 길이 변화와의 영향**

모든 진핵세포 염색체가 가지고 있는 구성성분인 telomere는 염색체 양쪽 말단에 위치하며 염색체가 안정적으로 유지될 수 있도록 도와주는 역할을 하는 반복된 서열(tandom repeated sequence)로 잘 알려져 있다. Telomere는 그 길이가 짧아지거나 telomere의 기능장애(dysfunction)가 일어났을 경우 염색체를 불안정하게 하고, 불안정해진 염색체는 서로 융

합(fusion)되거나 세포자살(apoptosis)의 유도 및 세포주기(cell cycle)를 조절 및 정지하는 신호가 되어 세포사멸까지 가는 대표적인 노화의 원인으로도 잘 알려져 있다[1]. 따라서 life span의 감소가 관찰된 균주에 대해서 telomere 길이의 변화를 측정해보았다. Telomere의 길이를 측정하기 위해 각 균주의 genomic DNA를 추출한 뒤, Y' subtelomere DNA 영역을 선택적으로 절단하는 *XhoI* 제한효소를 처리하고 전기영동 및 southern hybridization을 실시하였다. 그 결과, 염색체의 수가 증가될수록 telomere 길이의 다양성이 보임을 확인할 수 있었고(Fig. 2), 특히 급격한 life span의 감소가 관찰되었던 YKY30 균주에서 telomere의 길이가 다소 줄어든 것을 확인할 수 있었다(Fig. 2, lane 5). YKY18R 균주에서 보인 life span의 감소가 ERC의 축적에 의한 원인이었다면, YKY30 균주에서 보여진 life span의 감소는 염색체 수 증가에 의한 불안정한 세포분열 유도 및 증가된 인공염색체의 인공 telomere의 불안정에 의한 telomere 길이의 감소가 그 원인일 가능성을 생각할 수 있다.

인공염색체화 기술(artificial chromosome manipulation technique)은 large size DNA의 cloning 뿐만 아니라 계놈의 functional analysis 및 physical mapping 등 진핵세포의 복잡한 계놈 분석을 촉진시키는 효과적인 방법 중의 하나로 개발되어 왔다[4]. 또한 특정 물질 생산에 최적화된 생물시스템을 생산하기 위한 최적계놈공장(optimal genome factory) 또는 최소계놈공장(minimum genome factory)으로서 균주를 육종하기 위해서도 필요한 방법이라고 할 수 있다[16]. 따라서 다양한 목적으로 다수의 인공염색체를 제작할 경우, 증가된 인공염색체가 세포의 성장속도 및 life span의 감소에 영향을 미칠

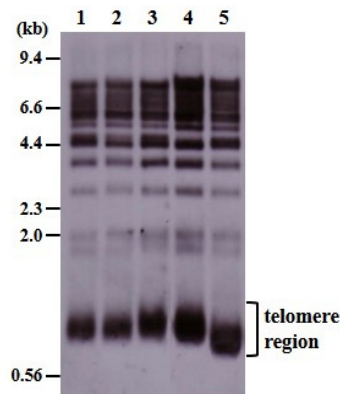


Fig. 2. Analysis of telomere length in various strains containing spilt-chromosomes. Genomic DNA was digested at a unique *XhoI* site in the Y' subtelomere DNA and subjected to electrophoresis followed by Southern hybridization. Fluorescein-dUTP labelled subtelomere DNA containing 41nt strand-specific sequence of the telomere repeat was used as probe. Lane 1: FY833 strain, lane 2: YKY18 strain, lane 3: YKY18R strain, lane 4: YKY24 strain, lane 5: YKY30 strain.

수 있다는 것을 본 연구를 통해 확인 할 수 있었고, 이는 자연계에 존재하지 않는 다양한 개능 구성을 가진 균주의 안정적인 개량을 위한 기초 자료로 활용될 수 있을 것이라 기대한다.

