

High-Resolution banding에 의한 주요 재래가축의
표준 핵형 설정과 염색체 변이 분석

The Identification of Standard Karyotypes and Chromosomal
Markers of Korean Native Livestock by High-resolution
banding technique

축종별 경제능력 분석과 염색체 변이간의 연관 구명
Analysis of Economic Traits of Korean Native Livestock

진 주 산 업 대 학 교
축 산 기 술 연 구 소

농 립 부

636.0821
L293h

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “High-Resolution banding에 의한 주요 재래가축의 표준핵형 설정과 염색체 변이 분석”과제 (협동과제 “축종별 경제능력 분석과 염색체 변이간의 연관 구명”)의 최종보고서로 제출합니다.

2000 . 10 . 20 .

주관연구기관명: 진주산업대학교	협동연구기관명: 축산기술연구소
총괄연구책임자: 손 시 환	협동연구책임자: 권 오 섭
연 구 원: 문 점 동	연 구 원: 최 진 성
연 구 원: 문 여 황	연 구 원: 유 충 현
연 구 원: 오 석 두	연 구 원: 상 병 돈
연 구 원: 이 재 익	연 구 원: 최 철 환
연 구 원: 류 은 경	연 구 원: 김 학 규
	연 구 원: 강 보 석
	연 구 원: 진 현 주
	연 구 원: 박 응 우
	연 구 원: 서 강 석
	연 구 원: 이 수 찬

요 약 문

I. 제 목

High-Resolution banding에 의한 주요 재래가축의 표준 핵형 설정과 염색체 변이 분석



II. 연구개발의 목적 및 중요성

축산분야에 있어 국제경쟁력 제고를 위한 기술력 향상에는 우선적으로 각 축종에 대한 우수한 유전자원의 확보가 선행되어야만 하고 이를 토대로 한 종축의 육종과 개량이 행하여져야 한다. 이들 중 한우와 유우에 있어서는 보유하고 있는 유전자원의 정확한 검정이나 선발 체계 및 선발 축군의 보급 체계가 상대적으로 미흡한 실정이고, 양돈분야에 있어서 종돈의 개량은 품종별 도입단계를 거쳐 최근 계통조성사업을 시도하고 있는 실정이나 아직은 보유하고 있는 유전자원을 제대로 활용하지 못하고 있으며, 양계분야에 있어서는 체계적 산업화가 된지 오랜 기간이 소요되었음에도 아직 이렇다할 국산 종계를 보유하지 못한 실정이다. 더욱이 한우를 비롯한 재래돼지, 재래닭 등 한국 고유의 재래가축에 대해서는 정확한 유전정보를 알지 못함에 따라 이들의 개량 목표가 뚜렷하지 못하고, 이에 따른 활용 대책이 미흡한 형편이다. 이러한 여러 상황들을 감안할 때 우선 재래가축의 유전적 특성 파악이 선행되어야 하겠고, 이들에 대한 선발 및 체계적 육종 계획이 시급히 이루어져야 할 과제라 하겠다.

따라서 본 과제에서는 국내 고유 재래 가축들의 유전자원 확보

의 일환으로 고분염분석(high-resolution banding) 방법에 의한 한우 및 재래돼지, 재래닭의 표준핵형(standard karyotype) 설정과 염색체 표지들을 발굴하고, 더불어 이들 가축들에 대한 외모적 특성 및 일반 생산 능력도 분석하여 재래 가축들에 대한 유전적 기초 자료를 제공하고 자 한다.

III. 연구개발 내용 및 범위

본 연구에서는 한우 및 재래돼지, 재래닭의 유전적 기초 자료를 확립하고 자 재래 가축들의 표준 핵형을 설정하고 이들 가축들의 외모적 특성과 일반 능력을 분석 제시하였다. 따라서 각 재래 가축들의 표준 핵형 설정을 위하여 새로운 고분염분석(high-resolution banding)방법을 적용하여 기존의 중기상(metaphase chromosome) 뿐만 아니라 전중기(prometaphase chromosome) 및 전기상(prophase chromosome)에 대한 염색체의 형태적 양상을 비교 분석하고, 이들의 G, C-banding양상의 분석으로 재래 가축들의 염색체 표지를 구명하였다. 또한 재래 가축으로 확보되어 염색체 분석에 공시된 개체들의 외모적 특성과 일반 생산 능력들도 조사 분석하였다.

1. 염색체의 분리 분석 기술의 개발

1) 백혈구 배양법을 이용한 고분염 염색체의 분리

본 연구에서는 축우, 돼지 및 가금의 혈액세포 배양으로부터 고분염 염색체 분리 분석을 위한 최적의 방법을 개발하고, 또한 각 실험단계별 야기될 수 있는 여러 문제점들에 대하여 분석 제시하고 자

한다.

2) 초기배자를 이용한 고분염 염색체 분리

본 연구에서는 닭의 초기 배자를 이용한 고분염 염색체의 분리 방법을 개발하고, 한편으로 혈액 배양 등을 이용한 배양 세포들의 염색체 분리 방법과 비교 분석하고자 한다.

2. 재래가축들에 대한 염색체 표준 핵형 설정

본 연구에서는 각 재래가축들에 대한 염색체의 동원체 지수와 상대적 길이를 분석하므로써 각 종의 염색체의 표준 양상을 제시하고, 또한 한우, 재래돼지, 재래닭과 각 축종별 대조 품종간의 동원체 지수와 상대적 길이를 비교 분석하므로써 품종 간의 차이를 구명하고자 한다.

3. 재래가축별 GTG-banding 및 High-Resolution banding 양상의 분석과 분염 표지의 설정

한우, 재래돼지, 재래닭 및 각 축종별 대조 품종에 대한 High-Resolution banding 양상을 분석하고, 각 축종에 대한 염색체의 분염 표지(band marker)를 설정하고자 한다.

4. 재래가축별 C-banding 양상의 분석과 heterochromatin 다형현상 분석

High-Resolution culture에 의한 재래 가축의 C-banding 양상을 분석하여 종 별 heterochromatin의 양과 위치를 구명하고자 한다. 한편으로 재래가축들에 대한 C-band의 다형현상(polymorphism)도 살펴보고자 한다.

5. 재래가축의 외모적 특성 및 생산능력 분석

축산기술연구소에서 후대검정중인 한우 및 재래가축 복원 사업으로 수집 육성중인 재래돼지와 지난 10여년간 계통 조성중인 재래닭을 공시하여 이들의 외모적 특성을 조사하고, 축종별 여러 경제형질들을 분석 제시하고자 한다.

IV. 연구개발결과 및 활용에 대한 건의

1. 고정도분염법에 의한 한우의 표준핵형 설정과 염색체 변이 분석

본 연구에서는 고분염분석방법을 이용하여 한우의 표준 핵형을 설정하고 이들의 생산능력을 분석 제시하였다. 현재 축산기술연구소에서 후대 검정중인 한우 후보종모우 119두를 대상으로 각 개체별 혈액 배양법으로 염색체를 분리하고, 핵형분석은 기존의 중기상 뿐만 아니라 전중기 및 전기상에 대한 염색체의 형태적 양상과 G, C-banding 양상을 분석하였으며 대조 축종으로 Holstein종과의 비교 분석도 수행하였다. 이들에 대한 결과는 다음과 같다.

- 1) 혈액 배양으로부터 고 분염 중기상의 유도는 다양한 중기상 억제 물질을 사용한바 colcemid, ethidium bromide(EtBr) 및 methotrexate(MTX)의 방법중 전기와 전중기상의 유도는 EtBr과 MTX의 처리구에서 큰 차이가 없는 것으로 나타났지만, 염색체의 형태적 양상과 처리 조건 등을 감안 할 때 EtBr 처리 후 짧은 시간동안 colcemid를 처리하는 것이 고 분염 염색체를 유도하는데 가장 바람직한 방법으로 나타났다.
- 2) 한우 염색체의 형태적 특징은 58개의 상염색체의 경우 동원체가

거의 말단에 있는 acrocentric chromosomes였고, X 염색체는 거의 1번 염색체 크기인 submetacentric chromosome이며, Y는 가장 짧은 metacentric chromosome이었다. 이러한 한우 염색체의 형태적 특징이나 수는 다른 축우 품종과 동일한 결과로서 품종 특이적 염색체구성의 차이는 없는 것으로 나타났다.

3) 한우의 G-banding양상은 중기상에서 300여 개의 band가 분석된 반면 전기상에서는 540여개의 band가 분석되었다. 이러한 band양상은 미세한 sub-band의 분석을 용이하게 하고, 염색체 이상양상과 유전자 지도 작성에 필수적인 것으로 본 연구에서는 한우의 전기상을 이용하여 landmarks와 regions을 설정하고 이를 재래 축우인 한우의 G-분염 표지로 제시하였다.

4) 한우의 C-bands는 상 염색체의 경우 동원체 주위에 나타나고, 성염색체 X, Y의 경우 매우 다양한 변이 양상을 보인다. Heterochromatin의 상대적 분포양상을 알기 위한 C-banding 분석에서 한우의 heterochromatin은 염색체당 13~27%의 함유율을 보이고, 대형염색체보다 소형염색체에서 heterochromatin의 함량이 상대적으로 증가하였다. 이들 품종간에 C-banding의 양적 차이를 분석한 바, 한우에 비해 Holstein종의 heterochromatin의 양이 모든 염색체에서 많은 것으로 나타났다.

5) 한우 염색체의 표준 표지 설정을 위하여 Holstein 및 가축국제표준핵형(ISCNDA, 1990)의 G-분염 표지와 비교 분석한바 각 염색체별 sub-band의 미미한 차이를 볼 수 있었고, 특히 10번과 12번 염색체의 경우 한우 염색체에서 두드러진 band 수의 증가를 보였다. 이러한 품종간 각 염색체별 분염 표지의 차이점을 비교 분석하고, 한우 염색체의 특징적 분염 양상을 제시함으로써 이를 재래 한우의 유전

적 표지의 기초자료로 제공하고 자 한다.

6) 한우의 외모적 특징은 황갈색 단일 모색으로 육용우의 특성을 지니도록 개량되어가고 있는 상황이다. 한우의 각 경제형질에 있어 생시체중은 23kg, 22개월 체중 542kg, 일당증체량 0.9kg, 도체율 59%로 분석되었으며 이들에 대한 유전력은 0.14, 0.35, 0.19 및 0.50으로 각각 추정되었다.

2. 고정도분염법에 의한 재래돼지의 표준핵형설정과 염색체 변이분석

본 장에서는 축산기술연구소에서 선발 육종중인 재래돼지 종모돈 50두를 대상으로 각 개체별 혈액채취로서 새로운 고분염분석방법을 적용하여 재래 돼지의 표준 핵형을 설정하고 또한 재래돼지의 형태적 특성 및 일반 능력을 분석 제시하였다.

1) 혈액 배양으로부터 고 분염 증기상의 유도를 위하여 colcemid, EtBr 및 MTX를 이용하였고 최적의 증기상 유도 방법으로서는 세포들을 적절히 동기화 시키고 염색체의 응축을 최소화할 수 있는 EtBr의 처리가 필수적이며, 유도된 염색체의 수율을 높이기 위하여 이후 약 50분~1시간 30분정도의 colcemid의 처리가 효과적임을 나타내었다.

2) 재래돼지의 핵형양상은 $2n=38$ 로서 5쌍의 submetacentric chromosomes(Group I), 짧은 단완을 가진 2쌍의 acrocentric chromosomes(Group II), 5쌍의 metacentric chromosomes(Group III) 및 동원체가 말단부에 있는 6쌍의 acrocentric chromosomes (Group IV)로 구성된 36개의 상 염색체(autosomes)와 metacentric 인 X, Y 성 염색체로 구성되어 있음을 알 수 있었으며 품종간 염색체의 수 및 형태적 차이는 없는 것으로 나타났다.

3) 재래돼지의 G-banding양상은 거의 모든 염색체의 동원체 부위가 염색되지 않는 특징과 더불어 상 염색체의 대부분은 central negative band양상을 보이고 반면 X 염색체는 central positive band를 보이며, Y는 p-arm에서만 central positive band가 나타난다. 이러한 landmarks는 돼지의 국제표준핵형 양상과 거의 일치되는 것이나 본 연구에서 고분염분석 처리 결과 중기상에서 약 230여개의 band이든 것이 전기상에서는 370여개로 보다 정밀한 band 양상을 얻을 수 있었다. 이상의 분석 결과를 토대로 재래돼지의 각 염색체별 G-band landmarks를 제시하였다.

4) 재래돼지는 거의 모든 상염색체의 동원체 부위에 heterochromatin의 발현 양상을 나타내고 있으며 Group간에 뚜렷한 분포율의 차이를 보이고 있는 바 Group IV의 경우 10%이상의 heterochromatin양상을 보인 반면 Group I의 경우 4%이하의 분포율을 나타내었다. 반면 X 염색체의 경우는 동원체 부위에 3~5% 정도의 heterochromatin 분포율을 나타내고 있으나, Y염색체는 동원체를 포함한 p, q-arm의 전장에 걸친 heterochromatin의 발현 분포양상을 보이며 개체간 혹은 종간 심한 다형 양상을 나타내고 있다. 한편 Group IV(13번~18번)의 대부분의 염색체에서도 heterochromatin의 다형현상을 나타내고 있는 바 세포간, 개체간 품종간 다형성을 나타내고 있으며, 재래돼지와 Landrace간에는 8번, 9번, 18번 및 Y 염색체에서 heterochromatin 함유율의 유의적인 차이를 보였다.

5) 재래 돼지의 외모형태에서 모색의 흑색 발현율은 66.3%, 비단흑색 77.4%, 귀모양이 직립이며 상향인 것이 59.1%이었다. 생산능력에 있어서 총산자수는 7.1두이었고, 수태지의 일당중체량, 등지방두께, 사료효율은 각각 449g, 1.69cm 및 3.95이었고 암돼지는 각각 416g, 1.91

cm 및 4.18이었다. 수컷의 도체중과 도체율은 55.0kg, 70.7%이었고 정육율 66.0%, 적육율은 42.4%이었으며, 암컷의 도체중 및 도체율은 52.5kg, 76.5%, 정육율 66.0%, 적육율은 43.8%이었다. 육질에서는 암컷이 수컷에 비해 보수력, 다즙성, 연도 및 향미가 우수하였다.

3. 고정도분염법에 의한 재래닭의 표준핵형 설정과 염색체 변이 분석

본 연구에서는 고유 재래계에 대한 형태적 특성 및 생산능력들을 조사 분석하여 정립된 한국 재래계에 대한 고정도 분염법으로 염색체의 표준 표지를 설정하고 자 하였다. 공시계로서는 진주산업대학교 동물사육장 및 축산기술연구소에서 사육 중인 품종 검정을 완료한 재래닭 300수 및 대조 품종으로 Leghorn종을 대상으로 하고 이들의 혈액 및 초기 배자로부터 고정도 염색체의 분리기법 개발, G-분염 표지의 설정, C-banding을 이용한 염색체내 heterochromatin site의 분석 및 다형성의 검증을 수행하였다. 본 연구의 결과는 다음과 같다.

1) 닭의 혈액 배양으로부터 최적의 고정도 염색체의 유도 방법으로서 MTX 처리후 5시간 정도의 thymidine 처리가 세포들을 가장 적절히 동기화시키고 이후 짧은 colcemid의 처리가 염색체의 응축을 최소화할 수 있는 최적의 방법인 것으로 사료된다. 한편 닭의 초기배자로부터 고정도 염색체의 분리 방법으로는 EtBr을 배양 종료 2.5시간 전에 처리 한 후 colchicine을 60분간 처리하는 것이 전기상의 수가 가장 많이 유도되었으나, 전, 중기의 유도율 및 염색체의 형태적 양상을 고려할 때 EtBr을 배양 종료 2시간 전에 처리하고 colchicine을 60분간 처리하는 것이 가장 바람직한 양상을 보였다.

2) 재래닭 염색체는 약 8쌍 정도의 대형염색체(macrochromosomes)와 31쌍 정도의 소형염색체(microchromosomes)로 구성되어 총 78개의 염색체로 구성되고, 1번 염색체는 가장 긴 metacentric chromosomes이고, 2번은 그 다음 크기인 submetacentric, 3번, 5번 및 7번은 거의 p-arm이 없는 acrocentric이며, 4번은 다소 p-arm이 있는 acrocentric chromosomes이다. 한편 성 염색체인 Z, W와 8번 염색체는 장완과 단완의 길이가 비슷한 metacentric chromosomes이었다. Leghorn과의 염색체의 형태적 차이는 없는 것으로 나타났다.

3) 고정도 분염법에 의한 재래계 대형염색체들에 대한 평균 출현 band수는 150여개로서 관행적인 GTG-banding에 의한 80개의 band 보다는 약 70여개정도 많은 band양상을 보였다. 재래계와 White Leghorn 공히 본 연구에서 분석된 G-분염 표지가 국제표준핵형에서 제시한 분염표지 보다 훨씬 많음을 알 수 있었는데 이는 본 연구에서 개발된 고분염분석법이 banding의 분석에 보다 효과적임을 시사하는 것이다. 닭의 대형염색체의 G-band양상에 있어서는 재래계와 White Leghorn간에 차이가 없는 것으로 보여진다.

4) C-banding분석 결과 재래계의 거의 모든 염색체의 동원체 부분과 대형염색체의 말단부위에 이의 발현을 나타내었다. 그러나 발현 양상에 있어 개체간 혹은 동일 개체의 세포간에도 발현의 다형양상을 나타내고 있는 바, 특히 Z염색체의 말단과 3번 염색체의 동원체에서는 상동염색체간에도 C-band의 다형성을 나타내었다. 한국재래계와 White Leghorn간 대형염색체 상의 C-bands의 출현빈도를 비교분석한 바 거의 대부분의 상 염색체의 경우 레그혼이 재래계에 비해 상대적 C-band의 출현율이 낮음을 알 수 있었고, 다형양상의 빈도에서 많은 차이가 있었다.

5) 재래닭의 외모 특징으로 수탉은 머리와 목 깃털은 황갈 또는 적갈색, 어깨 빛 등은 암적갈 또는 흑색, 가슴과 다리는 적갈 또는 흑색, 복익우는 녹흑색 띠, 부익우는 적갈색 또는 흑색, 주익우 끝은 흑갈색 또는 흑색, 꼬리는 녹흑색 띠를 가지고 있으며, 암탉은 회갈색으로 깃털마다 검은 줄무늬, 꼬리는 흑색, 등 및 날개는 회갈색의 바탕에 흑조가 보통이나 때로는 은회색의 바탕에 흑조도 있다. 한국재래닭 원종계의 육성기 능력으로 육성율은 95.2~97.8%, 수탉의 8주령 체중은 630g, 20주령 체중은 2,040g으로 암탉보다 20~30% 높다. 산란기 능력으로서 초산일령은 평균 164일, 산란율은 56%, 난중은 47g, 사료 요구율은 3.4정도로서 매우 저조한 산란 능력을 보이고 있다.

4. 연구개발 결과에 따른 활용 방안

- 1) 고유 재래가축인 한우, 재래돼지, 재래닭에 대한 외모적 형태 양상, 생산능력 등을 제시하므로 품종 정립의 유전적 기초자료를 제공
- 2) 고분염분석에 의한 한우, 재래돼지, 재래닭의 염색체 표지를 제공함으로써 재래 가축의 유전적 표지 확립
- 3) 각 축종별 유전자지도 작성의 기반을 제공함.
- 4) 각 축종의 염색체 표지인자의 활용으로 분자유전학적 연구의 기초 자료로 제공
- 5) 종내 개체간에 일어날 수 있는 heterochromatin의 다형성을 구명함으로써 특정형질과의 연관 가능성 검토
- 6) 본 유전적 기초 자료를 종축 개량 기관(축산기술연구소, 축협산하연구소, 종축개량협회 등)에 기술이전으로 함으로써 재래 종축의 선발 및 검정 수단으로 활용케 함

SUMMARY

I. Title

The identification of standard karyotypes and chromosomal markers of Korean native livestock by high-resolution banding technique

II. Objectives and Significances of the Research and Development

To improve international competitiveness of animal industry, genetic resources of animal are secured and then adequate breeding and raising are achieved. In Korean cattle and dairy cattle, we have insufficient genetic informations which include breeding value and selection scheme. In pig and chick industry, we have not our pure line or strains even though the mating system has been established. To produce commercial pig and chick, imported parent stock is used in Korea. In addition, the genetic informations of Korean cattle, Korean native pig and Korean native chick were very short. Therefore we couldn't plan the breeding scheme for Korean native livestock. Above all, we have to understand the genetic characteristics of Korean native livestock and then make plan the selection and mating system.

To obtain the genetic information of Korean native livestock,

the karyotyping of Korean cattle, Korean native pig and Korean native chick were performed by high-resolution banding technique. Chromosomal band markers were also analyzed by this technique. On the other hand, the patterns of appearance was investigated and economic traits were analyzed on Korean native livestock.

III. Contents and Scope of the Research and Development

This study was to obtain the genetic informations of Korean cattle, Korean native pig and Korean native chick. Therefore we propose the standard karyotypes and phenotypical characteristics of Korean cattle, Korean native pig and Korean native chick. Using the high-resolution banding technique, morphological patterns and G, C-banding patterns of prophase, prometaphase and metaphase chromosomes were analyzed. The patterns of appearance and productivity on Korean native livestock were also analyzed.

1. Methodology of chromosome preparation

1) High resolved chromosome preparation from lymphocyte culture

This study was carried out to seek the best method of high resolved chromosome preparation from blood culture on Korean cattle, Korean native pig and Korean native chick.

2) High resolved chromosome preparation from chick embryos

This study was carried out to develop the method of chromosome preparation from chick embryos. To obtain high resolved chromosomes from chick embryos, the inhibitors of chromosome condensation were injected into chick embryo culture.

2. Standard karyotyping of Korean native livestock

The standard karyotypes were presented by analysis of centromeric index and relative length in Korean cattle, Korean native pig and Korean native chick.

3. G-band markers of Korean native livestock by high-resolution banding technique

Using high-resolution banding technique, the G-band markers of Korean cattle, Korean native pig and Korean native chick were analyzed.

4. C-banding patterns and heterochromatin polymorphism of Korean native livestock

C-banding patterns of Korean cattle, Korean native pig and Korean native chick were analyzed by high-resolution banding technique. Heterochromatin polymorphism were also analyzed by C-banding.

5. The appearance and economic traits in Korean native livestock

The patterns of appearance were investigated and economic traits were analyzed in Korean cattle, Korean native pig and Korean native chick

IV. Results and Their Utilization Plans

1. The standard karyotype and chromosomal marker of Korean cattle by high-resolution banding technique

Using the high-resolution banding technique, karyotyping for Korean Cattle was performed from peripheral blood cells. Blood samples were collected from 119 male cattle that had been stationed at the National Livestock Research Institute for progeny test. For a comparative study, bloods were also obtained from Holstein bulls. Chromosomal morphology and G-, C-banding patterns of the chromosome at prophase, prometaphase and metaphase were analyzed. The results were as follows;

1) To obtain high-resolved chromosomes, an optimum condition for mitotic arrest was established during blood cultures in the presence of colcemid, ethidium bromide(EtBr) or methotrexate (MTX) alone or in combination for variable durations. Both EtBr and MTX effectively arrested the cell cycle at the prophase and prometaphase to a similar extent, colcemid being the least effective. By contrast, treatment with EtBr for 2.5 hours followed by colcemid for 30 minutes rendered the best chromosomal

morphology for high-resolution banding.

2) All the 58 autosomes of Korean cattle had almost a zero value of centromeric index, indicating that they are acrocentric; sex chromosomes X and Y were submetacentric and metacentric, respectively. Chromosomal number and the morphology of individual chromosomes of Korean cattle were not different from those of other breeds that had been reported.

3) Prophase and metaphase chromosomes rendered 540 and 300 G-bands per haploid, respectively, with variable band intensity. In particular, the yield of G-bands of prophase is much greater than can be obtained by a conventional method. Accordingly, prophase chromosomes were used for the identification of chromosomal landmarks and regions and also for the establishment of a standard karyotyping for Korean cattle.

4) Autosomes exhibited the C-band on or near the centromere, whereas sex chromosomes had variable numbers of them on variable sites. The proportion of constitutive heterochromatin, ranging 13-27%, increased with decreasing chromosomal length and also with increasing chromatin condensation. Moreover, the heterochromatin ratio of Korean cattle was significantly less than that of Holstein in all chromosomes.

5) Korean cattle had a few G-bands on chromosome 10 and 12 that were not present in Holstein or ISCNDA standard, but more study is needed to determine whether these could be used as Korean cattle-specific chromosomal markers.

6) Korean cattle had a yellowish color hair. The shape of body is changed as meat type cattle. In the investigation of economic traits, the birth weight, weight on 22 month, average daily gain and carcass rate were 23kg, 542kg, 0.9kg and 59%, respectively. The estimation of heritabilities of this economic traits were 0.14, 0.35, 0.19 and 0.50 respectively.

2. The standard karyotype and chromosomal marker of Korean native pig by high-resolution banding technique

Standard karyotype of Korean native pig was presented by high-resolution banding technique. Blood samples were collected from 50 male pig that have been raised at National Livestock Research Institute. The patterns of appearance and economic traits were also analyzed. The results were as follows;

1) To investigate the optimum condition of high resolved pig chromosome preparation, colcemid, ethidium bromide and methotrexate were used in blood culture. EtBr followed by colcemid for 50 minutes to 1.5 hours was effective in arresting cell cycle at prophase and prometaphase.

2) The karyotype of Korean native pig was 38, XX or 38, XY. The morphological patterns of Korean native pig chromosomes were metacentric(Group III, X and Y chromosome), submetacentric(Group I) and acrocentric(Group II & IV). There were no significant difference between Korean native pig and Landrace in the number of chromosomes and chromosomal

morphological pattern.

3) In G-banding patterns of Korean native pig, all of autosomes had central positive bands on p, q-arms and a negative band on centromere. But X chromosome had central negative bands on p, q-arms and Y had a central positive band on p-arm. These landmarks were very similar to the International Karyotype of Domestic pig(1988) and Landrace. The yield of G-bands on prophase was 370 bands by high resolution banding technique. But G-bands on metaphase was 230 bands by conventional banding method.

4) The chromosomes of Korean native pig exhibited the C-band on or near the centromere. The proportion of constitutive heterochromatin was variable among Group. In the proportion of heterochromatin, Group IV had above 10%, but below 4% in Group I. In the contents of heterochromatin on sex chromosomes, X chromosome had 3~5% and Y had about 100%. Whereas Y chromosome had variable proportion of them on variable sites. The heterochromatin ratio of Korean native pig was significantly different from Landrace on chromosome 8, 9, 18 and Y.

5) The appearance of Korean native pig was classified as coat color, nose color and patterns of ear lobe. In all of investigated Korean native pig, the ratio of black coat color, black nose and straight ear lobe was 66.3%, 77.4%, and 59.1%, respectively. In the investigation of economic traits, litter size, average daily gain, back fat thickness and feed efficiency were 7.1 pigs, 449g, 1.69cm

and 3.95, respectively in male and were 7.1 pigs, 416g, 1.91cm and 4.18, respectively in female. The carcass rate of Korean native pig was 70.7% in male and 76.5% in female. The meat quality of female was much better than that of male.

3. The standard karyotype and chromosomal marker of Korean native chick by high-resolution banding technique

To establish the standard karyotype and chromosomal marker of Korean native chick, the high resolution banding techniques were applied to chromosomes. The chromosomes were prepared from lymphocyte culture and early embryos with 300 Korean native chick which have been raised at National Livestock Research Institute. The G-, C-banding patterns and heterochromatin polymorphism were also analyzed. The results were as follows;

1) This study was carried out to develop the method of high resolved chromosome preparation from chick blood culture. To obtain high resolved chick chromosome preparation in blood culture, the methotrexate and thymidine were added during culture, and then a short time of colcemid exposure was required. In chick embryo culture, injection of ethidium bromide into air sac followed by colcemid for 60 minutes was effective in arresting cell cycle at prophase and prometaphase.

2) The Korean native chick chromosomes consisted of 8 pairs of macrochromosomes and 31 pairs of microchromosomes. In

macrochromosomes, chromosome 1, 8, Z and W were metacentric chromosomes. Chromosome 2 and 6 were submetacentric chromosomes. Chromosome 3, 4, 5, and 7 were acrocentric chromosomes. There were no significant difference between Korean native chick and Leghorn in the number of chromosomes and chromosomal morphological pattern.

3) Prophase and metaphase macrochromosomes rendered 150 and 70 G-bands per haploid, respectively. Using high resolution banding technique, the yield of G-bands of prophase is much greater than can be obtained by International Standardized Avian Karyotypes(1999). Accordingly, prophase chromosomes were used for the identification of chromosomal landmarks and regions and also for the establishment of a standard karyotyping for Korean native chick. The G-band landmarks of Korean native chick were very similar to the International Standardized Avian Karyotypes(1999) and Leghorn.

4) Macrochromosomes exhibited the C-band on or near the centromere and distal part. But existence of heterochromatin on macrochromosomes was very variable in quantity and sites among individual and cells. Especially chromosome Z and 3 had C-band variants with heteromorphic patterns on distal and centromeric site. The proportion of constitutive heterochromatin, the heterochromatin ratio of Korean native chick was significantly more than that of Leghorn in all chromosomes.

5) The appearance of Korean native chick was mainly classified

as feather color. Male had yellowish or reddish feather on the head and neck and had dark reddish or black feather on the shoulder and back. In contrast with male, female had a light brown feather over their body. In the productivity of male on growing period, viability, body weight on 8 weeks and body weight on 20 weeks were 95.2~97.8%, 630g, and 2040g, respectively. In the productivity of egg production, age of sexual maturity, hen day egg production, egg weight and feed efficiency were 164 days, 56%, 47g/cm and 3.4, respectively.

4. Utilization plans

- 1) We suggest that the genetic informations such as phenotypic appearance and productivity in Korean cattle, Korean native pig and Korean native chick are very useful tool for identification of Korean native livestock.
- 2) Using high resolution banding technique, we propose the standard karyotypes and G-band markers of Korean cattle, Korean native pig and Korean native chick.
- 3) The high resolved standard karyotypes of Korean native livestock are necessary in chromosome mapping.
- 4) G, C-band markers are helpful for the study of molecular genetics on Korean cattle, Korean native pig and Korean native chick.
- 5) We suggest that the heterchromatin polymorphism is the indicator for the identifying breeds and individuals.

6) According to these techniques are transferred to the some animal breeding institute, these techniques are used as the tools of selection and testing for the Korean native livestock.

CONTENTS

CH 1. Indroduction	25
1. Objectives and significances	25
2. Contents and scope	30
CH 2. The standard karyotype and chromosomal marker of Korean cattle by high-resolution banding technique	36
1. Introduction	36
2. Materials and method	38
3. Results and discussion	39
CH 3. The standard karyotype and chromosomal marker of Korean native pig by high-resolution banding technique	84
1. Introduction	84
2. Materials and method	86
3. Results and discussion	89
CH 4. The standard karyotype and chromosomal marker of Korean native chick by high-resolution banding technique	125
1. Introduction	125
2. Materials and method	127
3. Results and discussion	131
References	163

목 차

제 1 장 서 론	25
제 1 절 연구개발의 목적 및 중요성	25
제 2 절 연구개발의 목표 및 내용	30
제 2 장 고정도분염법에 의한 한우의 표준핵형 설정과 염색체 변이 분석	36
제 1 절 서 설	36
제 2 절 재료 및 방법	38
제 3 절 결과 및 고찰	39
제 3 장 고정도분염법에 의한 재래 돼지의 표준핵형 설정과 염색체 변이 분석	84
제 1 절 서 설	84
제 2 절 재료 및 방법	86
제 3 절 결과 및 고찰	89
제 4 장 고정도분염법에 의한 재래 닭의 표준핵형 설정과 염색체 변이 분석	125
제 1 절 서 설	125
제 2 절 재료 및 방법	127
제 3 절 결과 및 고찰	131
참 고 문 헌	163

제 1 장 서 론

제 1 절 연구개발의 목적 및 중요성

1. 기술적 측면

축산분야에 있어 국제경쟁력 제고를 위한 기술력 향상에는 우선적으로 각 축종에 대한 우수한 유전자원의 확보가 선행되어야만 하고 이를 토대로 한 종축의 육종과 개량이 행하여져야 한다. 이들 중 한우와 유우에 있어서는 보유하고 있는 유전자원의 정확한 검정이나 선발 체계 및 선발 축군의 보급 체계가 상대적으로 미흡한 실정이고, 양돈분야에 있어서 종돈의 개량은 품종별 도입단계를 거쳐 최근 계통조성사업을 시도하고 있는 실정이나 아직은 보유하고 있는 유전자원을 제대로 활용하지 못하고 있으며, 양계분야에 있어서는 체계적 산업화가 된지 오랜 기간이 소요되었음에도 아직 이렇다할 국산 종계를 보유하고 못한 실정이다. 더욱이 한우를 비롯한 재래돼지, 재래닭 등 한국 고유의 재래가축에 대해서는 정확한 유전정보를 알지 못함에 따라 이들의 개량 목표가 뚜렷하지 못하고 이에따른 활용 대책이 미흡한 형편이다. 이러한 여러 상황들을 감안할 때 우선 재래가축의 유전적 특성 파악이 선행되어야 하겠고, 이들에 대한 선발 및 체계적 육종 계획이 시급히 이루어져야 할 과제라 하겠다.

각 품종에 대한 유전적 표지인자(genetic marker)의 구명은 품종 및 계통의 강력한 선발 수단으로서 뿐만 아니라 개체의 인지와 나아가 경제형질과 연관된 능력의 양부(良否)까지도 분석 가능할 것으로 사료되어 최근 여러 방법적 접근을 모색하고 있다. 이들 중 세포적 차원에서 유전물질을 직접 확인하고 조작하고 자 하는 세포 유

전학(cytogenetics)의 발달과 유전물질들을 DNA수준에서 인위적으로 조절하는 분자유전학(molecular genetics)의 발달이 급속히 진행되어 이러한 기술들을 이용한 가축의 유전적 표지인자 구명에 적극 활용하고 자 하는 시도가 활발히 추진되고 있다. 유전물질의 총합체인 염색체의 연구는 1970년대 이후 급속도로 이루어지면서 DNA구성에 따라 나타나는 다양한 형태의 분염기술(banding)이 발전하게 되어 이들로서 상동염색체의 인지, 염색체의 구조적 이상 유무의 식별 및 유전자 지도 작성을 위한 land marker의 설정 등에 성공적으로 활용되고 있다. 그러나 아직까지 우리나라에서는 세포유전학적 기술의 도입으로서 육종학적 개량에의 적용도는 매우 미흡한 상태이다.

최근 분자유전학적 기술의 급속한 발달에 힘입어 세포적 차원에서 특정 분자의 위치 구명이나 연관 지도와 물리적 염색체 지도의 조밀 작성을 위해 기존 염색체 분리 방법 보다는 월등히 개선된 정밀한 세포유전학적 기술을 요구하고 있다. 기존 염색체의 분리에 따른 band양상은 중기 상태의 염색체를 유도하여 분석함에 따라 염색체의 응축으로 인하여 상대적으로 짧기 때문에 그리 많지 않은 band가 출현한다. 따라서 긴 염색체를 인위적으로 유도할 수 있다면 보다 많은 band의 발현을 기대할 수 있고, 보다 정밀한 염색체의 분석을 수행할 수 있을 것이다. High-Resolution banding이란 이를 위해 세포분열 시기 중 전기(prophase) 혹은 초기중기(prometaphase)상태의 염색체 상을 유도하여 band를 분석하는 것으로 실제적으로 훨씬 많은 band수와 미세한 염색체의 구조적 결실과 같은 분석까지 가능하게 한다. 최근 사람의 염색체 연구에 있어서는 이와 같은 분염법에 의한 수 많은 새로운 결과들이 도출되고 있으며, 1995년에는 사람의 염색체에 대한 국제 표준 명명법으로 High-Resolution banding에 의

한 band의 land marker를 공식적으로 채택하였다(ISCN, 1995). 반면 지금까지 가축에 있어서 이러한 분석법의 보고는 양(Kaftanovskaya and Serov, 1992)과 돼지(Yerle et al., 1991)에 대한 시도만이 있을 뿐으로서 앞으로의 유전적 표지의 설정이나 유전자 지도의 작성을 위해 보다 시급하게 이루어져야 될 과제로 생각된다.

2. 경제·산업적 측면

UR타결과 새로운 국제무역질서인 WTO 체제의 출범 이래 국제경쟁력 강화에 대한 수많은 대응책들이 소개된 바 있으나 기술력의 향상 이외에는 별 다른 획기적 방안이 강구되지 못한 실정이다. 특히 축산분야에 있어서 수입개방이 이미 시작된 상황에서 실질적 기술 경쟁력 수준은 그리 낙관적이라 할 수 없겠다. 현재 국내에서 생산되는 가금육과 한우, 젓소, 돼지를 생산하는데 드는 비용은 선진 외국에 비해 가금육은 1.5~2배, 한우와 젓소의 경우 약 4~5배가 높으며, 돼지의 경우 약 1.5배 정도가 높아 시장개방에 따른 국내 축산업은 경쟁력 면에서 큰 도전을 받고 있다. 따라서 농업 총 생산중 차지하는 비중이 30%에 육박하는 축산업의 위치에서 향후 지속적인 산업의 안정성을 확보하기 위해서는 종축의 개량을 통한 생산성 향상 및 고품질의 유전적 자질 개발이 절대적으로 필요하다 하겠다.

그러므로 앞으로의 종축 산업은 효율적인 육종 체계의 확립과 개량속도를 조기에 가속화할 수 있는 전략으로써, 가축의 계통 분석을 통한 유용 표지인자의 개발과 경제형질이나 질병 등에 관련된 유전자나, 중간 또는 계통간 유전적 표지인자의 개발이 요구되어진다. 이러한 기술 개발은 산업적으로 인간의 요구에 맞는 고품질 축산물의 대량생산을 가능하게하고 따라서 고부가 가치의 상품 생산으로서

농가에 막대한 경제적 이익을 줄 수 있을 것이다. 뿐만 아니라 성공적으로 개발된 각 축종의 유전적 표지는 지적 재산권 확보를 통한 경제적 이득을 얻을 수 있고, 국내 유전자원 보존과 개발기술을 향상시켜 가축산업외의 국내 생물산업의 경쟁력 또한 제고할 수 있다 하겠다.

3. 사회·문화적 측면

기존의 사회적 산업구조에서 축산업은 실질적인 산업발전을 위한 기술개발에 많은 노력이 기울여지지 않았으며, 외국의 연구개발에 의한 종축개량 기술과 사양기술 등을 여과없이 받아들이고, 한편으로 국가의 정책적 지원이 미진한 가운데 국내 축산업의 국제적 격차가 벌어지는 결과를 초래하였다. 그러나 최근 이러한 어려움을 극복하고자 정부 및 관련기관의 부단한 노력이 경주되고 있는 바 보다 근본적이고 적극적인 개발정책이 제시되고 있고, 한편으로 학계 등에서 관련 연구 활동도 매우 활발히 추진하고 있다. 즉, 기존의 기술위주의 개발정책의 부재에서 첨단기술이 접목되는 국가산업으로 육성하고자 하는 것으로서 많은 잠재력을 실현하기 위한 노력들이 더욱 가시화 되고 있는 것이다. 이러한 시점에서 종축산업, 즉 유전자원의 개발산업이 외국에 의해 완전히 종속되고서는 절대적으로 산업적 자립내지는 지속적 유지 발전이 불가능하게 된다. 이러한 취약한 부분에 대한 돌파구로서는 최근 많은 발전을 거듭하고 있는 세포 및 분자유전학적 첨단 기술들을 국내종축산업에 직접 접목하여 새로운 가능성 있는 산업으로 자리하여 미래 생물산업에 기초적 우위를 점하도록 하고, 또한 유용한 유전자원 개발의 모태가 되도록 하여야 할 것이다. 따라서 현재의 여러 여건을 고려하여 종축개량에 필요한 세포유

전학적 기술과 분자유전학적 기술이 빠른 시일내에 확보되어야 하며 이를 위해서는 여러 연구자 간의 공감대의 형성과 유기적 연계가 이뤄져야 할 것이다. 이러한 토대를 조성하기 위해서는 우선 학계 및 관련 연구 기관과의 공동연구가 진행되어야 하며 가장 우선적으로 재래가축을 중심으로 주요 경제 가축들의 유전적 표지의 개발이 중점적으로 이루어진 후 유전자개발의 기본도구로써 유전자 지도작성이나 특정형질에 관련된 유용유전자의 발굴이 시작되어야 하겠다.

제 2 절 연구개발의 목표 및 내용

1. 연구개발의 최종목표

- ① 각 축종별 염색체 분리 분석기술의 개발
- ② 국내 대표적 재래가축인 한우, 재래돼지 및 재래닭 염색체의 표준 핵형 분석
- ③ 한우, 재래돼지 및 재래닭의 G-banding양상 분석과 G-band 표지 설정
- ④ 재래가축의 C-banding양상분석과 heterochromatin 다형현상 분석
- ⑤ High-resolution banding에 의한 재래 가축별 표준 표지 설정
- ⑥ 품종 별 염색체 변이 분석
- ⑦ 재래가축의 형태적 특성 및 생산능력의 분석

2. 연차별 연구개발 목표와 내용

구 분	연구 개발 목표	연구개발내용 및 범위
1차 년도 (1997년)	<ul style="list-style-type: none"> ● 공시축 확보(협동) ● 공시축의 경제 능력 조사(협동) ● 축우의 염색체 분리기법 확립 ● 한우의 표준 핵형 분석 ● 한우의 G-band양상과 G-band 표지의 설정 ● 한우의 C-banding양상과 Heterochromatin 다형성 분석 ● High-Resolution banding에 의한 한우 염색체의 표준 표지 설정 ● 염색체 변이의 특정 형질간의 연관 구명(협동) 	<ul style="list-style-type: none"> - 한우와 대조 축종으로 홀스타인종을 대상으로 공시축 확보 - 대상 개체별 경제능력 조사: 산유량, 유지율, 수정율, 체중, 증체량, 사료효율 - 소 혈액 배양법에 의한 염색체 분리기법 확립 - 염색체의 동원체 지수 및 상대적 길이 분석에 의한 표준핵형(standard idiogram) 설정 - GTG-banding에 의한 G-band표지 설정 - C-banding에 의한 heterochromatin 양상 분석과 다형현상 분석 - High-Resolution banding에 의한 한우 및 홀스타인종의 banding양상의 분석과 염색체의 표준표지 설정 - 한우와 홀스타인종간의 핵형양상 및 표준표지의 비교와 염색체 변이 분석
2차 년도 (1998년)	<ul style="list-style-type: none"> ● 공시돈 확보(협동) ● 공시돈의 경제 능력 조사(협동) ● 돼지의 염색체 분리기법 확립 ● 재래돈의 표준 핵형 분석 ● 재래돼지의 G-banding양상과 G-band 표지의 설정 ● 재래돼지의 C-banding 양상과 Heterochromatin 다형현상분석 ● High-Resolution banding에 의한 재래돼지 염색체의 표준 표지 설정 ● 염색체 변이와 특정형질간의 연관 구명(협동) 	<ul style="list-style-type: none"> - 재래돼지와 대조축으로 Landrace를 공시돈으로 확보 - 대상 개체별 경제능력 조사: 산자수, 일당 증체량, 등지방두께, 사료효율 - 돼지 혈액 배양법에 의한 염색체 분리기법 확립 - 염색체의 동원체 지수 및 상대적 길이 분석에 의한 표준핵형(standard idiogram) 설정 - GTG-banding에 의한 G-band표지 설정 - C-banding에 의한 heterochromatin 양상 분석과 다형현상 분석 - High-Resolution banding에 의한 품종별 돼지의 banding양상의 분석과 염색체의 표준표지 설정 - 품종간 핵형양상 및 표준표지의 비교와 염색체변이 분석
3차 년도 (1999년)	<ul style="list-style-type: none"> ● 공시계 확보(협동) ● 공시계의 경제 능력 조사(협동) ● 닭의 염색체 분리기법 확립 ● 재래계의 표준 핵형 분석 ● 재래계의 G-banding양상과 G-band 표지의 설정 ● 재래계의 C-banding양상과 Heterochromatin의 다형성분석 ● High-Resolution banding에 의한 재래계 염색체의 표준 표지 설정 ● 염색체 변이와 특정형질간의 연관 구명(협동) 	<ul style="list-style-type: none"> - 재래계와 대조품종으로 Leghorn종을 공시계 확보 - 대상 개체별 경제능력 조사: 산란율, 난중, 초산 일령, 체중, 사료효율 - 닭의 조직 및 세포로부터 염색체 분리기법 확립: 초기 배자를 이용한 염색체 분리기법 및 백혈구 배양법에 의한 염색체 분리기법 개발 - 염색체의 동원체 지수 및 상대적 길이 분석에 의한 표준핵형(standard idiogram) 설정 - GTG-banding에 의한 G-band표지 설정 - C-banding에 의한 heterochromatin 양상 분석과 다형현상 분석 - High-Resolution banding에 의한 닭의 품종별 banding양상의 분석과 염색체의 표준표지 설정 - 재래계와 Leghorn종간의 핵형양상 및 표준표지의 비교와 염색체 변이 분석

3. 연구 내용 및 범위

가. 염색체의 분리 분석 기술의 개발

1) 백혈구 배양법을 이용한 고분염 염색체의 분리

혈액세포를 이용한 핵형 분석은 본 연구를 위한 가장 기본적인 과정이다. 말초혈액(peripheral blood)은 생존하는 개체로부터 가장 손쉽게 용이하게 얻을 수 있을 뿐만 아니라 적절한 세포분열촉진제(mitogen)의 존재 하에서 비교적 간단한 배양방법으로 짧은 시간 내 만족할만한 증기 상을 얻을 수 있기 때문이다(손과 정, 1994). 혈액을 이용한 염색체 분리 방법은 사람에 있어 leukocyte만을 분리하여 배양에 성공한 것을 계기로 Nowell(1960)이 lymphocyte의 분열촉진제로서 PHA의 성공적인 적용과 더불어 Moorhead 등(1960)이 자연건조방법(air-drying method)을 개발함으로써 이후 급진적 발전의 기틀을 마련하였다. 한편, 백혈구만의 분리로서 배양하는 것과는 달리 전혈액(whole blood)을 그대로 배양하여 염색체 분리에 성공함으로써 미량의 혈액으로서도 염색체의 분석이 가능하여지고, 또한 백혈구만의 분리를 위한 번거로운 과정을 생략할 수 있게 되었다. 이와 같은 여러 연구의 거듭 결과 사람의 혈액으로부터 염색체 분석은 현재 거의 보편화되고 쉽게 이용되어질 수 있는 기술이라 할 수 있겠으나, 가축의 경우 각 축종별 혈액의 세포적 특성에 대한 이해의 미흡과 또한 실험적 조건의 까다로움으로 인해 만족할 만한 증기상의 수와 바람직한 염색체의 형태를 얻는데는 어려움이 많다. 따라서 본 연구에서는 여러 포유동물 및 가금의 혈액세포 배양으로부터 고분염 염색체 분리 분석을 위한 최적의 방법을 개발하고, 또한 각 실험단계별 야기될 수 있는 여러 문제점들에 대하여 분석 제시하고자 한다.

2) 초기배자를 이용한 고분염 염색체 분리

염색체의 표본은 보통 성장 중이거나 유사분열이 왕성한 조직으로부터 직접 시료를 채취하여 얻거나, 생체조직 또는 혈액을 배양시켜 얻는다. 직접 시료채취 가능한 조직들로서는 배아조직, 깃털털프가 널리 이용되고 그밖에도 골수조직, 점액낭 및 흉선조직을 들 수 있다. 가금류에 있어서는 동일 개체 당 많은 산란수와 체외 배양에 의한 부란 작업이 행해짐에 따라 배자의 취득이 포유류와 달리 손쉽게 구할 수 있고, 발생단계의 인지가 쉽기 때문에 조직 또는 세포의 선별이 보다 용이하다. 따라서 가금류의 염색체 분리는 수정란을 이용하여 직접 시료를 채취함이 보다 시간적으로 경제적으로 유리하다 할 수 있겠다. 따라서 본 연구에서는 닭의 초기 배자를 이용한 고분염 염색체의 분리방법을 개발하고, 한편으로 혈액 배양 등을 이용한 배양 세포들의 염색체 분리 방법과 비교 분석하고자 한다.

나. 축종별 염색체의 표준 핵형 설정

염색체의 형태 및 구조양상을 구명하는 하나의 방법으로서 동원체 지수(centromeric index)와 상대적 길이(relative length)의 분석이 널리 사용되고 있다. 동원체 지수라 함은 개개 염색체의 모양을 나타내는 대표적 지표로서 각 염색체의 전체 길이 중 단완(short arm)이 차지하는 백분율을 나타낸 것으로 이의 비율이 37.5~50%일 때를 metacentric chromosome, 25~37.5%를 submetacentric chromosome, 0~25%를 acrocentric chromosome으로 명명하고 있다 (Levan et al., 1964). 한편 상대적 길이라 함은 각 종의 전체 염색체 길이(genome; n) 중 개개 염색체가 차지하는 길이의 비로서 각 염색체의 크기를 나타내는 상대적 지표이다.

따라서 본 연구에서는 각 축종에 대한 염색체의 동원체 지수와 상대적 길이를 분석하므로서 각 종의 염색체의 표준 양상을 제시하고, 또한 재래가축인 한우, 재래돼지, 재래닭과 각 축종별 대조 품종간의 동원체 지수와 상대적 길이를 비교 분석하므로서 종간의 차이를 구명하고자 한다. 한편 High-Resolution 배양법에 의한 염색체와 관행적 배양법으로부터 분리된 염색체간의 동원체 지수와 상대적 길이의 비교 분석도 수행하고자 한다.

다. 축종별 C-banding 양상의 분석과 heterochromatin 다형현상 분석

염색체내 heterochromatin site만 나타낼 수 있는 C-banding을 이용하므로서 각 축종에 대한 염색체내의 gene function site를 간접적으로 알 수 있다(Comings, 1978; Comings et al., 1973). 즉 constitutive heterochromatin 부위는 일반적으로 highly repetitive DNA로 구성되어 있음에 따라 대체적으로 이 부위의 유전자는 발현되지 않는 특성을 지니는 것이다. 그러므로 heterochromatin 부위의 인지는 유전자지도 작성에 있어서 필수적인 수단이다. 따라서 본 연구에서는 각 종별 품종간에 대한 기존 C-banding방법에 의한 heterochromatin site의 분석과 더불어 High-Resolution culture에 의한 C-banding 양상을 제시하고 이들을 서로 비교 분석하고자 한다. 한편으로 여러 종들에 있어 C-band의 다형현상(polymorphism)이 품종간 또는 개체간에 나타남이 보고되고 있는 바(Sohn et al., 1995; Christensen and Smedegard, 1979; 오 등, 1990) 축종별 이에 대한 구명도 보다 명확하게 제시하고자 한다.

라. 축종별 GTG-banding 및 High-Resolution banding 양상의 분석과 표준 표지의 설정

세포적 차원에서 특정 분자의 위치 구명이나 연관 지도와 물리적 염색체 지도의 조밀 작성을 위해서는 보다 정밀한 염색체의 표준 핵형이 제시되어야만 한다. 그러므로 High-Resolution banding 분석 방법을 이용하여 보다 긴 염색체를 나타내는 유사분열 전기(prophase) 혹은 초기중기(prometaphase)상태의 염색체를 유도하고 이에 대한 band의 분석이 시급한 과제인 것으로 생각된다. 따라서 본 연구는 재래가축인 한우, 재래돼지, 재래닭 및 각 축종별 대조 품종에 대한 High-Resolution banding 양상을 분석하고, 각 축종에 대한 염색체의 표준 표지(standard idiogram)를 설정하고자 한다. 한편으로 각 축종별 염색체의 일반 G-banding양상도 분석하여 G-band 표지의 설정과 더불어 High-Resolution band와의 비교 고찰도 수행하고자 한다.

제 2 장 고정도분염법에 의한 한우의 표준핵형 설정과 염색체 변이 분석

제 1 절 서 설

축우에 대한 염색체 연구는 Gustavsson(1969)이 처음으로 축우 염색체의 형태적 표준양상을 제시한 이래, 몇몇 육우 품종 등에 대한 G-banding양상을 보고함과 더불어 이러한 분석 방법을 이용한 다양한 염색체의 이상 양상들을 보고한 바 있다(Lin et al., 1977; King, 1990). 축우에 대한 국제표준핵형의 설정은 1980년에 Reading Conference(1980)에서 제정된 바가 있으나 분석된 모든 핵형들이 기존 GTG-band를 기준으로 제시된 양상이므로 상대적으로 응축된 염색체에 대한 band양상이다. 그러므로 각 염색체에 발현된 band수가 많지 않고, 더욱이 미세 band의 식별에는 많은 어려움이 있으므로 유전자의 좌위 설정 등 보다 정밀한 분석의 활용에는 미흡함이 많은 것으로 나타났다. 1989년 국제표준핵형회합(ISCNDA, 1990)에서는 이러한 미비점의 보완을 위하여 전중기(prometaphase)상의 염색체를 대상으로 축우의 표준 G-band양상을 재 설정하여 제시하고 있으나 여러 보고들에서 이의 설정 양상에 많은 이견들을 제시하고 있는 실정이다(Gallagher et al., 1993; Iannuzzi, 1996; Iannuzzi et al., 1996). 한편 한우 염색체에 대한 핵형은 여(1984; 1987)가 처음으로 이의 양상을 보고한 이래 홍 등(1991), 오 등(1991)이 한우의 G-, C-banding 양상을 보고 한 바 있고, 국내 Holstein종의 핵형 분석도 김 등(1994)이 보고한 바 있다. 그러나 이러한 보고에도 불구하고 정확한 한우 염색체의 idiogram의 제시가 미흡하고, 또한 연구자간의 상호 결과

비교 및 고찰이 부재함에 따라 한우의 표준 핵형 설정에는 다소의 어려움이 있다. 따라서 본 연구에서는 지금까지 연구되어온 한우의 핵형 분석들을 토대로 새로운 고분염분석(high-resolution banding)방법을 적용하여 기존의 중기상(metaphase chromosome) 뿐만 아니라 전중기(prometaphase chromosome) 및 전기상(prophase chromosome)에 대한 염색체의 형태적 양상의 비교분석과 G, C-banding 양상의 분석으로 고유 재래 한우에 대한 표준 핵형(standard karyotype)을 설정 제시하고 더불어 한우의 형태적 특성 및 일반 능력도 분석 제시하였다.

제 2 절 재료 및 방법

본 시험은 축산기술연구소에서 후대 검정중인 한우 후보 종모우(韓牛 候補 種牡牛) 119두를 대상으로 각 개체별 혈액채취로서 핵형 분석을 수행하였다.

한우의 혈액배양으로부터 염색체의 분리는 손과 정(1994)이 제시한 포유동물의 혈액배양법과 Ikeuchi(1984)의 고분염배양법을 다소 변형시켜 수행하였다. 우선 한우의 미정맥(尾靜脈) 또는 경정맥(頸靜脈)으로부터 heparinized vacuum container를 이용하여 채혈하고 배양액 10ml(RPMI 1640, fetal bovine serum and pokeweed mitogen; Gibco)당 0.5ml의 전혈액(whole blood)을 넣고 37°C, 5% CO₂의 조건하에서 72시간 배양하였다. 이후 ethidium bromide(0.1µg/ml, Sigma)를 첨가하여 2시간30분 재 배양시킨 후, colcemid(0.02µg/ml, Gibco)를 30분간 처리하였다. 배양이 끝난 세포들은 저장액(3 distilled water & 1 calf serum)에 20분간 저장처리하고, 고정액(3 methanol & 1 acetic acid)으로서 3회 고정 처리 후 표본 제작하였다. G-banding은 Wang과 Federoff(1974) 방법을 다소 수정하여 자연 건조된 표본들을 0.1%trypsin(1:250, Gibco)으로 10초~15초간 처리하였다. 처리된 slides들은 곧바로 차가운 D-PBS용액으로 씻고 5%Giemsa 용액(BDH)으로 5분간 염색한 후 검경하였다. C-banding은 Sumner(1972)의 방법을 다소 수정하여 자연 건조된 slides를 0.2N HCl에 1시간 정치한 후 42°C의 5%Ba(OH)₂에 1~2분간 침적하고 0.05N HCl로 수세하였다. 처리된 slides는 2XSSC용액으로 60°C에서 1시간 정치하고 수세한 후 2% Giemsa용액에서 30분간 염색하였다.

제 3 절 결과 및 고찰

1. 염색체 분석에 의한 한우의 표준 표지설정

가. 축우의 염색체 분리 기법 확립

최근 분자유전학적 기술의 급속한 발달에 힘입어 세포적 차원에서 특정 분자의 위치 구명이나 연관 지도와 물리적 염색체 지도의 조밀 작성을 위해 기존 염색체 분리 방법 보다는 월등히 개선된 정밀한 세포유전학적 기술을 요구하고 있다. 기존 염색체의 분리에 따른 band양상은 중기 상태의 염색체를 유도하여 분석함에 따라 염색체의 응축으로 인하여 상대적으로 짧기 때문에 그리 많지 않은 band가 출현한다. 따라서 긴 염색체를 인위적으로 유도할 수 있다면 보다 많은 band의 발현을 기대할 수 있고, 보다 정밀한 염색체의 분석을 수행할 수 있을 것이다. High-Resolution banding이란 이를 위해 세포분열 시기 중 전기(prophase) 혹은 초기중기(prometaphase)상태의 염색체 상을 유도하여 band를 분석하는 것으로 실제적으로 훨씬 많은 band수와 미세한 염색체의 구조적 결실과 같은 분석까지 가능하게 한다. 최근 사람의 염색체 연구에 있어서는 이와 같은 분염법에 의한 수 많은 새로운 결과들이 도출되고 있으며, 1995년에는 사람의 염색체에 대한 국제 표준 명명법으로 High-Resolution banding에 의한 band의 land marker를 공식적으로 채택하였다(ISCN, 1995). 그러나 지금까지 가축에 있어서 이러한 분석법의 개발은 지극히 미흡한 실정으로서 앞으로의 유전적 표지의 설정이나 유전자 지도의 작성을 위해 보다 시급하게 이루어져야 될 과제로 생각된다. 따라서 본 연구에서는 우리 고유 재래가축인 한우의 표준 핵형 제시를 위하여 우선 축우에서의 고분염중기상을 획득할 수 있는 분리기법을 개발하고 자

하였다. 축우로부터 고분열 중기상 유도를 위한 최적의 분리 기법을 개발하기 위하여 다양한 중기상 억제물질과 처리 시간을 조합한 염색체 분리방법을 시도한 바 배양 간 처리 방법은 Table 1과 같다.

Table 1. The duration and treatment of culture for high resolution chromosome preparation

Treatments	Methotrexate	Thymidine	Ethidium bromide	Colcemid
MTX	17 hours	6 hours	-	10 minutes
EtBr	-	-	2.5 hours	-
EtBr & Colcemid	-	-	2.5 hours	30 minutes
Colcemid 30min.	-	-	-	30 minutes
Colcemid 60min.	-	-	-	60 minutes

세포분열 전기 또는 초기중기 상태의 염색체를 인위적으로 유도하므로써 보다 많은 band양상과 정밀한 핵형 분석이 가능할 것이란 가정하에 Yunis(1976)가 이에 대한 방법을 처음으로 개발하여 High-Resolution banding법이라 소개하였다. High-Resolution banding방법은 세포 배양시 모든 세포들을 synchronize시켜 mitotic index의 효율을 증가시키고, 또한 염색체의 상을 인위적으로 보다 길게 유지시키는 것으로서 모든 세포의 분열 상태를 간기 중 S phase로 억제시킨 후 thymidine-rich medium을 첨가하여 이 상태를 풀어준 후 colcemid 등 방추사 억제물질을 단 시간 투여하여 염색체들이 동일하게 prophase 혹은 prometaphase가 되도록 유도하는 것이다. 이러한 원리를 이용하여 본 실험에서는 methotrexate(MTX)로서 세포들을 동기화 시키고, thymidine과 colcemid처리로서 분열을 재개시킨 다음 중기상을 유도하는 방법과 한편으로 세포분열의 G₂단계동안

염색체의 수축을 억제하는 ethidium bromide(EtBr)를 배양 종료전 적절한 시간동안 처리하여 고해상 중기상을 수확하는 방법을 비교 검토하였다.

Table 2에서는 각 분리 방법에 따라 한 개의 slide상에서 얻은 분열단계별 세포 수와 분열지수(mitotic index)를 제시한 것이고, Table 3에서는 전체 획득된 유사분열 상들 중 각 분열단계별 세포의 분포 비율을 제시한 것이다.

Table 2, 3에서와 같이 본 시험에 이용한 MTX 및 EtBr의 처리들이 공히 고해상 염색체의 유도에 바람직한 결과들을 나타내었다. 관행적인 염색체의 분리 기법으로 이용되는 colcemid의 단독 처리와의 비교시 MTX나 EtBr을 이용함으로써 전기(prophase) 및 전중기(prometaphase)상태의 고해상 염색체의 유도율이 2~4배 정도 증가되었고, 반면 중기(metaphase)상과 전체 획득상에서는 상대적으로 감소되었다. 한편 MTX의 처리와 EtBr처리간의 비교에서 처리간 고해상 염색체의 수율이나 유도율 및 분열지수에 있어서는 큰 차이가 없는 것으로 나타났으나, 실험적 처리 시간과 번거러움을 감안 할 때 MTX의 처리 보다는 EtBr의 처리가 훨씬 용이하고 효율적인 것으로 보인다. EtBr 단독 처리와 이후 colcemid를 첨가한 처리간 역시 고해상 염색체의 유도율과 분열지수의 차이가 없는 것으로 나타나나, 염색체의 형태적 양상에서 EtBr 처리 후 colcemid의 처리구가 훨씬 좋은 양상을 보였다. 이상의 결과들을 종합 할 때 축우의 혈액 배양시 EtBr이나 MTX처리가 관행적 처리에 비해 중기상의 획득율은 낮으나 분석에는 전혀 부족함이 없는 수율로서 고해상 염색체의 유도에 성공적으로 이용될 수 있는 방법으로 여겨지고, 이들 중 EtBr 처리 후 colcemid의 투여 방법이 가장 최적의 고해상 중기상 유도 방법으

로 나타났다.

Table 2. The effect of treatments on the number of cells progressed into prophase and metaphase in lymphocyte culture

Treatment	n	Prophase	Prometaphase	Metaphase	Total	Mitotic index
						--- % ---
----- Cells -----						
MTX	60	24.5±1.31 ^b	38.2±1.34 ^a	47.8±1.51 ^c	110.3±2.79 ^b	0.40±0.01 ^b
EtBr	104	43.0±1.99 ^a	29.0±1.90 ^{bc}	33.5±1.63 ^c	106.3±5.01 ^b	0.39±0.02 ^b
EtBr & Colcemid	79	43.2±2.22 ^a	31.6±1.83 ^{ab}	53.6±5.16 ^c	128.5±7.22 ^b	0.43±0.02 ^b
Colcemid 30min.	68	4.0±0.61 ^c	14.7±1.00 ^d	130.4±19.68 ^b	149.0±20.36 ^b	0.52±0.05 ^b
Colcemid 60min.	74	12.4±1.83 ^b	22.5±2.51 ^c	285.4±32.82 ^a	320.4±35.04 ^a	0.92±0.14 ^a

There are significant difference among the means with the different superscripts in a column(p<0.001). The values are mean ± standard error

Table 3. The induction rate of cells progressed into prophase and metaphase to total number of yield.

Treatment	Prophase	Prometaphase	Metaphase
MTX	22.0±1.04 ^c	33.9±0.95 ^a	43.0±1.11 ^c
EtBr	41.2±0.83 ^a	26.7±0.65 ^b	31.8±0.85 ^d
EtBr & Colcemid	36.5±1.31 ^b	25.0±0.61 ^b	38.5±1.47 ^c
Colcemid 30min	3.8±0.60 ^d	17.2±1.52 ^c	79.4±1.77 ^b
Colcemid 60min	4.0±0.56 ^d	7.0±0.56 ^d	88.9±1.02 ^a

There are significant difference among the means with the different superscripts in a column(p<0.001). The values are mean ± standard error

나. 한우의 표준핵형 분석

염색체의 형태 및 구조양상을 구명하는 하나의 방법으로서 동원체 지수(centromeric index)와 상대적 길이(relative length)의 분석이 널리 사용되고 있다. 동원체 지수라 함은 개개 염색체의 모양을 나타내는 대표적 지표로서 각 염색체의 전체 길이 중 단완(short arm)이 차지하는 백분율을 나타낸 것으로 이의 비율이 37.5~50% 일 때를 metacentric, 25~37.5%를 submetacentric, 0~25%를 acrocentric chromosome으로 명명하고 있다(Levan et al., 1964). 한편 상대적 길이라 함은 각 종의 전체 염색체 길이(genome; n) 중 개개 염색체가 차지하는 길이의 비로서 각 염색체의 크기를 나타내는 상대적 지표이다. 따라서 본 연구에서는 한우에 대한 염색체의 동원체 지수와 상대적 길이를 분석하므로써 이들의 염색체의 표준 양상을 제시하고, 한편 본 연구에서 개발된 고해상(high-resolution)배양법에 의한 전기, 전중기 및 중기상의 염색체간 동원체 지수와 상대적 길이의 비교 분석도 수행하였다. Table 4에서는 한우의 전기, 전중기 및 중기상의 염색체간 상대적 길이와 X 및 Y염색체의 동원체 지수를 제시한 것이다. Table 4에서 분석된 바와 같이 분열시기별 염색체의 상대적 길이의 경우 대형 염색체일수록 세포분열의 진행에 따른 염색체의 응축도가 증가되고, 소형염색체들의 경우는 이와는 상대적으로 응축비가 적어지는 양상을 나타내고 있다. 한편 성 염색체의 분석에서 X 염색체의 크기는 1번 염색체보다 다소 작은 크기를 나타내면서 submetacentric chromosome이었고, Y 염색체는 거의 28번 염색체의 크기로서 metacentric chromosome으로 분석되었다.