## References

- Banerjee, S. and Myung, K. 2004. Increased genome instability and telomere length in the *elg1*-deficient *Saccharomyces cerevisiae* mutant are regulated by S-phase checkpoints. *Eukaryot. Cell* **3**, 1557-1566.
- Bitterman, K. J., Medvedik, O. and Sinclair, D. A. 2003. Longevity regulation in *Saccharomyces cerevisiae*: Linking metabolism, genome stability, and heterochromatin. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **67**, 376-399.
- Burke, D., Dawson, D. and Stearns, T. 2000. Methods in yeast genetics, pp. 110-111. A Cold Spring Harbor Laboratory Course Manual. A Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York.
- Burke, D. T., Carle, G. F. and Olson, M. V. 1987. Cloning of large segments of DNA into yeast by means of artificial chromosome vectors. *Science* **236**, 806-812.
- Egilmez, N. K. and Jazwinski, S. M. 1989. Evidence for the involvement of a cytoplasmic factor in the aging of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Bacteriol.* **1**, 37-42.
- Gillespie, C. S., Proctor, C. J., Boys, R. J., Shanley, D. P., Wilkinson, D. J. and Kirkwood, T. B. 2004. A mathematical model of ageing in yeast. *J. Theor. Biol.* **229**, 189-196.
- Jazwinski, S. M. 1999. Longevity, genes, and aging: A view provided by a genetic model system. *Exp. Gerontol.* **34**, 1-6.
- Kaerberlein, M. 2006. Longevity and aging in the budding yeast. In: Conn PM, editor. Handbook of models for human aging. Boston: Elvieser Press pp. 109-120.
- Kennedy, B. K., Austriaco, N. R. Jr. and Guarente, L. 1994. Daughter cells of *Saccharomyces cerevisiae* from old mothers display a reduced life span. *J. Cell Biol.* **127**, 1985-1993.
- Kim, Y. H., Ishikawa, D., Ha, H. P., Sugiyama, M., Kaneko, Y. and Harashima, S. 2006. Chromosome XII context is important for rDNA function in yeast. *Nucleic Acids Res.* **34**, 2914-2924.
- Louis, E. J. and Haber, J. E. 1992. The structure and evolution of subtelomeric Y' repeats in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics* **131**, 559-574.
- Masoro, E. J. 2005. Overview of caloric restriction and ageing. *Mech. Ageing Dev.* **126**, 913-922.
- Melov, S., Ravenscroft, J., Malik, S., Gill, M. S., Walker, D. W., Clayton, P. E., Wallace, D. C., Malfroy, B., Doctrow, S. R. and Lithgow, G. J. 2000. Extension of life-span with superoxide dismutase/catalase mimetics. *Science* **289**, 1567-1569.
- Mortimer, R. K. and Johnston, J. R. 1959. Life span of individual yeast cells. *Nature* **183**, 1751-1752.
- Park, A. H. and Kim, Y. H. 2013. Breeding of ethanol producing and tolerant *Saccharomyces cerevisiae* by using genome shuffling. *J. Life Sci.* **23**, 1192-1198.
- Park, A. H., Sugiyama, M., Harashima, S. and Kim, Y. H. 2012. Creation of an ethanol-tolerant yeast strain by genome reconstruction based on chromosome splitting technology. *J. Microbiol. Biotechnol.* **22**, 184-189.
- Piper, P. W. 2006. Long-lived yeast as a model for ageing research. *Yeast* **23**, 215-226.
- Sinclair, D. A. and Guarente, L. 1997. Extrachromosomal rDNA circles-A cause of aging in yeast. *Cell* **91**, 1033-1042.
- Sugiyama, M., Ikushima, S., Nakazawa, T., Kaneko, Y. and Harashima, S. 2005. PCR-mediated repeated chromosome splitting in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechniques* **38**, 909-914.
- Winston, F., Dollard, C. and Ricupero-Hovasse, S. L. 1995. Construction of a set of convenient *Saccharomyces cerevisiae* strains that are isogenic to S288C. *Yeast* **11**, 53-55.

## 초록 : 효모에서 염색체의 수가 세포성장과 노화에 미치는 영향

김연희\*

(동의대학교 생명공학과)

본 연구는 염색체 가공기술(chromosome manipulation technique)을 이용하여 다양한 개능의 염색체를 가진 균주들의 세포 성장속도 및 life span을 비교하여 염색체 수의 증가가 세포 생리에 미치는 영향을 조사하였다. 16개의 염색체를 가지는 숙주세포 FY833 균주와 18개의 염색체를 가지는 YKY18 및 YKY18R 균주, 24개의 염색체를 가지는 YKY24 균주와 30개의 염색체를 가지는 YKY30 균주를 사용하여 specific growth rate를 비교해 본 결과, YKY18 균주와 YKY24 균주는 세포성장의 변화가 거의 없었으나, YKY18R 균주와 YKY30 균주에서는 숙주세포에 비해 각각 25%와 40% 이상 성장이 감소됨을 확인 할 수 있었다. 또한 염색체 수와 노화의 관계를 알아보기 위해 replicative life span을 조사해 본 결과, YKY24균주와 YKY30 균주에서 숙주세포에 비해 약 14%와 45% 정도로 life span이 감소했음을 알 수 있었다. 노화인자로 알려져 있는 telomere의 길이도 인공염색체의 수가 증가될수록 점점 다양해지고 길이가 짧아짐을 확인 할 수 있었다. 따라서 염색체 수의 증가도 새로운 노화원인이 될 수 있다는 가능성을 제시하였고, 본 연구 결과가 다양한 인공염색체를 가진 산업용 균주의 안정적인 개량을 위한 기초 자료로 활용될 수 있을 것이라 기대한다.