Table 5는 중기상의 염색체 길이를 100으로 하였을 때 전중기 및 전기상의 염색체 길이의 상대적 비율을 제시한 것으로 평균 전중

Table 4. The relative length and centromeric index of prophase, prometaphase and metaphase chromosomes in Korean cattle

Chromosome No.	Prophase	Prometaphase	Metaphase
n	60	60	60
1	6.0 ± 0.06 ^a	5.9 ± 0.06 ^a	5.5 ± 0.05 ^b
2	5.2 ± 0.03 ^a	5.1 ± 0.04 ^a	4.8 ± 0.03 ^b
3	4.8 ± 0.02 ^a	4.8 ± 0.03 ^a	4.6 ± 0.02 ^b
4	4.6 ± 0.03 ^a	4.6 ± 0.03 ^a	4.4 ± 0.03 ^b
5	4.5 ± 0.02 ^a	4.4 ± 0.02 ^b	4.3 ± 0.02 ^c
6	4.3 ± 0.02 ^a	4.3 ± 0.02 ^b	4.2 ± 0.02 ^c
7	4.1 ± 0.06	4.0 ± 0.03	4.1 ± 0.02
8	4.0 ± 0.02 ^a	3.9 ± 0.02 ^b	4.0 ± 0.02 ^b
9	3.8 ± 0.03	3.8 ± 0.02	3.8 ± 0.02
10	3.7 ± 0.02	3.7 ± 0.02	3.7 ± 0.02
11	3.5 ± 0.02	3.5 ± 0.03	3.5 ± 0.02
12	3.3 ± 0.01	3.4 ± 0.02	3.4 ± 0.02
13	3.2 ± 0.01 ^b	3.3 ± 0.02 ^{ab}	3.3 ± 0.02 ^a
14	3.0 ± 0.01 ^b	3.1 ± 0.02 ^b	3.2 ± 0.02 ^a
15	3.0 ± 0.02 ^b	3.0 ± 0.01 ^a	3.0 ± 0.02 ^a
16	2.8 ± 0.02 ^b	2.9 ± 0.02 ^a	2.9 ± 0.02 ^a
17	2.7 ± 0.01 ^c	2.8 ± 0.01 ^b	2.9 ± 0.02 ^a
18	2.6 ± 0.01 ^b	2.7 ± 0.01 ^a	2.7 ± 0.01 ^a
19	2.5 ± 0.02 ^b	2.6 ± 0.01 ^a	2.6 ± 0.01 ^a
20	2.4 ± 0.02 ^c	2.5 ± 0.01 ^b	2.6 ± 0.01 ^a
21	2.4 ± 0.01 ^b	2.5 ± 0.01 ^a	2.5 ± 0.01 ^a
22	2.3 ± 0.01 ^c	2.4 ± 0.01 ^b	2.4 ± 0.01 ^a
23	2.2 ± 0.01 ^c	2.3 ± 0.01 ^b	2.3 ± 0.01 ^a
24	2.1 ± 0.02 ^c	2.2 ± 0.01 ^b	2.2 ± 0.01 ^a
25	2.0 ± 0.01 ^c	2.1 ± 0.01 ^b	2.2 ± 0.01 ^a
26	1.9 ± 0.02 ^b	2.0 ± 0.01 ^a	2.1 ± 0.03 ^a
27	1.8 ± 0.02 ^b	1.9 ± 0.01 ^a	2.0 ± 0.02 ^a
28	1.7 ± 0.02 ^b	1.9 ± 0.03 ^a	1.9 ± 0.02 ^a
29	1.6 ± 0.02 ^c	1.7 ± 0.03 ^b	1.8 ± 0.03 ^a
X	5.5 ± 0.14	5.2 ± 0.06	5.3 ± 0.06
Y	1.8 ± 0.06 ^a	1.7 ± 0.03 ^b	1.9 ± 0.02 ^a
C. I. of X	30.9 ± 0.59 ^b	33.4 ± 0.56 ^a	31.9 ± 0.50 ^a
C. I. of Y	45.5 ± 0.52	45.2 ± 0.86	45.5 ± 1.05

There are significant difference among the means with the different superscripts in a row ($p < 0.001$). C. I. is centromeric index. The values are mean ± standard error.

Table 5. Comparison of chromosomes length at metaphase, prometaphase and prophase

Chromosome No.	Prophase	Prometaphase	Metaphase
n	60	60	60
1	169.4	127.8	100
2	167.2	127.0	100
3	164.0	126.1	100
4	164.8	124.1	100
5	163.7	123.0	100
6	162.3	122.8	100
7	161.9	121.4	100
8	160.7	120.5	100
9	156.8	119.8	100
10	158.0	119.5	100
11	155.8	121.0	100
12	155.5	121.8	100
13	154.3	119.6	100
14	154.6	119.5	100
15	152.7	120.0	100
16	153.2	119.9	100
17	151.3	118.8	100
18	150.3	119.4	100
19	149.8	119.2	100
20	145.8	117.5	100
21	150.2	119.5	100
22	149.5	118.7	100
23	150.7	118.7	100
24	149.4	118.1	100
25	147.9	117.8	100
26	146.7	117.2	100
27	144.7	118.3	100
28	144.3	117.5	100
29	139.6	114.7	100
X	169.3	120.2	100
Y	154.5	111.8	100
Mean	157.0	120.9	100

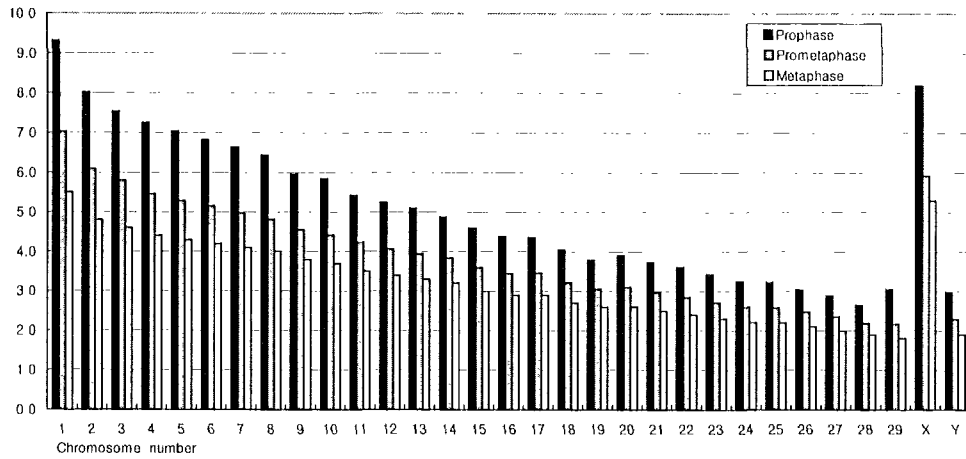


Figure 1. The relative length of prophase, prometaphase and metaphase chromosomes in Korean cattle

기상은 중기상의 120%, 전기상은 157%로 중기상에 비해 약 1.5배정도 더 긴 형태로 나타났다. Table 4와 Table 5의 분석 결과를 종합하여 한우 염색체의 상대적 크기 양상을 도식화하면 Figure 1과 같다.

다. 한우의 G-banding양상과 G-band표지의 설정

염색체 내 DNA구성이나 이들의 화학적 조성에 따라 나타나는 banding방법들이 개발되면서 이를 이용하여 각 종의 유전적 특성이나 유전적 기초자료를 제공하고 있다. 염색체의 G-banding은 분리된 염색체에 trypsin이나 urea 또는 hot saline-citrate에 slides를 처리한 후 Giemsa 염색을 함으로서 생성되는 banding양상이다. 본 연구에서는 한국 재래 축우인 한우 염색체의 G-band양상을 고찰함으로서 한

우 염색체의 형태적 표준을 제시하고 이에 대한 유전적 표지인자로서의 기초자료를 제공하고 자 하였다.

1) G-banding 방법

도말 후 자연 건조시킨 표본을 Ca^{++} 과 Mg^{++} 을 제거시킨 HBSS 용액 또는 D-PBS용액에 0.1% trypsin(1:250)을 용해시켜 여기에 slide를 15~20초 정도 처리시키고, 이후 차가운 D-PBS용액에 2회 정도 수세시켰다. 염색은 4% Giemsa 용액에 6분간 염색하였다.

2) 한우의 G-banding 양상

Figure 2는 대표적인 한우 염색체의 전기상, 전중기상 및 중기상이다. 이들은 모두 GTG-banding처리를 한 형태로서 acrocentric형태인 58개의 상 염색체는 모두 동원체가 염색되지 않고, 반면 성 염색체 X와 Y는 동원체가 모두 검게 염색되는 특징적 양상을 나타내었다. 또한 각 상동 염색체는 고유한 특징적 band양상을 지속적으로 나타내고 있으나 길이가 짧아질수록 band의 인지나 상동염색체의 식별에 어려움이 많아진다. 따라서 염색체의 표준표지의 설정이나 염색체의 구조적 이상 유무의 식별을 위하여서는 중기상의 분석보다는 전중기 또는 전기상의 염색체로서 분석함이 보다 효과적이라 할 수 있겠다. Table 6에서는 전기, 전중기 및 중기상의 염색체로부터 나타나는 G-band의 수를 비교 분석한 것으로 중기의 경우 genome상 약 300여개의 band가 분석된 반면 전기의 경우 이의 약 1.8배에 해당하는 540여개로 분석되었다. 또한 전기, 전중기 및 중기간 모든 염색체에서 band 발현 수의 유의적 차이가 있음이 인정되므로 landmark의 설정 등을 위하여 전기상으로서의 분석이 필수적이라 하겠다.

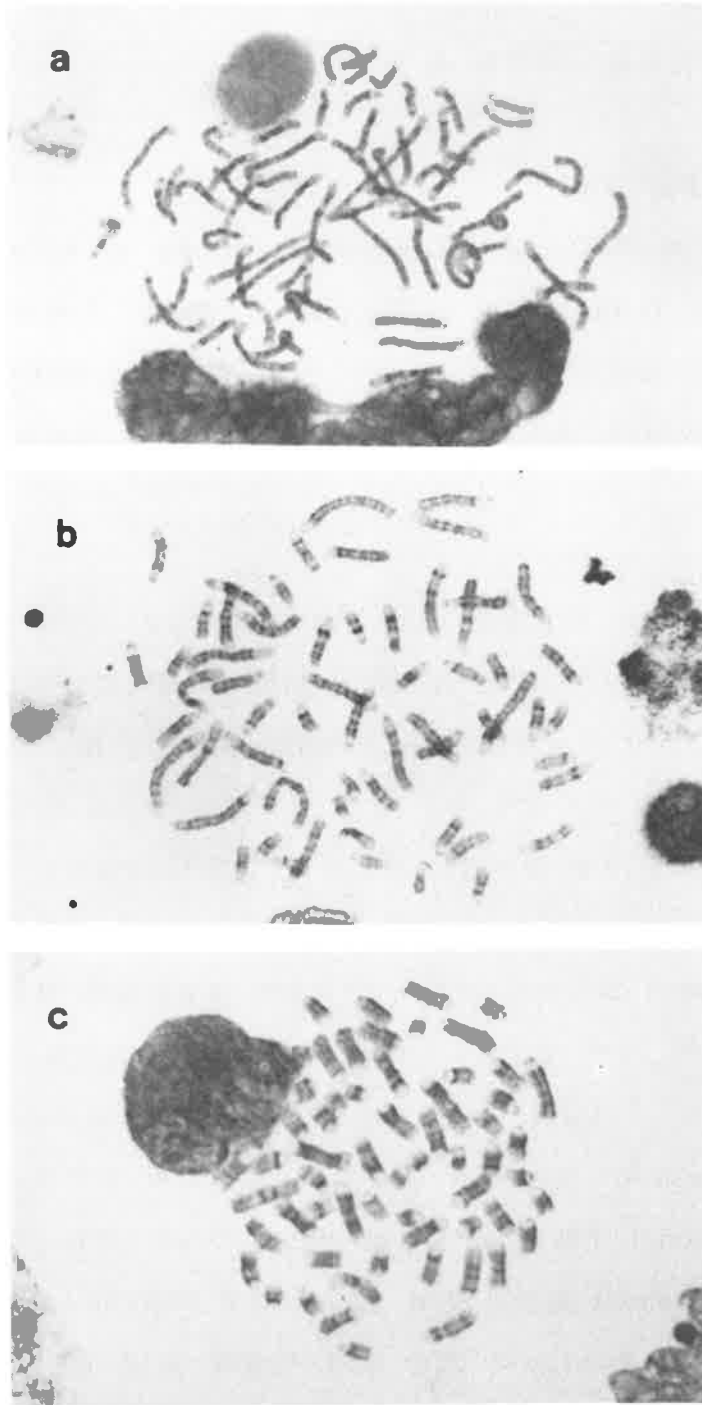


Figure 2. G-banded prophase(a), prometaphase(b) and metaphase(c) spread of Korean cattle

Table 6. A number of G-bands on each chromosomes at prophase prometaphase and metaphase in Korean cattle

Chromosome No.	Prophase	Prometaphase	Metaphase
n	60	60	60
1	33.0 ± 1.09	22.8 ± 0.70	18.3 ± 0.52
2	27.7 ± 0.92	18.5 ± 0.64	15.3 ± 0.49
3	26.4 ± 0.81	17.4 ± 0.56	14.2 ± 0.40
4	23.4 ± 0.78	17.2 ± 0.52	13.5 ± 0.37
5	23.6 ± 0.86	16.0 ± 0.66	12.4 ± 0.43
6	23.1 ± 0.93	16.4 ± 0.59	13.1 ± 0.41
7	21.6 ± 0.71	15.3 ± 0.47	12.7 ± 0.39
8	21.5 ± 0.80	14.6 ± 0.56	11.7 ± 0.38
9	22.0 ± 0.76	14.6 ± 0.51	12.0 ± 0.34
10	19.4 ± 0.76	13.8 ± 0.47	11.4 ± 0.32
11	19.4 ± 0.66	13.3 ± 0.52	10.6 ± 0.36
12	17.4 ± 0.55	12.5 ± 0.49	10.6 ± 0.33
13	16.9 ± 0.61	11.6 ± 0.51	9.1 ± 0.30
14	17.1 ± 0.60	12.2 ± 0.48	9.3 ± 0.30
15	16.1 ± 0.62	11.7 ± 0.45	9.8 ± 0.34
16	15.1 ± 0.62	11.1 ± 0.36	9.1 ± 0.27
17	14.9 ± 0.54	11.1 ± 0.50	8.8 ± 0.29
18	16.3 ± 1.36	10.0 ± 0.44	7.7 ± 0.33
19	14.5 ± 0.58	9.4 ± 0.42	7.5 ± 0.31
20	13.8 ± 0.49	9.4 ± 0.36	7.4 ± 0.29
21	12.7 ± 0.44	9.2 ± 3.74	7.2 ± 0.28
22	13.4 ± 0.50	8.8 ± 0.37	6.9 ± 0.28
23	12.6 ± 0.45	8.5 ± 0.38	6.6 ± 0.20
24	13.0 ± 0.42	8.8 ± 0.38	6.4 ± 0.27
25	12.3 ± 0.43	7.7 ± 0.36	6.0 ± 0.24
26	11.9 ± 0.43	7.6 ± 0.38	6.3 ± 0.23
27	10.9 ± 0.42	6.4 ± 0.25	5.9 ± 0.24
28	9.9 ± 0.38	6.1 ± 0.30	5.4 ± 0.23
29	9.5 ± 0.41	5.6 ± 0.38	4.8 ± 0.22
X	29.5 ± 0.91	22.1 ± 0.60	17.7 ± 0.38
Y	7.3 ± 0.17	5.8 ± 0.14	5.2 ± 0.17
Total	544.1 ± 13.69 ^a	376.7 ± 10.80 ^b	302.8 ± 7.77 ^c

There are significant difference among the means with the different superscripts in a row ($p < 0.001$). The values are means ± standard error.

Figure 3에서는 세포의 분열 시기별 및 응축도에 따라 나타나는 염색체의 형태적 특징과 band의 발현양상을 각 염색체별로 나열한 것이며, Figure 4에서는 대표적 전기상의 핵형분석(karyotype)한 것이며, 이들을 종합하여 한우의 표준 G-band idiogram을 Figure 5에 제시하였다.

라. 한우의 C-banding양상과 heterochromatin 다형성 분석

염색체내 heterochromatin site만 나타낼 수 있는 C-banding을 이용하므로서 각 축종에 대한 염색체내의 gene function site를 간접적으로 알 수 있다(Comings, 1978; Comings et al., 1973). 즉 constitutive heterochromatin 부위는 일반적으로 highly repetitive DNA로 구성되어 있음에 따라 대체적으로 이 부위의 유전자는 발현되지 않는 특성을 지니는 것이다. 그러므로 heterochromatin 부위의 인지는 유전자지도 작성에 있어서 필수적인 수단이다. 따라서 본 연구에서는 한우에 대한 기존 C-banding방법에 의한 heterochromatin site의 분석과 더불어 High-Resolution culture에 의한 C-banding 양상을 제시하고 이들을 서로 비교 분석하고자 한다.

1) C-banding 방법

도말 후 자연 건조시킨 표본을 0.2 N HCl에 1시간 정치한 후 5% Ba(OH)₂ 에 20~30분간 침적하고 다시 0.05 N HCl에 수세한다. 이후 처리된 slide들을 2XSSC 용액으로 60℃에서 1시간 정치하고 D.W로 수세 한 후 2% Giemsa용액에 1시간 염색하였다.

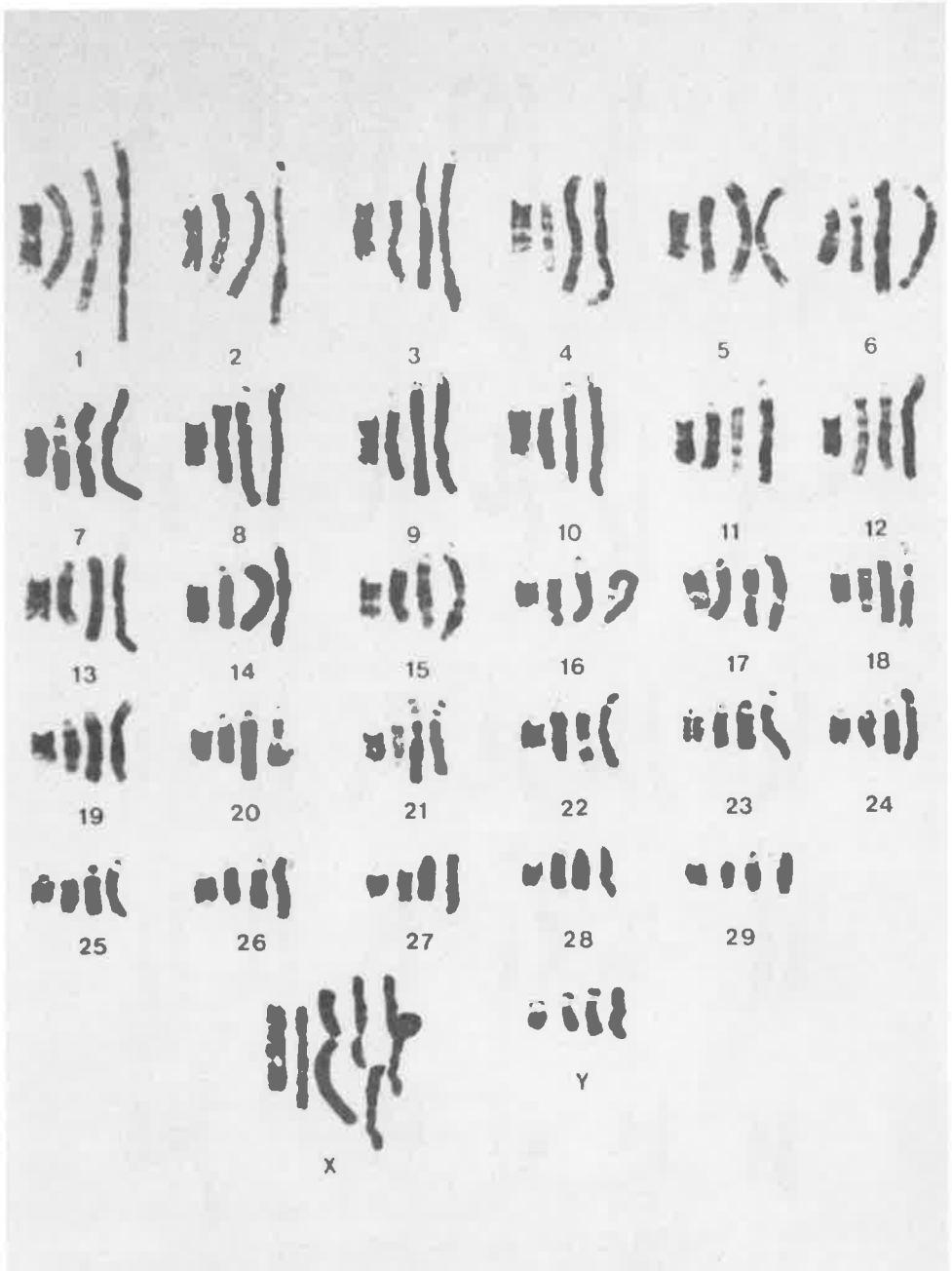


Figure 3. Illustration of Korean cattle chromosomes at different mitotic stages after G-banding



Figure 4. The karyotype of Korean cattle with prophase chromosomes

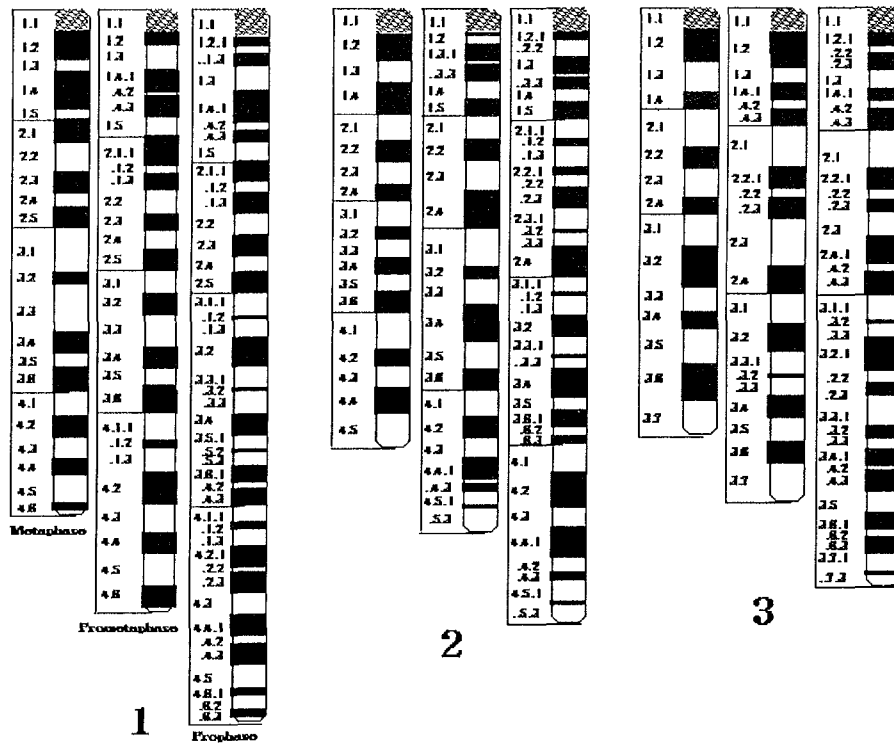
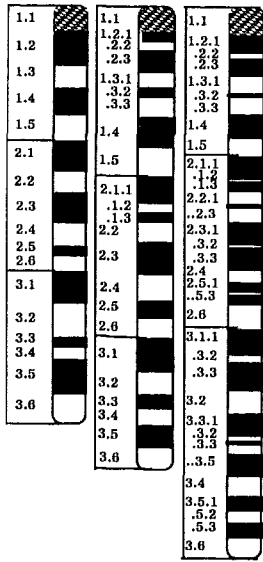
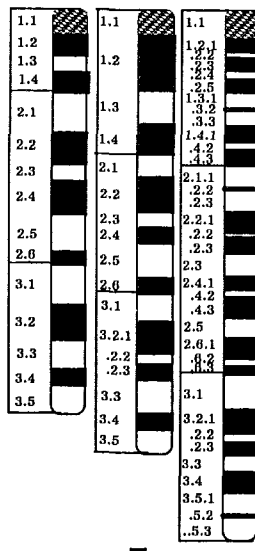


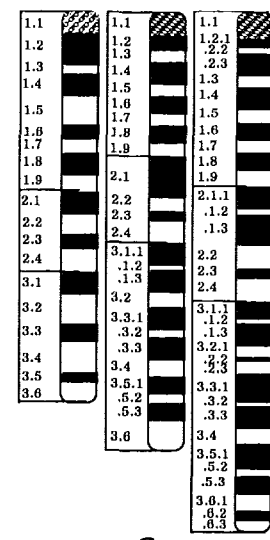
Figure 5. The idiogram of G-banded Korean cattle chromosomes



4

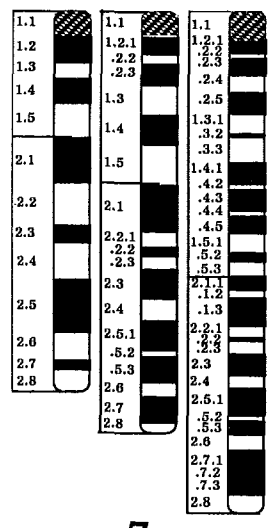


5

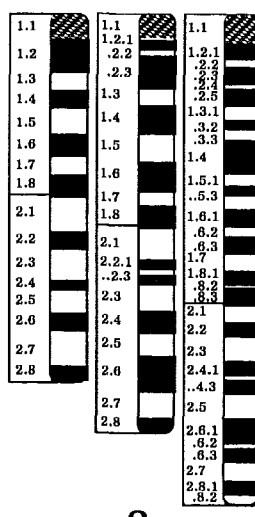


6

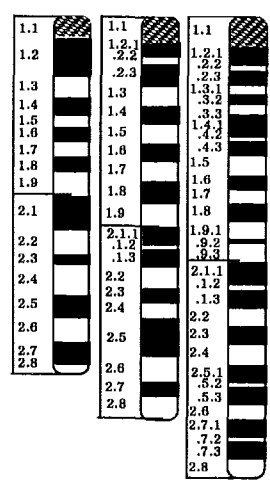
continued



7

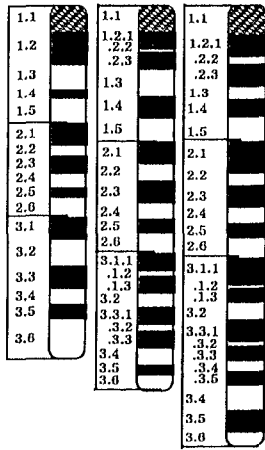


8

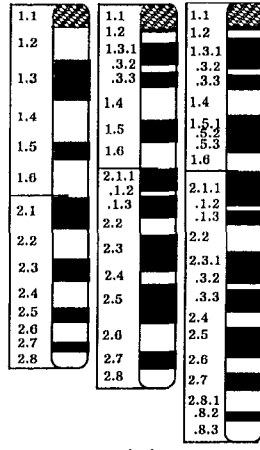


9

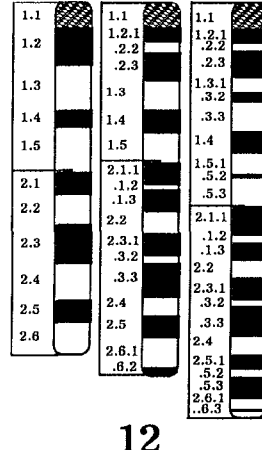
continued



10

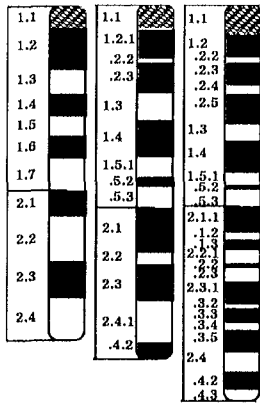


11

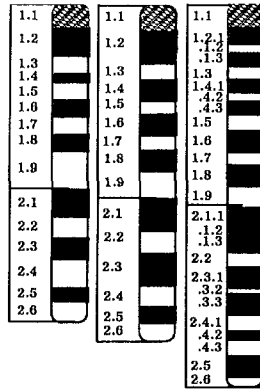


12

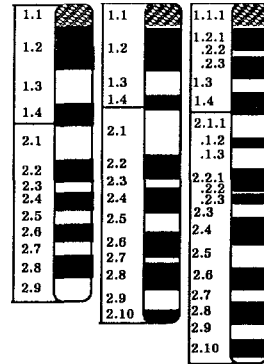
continued



13

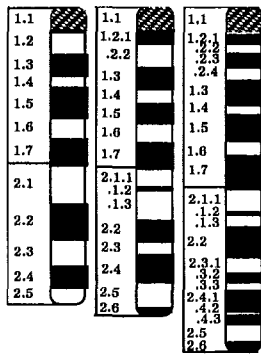


14

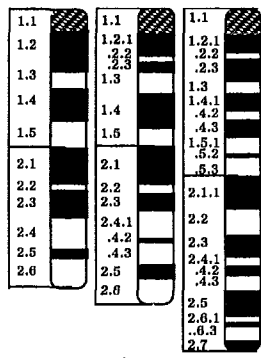


15

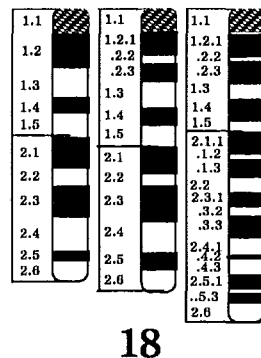
continued



16

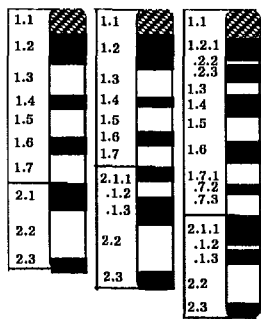


17

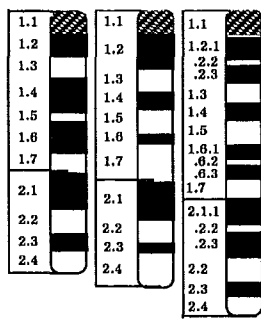


18

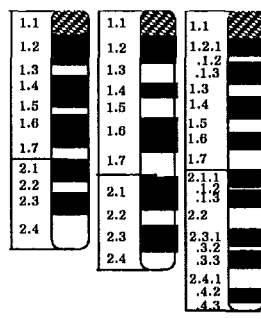
continued



19

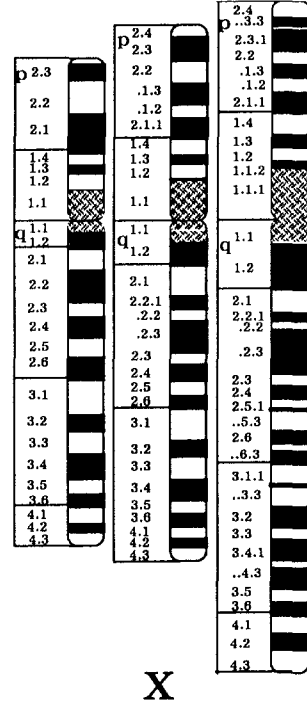
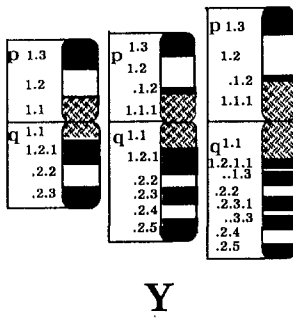
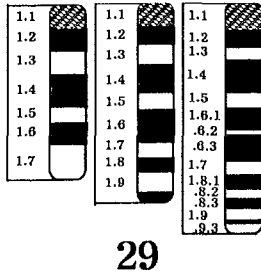
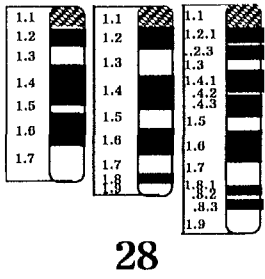
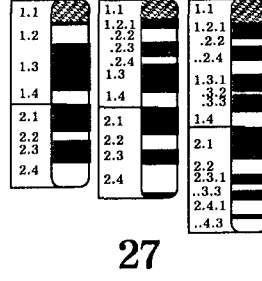
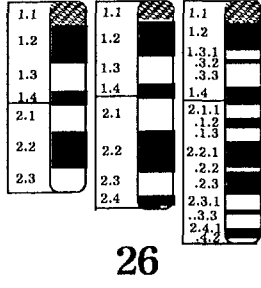
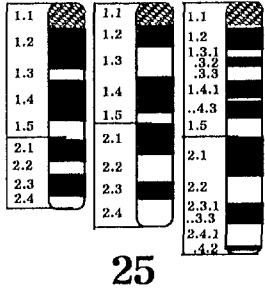
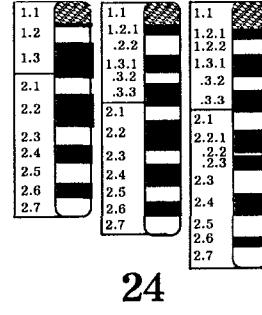
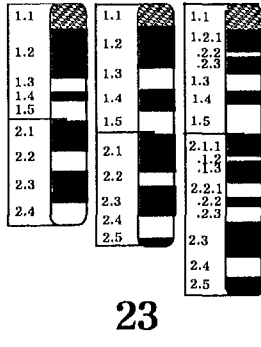
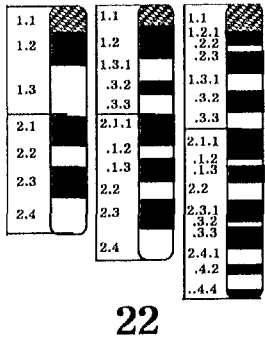


20



21

continued



continued

2) 한우의 C-banding 양상

Figure 6은 한우 염색체의 전기상, 전중기상 및 중기상의 C-banding양상을 제시한 것으로 한우의 X, Y염색체를 제외한 모든 상염색체의 동원체 부위에 heterochromatin의 발현 양상을 나타내고 있다. 반면 X염색체의 경우는 동원체 부위에 지속성이 없는 명확하지 않은 C-band의 발현도를 보이고, Y염색체는 동원체로부터 q-arm의 전장에 걸친 아주 다형적 발현 양상을 나타낸다. 또한 Table 7에 제시된 바와 같이 염색체의 응축도가 진행됨에 따라 heterochromatin 양이 증가됨을 알 수 있고, 소형염색체일수록 이들의 분포율이 높아지는 양상을 나타내었다. 한우 전기상의 경우 상염색체상에 있어 상대적 평균 heterochromatin의 양은 9.6~23.8%이고, 전중기의 경우 11.6~25.9%, 중기의 경우 16.7~30.7%로 분석되었으며, 이들 전체 염색체에 대한 heterochromatin의 양은 13~27%였다. 이는 오 등(1991)의 분석한 보고와 거의 비슷한 결과이나 오 등(1991)의 경우 중기상 만으로의 측정량임에 따라 본 연구에 비해 다소 높은 경향을 보이고 있다. 이들을 이용한 한우의 C-band karyotype을 Figure 7에 나타내었고, 이들을 종합하여 한우의 표준 heterochromatin idiogram을 Figure 8에 제시하였다.

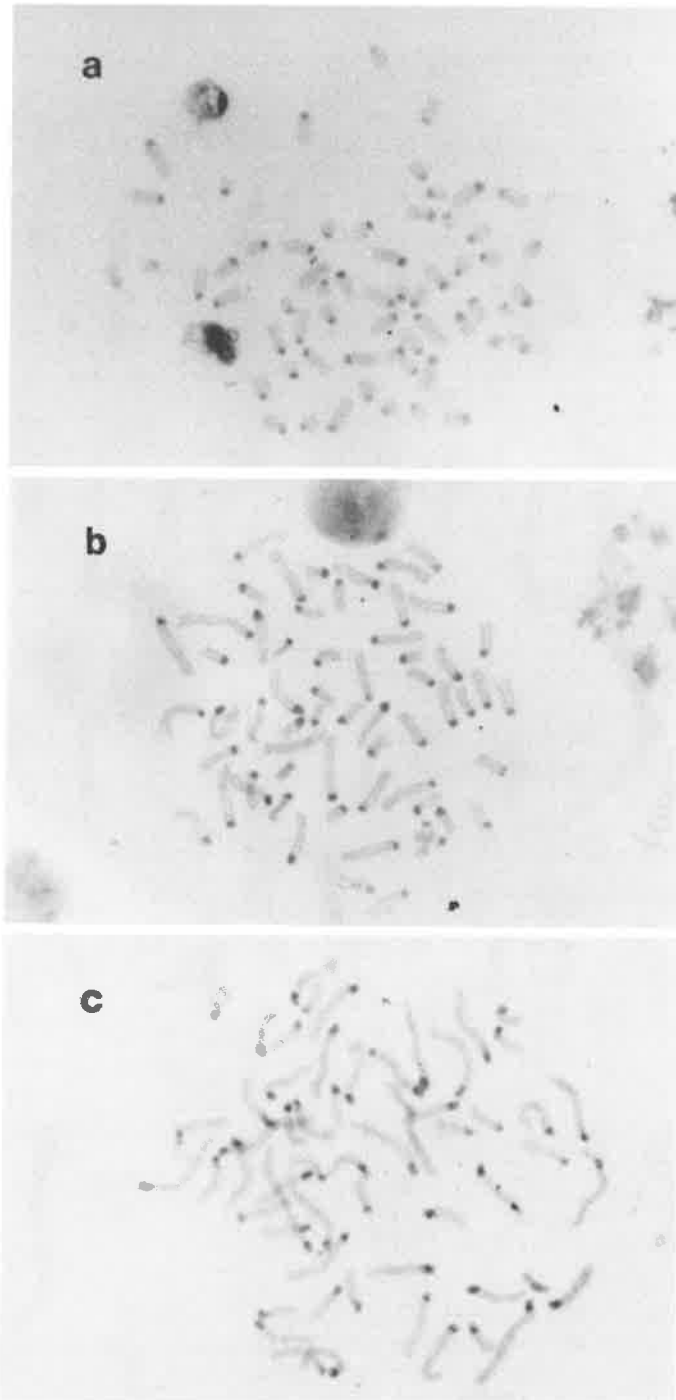


Figure 6. C-banded metaphase(a), prometaphase(b) and prophase(c) spread of Korean cattle

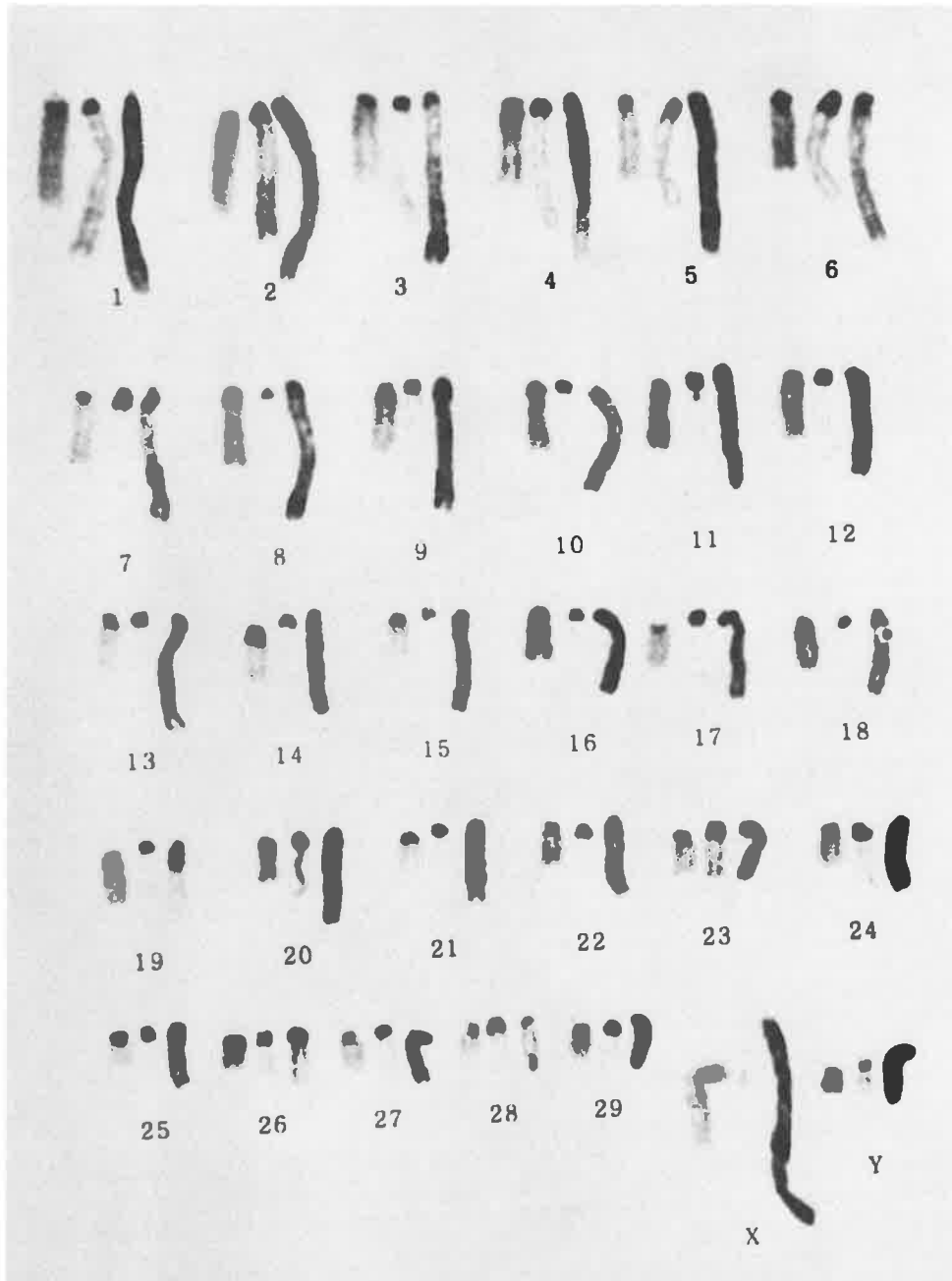


Figure 7. C-banded karyotype of Korean cattle chromosomes at different mitotic stages

Table 7. The quantity of heterochromatin on each chromosomes at prophase, prometaphase and metaphase in Korean cattle.

Chromosome No.	Prophase	Prometaphase	Metaphase	Means
n	70	48	82	200
		----- % -----		
1	9.6 ± 0.35 ^c	11.6 ± 0.51 ^b	16.7 ± 0.54 ^a	13.0 ± 0.36
2	10.6 ± 0.63 ^c	12.8 ± 0.59 ^b	19.0 ± 0.64 ^a	14.6 ± 0.46
3	11.2 ± 0.37 ^c	13.6 ± 0.62 ^b	19.4 ± 0.54 ^a	15.1 ± 0.39
4	10.7 ± 0.37 ^c	13.3 ± 0.53 ^b	18.6 ± 0.52 ^a	14.5 ± 0.37
5	12.3 ± 0.31 ^b	13.8 ± 0.53 ^b	20.1 ± 1.50 ^a	15.9 ± 0.68
6	11.6 ± 0.33 ^c	14.5 ± 0.64 ^b	18.9 ± 0.67 ^a	15.3 ± 0.40
7	12.2 ± 0.37 ^c	14.7 ± 0.72 ^b	20.0 ± 0.54 ^a	16.0 ± 0.39
8	12.5 ± 0.44 ^c	15.1 ± 0.72 ^b	19.8 ± 0.56 ^a	16.1 ± 0.40
9	12.7 ± 0.38 ^c	14.5 ± 0.62 ^b	20.1 ± 0.53 ^a	16.2 ± 0.38
10	13.2 ± 0.50 ^c	16.4 ± 0.75 ^b	21.5 ± 0.56 ^a	17.4 ± 0.43
11	13.7 ± 0.45 ^c	17.0 ± 0.69 ^b	21.5 ± 0.62 ^a	17.7 ± 0.42
12	16.0 ± 0.56 ^b	17.3 ± 0.81 ^b	22.1 ± 0.55 ^a	18.8 ± 0.41
13	15.5 ± 0.48 ^b	17.2 ± 0.71 ^b	22.4 ± 0.64 ^a	18.7 ± 0.42
14	15.2 ± 0.53 ^c	18.7 ± 0.81 ^b	23.5 ± 0.60 ^a	19.4 ± 0.44
15	16.2 ± 0.44 ^c	19.0 ± 0.74 ^b	23.7 ± 0.62 ^a	20.0 ± 0.42
16	16.2 ± 0.51 ^c	18.9 ± 0.74 ^b	24.5 ± 0.67 ^a	20.2 ± 0.45
17	16.5 ± 0.56 ^c	20.4 ± 0.82 ^b	23.2 ± 0.66 ^a	20.2 ± 0.44
18	17.1 ± 0.65 ^c	19.9 ± 0.81 ^b	24.9 ± 0.65 ^a	21.0 ± 0.47
19	17.8 ± 0.56 ^c	21.0 ± 0.87 ^b	25.8 ± 0.77 ^a	21.9 ± 0.49
20	18.8 ± 0.54 ^b	22.9 ± 1.10 ^a	24.9 ± 0.70 ^a	22.3 ± 0.47
21	19.5 ± 0.61 ^b	21.6 ± 0.91 ^b	27.9 ± 0.80 ^a	23.4 ± 0.52
22	19.8 ± 0.59 ^b	21.4 ± 0.89 ^b	27.7 ± 0.84 ^a	23.4 ± 0.52
23	19.9 ± 0.61 ^c	23.5 ± 1.02 ^b	27.7 ± 0.75 ^a	24.0 ± 0.51
24	19.9 ± 0.68 ^c	24.1 ± 0.94 ^b	27.9 ± 0.71 ^a	24.2 ± 0.50
25	23.1 ± 0.92 ^b	24.8 ± 1.01 ^b	29.4 ± 0.83 ^a	26.1 ± 0.56
26	22.7 ± 0.71 ^b	23.1 ± 1.13 ^b	29.6 ± 0.83 ^a	25.6 ± 0.55
27	23.4 ± 0.75 ^c	25.9 ± 1.08 ^b	28.8 ± 0.74 ^a	26.2 ± 0.51
28	23.4 ± 0.92 ^b	25.7 ± 1.00 ^b	29.4 ± 0.76 ^a	26.4 ± 0.54
29	23.8 ± 1.04 ^b	25.0 ± 1.82 ^b	30.7 ± 1.03 ^a	26.9 ± 0.74
X				variable
Y				variable

There are significant difference among the means with the different superscripts in a row ($p < 0.001$). The values are means ± standard error.

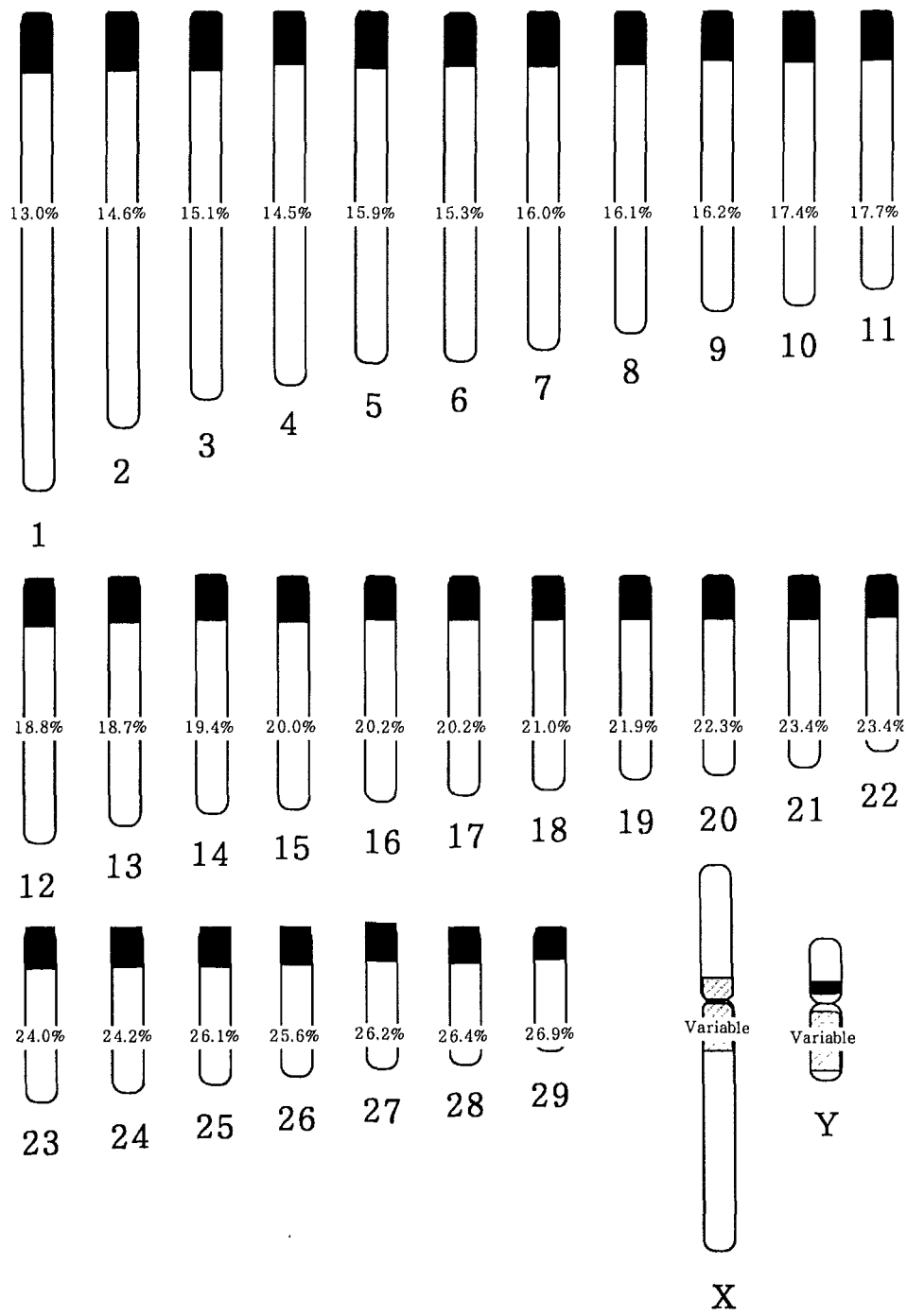


Figure 8. The idiogram of C-banded Korean cattle chromosomes

라. High-Resolution banding에 의한 한우 염색체의 표준 표지와 타축종간의 비교분석

한우 염색체의 표준 표지 설정을 위하여 Holstein종을 대조 축종으로하여 이의 염색체 분석을 수행하고, 품종 별 핵형분석으로부터 도출된 chromosomal mark를 이용하여 종간 유전적 특이성을 비교 분석 하였다.

1) 축종간 염색체의 형태적 비교

염색체의 형태 및 구조양상을 구명하는 하나의 방법으로서 동원체 지수(centromeric index)와 상대적 길이(relative length)의 분석이 널리 사용되고 있다. 동원체 지수라 함은 개개 염색체의 모양을 나타내는 대표적 지표로서 각 염색체의 전체 길이 중 단완(short arm)이 차지하는 백분율을 나타낸 것이며, 상대적 길이라 함은 각 종의 전체 염색체 길이(genome; n) 중 개개 염색체가 차지하는 길이의 비로서 각 염색체의 크기를 나타내는 상대적 지표이다. 따라서 본 연구에서는 한우 및 Holstein종에 대한 염색체의 동원체 지수와 상대적 길이를 분석하르로서 종 간의 염색체의 형태적 차이를 구명한 바 Table 8에서와 같이 4번 염색체 및 X 성염색체에서 상대적 길이에 대한 유의적 차이가 나타났고, 또한 X 염색체의 동원체 지수간에 차이가 있는 것으로 나타났다.

2) 축종간 G-banding양상의 비교

G-banding처리에 의한 이들 두 축종간의 비교분석에서 나타난 band수를 Table 9에 제시하였다. 본 분석 결과 두 축종간의 band수에 있어 특정 몇 개의 염색체를 제외하고는 거의 대부분의 염색체에

Table 8. Comparison of relative length and centromeric index in Korean cattle and Holstein

Chromosome No.	Korean cattle	Holstein
n	100	152
		----- % -----
1	5.6 ± 0.06	5.5 ± 0.03
2	5.1 ± 0.04	5.0 ± 0.03
3	4.8 ± 0.04	4.7 ± 0.02
4	4.6 ± 0.03 ^a	4.5 ± 0.02 ^b
5	4.4 ± 0.04	4.3 ± 0.01
6	4.3 ± 0.02	4.2 ± 0.01
7	4.1 ± 0.02	4.1 ± 0.01
8	4.0 ± 0.02	3.9 ± 0.01
9	3.8 ± 0.02	3.8 ± 0.01
10	3.7 ± 0.02	3.7 ± 0.01
11	3.5 ± 0.02	3.5 ± 0.01
12	3.3 ± 0.01	3.4 ± 0.01
13	3.2 ± 0.01	3.2 ± 0.01
14	3.1 ± 0.01	3.1 ± 0.01
15	3.0 ± 0.01	3.0 ± 0.01
16	2.9 ± 0.01	2.9 ± 0.01
17	2.8 ± 0.01	2.8 ± 0.01
18	2.7 ± 0.01	2.7 ± 0.01
19	2.6 ± 0.01	2.6 ± 0.01
20	2.5 ± 0.02	2.5 ± 0.01
21	2.5 ± 0.01	2.5 ± 0.01
22	2.4 ± 0.02	2.4 ± 0.01
23	2.3 ± 0.02	2.3 ± 0.01
24	2.2 ± 0.02	2.2 ± 0.01
25	2.1 ± 0.02	2.1 ± 0.01
26	2.0 ± 0.02	2.0 ± 0.01
27	1.9 ± 0.02	1.9 ± 0.01
28	1.8 ± 0.02	1.8 ± 0.01
29	1.6 ± 0.02	1.6 ± 0.02
X	5.4 ± 0.07 ^b	5.6 ± 0.05 ^a
Y	1.8 ± 0.03	1.9 ± 0.03
C.I. of X	33.4 ± 0.50 ^b	35.5 ± 0.35 ^a
C.I. of Y	39.7 ± 0.54	40.3 ± 0.37

There are significant difference among the means with the different superscripts in a row($p < 0.001$). The values are means ± standard error.

Table 9. Comparison of the number of G-band on metaphase chromosomes in Korean cattle and Holstein

Chromosome No.	Korean cattle	Holstein
n	60	27
1	18.3 ± 0.52	16.5 ± 1.08
2	15.3 ± 0.49	13.4 ± 0.91
3	14.2 ± 0.40 ^a	11.9 ± 0.74 ^b
4	13.5 ± 0.37 ^a	11.4 ± 0.63 ^b
5	12.4 ± 0.43	11.1 ± 0.56
6	13.1 ± 0.41 ^a	11.1 ± 0.64 ^b
7	12.7 ± 0.39 ^a	10.7 ± 0.57 ^b
8	11.7 ± 0.38	10.6 ± 0.56
9	12.0 ± 0.34 ^a	10.4 ± 0.55 ^b
10	11.4 ± 0.32 ^a	9.5 ± 0.52 ^b
11	10.6 ± 0.36 ^a	8.9 ± 0.46 ^b
12	10.6 ± 0.33 ^a	8.3 ± 0.44 ^b
13	9.1 ± 0.30	8.1 ± 0.45
14	9.3 ± 0.30 ^a	7.6 ± 0.46 ^b
15	9.8 ± 0.34 ^a	7.8 ± 0.50 ^b
16	9.1 ± 0.27 ^a	6.8 ± 0.36 ^b
17	8.8 ± 0.29 ^a	6.6 ± 0.44 ^b
18	7.7 ± 0.33 ^a	6.4 ± 0.42 ^b
19	7.5 ± 0.31 ^a	6.1 ± 0.35 ^b
20	7.4 ± 0.29	6.5 ± 0.37
21	7.2 ± 0.28 ^a	5.8 ± 0.30 ^b
22	6.9 ± 0.28 ^a	5.7 ± 0.36 ^b
23	6.6 ± 0.20 ^a	5.4 ± 0.31 ^b
24	6.4 ± 0.27 ^a	5.2 ± 0.27 ^b
25	6.0 ± 0.24 ^a	4.7 ± 0.24 ^b
26	6.3 ± 0.23 ^a	4.3 ± 0.24 ^b
27	5.9 ± 0.24 ^a	4.3 ± 0.23 ^b
28	5.4 ± 0.23 ^a	4.1 ± 0.24 ^b
29	4.8 ± 0.22 ^a	3.7 ± 0.17 ^b
X	17.7 ± 0.38	18.1 ± 0.87
Y	5.2 ± 0.17	4.9 ± 0.14
Total	302.8 ± 7.77 ^a	256.0 ± 12.28 ^b

There are significant difference among the means with the different superscripts in a row ($p < 0.001$). The values are means ± standard error.

서 유의적 차이를 보이고 있는데 이는 두 축종간 유전적 차이 뿐만 아니라 염색체의 응축도의 차이에 기인된 결과로 해석된다. Figure 9에서는 이러한 양상들을 종합하여 축우의 국제표준핵형(ISCNDA, 1989)모식도와 Holstein 및 한우의 표준 G-band모식도를 비교 제시하였다.

한우의 표준 핵형을 중심으로 홀스타인 종 및 국제표준핵형(ISCNDA, 1989)간의 G-band mark의 차이점을 분석하여 이를 형질간 표지인자의 기초자료로 제시하고 자 각 염색체별 band mark의 차이점을 비교 분석한 바를 Table 10에 나타내었다.

3) 축종간 C-banding양상 및 heterochromatin 다형성 비교 분석

Table 11에서는 한우와 Holstein간의 C-banding에 의한 heterochromatin양을 각 염색체간 비교 분석하였다. 두 축종 공히 성염색체에서 다형성을 나타내는 반면 5번을 제외한 모든 상염색체에서 heterochromatin양 간에는 유의적인 차이가 있었는 바 전체적으로 Holstein의 경우 한우에 비해 다소 높은 heterochromatin의 분포율을 나타내었다. Figure 10에서는 이의 분석된 결과들을 종합하여 두 축종간의 heterochromatin발현도에 따른 핵형 모식도를 비교 제시하였다.

Table 10. Separated G-banding patterns at different mitotic stages in Korean Cattle

Chro. No.	Metaphase	Prometaphase and Prophase
1	q1.4 and q4.1	q1.4.1~1.4.3 and q4.1.1~4.1.3
2	q1.3, q4.4 and q4.5	q1.3.1~1.3.3, q4.4.1~4.4.3 and q4.5.1~4.5.3
3	q1.4, q2.1 and q3.3	q1.4.1~1.4.3, q2.1.1~2.1.3 and q3.3.1~3.3.3
4	q1.2,, q1.3 and q2.1	q1.2.1~1.2.3, q1.3.1~1.3.3 and q2.1.1~2.1.3
5	q3.2	q3.2.1~3.2.3
6	q3.1, q3.3 and q3.5	q3.1.1~3.1.3, q3.3.1~3.3.3 and q3.5.1~3.5.3
7	q1.2, q2.2 and q2.5	q1.2.1~1.2.3, q2.2.1~2.2.3 and q2.5.1~2.5.3
8	q1.2, q2.2, and q2.5	q1.2.1~1.2.3, q2.2.1~2.2.3 and q2.5.1~2.5.3
9	q1.2 and q2.1	q1.2.1~1.2.3 and q2.1.1~2.1.3
10	q1.2, q3.1 and q3.3	q1.2.1~1.2.3, q3.1.1~3.1.3 and q3.3.1~3.3.3
11	q1.3 and q2.1	q1.3.1~1.3.3 and q2.1.1~2.1.3
12	q1.2, q1.4, q2.1 and q2.3	q1.2.1~1.2.3, q1.4.1~1.4.3, q2.1.1~2.1.3, q2.3.1~2.3.3 and new separated dark band q2.6
13	q1.2 and q1.5	q1.2.1~1.2.3 and q1.6.1~1.6.3
14	q2.4	q2.4.1~2.4.3, new separated band q2.5 and q2.6
15	q1.2, q2.1 and q2.2	q1.2.1~1.2.3, q2.1.1~2.1.3, q2.3.1~2.3.3 and new separated terminal dark band q2.10
16	q1.2 and q2.1	q1.2.1~1.2.3, q2.1.1~2.1.3 and
17	q1.2 and q2.4	q1.2.1~1.2.3 and q2.4.1~2.4.3
18	q1.2, q2.1, q2.3, q2.4 and q2.5	q1.2.1~1.2.3, q2.1.1~2.1.3, q2.3.1~2.3.3, q2.4.1~2.4.3 and q2.5.1~2.5.3
19	q1.2, q1.6 and q2.1,	q1.2.1~1.2.2, q1.7.1~1.7.2 and q2.1.1~2.1.3,
20	q1.2, q1.6 and q2.1,	q1.2.1~1.2.2, q1.6.1~1.6.2 and q2.1.1~2.1.3,
21	q1.2, q2.1, q2.3 and q2.4	q1.2.1~1.2.2, q2.1.1~2.1.3, q2.3.1~2.3.3 and q2.4.1~2.4.3
22	q1.3 and q2.1	q1.3.1~1.3.3 and q2.1.1~2.1.3
23	q1.2, q2.1 and q2.2,	q1.2.1~1.2.2, q2.1.1~2.1.3 and q2.2.1~2.2.3
24	q1.2 and q1.3	q1.2.1~1.2.2 and q1.3.1~1.3.3
25	q1.3, q1.4, q2.3 and q2.4	q1.3.1~1.3.3, q1.4.1~1.4.3, q2.3.1~2.3.3 and q2.4.1~2.4.3
26	q1.3, q2.1, q2.2, q2.3 and q2.4	q1.3.1~1.3.3, q2.1.1~2.1.3, q2.2.1~2.2.3, q2.3.1~2.3.3 and new separated distal band q2.4
27	q1.2 and q1.3	q1.2.1~1.2.4 and q1.3.1~1.3.3
28	q1.2 and q1.4	q1.2.1~1.2.4, q1.4.1~1.4.3 and new separated distal band q1.8, q1.9
29	q1.5 and q1.8	q1.5.1~1.5.3, q1.8.1~1.8.3 and new separated distal band q1.8, q1.9
Xp	p2.1 and q2.3	q2.1.1~2.1.3, q2.3.1~2.3.3 and new separated terminal light band q2.4
Xq	q2.2, q2.5, q2.6, q3.1 and q3.4.	q2.2.1~2.2.3, q2.5.1~2.5.3, q2.6.1~2.6.3, q3.1.1~3.1.3 and q3.4.1~3.4.3, q2.5.1~2.5.3
Yp	p1.1 band	p1.1.1~1.1.2
Yq	q1.2,, and q1.2.3	q1.2.1~1.2.5 and q1.2.3.1~q1.2.3.3

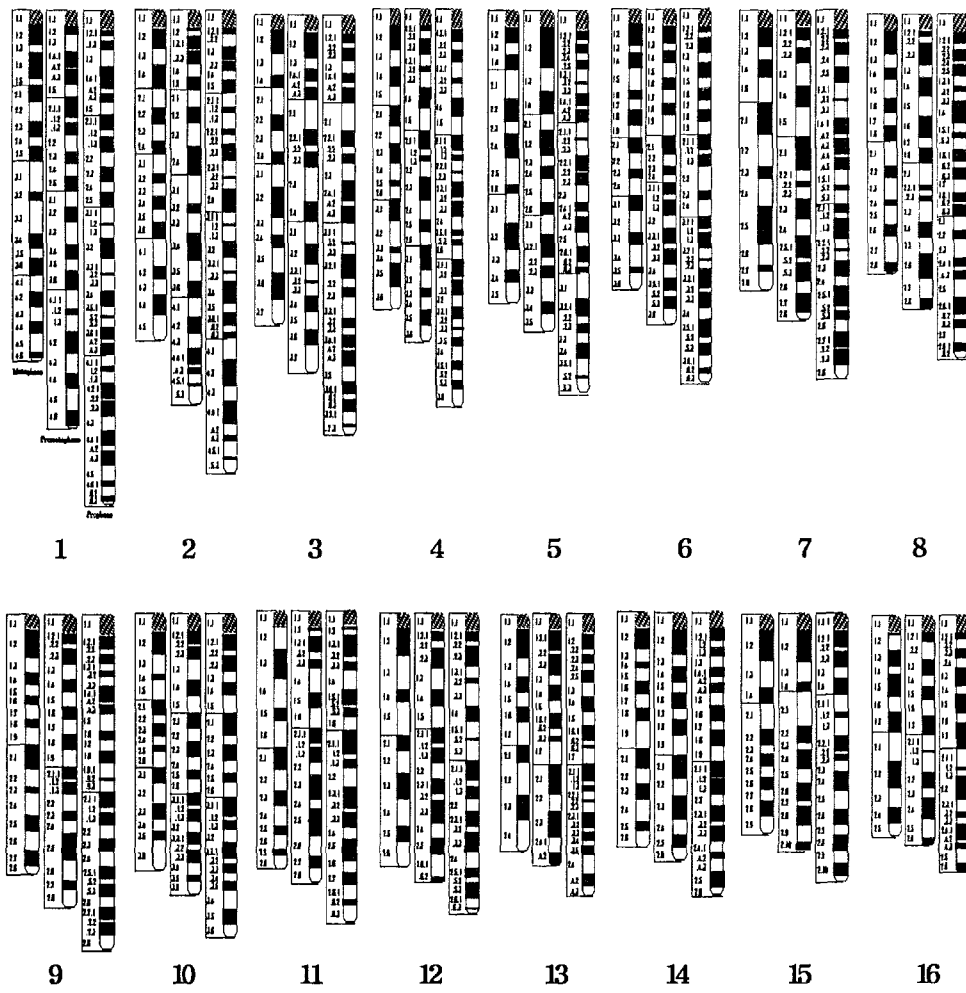


Figure 9. Idiogrammatic representation of the G-banded Korean Cattle karyotypes at different mitotic stages: metaphase(*left*), prometaphase (*middle*) and prophase(*right*)

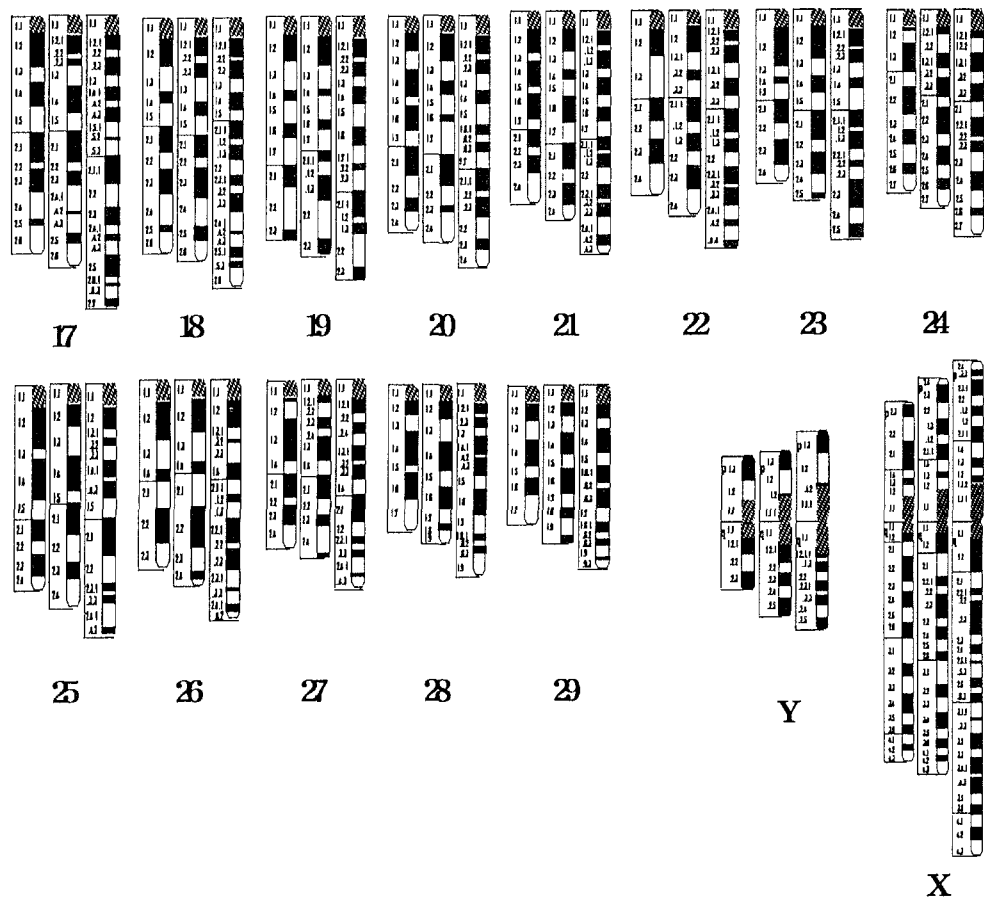


Figure 9. continued

Table 11. Comparison of the quantity of heterochromatin at each chromosomes in Korean cattle and Holstein

Chromosome No.	Korean cattle	Holstein
n	200	304
	----- % -----	
1	13.0 ± 0.36 ^b	14.2 ± 0.25 ^a
2	14.6 ± 0.46 ^b	15.6 ± 0.28 ^a
3	15.1 ± 0.39 ^b	16.4 ± 0.27 ^a
4	14.5 ± 0.37 ^b	16.8 ± 0.29 ^a
5	15.9 ± 0.68	17.3 ± 0.29
6	15.3 ± 0.40 ^b	17.4 ± 0.27 ^a
7	16.0 ± 0.39 ^b	17.8 ± 0.31 ^a
8	16.1 ± 0.40 ^b	18.0 ± 0.30 ^a
9	16.2 ± 0.38 ^b	18.4 ± 0.29 ^a
10	17.4 ± 0.43	18.2 ± 0.31
11	17.7 ± 0.42 ^b	19.1 ± 0.31 ^a
12	18.8 ± 0.41 ^b	20.5 ± 0.37 ^a
13	18.7 ± 0.42 ^b	21.4 ± 0.34 ^a
14	19.4 ± 0.44 ^b	21.9 ± 0.34 ^a
15	20.0 ± 0.42 ^b	22.2 ± 0.34 ^a
16	20.2 ± 0.45 ^b	22.7 ± 0.34 ^a
17	20.2 ± 0.44 ^b	23.7 ± 0.36 ^a
18	21.0 ± 0.47 ^b	24.7 ± 0.41 ^a
19	21.9 ± 0.49 ^b	24.8 ± 0.38 ^a
20	22.3 ± 0.47 ^b	24.7 ± 0.40 ^a
21	23.4 ± 0.52 ^b	25.3 ± 0.39 ^a
22	23.4 ± 0.52 ^b	26.2 ± 0.45 ^a
23	24.0 ± 0.51 ^b	27.2 ± 0.40 ^a
24	24.2 ± 0.50 ^b	27.1 ± 0.39 ^a
25	26.1 ± 0.56	27.3 ± 0.42
26	25.6 ± 0.55 ^b	28.4 ± 0.46 ^a
27	26.2 ± 0.51 ^b	28.2 ± 0.42 ^a
28	26.4 ± 0.54 ^b	29.4 ± 0.49 ^a
29	26.9 ± 0.74 ^b	30.8 ± 0.50 ^a
X	variable	variable
Y	variable	variable

There are significant difference among the means with the different superscripts in a row ($p < 0.001$). The values are means ± standard error.

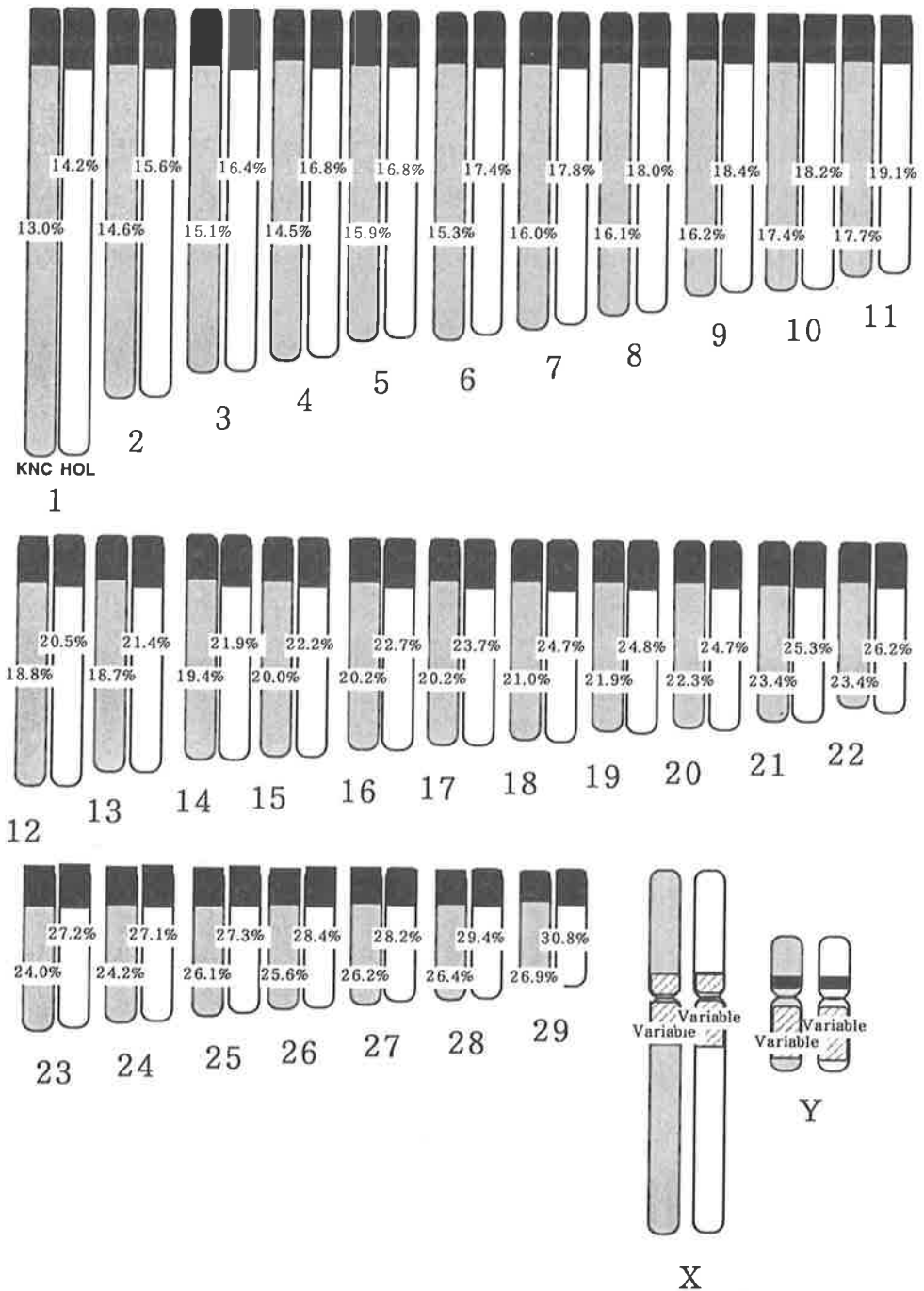


Figure 10. Comparison of heterochromatin site of Korean cattle(KNC) and Holstein(HOL)

2. 한우의 생산능력 분석과 형태적 특성

가. 공시축 및 분석방법

1) 공시축 선정 및 확보

국내 한우 사육두수는 번식우 암소기준으로 '97년말 약110만두이며 총 사육 두수는 총 250만두이던 것이 2000년 현재 총 사육 두수가 180여만두로 지속적인 감소 추세에 있다. 이들중 국내 개량기관(축산기술연구소, 축협, 도종축장)에서 능력기록 및 혈통을 관리하고 있는 개체들은 개량단지(농가)를 포함하여 약 187천두로 추산된다. 현재 국가차원의 한우개량을 위한 기초집단으로 187천두가 활용되고 있으며 이들로부터 종축능력검정기준, 외모심사기준에 의해 능력 및 혈통기록이 있는 후보종모축이 선발되고 이들의 유전능력에 대한 후대검정을 거쳐 전국의 농가보유 암소를 번식시키는 정액생산용 보증종모우를 선발하고 있다. Figure 11과 같은 과정을 통해 연간 40여두의 후보종모우를 선발하고 이를 자손400두(10두/두당) 후대 수송아지를 생산·검정하여 최종 20두의 보증종모우를 선발하고 있다. 따라서, 본 연구는 한우의 유전특성을 분석해야 하는 본래의 목적을 충분히 수행하기에 적합한 국가단위 보증종모우선발(년2회)을 위한 체계에 동원된 한우검정집단을 표본으로 선택하게 되었고 '97년 상반기 검정에 착수된 13두의 후보종모우의 자손(후대 검정 수송아지) 177두를 대상으로 혈통정확도 검증에 필요한 혈액형친자 오류개체, 외모상의 결격사유, 법정질병검사 양성개체등을 제외하고 축산기술연구소 남원지소(후대검정 전담기관)에 최종매입된 총 120두를 분석대상 공시축으로 선정하였다.

2) 보증종모우 선발을 위한 능력과 검정요령

가) 검정기간

① 예비검정 : 본 검정 개시 전 최소 20일간 실시(기생충구제, 예방접종, 질병검사와 사육환경 적응여부검정)

② 본검정 : 생후 270-300일령에 개시하여 360일간 실시

나) 검정대상우의 선정기준

① 후보종모우 1두당 생산된 수송아지가 10두 이상일 것

② 이유일령은 120-160일령

③ 기형 및 유전적인 결함이 없는 것

④ 검정개시두수는 후보종모우 1두당 8두이상(종료시 6두이상)

다) 조사사항

① 체중 : 매 30일마다 측정(개시시와 종료시는 연속 3일간 측정한 평균치)

② 체위 : 생후 180일령, 360일령, 540일령시 측정

③ 외모심사 : 종축 및 후보종축 심사기준에 의거 검정종료시 실시

④ 도체조사 및 평가 : 한우검정요령에 정한 도체조사 및 평가기준에 의함

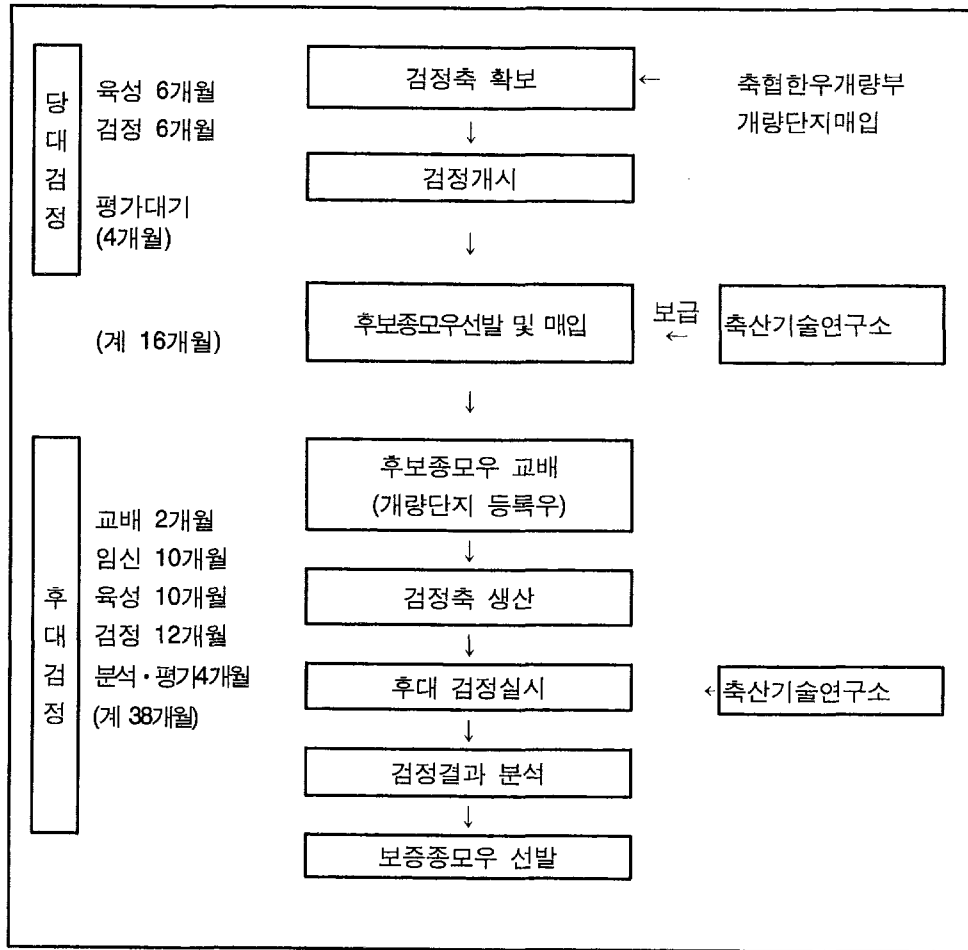
라) 후대검정우 사양관리

① 검정전 육성우 : 검정개시 전까지는 야외사육장에서 1동당 100여두 규모로 군사하였으며 농후사료는 3-4kg정도를 조사료는 벃짚과 알팔파 큐브를 혼합 급여하였다.

② 검정 전기(10개월령 - 16개월령) : 농후사료는 검정전기사료를 4-7kg정도를 급여하였고 조사료는 알팔파큐브를 급여하였다

③ 검정 후기(17개월령 - 22개월령) : 농후사료는 검정후기사료를 7-9kg정도 급여하였고, 조사료는 알팔파큐브와 벃짚을 급여하였다.

Figure 11. 국내정액생산용 보증종모우 선발 및 검정 체계도



3) 한우모집단의 유전특성 및 표본집단의 일반경제능력 분석방법

한우의 경제형질 전반에 대한 유전적 특성을 파악하기 위해 본 연구에서 선정된 공시축 검정기록을 포함한 축산기술연구소 한우관련검정정보 D/B에 누적된 능력검정기록('80 ~ '90)을 근거로하여 환경효과(고정효과)와 상가적 유전효과(임의효과)에 대한 각각의 형질별 유전특성을 분석하였으며 공시축이 포함된 표본집단의 개체별 검정 성적은 SAS통계 package(1985)를 통해 개체 기록에 가해진 환경

효과를 제거한 종모우별 검정성적을 분석하였다.

나. 한우의 외모특성

한우는 외모특성상 1900년대 이전까지 역용으로 활용하는 특성상 선발을 위한 특별한 시도가 이루어지지 않는 것으로 추정되며 일본강점시대에 현재와 같은 황갈색의 단일모색을 기준으로 하여 외모상의 통일을 이루어 나갔으며 개량의 의지(육용)를 가지고 국가적 시책역점사업으로 추진하면서 외형적 특성이 고정되면서 육용우 특성으로 개량되어가는 상황을 나타내고 있다.

Table 12. 종축외모심사 기준요령(농림부 고시 '97. 3)

부 위	설 명	배 점	
		암	수
1. 제적균형	<ul style="list-style-type: none"> - 발육이 양호하며 체구는 넓고 깊고, 늘씬하며 체적이 풍부한 것 - 머리, 목, 체구, 사지간의 균형과 전, 중, 후구의 균형이 좋으며, 체상선과 체하선은 서로 수평으로 육용체형을 구비한 것 - 영양이 중등도로 살붙임이 균일하여 각부의 이행이 좋은 것 	18	18
2. 자질품위	<ul style="list-style-type: none"> - 자질이 좋고 윤곽이 선명하고 품위가 있으며 암, 수의 성상이 뚜렷하며 성질이 온순한 것 - 피모는 황갈색으로 광택이 있고 가늘고 부드러우며 밀생하여 있는 것 - 피부는 여유가 있고 두께는 중등도로 유연하며 탄력이 풍부한 것 	16	17

부 위	설 명	배 점	
		압	수
3. 머리,목	<ul style="list-style-type: none"> - 머리는 체구에 일맞게 크고 모양이 좋고 선명한 것 - 이마는 평정하고 넓으며 눈은 정기가 있고 온화한 것 - 뺨은 풍만하고 턱은 넓고 튼튼하며 콧날은 길이가 적당하고 입은 큰 것 - 뺨은 색과 광택이 좋고 모양이 좋은 것 - 귀는 크기가 중등도이고 목덜미가 넓은 것 - 목은 짧은 듯 하고 머리에서 전구로의 이행이 좋은 것 - 암소의 목은 굽기가 적디어하고 턱노리미가 작고 수소는 목이 굽고 경봉과 목노리미가 적당히 발달한 것 	5	6
4. 전 구	<ul style="list-style-type: none"> - 폭이 넓고 충실하고 깊은 것. - 가슴은 넓고 깊으며 가슴바닥은 평평하고 앞가슴과 겨드랑이가 충실한 것. - 어깨와 기갑은 두텁고 붙임이 좋으며 경사가 일맞고 돌출하지 않으며 어깨 뒤가 충실한 것. 	10	10
5. 중 구	<ul style="list-style-type: none"> - 폭이 넓고, 깊고, 충실한 것 - 등, 허리는 넓고, 깊고, 튼튼하고 곧으며 후구로의 이행이 좋은 것. - 갈비는 넓고 깊게 잘 벌어져 있으며 갈비사이에는 넓고 부착이 좋으며 평활한 것. - 배는 풍만하되 처지지 않으며 하경부가 충실한 것. 	14	14
6. 엉덩이	<ul style="list-style-type: none"> - 요각, 곤, 좌골은 폭이 넓고, 길고 경사지지 않아 모양이 좋고 충실한 것. - 요각은 돌출하지 않고 심자부는 평평하며 천골은 높지 않은 것. - 꼬리는 부착이 좋으며 곧게 늘어져있고 미방이 알맞게 발달한 것. 	13	13
7. 넓적다리	<ul style="list-style-type: none"> - 위, 아래, 넓적다리는 넓고, 두텁고 충실한 것. 	10	10
8. 유 기 성 기	<ul style="list-style-type: none"> - 유방은 고르게 잘 발달하고 유연하며 탄력이 있고 유두는 배열이 좋고 크고 부드럽고 유정맥은 굽고 긴 것. - 성기는 정산적으로 발달한 것. 	8	4
9. 다리, 발 굽, 걸음걸이	<ul style="list-style-type: none"> - 다리의 길이는 몸길이에 알맞고 자세가 바르며 근건과 관절이 발달한 것. - 걸음걸이는 확실하고 발디딤이 안정된 것 	6	8

다. 한우의 경제형질 유전능력 분석 결과

Table 13에는 조사된 각 형질별 표현형 평균 및 표준편차를 표시하였다. 조사된 모든 형질에 있어서 표준편차가 다소 크게 나타났는데 이는 후대검정 사업이 1983년부터 시작되어 정착되는 기간 동안 제 환경의 변화가 다소 있었던 결과로 사료된다. 따라서 정확한 능력의 평가를 위해서는 통계적 모형에 환경변화에 따른 요인을 포함시켜 이를 보정하여야 할 것으로 보인다.

Table 13. 각 형질별 표현형평균 및 표준편차

형 질	분석개체수	평균 ± 표준오차
생시체중(BW),kg	10,989	22.9 ± 2.73
이유시체중(WW), kg	10,989	105.0 ± 17.72
6개월령체중(W6), kg	10,989	134.3 ± 19.84
12개월령체중(W12), kg	6,075	296.6 ± 60.71
18개월령체중(W18), kg	6,075	434.9 ± 87.49
22개월령체중(FW), kg	6,075	541.9 ± 73.59
일당증체량(ADG), kg	6,075	0.899 ± 0.269
도체중(CW), kg	3,132	306.4 ± 48.61
도체율(DP),%	3,132	58.6 ± 2.16
배장근단면적(EMA), cm ²	3,132	80.4 ± 9.99
등지방두께(BF),cm	3,132	678 ± 379
근내지방도(MS),점	3,132	1.99 ± 0.23

Table 14에는 이유전 형질들에 대한 분산 및 유전력을 표시하였다. 생시체중, 이유시 체중 및 6개월체중에 대한 상가적 유전분산에 대한 유전력은 각각 0.15, 0.26 및 0.28로서 일반적인 문헌들에 보고된 같은 형질에 대한 유전력보다 다소 높게 추정되었다. 이는 후대검정이 농가자료에 비해 환경적인 영향을 적게 받음으로서 나타난 결과로 사료된다. 모체 유전분산 또한 같은 형질에서 각각 0.70,

81.90 및 103.03으로 높게 추정되었다 이는 이유전 형질에 모체의 효과, 즉 암소의 영향이 크게 작용함을 나타내는 증거이며, 이에 따라 우수한 능력의 한우를 개량하는데는 고능력 종빈우의 확보가 필연적임을 암시한다. 상가적 유전요인과 모체유전 요인간의 유전공분산은 모두 부의 상관관계를 나타내었다

Table 14. 이유전 형질에 대한 분산 및 유전력 추정치

형질	σ_a^2	σ_{am}	σ_m^2	σ_e^2	σ_t^2	h_a^2	r_{am}	h_m^2	h_t^2
BW	0.87	-0.20	0.70	4.49	5.86	0.15	-0.25	0.12	0.14
WW	68.65	-42.47	81.90	154.06	262.140	0.26	-0.57	0.31	0.29
WW6	91.72	-69.03	103.03	198.56	324.28	0.28	-0.71	0.32	0.30

BW : 생시체중, WW : 이유시 체중, WW6 : 6개월령 체중, h_t^2 : 유전력

Table 15에는 이유후 성장형질들에 대한 표현형 및 유전분산과 유전력을 표시하였다. 12개월령체중, 18개월령체중 및 22개월령체중의 유전력은 각각 0.35, 0.24 및 0.35로서 중 또는 고의 유전력을 나타냈다. 반면에 일당 증체량의 유전력은 0.19로서 체중에 대한 유전력에 비해 다소 낮은 결과를 보였다. 일당 증체량의 유전력이 다소 낮은 원인은 후대 검정 종효체중이 과거에 18개월령이던 것이 현재 22개월령으로 연장되었기 때문으로 사료된다. 이유후 형질들은 이유전 형질들에 비하여 대체로 높은 유전력을 보여 높은 개량의 효과를 가질 수 있을 것으로 생각되며 체중에 대해서만 선발한다면 당대검정 체계가 후대검정 만큼의 효과를 가져올 수 있을 것으로 사료된다. 후대검정결과 생산된 검정우를 도살하여 측정된 도체 형질들에 대한 표현형분산, 유전분산 및 유전력은 Table 16에 표시하였다. 한우개량

방향의 목표가 과거 산육형 중심의 개량에서 현재에 있어서는 우수한 육질을 생산하는 고급육 체제로 바뀌고 있어 이들 형질들에 대한 중요성은 날로 증가되고 있는 실정이다. 일반적으로, 가축형질에 대한 유전력은 대상축군에 대해 다소간의 차이는 있지만 이유전 형질은 저도의 유전력을, 이유후 성장형질은 중도의 형질을 도체형질을 고도의 유전력을 나타낸다. Table 16의 결과에서도 정육율의 유전력은 0.5로서 높은 유전력을 나타냈으나 도축시 체중과 등지방 두께의 유전력은 비교적 낮게 추정되었다. 등심단면적과 지방교잡도의 유전력은 각각 0.35와 0.36으로서 고도의 유전력을 나타내었다.

Table 15. 이유후 각형질에 대한 분산 및 유전력 추정치

형 질	σ_a^2	σ_e^2	σ_t^2	h_a^2
W12	459.31	853.50	1,312.81	0.35
W18	479.74	1,504.94	1,984.68	0.24
ADG	0.0039	0.0166	0.0205	0.19
W22	1,020.82	1,869.63	2,890.45	0.35

W12 : 12개월령 체중, W18 : 18개월령 체중, ADG : 일당증체량, W22 : 22개월령 체중, h_a^2 : 유전력

Table 16. 도체형질에 대한 분산 및 유전력 추정치

형 질	σ_a^2	σ_e^2	σ_t^2	h_a^2
CW	279.34	754.13	1,033.47	0.27
DP	1.99	1.97	3.96	0.50
BF	0.0229	0.0751	0.0981	0.23
EMA	27.34	50.42	77.76	0.35
MS	0.29	0.52	0.81	0.36

CW : 도축시체중, DP : 정육률, BF : 등지방 두께, EMA : 등심단면적, MS:지방 교잡도, h_a^2 : 유전력

라. 염색체 표지분석 공시 대상축의 경제형질 분석결과

Table 17에는 후보종모우별 검정우의 체중 및 일당 증체량에 대한 평균 및 표준편차를 표시하였다. 생시, 6개월령, 12개월령, 18개월령 및 21개월령 체중의 전체 평균은 각각 23.82, 133.00, 271.17, 430.23 및 497.99kg으로 나타났다. 이는 후기의 비육은 주로 지방 및 근육이 증가하는 단계이기 때문인 것으로 사료되며 따라서, 한우개량 목표인 고급육생산을 위해서는 후기비육이 필수적일 것으로 생각된다.

Table 18와 19에는 360일과 540일령에 측정된 후대검정 검정우들의 체위의 평균과 표준 편차를 표시하였다.

Table 17. 후보종모우별 검정우의 체중 및 일당증체량에 대한 평균 및 표준편차

후보 종모우	검정 두수	체 중					검정기간 중 일당증체량(ADG)		
		생 시	6개월	12개월	18개월	21개월	전기 (1일 ~360일)	후기 (360일 ~630일)	전기간
전체 평균	119	23.82 ±0.25	133.00 ±2.62	271.17 ±3.36	430.23 ±4.26	497.99 ±4.54	0.687 ±0.009	0.840 ±0.009	0.753 ±0.007
kp358	9	23.87 ±1.06	109.85 ± 9.01	242.35 ±13.87	404.65 ±17.67	454.28 ±18.42	0.607 ±0.038	0.785 ±0.034	0.683 ±0.029
kp408	8	24.62 ±1.06	113.25 ± 9.03	256.26 ±13.90	395.43 ±17.71	449.34 ±18.46	0.644 ±0.039	0.715 ±0.034	0.674 ±0.029
kp410	10	21.99 ±1.00	120.69 ± 8.51	255.98 ±13.10	410.80 ±16.69	481.03 ±17.40	0.650 ±0.036	0.833 ±0.032	0.729 ±0.027
kp411	10	21.93 ±0.95	117.39 ± 8.05	259.34 ±12.40	407.73 ±15.79	458.04 ±16.46	0.659 ±0.034	0.736 ±0.030	0.692 ±0.026
kp412	9	24.74 ±1.01	138.43 ± 8.59	279.84 ±13.23	434.38 ±16.85	504.56 ±17.57	0.709 ±0.037	0.832 ±0.032	0.761 ±0.028
kp419	6	24.04 ±1.10	169.27 ± 9.35	293.79 ±14.40	445.04 ±18.34	497.24 ±19.12	0.749 ±0.040	0.753 ±0.035	0.751 ±0.030
kp421	7	24.22 ±1.13	154.94 ± 9.61	285.11 ±14.80	442.19 ±18.85	508.97 ±19.65	0.725 ±0.041	0.829 ±0.036	0.770 ±0.031
kp422	7	24.50 ±1.16	179.76 ± 9.90	323.11 ±15.25	490.28 ±19.43	564.33 ±20.25	0.829 ±0.042	0.893 ±0.037	0.857 ±0.032
kp426	11	24.47 ±0.89	146.88 ± 7.54	273.38 ±11.61	450.27 ±14.79	478.59 ±15.42	0.691 ±0.032	0.760 ±0.028	0.721 ±0.024
kp431	11	22.46 ±0.89	116.31 ± 7.61	255.81 ±11.71	397.20 ±14.92	463.27 ±15.56	0.648 ±0.032	0.768 ±0.029	0.700 ±0.025
kp433	11	23.70 ±1.02	125.00 ± 8.67	273.62 ±13.35	433.05 ±17.01	493.84 ±17.73	0.694 ±0.037	0.816 ±0.033	0.746 ±0.028
kp434	5	21.95 ±1.25	121.56 ±10.65	273.46 ±16.39	417.97 ±20.88	485.12 ±21.77	0.699 ±0.045	0.784 ±0.040	0.735 ±0.034
kpn145	15	23.10± 0.84	134.71 ± 7.16	280.72 ±11.02	458.26 ±14.04	512.47 ±14.64	0.716 ±0.030	0.858 ±0.027	0.777 ±0.023

Table 18. 후보종모우별 검정우의 305일령 체위에 대한 평균 및 표준편차

후보 종모우	검정 두수	체 위 (360일령)										
		체 고	십자 부고	체 장	흉 심	흉 폭	요각폭	군 폭	좌골폭	고 장	흉 위	전관위
전체 평균	119	104.16 ±1.03	108.00 ±0.81	112.43 ±0.88	53.70 ±0.40	27.11 ±0.55	29.52 ±0.41	31.71 ±0.45	12.21 ±0.20	40.82 ±0.49	130.30 ±1.02	14.86 ±0.15
kp358	9	99.99 ±4.16	103.08 ±3.00	109.80 ±4.06	46.84 ±1.68	22.75 ±2.22	30.40 ±1.66	33.32 ±1.78	11.37 ±0.96	36.91 ±2.15	120.80 ±4.43	12.73 ±0.65
kp408	8	104.06 ±4.16	106.82 ±3.00	107.83 ±4.07	50.65 ±1.69	19.49 ±2.22	25.79 ±1.66	30.56 ±1.78	13.59 ±0.96	43.11 ±2.16	129.57 ±4.44	14.03 ±0.65
kp410	10	102.04 ±3.92	107.74 ±2.83	112.38 ±3.83	53.11 ±1.59	29.55 ±2.10	31.02 ±1.56	32.96 ±1.68	11.28 ±0.90	45.78 ±2.03	129.81 ±4.18	15.17 ±0.61
kp411	10	98.13 ±3.71	106.27 ±2.68	111.79 ±3.63	53.03 ±1.50	32.72 ±1.98	33.55 ±1.48	40.30 ±1.59	13.77 ±0.85	39.47 ±1.92	128.53 ±3.96	14.26 ±0.58
kp412	9	108.22 ±3.96	113.63 ±2.86	117.68 ±3.87	53.14 ±1.61	26.47 ±2.12	31.21 ±1.58	33.60 ±1.69	12.17 ±0.91	37.85 ±2.05	130.97 ±4.22	15.12 ±0.62
kp419	6	108.67 ±4.31	112.28 ±3.11	118.82 ±4.21	57.67 ±1.75	29.13 ±2.30	34.00 ±1.72	35.08 ±1.85	12.24 ±0.99	44.90 ±2.23	140.16 ±4.60	14.63 ±0.67
kp421	7	108.07 ±4.43	115.80 ±3.20	117.08 ±4.33	55.41 ±1.80	22.78 ±2.37	27.74 ±1.77	30.45 ±1.90	12.04 ±1.02	37.85 ±2.30	139.37 ±4.72	15.07 ±0.69
kp422	7	114.25 ±4.57	116.02 ±3.30	119.66 ±4.46	54.51 ±1.85	30.01 ±2.44	30.30 ±1.82	33.02 ±1.95	14.22 ±1.05	39.82 ±2.37	142.16 ±4.87	17.05 ±0.71
kp426	11	108.27 ±3.48	113.82 ±2.51	109.48 ±3.40	53.66 ±1.41	25.74 ±1.86	28.08 ±1.39	30.27 ±1.49	13.16 ±0.80	40.15 ±1.80	137.39 ±3.71	14.87 ±0.54
kp431	11	99.71 ±3.51	103.13 ±2.53	110.50 ±3.43	52.09 ±1.42	21.31 ±1.87	26.98 ±1.40	28.78 ±1.50	13.38 ±0.81	38.21 ±1.82	135.73 ±3.74	15.08 ±0.55
kp433	11	103.50 ±4.00	111.27 ±2.89	116.96 ±3.91	49.96 ±1.62	24.62 ±2.14	28.77 ±1.59	32.56 ±1.71	12.61 ±0.92	39.29 ±2.07	134.77 ±4.26	15.37 ±0.62
kp434	5	79.05 ±4.91	90.98 ±3.54	110.10 ±4.80	50.28 ±1.99	21.22 ±2.62	20.94 ±1.96	25.33 ±2.32	12.73 ±1.13	38.26 ±2.54	122.24 ±5.23	14.93 ±0.76
kpn145	15	104.37 ±3.30	109.81 ±2.38	107.18 ±3.23	53.77 ±1.34	25.05 ±1.76	28.79 ±1.32	33.91 ±1.41	12.38 ±0.76	39.92 ±1.71	132.44 ±3.52	14.51 ±0.51

Table 19. 후보종모별 검정우의 540일령 체위에 대한 평균 및 표준편차

후보 종모우	검정 두수	체 위 (540일령)										
		체 고	십자 부고	체 장	흉 심	흉 폭	요각폭	근 폭	좌골폭	고 장	흉 위	전관위
전체 평균	119	109.52 ±0.89	113.94 ±0.90	108.66 ±1.62	55.18 ±0.84	20.63 ±0.66	27.79 ±0.51	32.92 ±0.57	16.84 ±0.31	39.12 ±0.65	151.81 ±1.98	16.88 ±0.26
kp358	9	102.61 ±3.86	109.96 ±4.12	108.49 ±7.53	51.29 ±3.99	18.70 ±3.05	24.34 ±2.25	28.93 ±2.63	15.04 ±1.40	39.04 ±2.84	136.84 ± 8.63	17.18 ±1.18
kp408	8	111.62 ±3.88	115.80 ±4.12	114.22 ±7.55	53.54 ±4.00	17.13 ±3.05	28.46 ±2.26	32.76 ±2.63	15.75 ±1.40	39.43 ±2.85	145.92 ± 8.65	16.70 ±1.18
kp410	10	110.68 ±3.65	113.69 ±3.89	117.84 ±7.11	50.41 ±3.77	22.36 ±2.87	30.27 ±2.13	33.75 ±2.48	16.04 ±1.32	38.70 ±2.68	149.22 ± 8.15	14.96 ±1.11
kp411	10	107.16 ±3.46	112.79 ±3.68	104.00 ±6.73	47.94 ±3.56	19.59 ±2.72	25.60 ±2.01	28.70 ±2.35	16.24 ±1.25	34.91 ±2.54	135.86 ± 7.71	15.79 ±1.05
kp412	9	108.95 ±3.69	114.56 ±3.92	110.09 ±7.18	52.36 ±3.80	16.16 ±2.90	28.90 ±2.15	35.26 ±2.51	18.89 ±1.33	37.23 ±2.71	138.72 ± 8.23	18.52 ±1.12
kp419	6	112.33 ±4.01	117.65 ±4.27	120.70 ±7.82	59.53 ±4.14	24.64 ±3.16	28.74 ±2.34	31.24 ±2.73	16.52 ±1.45	41.50 ±2.95	155.44 ± 8.96	16.87 ±1.22
kp421	7	110.56 ±4.13	117.44 ±4.39	107.87 ±8.03	54.45 ±4.25	22.46 ±3.25	29.70 ±2.40	33.48 ±2.80	15.60 ±1.49	39.59 ±3.03	136.66 ± 9.21	16.48 ±1.26
kp422	7	120.69 ±4.25	126.84 ±4.52	126.39 ±8.28	56.94 ±4.38	18.67 ±3.35	28.84 ±2.47	36.14 ±2.89	18.30 ±1.54	45.86 ±3.13	154.20 ± 9.49	16.25 ±1.29
kp426	11	109.20 ±3.24	115.80 ±3.45	110.02 ±6.31	58.59 ±3.34	19.77 ±2.55	27.97 ±1.88	33.76 ±2.20	17.07 ±1.17	40.34 ±2.38	158.92 ± 7.23	16.35 ±0.99
kp431	11	107.92 ±3.27	114.88 ±3.48	106.15 ±6.36	53.05 ±3.37	18.99 ±2.63	28.18 ±1.90	33.06 ±2.22	13.83 ±1.18	32.56 ±2.40	152.40 ± 7.29	16.80 ±0.99
kp433	11	105.81 ±3.72	115.76 ±3.96	121.30 ±7.25	53.96 ±3.84	21.01 ±2.93	28.91 ±2.17	36.32 ±2.53	14.01 ±1.35	34.96 ±2.74	147.59 ± 8.31	14.40 ±1.13
kp434	5	110.73 ±4.57	115.82 ±4.86	105.67 ±8.90	60.42 ±4.71	22.57 ±3.60	31.38 ±2.66	36.86 ±3.11	13.28 ±1.65	32.04 ±3.36	161.86 ±10.20	14.93 ±1.39
kpn145	15	109.43 ±3.07	114.06 ±3.27	98.93 ±5.99	51.07 ±3.17	17.48 ±2.42	23.05 ±1.79	28.74 ±2.09	16.39 ±1.11	37.62 ±2.26	130.82 ± 6.86	17.12 ±0.94

제 3 장 고정도분염법에 의한 재래 돼지의 표준핵형 설정과 염색체 변이 분석

제 1 절 서 설

돼지에 있어서 염색체의 밴드양상은 Berger(1972), Gustavsson 등(1972)과 Hansen (1972)이 최초로 소개한 이래 영국의 Reading Conference(1980)에서 돼지를 포함한 가축들에 대한 염색체의 국제적 명명을 위한 제정 회합을 가진 바 있다. 국내에서도 김 등(1994b)과 김 과 손(1995)이 Yorkshire, Landrace, Duroc에 대한 염색체의 상대적 길이와 동원체 지수를 비교 분석한 바 있고 이들의 G-banding양상을 고찰한 바 있다. 한편 돼지의 실질적인 표준핵형은 1988년도에 개최된 국제표준핵형위원회(Committee for the Standardized Karyotype of the Domestic Pig, 1988)에서 제시되어졌고, 최근에는 이보다 더욱 구체적이고 정밀한 핵형의 연구를 위해 High-Resolution banding의 방법을 이용한 돼지의 핵형분석을 소개한 바가 있다(Yerle 등, 1991). 그러나 이러한 방법을 이용한 돼지의 핵형양상이 국제적인 표준핵형으로서 아직 공인되지 않고 있으며, 더욱이 우리나라 고유 축종인 재래 돼지에 대한 유전적 표지에 대해서는 거의 연구 보고된 바가 없는 실정이다. 한편 최근 우리나라의 고유 재래돼지에 대하여 이들의 DNA를 이용한 유전자지문을 분석함으로써 이의 유전적 특성을 밝히고자 하는 시도들이 수행되고 있다(여 등, 1997). 이러한 시도들은 본 연구와 더불어 종합적으로 재래돼지의 유전적 특성이나 가계분석, major gene의 확인(Tsuji, 1995) 및 염색체의 물리적 지도 작성(Takashi 등, 1992; Robic 등, 1995)에 필

수적 사항이라 하겠다. 따라서 본 장에서는 돼지의 핵형 분석들을 토대로 새로운 고분염분석(high-resolution banding)방법을 적용하여 기존의 중기상(metaphase chromosome) 뿐만 아니라 전중기(prometaphase chromosome) 및 전기상(prophase chromosome)에 대한 염색체의 형태적 양상의 비교분석과 G, C-banding양상의 분석으로 고유 재래 돼지에 대한 표준 핵형(standard karyotype)을 설정하고 이와 함께 재래돼지의 형태적 특성 및 일반 능력도 분석 제시하였다.

제 2 절 재 료 및 방 법

1. 공시축

본 시험은 축산기술연구소에서 선발 육종중인 재래돼지 종모돈 50두를 대상으로 각 개체별 혈액채취로서 핵형 분석 및 경제능력 검정을 수행하고, 또한 진주산업대학교 동물사육장과 축산기술연구소에서 사육중인 Landrace 50두를 대조축으로 분석하였다.

2. 혈액배양으로부터 염색체의 분리 방법

백혈구 배양법을 이용한 염색체의 분리는 손 과 정(1994)이 제시한 포유동물의 혈액배양법을 다소 변형시켜 다음과 같이 수행한다.

- ① 혈액채취 : 경정맥(頸靜脈)으로 부터 5ml의 혈액 채취
- ② 배 양 : whole blood를 이용하여 72시간 배양
- ③ 중기상유도 : 전 처리 1시간전 colcemid의 주입
- ④ 전처리(harvest) : 원심분리후 세포 분리
- ⑤ 저장처리(hypotonic) : 저장액 (distilled water & calf serum)에 20분간 저장처리
- ⑥ 고정처리(fixation) : 원심분리후 고정액(Carnoy's solution)에 고정
- ⑦ 표본제작 : 고정 세포액을 slide상에 5~6방울 적하
- ⑧ Air drying 및 염색 : 건조후 Giemsa염색

3. 핵형분석

- ① 검경 및 사진촬영: 광학 현미경하에서 적절한 중기상을 저감도 필

립으로 촬영

- ② 현 상 : 현상액(D-19)로 5~6분간 현상
- ③ 인화 및 확대 : 인화액(D-72)로 인화후 핵형분석에 이용할 상은 확대
- ④ 재 배 열 : 상동염색체별로 재 배열
- ⑤ 재 촬영 : 복사필름(copy film)을 이용하여 재 배열상의 촬영

4. High-Resolution banding

- ① Blood의 배양: 5% CO₂, 37°C에 72시간 배양
- ② Cell synchronize: MTX 처리, 17시간 재 배양
- ③ Rinsing : medium으로 3회 이상 rinsing
- ④ 재 배 양 : thymidine 또는 EtBr을 함유한 배양액으로 6시간 재 배양
- ⑤ 증기상 억제: harvest 하기 10~15분 전 colcemid 첨가
- ⑥ 저장처리, 고정처리
- ⑦ 표본제작 : 고정 세포액을 slide상에 5~6방울 적하
- ⑧ Air drying
- ⑨ G-banding

5. GTG-banding 분석

도말된 표본을 55-60°C slide warmer상에 overnight

- ① Trypsin 처리 : 0.05% trypsin(D-PBS solu.)으로 30초~1분 처리
- ② Saline 수세 : 4~5 회
- ③ Giemsa 염색 : 5% Giemsa solu.으로 3~4 분간 염색
- ④ 검경 및 촬영

6. C-banding 분석

최소 1주일간 자연건조된 표본이용

- ① HCl 처리 : 0.2 N HCl에 1시간 정치
- ② Ba(OH)₂ 처리 : 5% Ba(OH)₂ 에 20~30분간 침적후 0.05 N HCl에 수세
- ③ 2XSSC 처리 : 60℃에 1시간 정치
- ④ 수세 및 염색 : D.W로 수세후 2% Giemsa용액에 1시간 염색
- ⑤ 검경 및 촬영

7. 통계 분석

- ① 상대적 길이 및 동원체 지수에 대한 품종 간의 t-test
- ② 품종 간 band양상의 유의성 검정
- ③ 재래돼지의 경제능력 분석 및 유전 모수 추정

제 3 절 결과 및 고찰

1. 염색체 분석에 의한 재래돼지의 표준 표지설정

가. 돼지 혈액배양을 이용한 고분염 염색체 분리 기법 개발

본 연구에서는 우리 고유 재래가축인 재래돼지의 표준 핵형 제시를 위하여 우선 돼지에서의 고분염중기상을 획득할 수 있는 분리 기법을 개발하고 자 하였다. 고분염 중기상 유도를 위한 최적의 분리 기법을 개발하기 위하여 혈액 배양으로부터 chromatin 응축 억제제, 방추사 억제물질 및 이들의 처리 시간을 조합한 염색체 분리방법을 시도한 바 Table 20과 같다.

Table 20. The duration and treatment of culture for high resolution chromosome preparation

Treatment	Methotrexate	Thymidine	Ethidium bromide	Colcemid
Colcemid	-	-	-	30 minutes
	-	-	-	50 minutes
	-	-	-	90 minutes
	-	-	-	120 minutes
Ethidium bromide	-	-	2.5 hours	-
	-	-	2.5 hours	30 minutes
	-	-	2.5 hours	50 minutes
	-	-	2.5 hours	90 minutes
MTX & thymidine	17 hours	5 hours	-	10 minutes
	17 hours	6 hours	-	10 minutes
	17 hours	7 hours	-	10 minutes

세포분열 전기 또는 초기중기 상태의 염색체를 인위적으로 유도하므로써 보다 많은 band양상과 정밀한 핵형 분석이 가능할 것이란 가정하에 Yunis(1976)가 이에 대한 방법을 처음으로 개발하여 High-Resolution banding법이라 소개하였다. High-Resolution

banding방법은 세포 배양시 모든 세포들을 synchronize시켜 mitotic index의 효율을 증가시키고, 또한 염색체의 상을 인위적으로 보다 길게 유지시키는 것으로서 모든 세포의 분열 상태를 간기 중 S phase로 억제시킨 후 thymidine-rich medium을 첨가하여 이 상태를 풀어준 후 colcemid 등 방추사 억제물질을 단 시간 투여하여 염색체들이 동일하게 prophase 혹은 prometaphase가 되도록 유도하는 것이다. 이러한 원리를 이용하여 본 실험에서는 methotrexate(MTX)로서 세포들을 동기화 시키고, thymidine과 colcemid처리로서 분열을 재개시킨 다음 중기상을 유도하는 방법과 한편으로 세포분열의 G₂단계동안 염색체의 수축을 억제하는 ethidium bromide(EtBr)를 배양 종료전 적절한 시간동안 처리하여 고해상 중기상을 수확하는 방법을 비교 검토하였다.

1) Colcemid 단독 처리에 따른 세포분열 양상

Table 21에서는 배양 후 colcemid의 처리 시간에 따른 분열단계별 세포 수와 분열지수(mitotic index)를 제시한 것으로 처리별 각 50여장의 slide로부터 얻은 분석치들이다. Colcemid 처리는 방추사 형성을 억제함에 따라 처리시간 만큼 세포 분열 주기상에 중기상의 획득율이 높아지게 된다. 따라서 본 비교 시험에서 나타난 결과들은 이러한 이론적 근거를 충분히 뒷받침하는 것으로 처리 시간이 길어질수록 더욱 높은 세포분열 지수와 많은 중기상들이 유도되고 있다. 반면 중기상의 억제 시간이 길어질수록 응축도가 높아져 전기 혹은 전중기 상태의 상이 적어지고 보다 짧은 상태의 염색체들이 많게 되어 염색체의 형태적 분석에 다소 어려움을 가지게 된다.

Table 21. The effect of duration of colcemid on the number of cells progressed into prophase and metaphase in lymphocyte culture

Treatment sample	Prophase	Prometa -phase	Metaphase	Total	Mitotic index	
Colcemid		-----Cells-----			---%---	
30min	50	54.5±9.4 ^b	46.3±6.0	846.3±67.0 ^c	947.1±71.8 ^c	1.73±0.089 ^c
50min	56	43.8±7.3 ^b	46.2±5.5	1116.8±83.7 ^{bc}	1207.4±89.5 ^{bc}	2.48±0.136 ^c
1hr 30min	50	50.4±7.3 ^b	44.5±5.4	1692.1±125.5 ^b	1787.0±131.1 ^b	3.68±0.243 ^b
2hr	48	113.0±11.8 ^a	38.8±4.7	3055.5±371.1 ^a	3207.3±383.3 ^a	8.19±0.347 ^a
Overall means	204	64.3±4.9	44.0±2.7	1647.7±112.6	1756.2±116.4	3.93±0.204

There are significant difference among the means with the different superscripts in a column(p<0.01). Mean ± Standard error

Table 22. The effect of EtBr treatments on the number of cells progressed into prophase and metaphase in lymphocyte culture

Treatment sample	Prophase	Prometa -phase	Metaphase	Total	Mitotic index	
EtBr 2.5h		-----Cells-----			---%---	
Non colcemid	50	57.7±8.6 ^b	14.4±1.8 ^b	59.2±8.5 ^b	131.5±13.5 ^b	0.24±0.019 ^b
Colcemid 30min	52	46.3±5.5 ^b	17.8±2.4 ^{ab}	109.3±26.4 ^b	172.9±28.3 ^b	0.36±0.066 ^b
Colcemid 50min	50	67.4±9.0 ^{ab}	26.1±2.8 ^a	84.8±10.4 ^b	178.3±15.3 ^b	0.32±0.023 ^b
Colcemid 90min	43	98.8±13.7 ^a	27.2±3.5 ^a	494.2±73.8 ^a	620.2±84.3 ^a	1.65±0.111 ^a
Overall means	152	66.2±4.8	21.1±1.4	175.1±21.7	262.3±24.7	0.60±0.051

There are significant difference among the means with the different superscripts in a column(p<0.01). Mean ± Standard error

2) Ethidium bromide 처리에 따른 세포분열 양상의 비교 분석

세포분열의 G₂단계동안 염색체의 수축을 억제하는 ethidium bromide (EtBr)를 배양 종료전, 적절한 시간동안 처리하고 이후 colcemid를 처리하여 고해상 중기상을 수확하는 방법을 비교 검토하

여 이의 결과를 Table 22에 제시하였다. 시험결과 EtBr의 영향으로 중기상의 유도가 현저히 줄어들음을 나타내었고, 상대적으로 전기상의 유도는 다소 많아짐을 보였다. 처리간 전기 및 전중기상의 수는 EtBr 처리후 colcemid의 처리 시간이 길어질수록 다소 많아지는 경향을 보이고 있다.

3) MTX와 Thymidine 처리에 따른 세포분열 양상의 비교 분석

Methotrexate(MTX)로서 모든 세포의 분열 상태를 간기 중 S phase로 억제시킨 후 thymidine-rich medium을 첨가하여 분열을 재개시키고, 이후 짧은 colcemid처리로서 보다 많은 prophase와 prometaphase의 염색체를 유도하고 자 하는 것으로 Table 23에서는 이러한 방법 중 thymidine의 처리 시간에 따른 비교 분석 결과들을 나타낸 것이다. 시험결과 MTX의 영향으로 세포 분열의 정지양상이 현저하게 나타났고, thymidine에 의해 분열이 다소 재개되기는 하였으나 전체적 세포분열 지수는 줄어들었음을 알 수 있었다. 그러나 전기 및 전중기상의 유도가 colcemid의 단독처리에 비해 상대적으로 높은 비율을 나타내고 있으며 thymidine 처리 시간간에는 중기상을 제외하고는 유의적인 차이가 없는 것으로 보여진다.

이상의 결과에서 세포분열 지수는 colcemid 단독처리가 가장 높게 나타났으며 이의 대부분이 현저하게 높은 중기상의 유도에 기인된 것으로 분석되었다. 한편 EtBr과 MTX의 처리에 따른 고분열 중기상의 획득은 적절한 세포 동기화가 유도됨에 따라 colcemid 단독처리에 비해 유의적으로 높은 전기 및 전중기상의 분리비를 나타내고 있다. Table 24에서는 각 처리별 전기, 전중기 및 중기상의 상대적 유도율을 비교 분석한 것으로 EtBr 및 MTX의 처리구가 전체

적 중기상의 수율은 낮으나 전기 및 전중기 염색체의 유도 양상이 훨씬 높게 나타났다. 그러나 MTX 처리구의 경우 염색체의 형태적 양상이 EtBr처리구에 비해 대체적으로 불량한 상태를 보임에 따라 최적의 고분염 중기상 유도 방법으로는 세포들을 적절히 동기화시키고 염색체의 응축을 최소화할 수 있는 EtBr의 처리가 필수적이며, 유도된 염색체의 수율을 높이기 위하여 이후 약 50분~1시간 30분 정도의 colcemid의 처리가 효과적임을 나타내었다.

Table 23. The effect of MTX and thymidine treatments on the number of cells progressed into prophase and metaphase in lymphocyte culture

Treatment sample	Prophase	Prometa -phase	Metaphase	Total	Mitotic index	
MTX 17hr		-----Cells-----			---%---	
Thymidine 5hr	59	53.4±9.6	31.1±5.1	221.8±29.6 ^a	306.3±35.6 ^a	0.70±0.065
Thymidine 6hr	52	54.7±10.7	18.2±2.9	105.5±16.4 ^b	178.4±21.9 ^b	0.51±0.045
Thymidine 7hr	50	58.5±10.0	21.9±3.8	130.2±16.9 ^b	210.8±25.9 ^{ab}	0.62±0.058
Overall means	161	55.4±5.8	24.1±2.4	155.8±13.7	235.3±17.4	0.61±0.033

There are significant difference among the means with the different superscripts in a column(p<0.01). Mean ± Standard error

Table 24. The induction rate of cells progressed into prophase and metaphase for the total number of yield.

Treatment	Prophase	Prometaphase	Metaphase	Total
	----- % -----			
Colcemid	3.7	2.5	93.8	100
EtBr	25.2	8.0	66.8	100
MTX	23.5	10.2	66.2	100

나. 재래돼지의 표준핵형과 품종간 핵형 양상의 비교 분석

1) 재래돼지 염색체의 핵형 양상

염색체의 형태 및 구조양상을 구명하는 하나의 방법으로서 동원체 지수(centromeric index)와 상대적 길이(relative length)의 분석이 널리 사용되고 있다. 동원체 지수라 함은 개개 염색체의 모양을 나타내는 대표적 지표로서 각 염색체의 전체 길이 중 단완(short arm)이 차지하는 백분율을 나타낸 것으로 이의 비율이 37.5~50% 일 때를 metacentric, 25~37.5%를 submetacentric, 0~25%를 acrocentric chromosome으로 명명하고 있다(Levan et al., 1964). 한편 상대적 길이라 함은 각 종의 전체 염색체 길이(genome; n) 중 개개 염색체가 차지하는 길이의 비로서 각 염색체의 크기를 나타내는 상대적 지표이다. 따라서 본 연구에서는 재래돼지 염색체의 형태적 양상을 분석하기 위하여 고분염분석법에 의한 각 분열 시기별 염색체에 대한 동원체지수, 상대적 길이를 분석하여 이들간 차이를 비교 검토하고, 이를 종합한 재래돼지 염색체의 형태적 표준 양상을 제시하고자 하였다.

Table 25에서는 재래돼지의 전기, 전중기 및 중기상의 염색체간 상대적 길이를 제시하였고, Table 26에서는 각 염색체의 동원체 지수 및 이에 따른 nomenclature를 제시한 것이다. Table 25와 26에서 분석된 바와 같이 분열시기별 염색체의 상대적 길이의 경우 긴 염색체 일수록 세포분열의 진행에 따른 염색체의 응축도가 커지는 양상을 나타내고 있으며, 동원체 지수의 경우 분열시기와 관계없이 일정한 염색체의 형태를 지니고 있음을 알 수 있다. Table 27은 중기상의 염색체 길이를 100으로 하였을 때 전중기 및 전기상의 염색체 길이의 상대적 비율을 제시한 것으로 평균 전중기상은 중기상의 135%, 전기

상은 180%로 중기상에 비해 약 1.8배정도 더 긴 형태로 나타났다.

이상에서 염색체의 형태적 고찰을 통한 재래돼지의 핵형양상은 $2n=38$ 로서 5쌍의 submetacentric chromosomes(Group I), 짧은 단완을 가진 2쌍의 acrocentric chromosomes(Group II), 5쌍의 metacentric chromosomes(Group III) 및 동원체가 말단부에 있는 6쌍의 acrocentric chromosomes (Group IV)로 구성된 36개의 상 염색체(autosomes)와 metacentric 인 X, Y 성 염색체로 구성되어 있음을 알 수 있다.

Table 25. The relative length of prophase, prometaphase and metaphase chromosomes in Korean native pig.

Chromosome No.	Metaphase	Prometaphase	Prophase
samples	80	76	62
1	9.7±0.140	10.7±0.094	10.7±0.130
2	5.9±0.072	6.2±0.060	6.3±0.100
3	5.6±0.057	5.6±0.069	5.7±0.091
4	5.3±0.055	5.0±0.052	5.2±0.052
5	5.2±0.057	4.1±0.050	4.2±0.056
6	6.2±0.066	6.8±0.720	6.7±0.130
7	5.3±0.065	5.1±0.049	5.1±0.076
8	5.3±0.058	5.3±0.053	5.3±0.067
9	4.6±0.058	5.1±0.056	5.3±0.071
10	4.7±0.079	4.2±0.062	4.4±0.086
11	3.7±0.072 ^a	3.0±0.038 ^b	3.0±0.053 ^b
12	3.4±0.065 ^a	2.7±0.044 ^b	2.7±0.055 ^b
13	7.0±0.091	8.3±0.083	8.1±0.088
14	5.4±0.079	6.3±0.070	6.5±0.089
15	5.2±0.061	5.7±0.070	5.4±0.093
16	3.7±0.057 ^a	3.5±0.057 ^b	3.4±0.039 ^b
17	2.8±0.034	2.9±0.037	2.8±0.041
18	2.5±0.044	2.5±0.037	2.4±0.044
X	5.8±0.100	5.0±0.065	5.1±0.093
Y	2.6±0.075 ^a	1.9±0.052 ^b	1.7±0.036 ^c

There are significant difference among the means with the different superscripts in a row($p<0.01$). Mean ± Standard error

Table 26. The centromeric index of prophase, prometaphase and metaphase chromosomes in Korean native pig

Chro. No.	Metaphase	Prometaphase	Prophase	Total	Nomenclature
samples	80	76	62	218	
1	33.8±0.36	32.8±0.33	33.7±0.47	33.4±0.22	submetacentric
2	34.4±0.59	35.1±0.57	35.0±0.69	34.8±0.35	submetacentric
3	37.5±0.60	36.3±0.67	37.7±0.60	37.1±0.36	metacentric
4	36.7±0.65	33.9±0.59	36.1±0.71	35.5±0.38	submetacentric
5	39.1±0.58	37.9±0.60	40.5±0.61	39.1±0.35	metacentric
6	25.7±0.53	25.1±0.53	25.6±0.58	25.5±0.31	submetacentric
7	28.1±0.74	26.0±0.52	27.9±0.65	27.3±0.38	submetacentric
8	40.9±0.52	40.9±0.63	39.2±0.49	40.4±0.33	metacentric
9	43.5±0.55	42.9±0.63	42.2±0.65	42.9±0.35	metacentric
10	45.3±0.47	44.6±0.65	45.8±0.55	45.2±0.33	metacentric
11	44.9±0.53	45.3±0.63	45.7±0.57	45.3±0.33	metacentric
12	45.1±0.58	44.0±0.72	43.7±0.67	44.3±0.38	metacentric
13	0	0	0	0	acrocentric
14	0	0	0	0	acrocentric
15	0	0	0	0	acrocentric
16	0	0	0	0	acrocentric
17	0	0	0	0	acrocentric
18	0	0	0	0	acrocentric
X	41.4±0.53	40.1±0.63	38.5±0.73	40.1±0.36	metacentric
Y	41.8±0.76	42.6±0.09	43.4±0.94	42.5±0.49	metacentric

There are non-significant difference among the means in a row($p<0.01$).

2) 품종간 핵형 양상의 비교

본 연구에서는 재래돼지의 핵형 분석을 토대로 Landrace 및 교잡비육돈(cross-bred;LYYD)에 대한 염색체의 동원체 지수와 상대적 길이를 비교 분석함으로써 품종별 염색체의 형태적 표준 양상을 제시하고, 품종간 핵형의 차이점을 비교 검토하고자 하였다. 돼지의 혈액배양을 이용한 품종간 염색체의 상대적 길이를 Table 28에 제시하였으며, 각 염색체의 동원체 지수의 비교를 Table 29에 나타내었다. 분석 결과 상대적 길이와 동원체 지수에서 각 품종간 많은 염색

Table 27. Comparison of chromosomes length of metaphase prometaphase and prophase in Korean native pig

Chromosome No.	Metaphase	Prometaphase	Prophase
samples	80	76	62
1	100	138.6	185.1
2	100	141.8	191.9
3	100	134.8	184.6
4	100	130.2	179.7
5	100	127.1	170.9
6	100	139.2	185.9
7	100	133.5	179.9
8	100	137.9	185.2
9	100	138.7	190.5
10	100	132.5	184.4
11	100	127.2	165.8
12	100	121.4	163.9
13	100	140.0	180.8
14	100	139.8	191.4
15	100	141.9	178.2
16	100	126.1	163.3
17	100	131.7	168.6
18	100	134.8	172.0
X	100	131.5	175.7
Y	100	125.9	143.3
Total	100	135.2	180.0

The length of each metaphase chromosome was expressed as 100%

체에서 유의적 차이가 나타났으며, 특히 성 염색체 X, Y의 경우 모든 품종간에 형태적 차이가 있음으로 분석되었다. 이러한 양상은 근본적으로 품종간의 유전적 조성의 차이로 생각되어지나 측정방법상의 차이로 기인된 오차도 배제할 수 없을 것으로 사료되어 보다 많은 측정치를 추가로 분석하여 명확한 결론을 도출하고자 한다. 이를 종합한 돼지의 품종간 상대적 길이 및 동원체 지수에 의한 비교 모식도를 Figure 12에 제시하였다. 이상에서 염색체의 형태적 고찰을 통한 재래돼지의 핵형 양상은 타 품종과 특징적 차이가 없는 것으로 사료된다.

Table 28. Comparison of relative length of chromosomes in Korean Native Pig, Landrace and Cross-bred(LYYD)

Chromosome No.	Korean Native Pig	Landrace	Cross-bred
samples	50	70	60
1	9.7±0.140 ^b	10.3±0.110 ^a	10.3±0.120 ^a
2	5.9±0.072	6.0±0.082	6.0±0.059
3	5.6±0.057 ^b	5.5±0.060 ^b	5.9±0.061 ^a
4	5.3±0.055 ^b	5.2±0.060 ^b	5.6±0.056 ^a
5	5.2±0.057 ^a	4.4±0.061 ^b	5.3±0.062 ^a
6	6.2±0.066	6.5±0.075	6.6±0.098
7	5.3±0.065	5.1±0.075	5.2±0.066
8	5.3±0.058	5.2±0.055	5.1±0.050
9	4.6±0.058 ^b	5.0±0.065 ^a	4.4±0.057 ^b
10	4.7±0.079	4.3±0.059	4.3±0.074
11	3.7±0.072 ^a	3.2±0.049 ^b	3.6±0.049 ^a
12	3.4±0.065 ^a	3.0±0.053 ^b	3.4±0.062 ^a
13	7.0±0.091 ^c	8.1±0.079 ^a	7.5±0.090 ^b
14	5.4±0.079 ^b	6.1±0.068 ^a	5.6±0.072 ^b
15	5.2±0.061 ^b	5.5±0.053 ^a	4.9±0.050 ^c
16	3.7±0.057	3.8±0.065	3.5±0.052
17	2.8±0.034 ^b	3.0±0.043 ^a	2.7±0.046 ^c
18	2.5±0.044	2.5±0.039	2.3±0.053
X	5.8±0.100 ^a	5.2±0.069 ^c	5.5±0.058 ^b
Y	2.6±0.075 ^a	2.1±0.048 ^c	2.3±0.053 ^b

There are significant difference among the means with the different superscripts in a row($p < 0.01$). Mean \pm Standard error

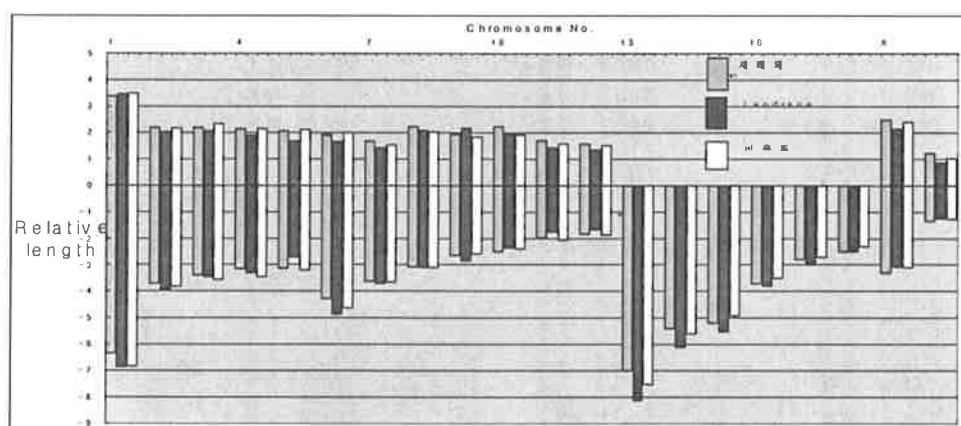


Figure 12. Idiogram of the relative length of chromosomes in Korean Native Pig, Landrace and Cross-bred

Table 29. Comparison of centromeric index of chromosomes in Korean Native Pig, Landrace and Cross-bred(LYYD)

Chromosome No.	Korean Native Pig	Landrace	Cross-bred
samples	50	70	60
1	34.6±0.41	33.5±0.37	33.9±0.42
2	37.1±0.67	33.9±0.63	36.2±0.56
3	39.3±0.66	37.2±0.66	39.6±0.66
4	40.4±0.65 ^a	36.4±0.70 ^b	38.3±0.53 ^{ab}
5	39.6±0.50	38.5±0.60	40.0±0.70
6	30.9±0.65 ^a	25.3±0.57 ^b	30.1±0.70 ^a
7	31.9±0.62 ^a	27.7±0.77 ^b	29.8±0.77 ^{ab}
8	41.8±0.67	40.2±0.55	39.5±0.70
9	42.4±0.66	43.1±0.57	41.2±0.72
10	47.0±0.49	45.1±0.48	44.7±0.54
11	46.5±0.52 ^a	44.6±0.57 ^{ab}	43.2±0.61 ^b
12	46.0±0.59	44.7±0.63	44.6±0.67
13	0	0	0
14	0	0	0
15	0	0	0
16	0	0	0
17	0	0	0
18	0	0	0
X	42.9±0.59 ^a	40.9±0.56 ^b	43.6±0.42 ^a
Y	47.2±0.71 ^a	41.0±0.82 ^b	44.9±0.79 ^a

There are significant difference among the means with the different superscripts in a row($p<0.01$). Mean \pm Standard error

다. 재래돼지의 G-band양상과 High-resolution banding에 의한 표준 표지의 설정

염색체 내 DNA구성이나 이들의 화학적 조성에 따라 나타나는 banding방법들이 개발되면서 이를 이용하여 각 종의 유전적 특성이 나 유전적 기초자료를 제공하고 있다. 염색체의 G-banding은 분리된 염색체에 trypsin이나 urea 또는 hot saline-citrate에 slides를 처리한 후 Giemsa 염색을 함으로서 생성되는 banding양상이다. 본 연구에서는 한국 재래 가축인 재래돼지 염색체의 관행적 중기상의 G-band양

상과 더불어 High-resolution 방법에 의한 전기상의 G-band양상을 고찰함으로써 한국 재래돼지 염색체의 G-band 표준 표지를 설정 제시하고 자 한다.

1) 재래돼지의 G-banding 양상

Figure 13은 각 분열시기별 염색체의 G-banding양상을 나타낸 것이고, Figure 14는 대표적인 재래돼지 염색체의 핵형양상이다. 이들은 metacentric, submetacentric 및 acrocentric 형태의 36개의 상염색체와 metacentric 형태의 X, Y 성염색체로 구성되어 있으며, 각 상동 염색체는 고유한 특징적 G-band 양상을 지속적으로 나타내고 있다. 재래돼지의 G-banding양상은 거의 모든 염색체의 동원체 부위가 염색되지 않는 특징과 더불어 상 염색체의 대부분은 central negative band양상을 보이고 반면 X 염색체는 central positive band를 보이며, Y는 p-central dark band가 나타난다. 이러한 landmarks는 돼지의 국제표준핵형(Committee for the Standardized Karyotype of the Domestic Pig, 1988)과 큰 차이가 없는 양상으로 고분염분석(high-resolution banding)에 의한 전기 혹은 전중기상으로 sub-band의 비교분석이 되어야만 한다.

2) High-resolution banding법에 의한 재래돼지의 G-band 표준표지

Figure 15는 High-resolution banding법에 의한 세포의 분열 시기별 및 응축도에 따라 나타나는 재래돼지 염색체의 G-banding양상을 개개 핵형상으로 나열한 것이다. 각 염색체별 band의 발현양상을 기준으로 Table 30에서는 분열 시기별 염색체의 band수를 비교 분석한 것으로 중기상에서는 약 230여개의 band가 분석된 반면 전기상에서

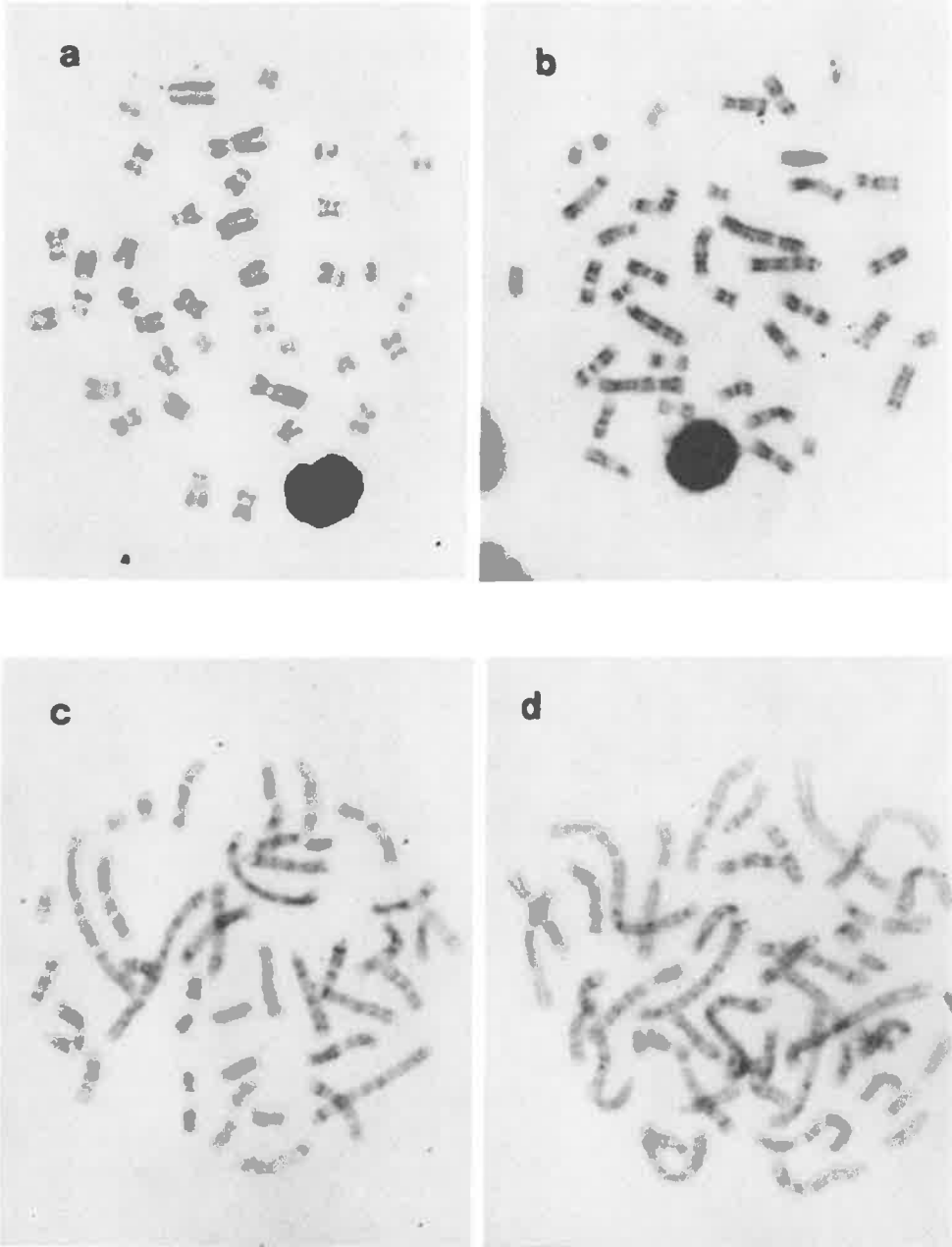


Figure 13. G-banded chromosome spreads of metaphase(a-b), prometaphase(c) and prophase(d) of Korean native pig

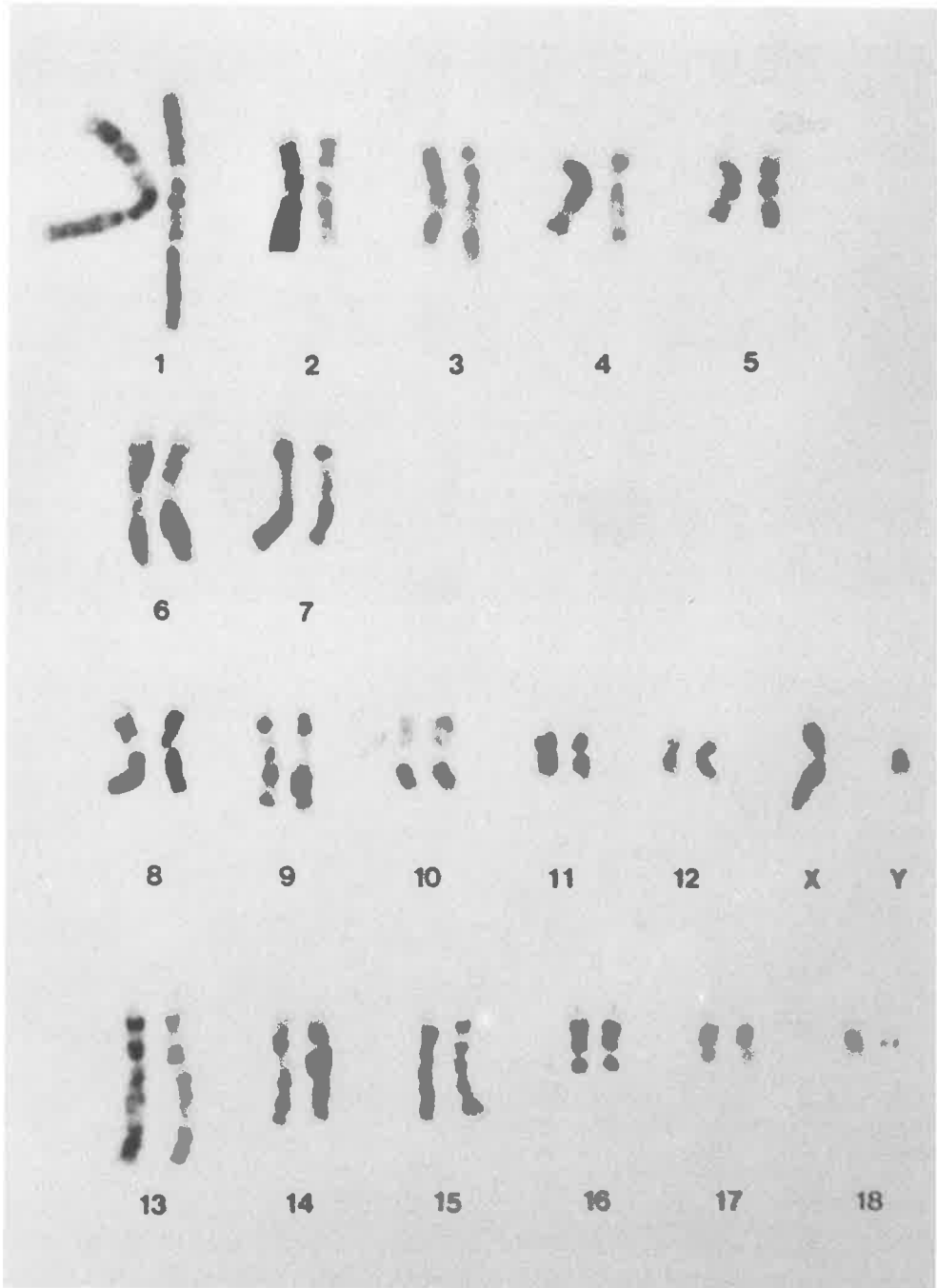


Figure 14. The G-banded karyotype of Korean native pig

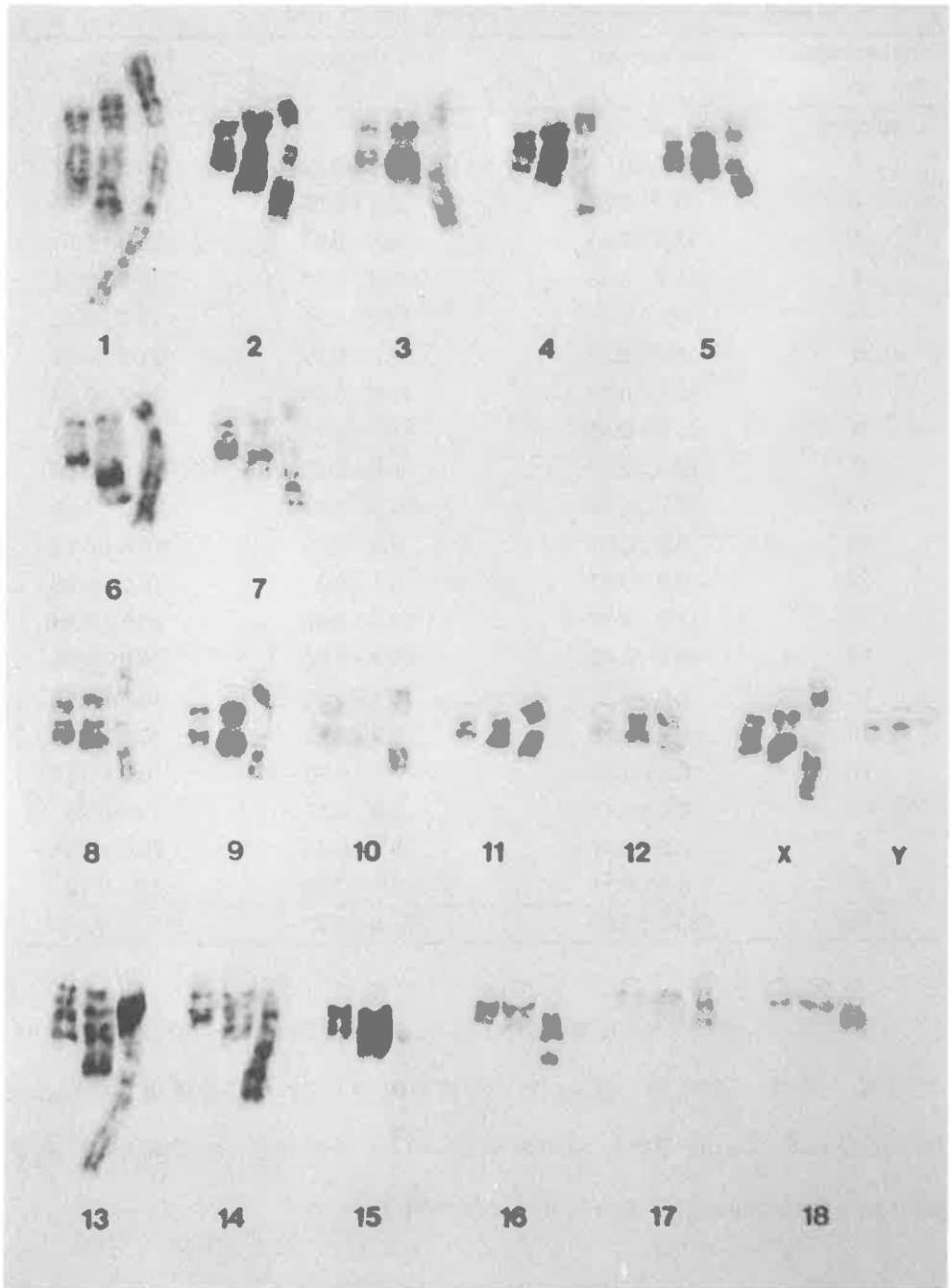


Figure 15. Illustration of Korean Native pig chromosomes at different mitotic stages after G-banding

Table 30. A number of G-bands on each chromosome at prophase, prometaphase and metaphase in Korean native pig

Chromosome No.	Metaphase	Prometaphase	Prophase
samples	56	68	62
1	27.3±0.71	33.5±0.53	40.5±0.82
2	14.0±0.63	18.5±0.55	24.6±0.68
3	13.3±0.51	16.6±0.41	21.6±0.51
4	11.9±0.40	15.2±0.38	19.6±0.51
5	9.6±0.35	12.0±0.32	16.2±0.45
6	16.0±0.57	22.0±0.52	27.2±0.88
7	12.8±0.34	15.4±0.29	20.0±0.54
8	12.5±0.40	15.7±0.46	20.3±0.53
9	12.4±0.51	15.8±0.38	19.9±0.60
10	9.7±0.38	11.3±0.33	14.9±0.50
11	8.0±0.31	9.2±0.20	10.8±0.25
12	7.2±0.27	8.1±0.21	10.0±0.23
13	17.3±0.68	24.5±0.68	30.5±0.84
14	13.6±0.42	17.8±0.50	24.5±0.85
15	12.6±0.31	15.4±0.33	19.9±0.56
16	8.2±0.25	8.9±0.23	12.1±0.36
17	6.2±0.25	7.5±0.20	10.3±0.27
18	4.6±0.17	5.5±0.17	7.7±0.29
X	12.6±0.46	15.6±0.42	20.3±0.64
Y	3.7±0.11	3.7±0.09	4.5±0.19
Total	233.5±6.95	292.2±5.83	375.4±8.18

는 370여개로 약 140여개의 band수가 분리 증가됨을 알 수 있었다. 이상의 분석 결과를 토대로 재래돼지의 각 염색체별 G-band landmarks를 Table 31에 제시하였고 이를 기준으로 재래돼지의 표준 G-band idiogram을 Figure 16에 제시하였다.

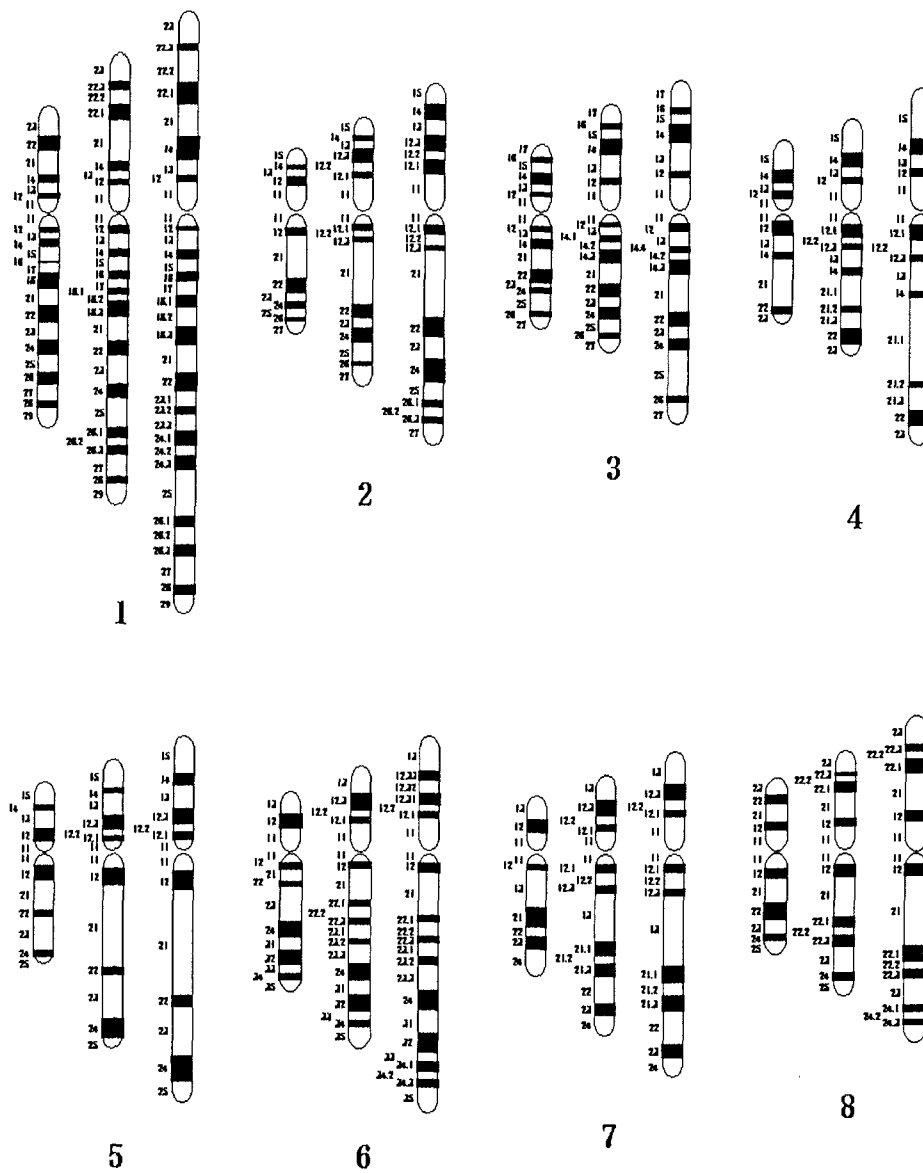


Figure 16. Idiogrammatic representation of G-banded prophase(right), prometaphase (middle) and metaphase(left) chromosomes in Korean native pig

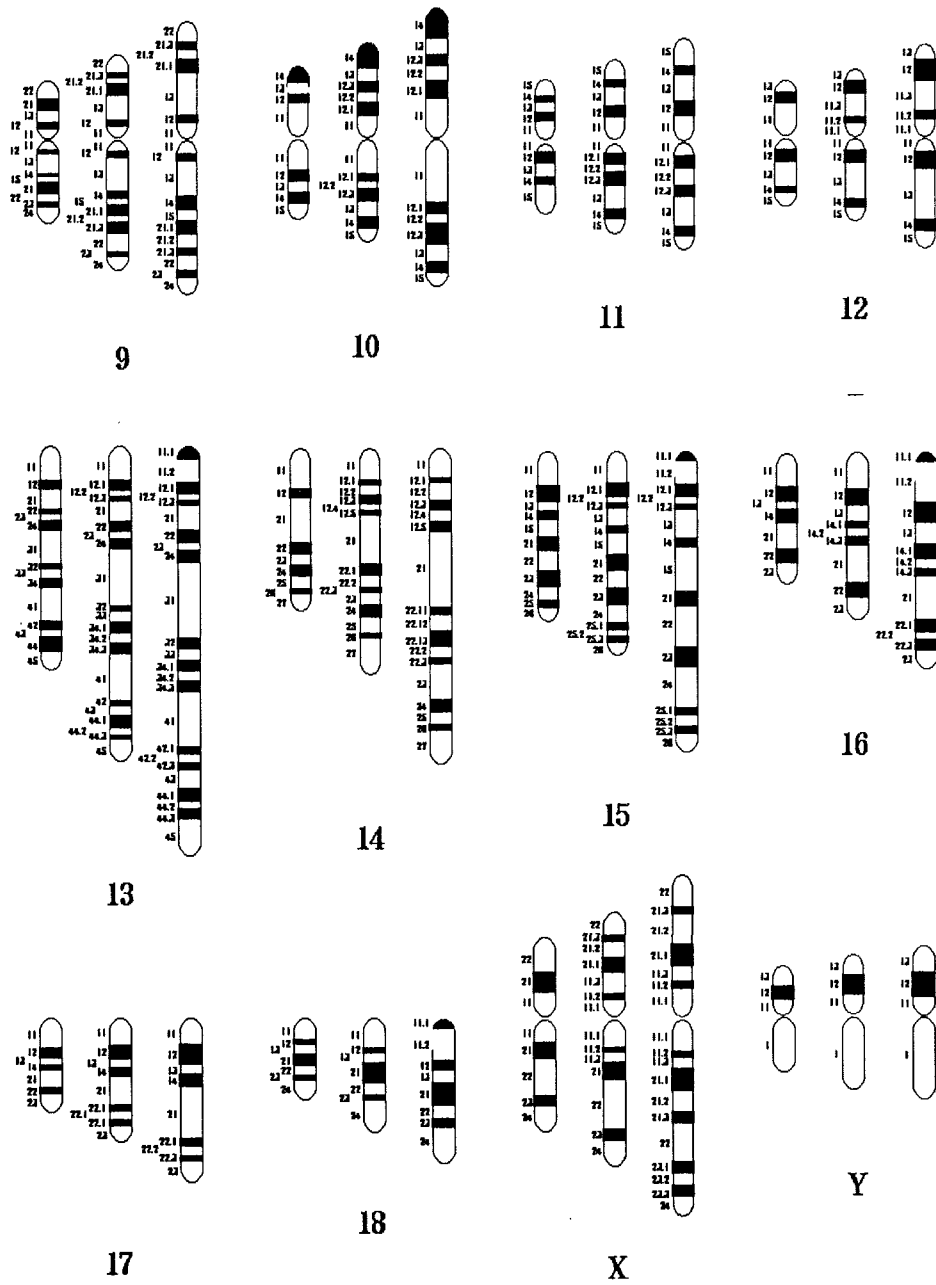


Figure 16. Continued

Table 31. G-banding serving as landmarks in the Korean native pig standard karyotype

Chromosome no.	Arm	No. of regions	Landmarks
1	p	2	Central negative band(21)
	q	3	Central negative band(21)
2	q	2	Broad proximal negative band(21)
3	q	2	Central negative band(21)
4	q	2	Negative band(21)in the distal half
5	q	2	Central negative band(21), Proximal broad negative band(21)
6	q	2	Negative band in the distal half(31)
7	q	2	Central strong positive band(21)
8	p	2	Central negative band(21)
	q	2	Broad negative band in proximal half(21)
9	p	2	Positive band in distal half(21)
	q	2	Central positive band(21)
13	q	4	Proximal negative (21) and central negative band (31), negative band in the distal half(41)
14	q	2	Negative band in the proximal half(21)
15	q	3	Central positive band(21)
16	q	2	Broad negative band in the distal half(21)
17	q	2	Broad distal negative band(21)
18	q	2	Positive central band(21)
X	p	2	Positive central band(21)
	q	2	Proximal positive band(21)

3) 품종별 염색체 표지의 비교분석

재래돼지의 표준 핵형을 중심으로 돼지의 국제표준핵형 (Committee for the Standardized Karyotype of the Domestic Pig, 1988)과의 G-band mark의 차이점을 분석하여 이를 형질간 표지인자의 기초자료로 제시하고 자 각 염색체별 band mark의 차이점을 비교 분석한 바 다음과 같다.

- ① 1번 염색체: 국제표준핵형은 p-arm에 11~14, 21~25와 q-arm에 18~21.3으로 구분되어져 dark band 14개와 light band는 16개이며 모두 30개의 band가 있다. 재래돼지에서는 q-arm에서 18에서 18.1~18.3으로 23, 24에서 23.1~23.3, 24.1~24.3으로 분리양상을 보여 dark band 16개와 light band 18개로 모두 34개의 band가 있다.
- ② 2번 염색체: 국제표준핵형은 p-arm에 11~17과 q-arm에 11~14, 21~29로 구분되어져 dark band 9개, light band는 11개이며 모두 20개의 band가 있다. 재래돼지도 동일한 band양상을 나타내었다.
- ③ 3번 염색체: 국제표준핵형은 p-arm에 11~17과 q-arm에 11~14, 21~27로 구분되어져 dark band 8개와 light band는 10개이며 모두 18개의 band가 있다. 재래돼지에서는 q-arm에서 12가 12.1~12.3으로 분리양상을 보여 dark band 9개와 light band 11개로 모두 20개의 band가 있다.
- ④ 4번 염색체: 국제표준핵형은 p-arm에 11~15와 q-arm에 11~16, 21~25로 구분되어져 dark band 7개, light band는 9개이며 모두 16개의 band가 있다. 재래돼지도 동일한 band양상을 나타내었다.
- ⑤ 5번 염색체: 국제표준핵형은 p-arm에 11~15와 q-arm에 11~12, 21~25로 구분되어져 dark band 5개, light band는 7개이며 모두 12개의 band가 있다. 재래돼지에서는 p-arm에서 12가 12.1~12.3으로 분리양상을 보여 dark band 6개와 light band 8개로 모두 14개의 band가 있다.
- ⑥ 6번 염색체: 국제표준핵형은 p-arm에 11~15와 q-arm에 11~12, 21~28, 31~35로 구분되어져 dark band 9개, light band는 11개이며 모두 20개의 band가 있다. 재래돼지에서는 p-arm에서 14가 14.1~14.3으로 q-arm에서 34가 34.1~34.3으로 분리양상을 보여 dark band

11개와 light band 13개로 모두 24개의 band가 있다.

⑦ 7번 염색체: 국제표준핵형은 p-arm에 11~13과 q-arm에 11~15, 21~26으로 구분되어져 dark band 6개, light band는 8개이며 모두 14개의 band가 있다. 재래폐지에서는 p-arm에서 12가 12.1~12.3으로 분리양상을 보여 dark band 7개, light band 9개로 모두 16개의 band가 있다.

⑧ 8번 염색체: 국제표준핵형은 p-arm에 11~12, 21~23과 q-arm에 11~12, 21~27로 구분되어져 dark band 6개, light band는 8개이며 모두 14개의 band가 있다. 재래폐지에서는 p-arm에서 22가 22.1~22.3으로, q-arm에서 24가 24.1~24.3으로 분리양상을 보여 dark band 8개와 light band 10개로 모두 18개의 band가 있다.

⑨ 9번 염색체: 국제표준핵형은 p-arm에 11~13, 21~24와 q-arm에 11~15, 21~26으로 구분되어져 dark band 8개, light band는 10개이며 모두 18개의 band가 있다. 재래폐지도 동일한 band양상을 나타내었다.

⑩ 10번 염색체: 국제표준핵형은 p-arm에 11~16과 q-arm에 11~17로 구분되어져 dark band 6개 light band는 7개이며 모두 13개의 band가 있다. 재래폐지도 동일한 band양상을 나타내었다.

⑪ 11번 염색체: 국제표준핵형은 p-arm에 11~15과 q-arm에 11~17로 구분되어져 dark band 5개, light band는 7개이며 모두 12개의 band가 있다. 재래폐지도 동일한 band양상을 나타내었다.

⑫ 12번 염색체: 국제표준핵형은 p-arm에 11~15과 q-arm에 11~15로 구분되어져 dark band 4개 light band는 6개이며 모두 10개의 band가 있다. 재래폐지도 동일한 band양상을 나타내었다.

⑬ 13번 염색체: 국제표준핵형은 q-arm에 11~14, 21~24, 31~36, 4

1~49로 구분되어져 dark band 11개, light band는 12개이며 모두 23개의 band가 있다. 재래돼지에서는 q-arm에 11이 11.1~11.2로 분열양상을 보여 dark band 12개, light band 12개로 모두 24개의 band가 있다.

⑭ 14번 염색체: 국제표준핵형은 q-arm에 11~16, 21~29로 구분되어져 dark band 7개, light band는 8개이며 모두 15개의 band가 있다. 재래돼지에서는 q-arm에 22.1이 22.11~22.13으로 분열양상을 보여 dark band 8개, light band 9개로 모두 17개의 band가 있다.

⑮ 15번 염색체: 국제표준핵형은 q-arm에 11~15, 21~26로 구분되어져 dark band 5개, light band는 6개이며 모두 11개의 band가 있다. 재래돼지에서는 q-arm에 11이 11.1~11.2, 12는 12.1~12.3, 25는 25.1~25.3으로 분열양상을 보여 dark band 8개, light band 8개로 모두 16개의 band가 있다.

⑯ 16번 염색체: 국제표준핵형은 q-arm에 11~14, 21~23로 구분되어져 dark band 3개, light band는 4개이며 모두 7개의 band가 있다. 재래돼지에서는 q-arm에 11이 11.1~11.2, 14가 14.1~14.3, 22가 22.1~22.3으로 분열양상을 보여 dark band 6개, light band 6개로 모두 12개의 band가 있다.

⑰ 17번 염색체: 국제표준핵형은 q-arm에 11~14, 21~23로 구분되어져 dark band 3개, light band는 4개이며 모두 7개의 band가 있다. 재래돼지에서는 q-arm에 22가 22.1~22.3으로 분열양상을 보여 dark band 4개, light band 5개로 모두 9개의 band가 있다.

⑱ 18번 염색체: 국제표준핵형은 q-arm에 11~13, 21~24로 구분되어져 dark band 3개, light band는 4개이며 모두 7개의 band가 있다. 재래돼지에서는 q-arm에 11이 11.1~11.2로 분열양상을 보여 dark

band 4개, light band 4개로 모두 8개의 band가 있다.

⑲ X 염색체: 국제표준핵형은 p-arm에 11~13, 21~24와 q-arm에 11~13, 21~26으로 구분되어져 dark band 7개, light band는 9개이며 모두 16개의 band가 있다. 재래돼지에서는 q-arm에 21이 21.1~21.3으로 분열양상을 보여 dark band 8개, light band 10개로 모두 10개의 band가 있다.

⑳ Y 염색체: 국제표준핵형은 p-arm에 11~15와 q-arm에 1로 구분되어져 dark band 1개, light band는 3개이며 모두 4개의 band가 있다. 재래돼지도 동일한 band양상을 나타내었다.

이상에서 재래돼지의 경우 국제표준핵형과 1번, 3번, 5번, 6번, 7번, 8번, 13번, 14번, 15번, 16번, 17번, 18번 및 X 염색체에서 G-band양상의 차이를 보이고, 대부분의 차이는 각 염색체의 sub-band 분리에 따른 것으로 나타났다.

라. 재래돼지의 C-band양상과 Heterochromatin 다형성 분석

Figure 17은 재래돼지 염색체의 전기상과 증기상의 C-banding 양상을 제시한 것이며, Figure 18에서는 이들의 핵형양상을 나타내었다. 재래돼지는 거의 모든 상염색체의 동원체 부위에 heterochromatin의 발현 양상을 나타내고 있으며 Group간에 뚜렷한 분포율의 차이를 보이고 있는 바 acrocentric으로 구성된 IV group의 경우 10%이상의 heterochromatin 양상을 보인 반면 가장 긴 meta성 chromosome으로 구성된 I group의 경우 4%이하의 분포율을 나타내었다. 반면 성 염색체인 X의 경우는 동원체 부위에 3~5% 정도의 heterochromatin 분포율을 나타내고 있으나, Y 염색체는 동원체를 포

합한 p, q-arm의 전장에 걸친 heterochromatin의 발현 분포양상을 보이며 개체간 혹은 중간 심한 다형 양상을 나타내고 있다. 한편 상염색체 group IV(13번~18번)의 대부분의 염색체에서도 heterochromatin의 다형현상을 나타내고 있는 바 세포간, 개체간 품종간 다형성을 나타내고있으며, Table 32에서와 같이 재래돼지와 Landrace간에는 8번, 9번, 18번 및 Y 염색체에서 heterochromatin 함유율의 유의적인 차이를 보였다.

Table 32. The ratio of heterochromatin length on each chromosome in Korean native pig and Landrace

Breed	Korean native pig	Landrace
	% -----	
obs	138	156
1	2.80 ± 0.37	3.57 ± 0.34
2	3.19 ± 0.52	3.48 ± 0.50
3	4.40 ± 1.10	2.95 ± 0.46
4	4.63 ± 1.17	2.96 ± 0.58
5	4.16 ± 0.67	2.93 ± 0.52
6	2.51 ± 0.43	2.92 ± 0.45
7	3.33 ± 0.56	2.80 ± 0.48
8	3.65 ± 0.57 ^a	2.05 ± 0.34 ^b
9	3.41 ± 0.57 ^a	1.94 ± 0.39 ^b
10	3.98 ± 0.71	3.11 ± 0.79
11	4.45 ± 0.87	3.54 ± 0.66
12	5.49 ± 1.02	5.01 ± 0.80
13	10.00 ± 0.42	9.61 ± 0.43
14	11.14 ± 0.65	11.35 ± 0.47
15	12.30 ± 0.67	14.29 ± 0.57
16	18.47 ± 0.97	19.96 ± 0.83
17	20.67 ± 1.12	21.37 ± 0.86
18	19.79 ± 1.40 ^b	24.01 ± 1.19 ^a
X	3.99 ± 0.63	5.01 ± 0.69
Y	62.98 ± 4.06 ^b	72.69 ± 2.02 ^a

There are significant difference among the means with the different superscripts in a row($p < 0.01$). Mean ± Standard error

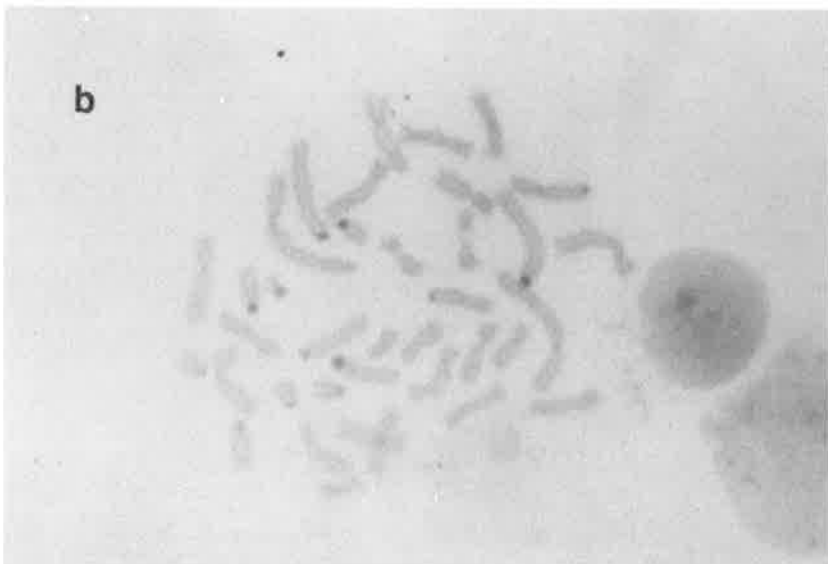


Figure 17. C-banding patterns of metaphase(a) and prophase(b) chromosomes of Korean native pig

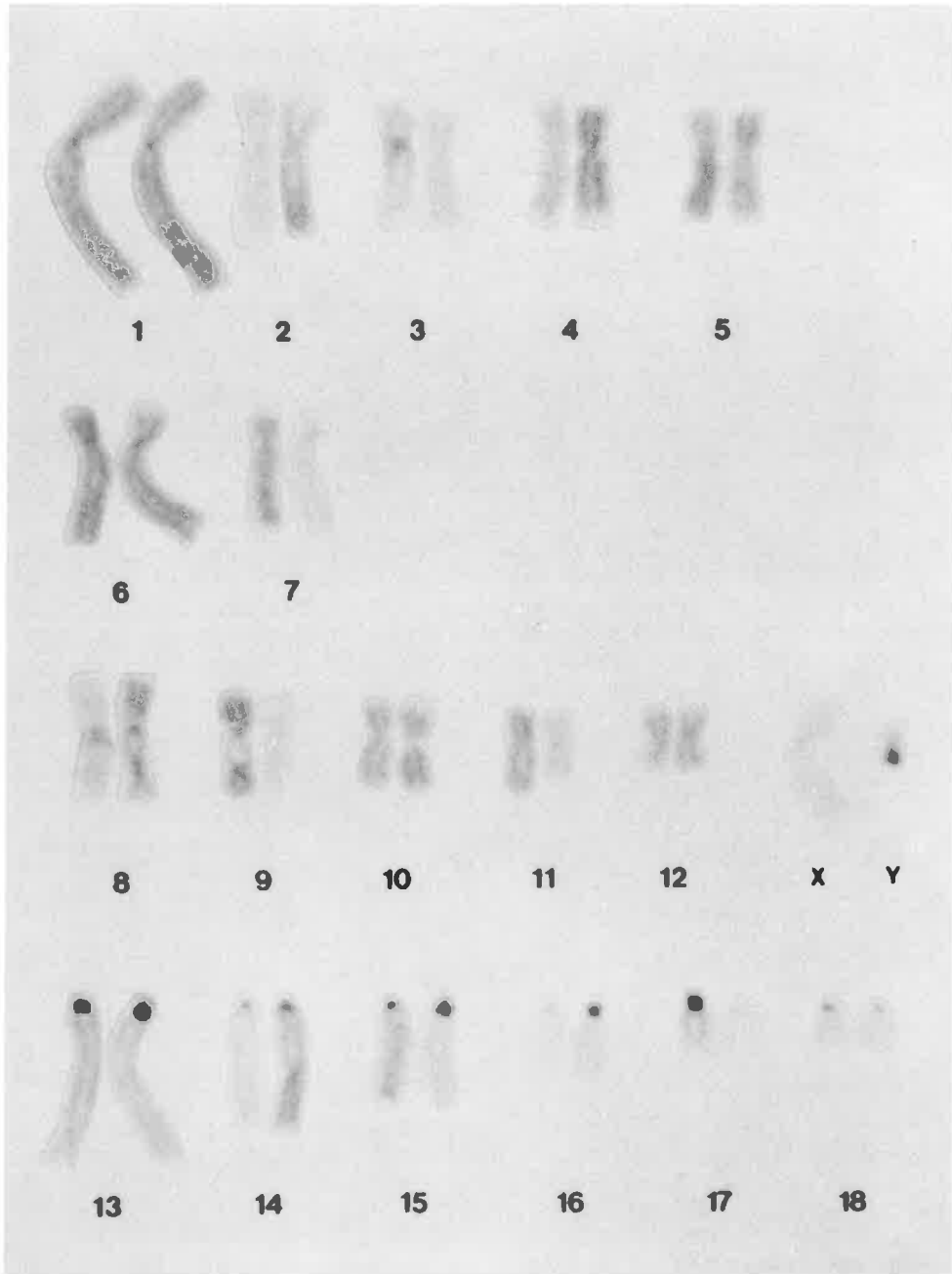


Figure 18. The karyotypes of C-banded chromosomes in Korean native pig

2. 재래돼지의 형태적 특성과 경제능력 분석

가. 공시축의 선정 및 확보

한국의 재래돼지는 만주지역에서 서식하던 대형, 중형, 소형종 중 이동이 쉬운 소형종이 약 2,000년전 고구려 시대부터 한반도에 유래 정착된 것으로 알려지고 있으며, 구한말까지 재래돼지의 형태를 유지하여 오면서 지역적 명칭에 따라 지레돈, 사천돈, 강화돈 등으로 불려져 왔다. 한일합방을 전후하여 버크셔종과 요크셔종의 국내 도입으로 교잡화가 실시되었으며 일제 강점기에 생산 능력이 낮은 재래돼지 개량을 위하여 버크셔종과 누진 교배를 장려함에 따라 거의 잡종화의 길을 걸어 왔다. 이러한 결과 순수한 재래돼지 혈통은 거의 소멸되어 멸종 위기에 달하게 되었으며 산간오지나 재래돼지에 대해 특별한 관심을 가진 일부 사육가에 의하여 교잡이 된 상태로 유지되어 왔고 일부는 순수한 재래돼지 형태를 유지하여 왔었다. 1980년대 후반기에 농림부 축산정책 당국자의 재래종에 대한 관심과 인식의 고조로 재래종에 대한 조사와 수집 활동이 연구 측면에서 시작되어 민간에서 토종, 흑돼지 또는 꺼먹돼지 등의 명칭으로 불리워지고 있던 재래돼지 형태를 보유한 후손들을 수집하게 되었으며 축산시험장에서 1988년에 충북도축축장(충남 청양지방에서 수집)과 제주축산진흥원(제주도 민가에서 수집)으로부터 9두(우5, 송4)의 재래돼지를 구입하여 증식하면서 재래 돼지에 대한 순수화 복원연구를 수행하게 되었다.

국내 재래돼지 사육두수는 정확히 조사된 바는 없으나 1996년에 전국 8개도의 진흥원을 통하여 조사한 바에 의하면 9,138두로 알려지고 있다. (전통지식 모음집 유전자원편 I, 농촌진흥청, 1997, p9) 현재 재래돼지를 사육하는 국내기관으로는 축산기술연구소, 제주축산

진홍원, 충남 도종축장 등에서 사육되고 있으며 민간에서는 전국적으로 사육 지역이 분포되어 있으나 주로 강원도 정선, 태백 지역과 전북 장수에서 비교적 큰 규모로 사육되고 있다. 그동안 재래돼지에 대한 외모적인 형태의 판별은 고문헌의 기록에 근거하여 선발기준을 설정하여 왔으나, 한일합병이후 70~80년간의 교잡과정을 거치면서 이모색의 출현빈도가 많고 특히 재래돼지에 대한 인식이 고조되면서 민간에서 일부는 멧돼지, 듀룩종과 교잡도 이루어져 문헌기록상의 재래돼지 본래의 외모 특징을 갖춘 개체가 드물고 구별이 곤란하여 거래상의 혼선을 유발하고 있다. 이의 방지를 위해 축산기술연구소에서 재래돼지 외모심사 기준을 98년에 설정하여 시책 건의한 바 있다.

본 연구 수행을 위하여 이용된 공시축은 1988년에 축산시험장에서 수집하여 외모형태에 대한 선발을 수행하면서 보존해 오던 재래돼지를 기초축으로 하여 생산된 후손을 공시축으로 이용하였으며 (Figure 19), 연도별 외모심사와 능력검정에 이용된 두수는 다음 Table 33, 34와 같다.

Table 33. 외모심사 검정 현황

년 도	'95년	'96년	'97년	'98년
조사두수	55두	96두	102두	21두
주 요 조사항목	모색, 머리형태	모 색 : 156두 비단색 : 103두 코길이 : 136두 귀모양 : 96두	모 색 비단색 코길이 귀모양	모 색 비단색 코길이 귀모양



a. 흑색



b. 백반모



c. 백자모



d. 지제백



e. 장비



f. 단비

Figure 19. 재래돼지의 외모적 특성

Table 34. 재래돼지의 능력검정 현황

년 도	'95년	'96년	'97년	'98년
조사두수	50두	156두	74두	-
성 별	암컷 25 수컷 25	85 71	29 45	- -
주 요 조사항목	일당증체, 등지방 두께, 사료효율	일당증체, 등지방 두께, 사료효율	일당증체, 등지방 두께, 사료효율	-

나. 재래돼지의 외모형태

1) 재래돼지 특성에 관한 문헌상 기록

① 「1920년대의 양돈개량실적과 재래종의 능력 및 일반 보급상태, 조선농업편람」

“재래돼지는 피모가 흑색으로 체격은 왜소하고 체중은 22.5~32.5 kg이며, 머리는 길고 뾰족하며, 배는 심히 하수되어 있고, 만숙에다 비만성이 없으나 체질은 강건하고, 번식력도 양호하며, 특히 육미는 조선 사람들의 입맛에 적합한 것 같다.”

② 「조선총독부 권업모범장 성적요람, 1927」

“조선의 재래돈은 체질이 강건하고 번식력이 강하다. 체격은 극히 왜소하여 6~7관(22.5~26.25kg)에 지나지 않는다. 또한 성숙이 늦고 비만성이 결핍하여 경제가치돈중 최열등하여 이를 개량하는 것이 극히 긴요하다.”

③ 「국립 농사시험장, 1946」

1946년 국립농사시험장에서 구입한 재래종으로 보이는 돼지의 체중은 8~10kg 정도로 왜소하며, 비랑진직하고 종으로 주름이 있고, 배선은 심히 아래로 구부러지고 임신하면 배가 활처럼 땅에 닿고 번식력도 왕성하고, 저항력도 강하며, 고기는 거의 적육뿐인 흑색돈이다.

Table 35. 재래돼지의 외모심사기준표

부 위	설 명	배점
1. 일반외모	<ul style="list-style-type: none"> - 체형은 소형으로 발육이 좋고 장방형으로 이행이 좋은 것 - 등선은 약간 궁형으로 보이며 체하선은 평평한 것 - 각 부의 균형이 좋고 영양상태가 적당한 것 - 털은 검고 윤기가 나는 것 - 피부는 탄력이 있고 주름살이 있는 것 	20
2. 머리, 목	<ul style="list-style-type: none"> - 머리는 가볍고 이마에 산모양의 안면주름이 있고 얼굴은 길쭉하며 코는 길고 곧으며 코주위에 세로 주름이 있고 코끝이 흑색인 것 - 눈은 양눈 사이가 넓고 온화하면서도 생기가 있는 것 - 귀는 크기가 중등이고 곧게 서며 앞으로 향하며 양귀 사이가 넓은 것 - 턱은 바르고 곧게 뻗으며 충실하고 뺨은 잘 가다듬어져 있는 것 - 목은 길이와 폭이 적당하고 머리와 어깨로 이행이 좋은 것 	10
3. 몸의 구성	<ul style="list-style-type: none"> - 어깨는 부착이 좋고 앞다리와 중구에 이행이 좋은 것 - 가슴은 깊고 충실하며 넓은 것 - 등과 허리의 길이는 중등이고 후구로 이행이 좋고 등은 거의 수평이고 강하며 폭이 넓은 것 - 갈비는 잘 개장되어 있고 주름살이 없는 것 - 옆구리는 깊고 충실한 것 - 엉덩이는 넓고 길고 꼬리는 높게 부착된 것 - 넓적다리는 넓고 두껍고 비절까지 충실하고 잘 가다듬어져 있는 것 	40
4. 지 제	<ul style="list-style-type: none"> - 네다리의 길이는 중등이고 바르게 서며 다리사이는 넓고 비절은 튼튼한 것 - 관골은 굽지 않고 단단하며 발목은 짧고 탄력이 있는 것 - 발굽은 질이 치밀하고 좌우가 고른 것 - 걸음걸이는 가볍고도 유연한 것 	15
5. 유 선	<ul style="list-style-type: none"> - 정상적인 유두가 6쌍이상 잘 배열되어 있어야 하며, 부유두가 없는 것 - 수태지는 적어도 포피 앞쪽으로 유두가 3쌍이고 요루가 없는 것 	15
계		100

2) 외모형태 선발기준

- ① 모색 : 몸 전체가 순흑색인 것
- ② 머리 : 얼굴이 세장 돌출로 끝나며 코주위에 세로주름이 있는 것
- ③ 귀 : 하수되지 않고 직립인 것
- ④ 복부 : 몸통이 팽대하고 배가 처지며 옆구리에 주름이 있는 것
- ⑤ 둔부 : 엉덩이가 협소하고 빈약한 것

3) 재래돼지의 외모심사에 있어 실격조건

- ① 피부에 백자모, 백반모가 있는 것, 비단색과 지제색이 흑색이 아닌 것
- ② 귀가 심히 늘어진 것
- ③ 정상적인 유두가 12개 미만 또는 유두의 형질이 불량한 것
- ④ 수컷의 생식기가 정상적이 아닌 것

4) 현존 재래돼지의 외모 형태

- ① 모 색 : 흑색, 백반모, 백자모
- ② 비단색 : 흑색, 백색
- ③ 코길이 : 길고 비단 흑색, 길고 비단 백색, 짧고 비단 흑색, 짧고 비단 백색
- ④ 귀모양 : 상향, 전향

다. 재래돼지의 경제 능력 분석

1) 능력검정 방법

- ① 검정기간 : 25~70kg
- ② 돈방당 두수 : 2~5두(암수별로 가급적 동복)
- ③ 급이 방식 : 자유 채식
- ④ 일당중체량, 사료요구율 조사 : 개시 및 종돈시 체중 측정, 돈방당

채식량 조사

⑤ 70kg 도달일령 및 생체 등지방두께 조사

70kg 도달시 체중을 측정하여 생후 70kg까지 소요된 일수를 산출하고, 초음파 등지방 측정기를 이용하여 정중선으로부터 측방으로 5cm 지점 4~5흉추, 마지막 흉추, 마지막 요추를 측정하여 3개 부위 평균치를 산출하였다.

⑥ 도체 및 육질조사

능력검정 종료후 선발기준에서 제외된 개체를 축산기술연구소 육가공장에서 도축후 도체 및 육질을 조사하였다.

Table 36. 성장단계별 사료성분표

구 분	포유자돈	이유자돈	검정돈	후보돈	임신돈	포유돈
사료종류	간난돼지	젓먹이	검정돈	성돈	성돈	성돈
급여기간(일령)	14-35	35-90	90-210	210-240	240-	354-
체 중(kg)	0.9-5.5	5.5-25	25-70	70-80	80-	80-
급 여 량(kg)	무제한	무제한	무제한	2.0	2.0-2.3	무제한
CP(%)	24.0	23.1	15.88	14.0	14.0	14.0
DE(Kcal/kg)	3,745	3,500	3,450	3,300	3,300	3,300
Ca(%)	0.8	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7
P(%)	0.6	0.6	0.6	0.5	0.5	0.5
Sysine	1.8	1.4	0.9	0.7	0.7	0.7
Vit A(100IU)	24	23	16	14	14	14

2) 제레돼지의 생산능력

Table 37. 제레돼지의 번식능력

(단위 : 두)

년 도	복 수	총산자수	포유개시두수	육성두수(5주령)
'95	21	7.0	6.4	6.1
'96	39	7.2	6.2	6.0
'97	46	7.5	5.7	4.7
'98	42	6.6	5.7	5.5
평 균	-	7.1	6.0	5.6

Table 38. 재래돼지의 외모 형태별 출현율

(단위 : 두, %)

년 도	조사두수	모색(흑색)	비단색(흑색)	귀모양(상향)
'95	55	80.0	65.5	-
'96	96	62.2	72.8	59.8
'97	102	72.6	82.4	79.4
'98	221	50.2	82.3	38.0
평 균	-	66.3	75.8	59.1

Table 39. 재래돼지의 산육능력

년 도	수태지				암태지			
	조사두수	ADG	BF	FE	조사두수	ADG	BF	FE
	두	g	cm		두	g	cm	
'95	25	507	1.28	3.58	25	454	1.28	4.25
'96	71	445	1.78	3.76	85	404	1.99	3.88
'97	45	396	2.02	4.52	29	391	2.45	4.40
평 균	-	449	1.69	3.95	-	416	1.91	4.18

Table 40. 재래돼지의 도체 생산량

성별	년도	조사 두수	도축 일령	절식 체중	도체		정육		적육	
					중량	율	중량	율	중량	율
		두	일	kg	kg	%	kg	%	kg	%
수컷	'95	10	256	80.1	57.0	70.7	48.6	60.6	33.2	41.5
	'96	18	238	77.6	54.9	70.5	46.7	59.8	32.8	42.4
	'97	-	228	74.7	53.2	71.0	44.7	59.6	32.5	43.4
	평균	-	241	77.5	55.0	70.7	46.7	60.0	32.8	42.4
암컷	'95	4	257	67.6	51.7	76.3	44.4	65.3	29.7	43.9
	'96	6	245	69.3	53.3	76.7	45.8	65.9	30.3	43.7
	평균	-	251	68.5	52.5	76.5	45.1	65.6	30.0	43.8

Table 41. 도체측정치

성별	년도	등지방두께(cm)	등심단면적(cm ²)	pH	도체장(cm)	도체폭(cm)
수컷	'95	1.87	16.9	5.81	90.8	32.6
	'96	1.72	17.0	5.78	89.5	32.5
	'97	1.81	21.6	5.55	-	-
	평균	1.80	18.5	5.71	90.2	32.6
암컷	'95	2.22	17.6	5.80	86.8	31.9
	'96	2.32	17.5	5.68	86.6	32.1
	평균	2.27	17.6	5.74	86.7	32.0

Table 42. 재래돼지의 육색

성별	년도	Hunter			C.I.A		
		L	a	b	L	a	b
수컷	'95	41.3	8.67	4.22	48.3	10.94	5.51
	'96	41.3	8.22	3.97	-	-	-
	'97	39.6	8.06	3.62	-	-	-
	평균	40.7	8.32	3.94	48.3	10.94	5.51
암컷	'95	41.1	9.28	4.40	48.0	11.4	5.95
	'96	42.0	8.74	4.41	-	-	-
	평균	41.6	9.01	4.41	48.0	11.41	5.95

L : 밝기, a : 적색도, b : 황색도

Table 43. 재래돼지의 육질

성별	년도	보수력(%)	전단력(kg/inch)	조리감량(%)	관능검사		
					다즙성	연도	향미
수컷	'95	41.9	3.56	43.2	4.26	4.35	3.90
	'96	40.6	3.46	42.6	3.88	4.01	3.79
	'97	39.9	3.65	34.9	4.24	4.01	4.10
	평균	40.8	3.56	40.2	4.13	4.12	3.93
암컷	'95	45.4	3.51	40.6	4.34	4.27	4.27
	'96	47.2	3.29	43.3	4.67	4.62	4.38
	평균	46.3	3.40	42.0	4.51	4.45	4.33

3) 재래돼지 생산 능력 분석

가) 재래 돼지의 총산자수, 포유개시두수 및 5주령 육성두수는 각각 7.1, 6.0 및 5.6두이었고, 총산자수 대비 5주령 육성율은 78.9%이었다.

나) 외모형태에서 모색의 흑색 발현율은 66.3%, 비단흑색 77.4%, 코 길이가 길고 흑색인 것이 75.8%, 귀모양이 직립이며 상향인 것이 59.1%이었다.

다) 능력검정결과 수퇘지의 일당증체량, 등지방두께, 사료효율은 각각 449g, 1.69cm 및 3.95이었고 암퇘지는 각각 416g, 1.91cm 및 4.18이었다. 수퇘지가 암퇘지에 비해 일당 증체량이 높고, 등지방두께가 얇으며 사료효율이 우수하였다.

라) 수컷의 도체중과 도체율은 55.0kg, 70.7%이었고 정육율 66.0%, 적육율은 42.4%이었으며, 암컷의 도체중 및 도체율은 52.5kg, 76.5%, 정육율 66.0%, 적육율은 43.8%이었다. 도체생산량에 있어서 수컷이 암컷에 비해 도체율, 정육율, 적육율이 낮았다.

마) 수컷의 등지방두께, 등심단면적 및 pH는 각각 1.80cm, 1.85cm³ 및 5.71이었으며 암컷에서는 각각 2.27cm, 17.6cm² 및 5.74이었다. 도체 등지방두께는 암컷이 두꺼웠다.

바) 육색의 밝기 및 적색도의 Hunter값은 수컷에서 각각 40.7, 8.32이었고 암컷에서는 각각 41.6, 9.01이었다.

사) 육질에서는 암컷이 수컷에 비해 보수력, 다즙성, 연도 및 향미가 우수하였다.

제 4 장 고정도분염법에 의한 재래 닭의 표준핵형 설정과 염색체 변이 분석

제 1 절 서 설

사람의 고정도 염색체는 Yunis(1976)가 처음으로 이의 분리 기법을 소개한 이래 이를 이용한 많은 핵형 분석들이 보고되고 있고 (Francke, 1981; 1994), 최근 국제표준핵형위원회에서도 고정도 염색체에 대한 공식적 명명체계가 채택되었다(ISCN, 1995). 그러나 닭의 염색체는 길이가 상대적으로 짧고, 많은 소형염색체들로 구성되어 있으며, 염색체 분석에 용이한 조직이나 세포가 상대적으로 미흡함에 따라 분석에 많은 어려움이 있다(손과 오, 1987a; Sohn 등, 1990). 뿐만 아니라 대개의 세포유전학적 기법은 포유동물, 특히 사람의 조직이나 세포로부터 연구 개발 되어온 바 이러한 기술을 조류에 그대로 적용함은 종의 생리적 특성에 따른 부적합함이 많고, 종 특이적 기술 개발 또한 개체의 경제적 가치에 따라 매우 미흡한 실정이다.

가금류의 세포유전학적 연구들로서 특히 닭 염색체에 대한 연구는 Wang과 Shoffner(1974)가 처음으로 G-banding을 시도하여 개 닭 염색체의 band양상을 제시함과 동시에 전자 염색체의식별을 가능하게 하였다. 또한 G-band양상에 따른 가금류 속(屬)간의 진화 양상에 대한 연구도 활발히 수행된 바 있고(Carlenius 등, 1981; Ryttman과 Tegelstrom, 1981; Stock과 Bunch, 1982), 연관 시험과 결부시킨 염색체 상의 유전자 지도 작성에 관한 연구에서 표지염색체를 이용하여 특정유전자의 좌위를 밝히는데 성공적인 결과를 도출한 바 있다(Shoffner, 1981; Bitgood, 1985). 국내에서도 손과 오

(1987a)가 닭 염색체의 형태적 특징을 밝힌 이래 G-banding에 의한 닭 염색체의 표지인자에 관한 연구(손과 오, 1987b)와 C-banding에 의한 heterochromatin의 다형현상에 관한 연구들이 보고되었다(오 등, 1990). 최근 닭 염색체에 대한 연구들로서는 in situ hybridization을 이용한 염색체 상의 유전자의 위치 구명을 위한 연구(Shaw 등, 1990) 등 분자 세포유전학적 기법을 이용한 새로운 시도들이 많이 수행되고 있는 바, 기존 염색체의 분리 방법으로서는 이에 대한 명확한 위치 설정에 어려움이 많고 정밀 좌위 인지를 위한 정확성이 결여된다. 그러므로 가끔류에 있어서도 보다 정밀하고 많은 band를 얻을 수 있는 High-Resolution banding 방법의 개발이 당연한 과제로서 이를 이용한 표준 핵형의 제시가 시급히 이루어져야 할 것으로 생각된다. 한편 국내 유전 자원의 보존 측면에서 재래계에 대한 관심이 증대되고 이에 대한 연구도 활발히 진행되는 추세이나 세포유전학적 또는 분자유전학적 측면에서 재래계의 유전적 특성의 분석은 매우 미흡한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 고유 재래계에 대한 형태적 특성 및 생산능력들을 조사 분석하여 정립된 한국 재래계에 대한 세포유전학적 표지들을 제시하고 자 한 것으로 우선 닭의 혈액 및 초기 배자로부터 긴 고정도 염색체를 분리하는 새로운 분리기법을 개발하고, High-Resolution banding 양상으로 재래계 염색체의 표준 표지(standard idiogram)를 설정하고 자 하였다. 더불어 염색체내 heterochromatin site만 나타낼 수 있는 C-banding을 이용함으로써 재래 닭에 대한 염색체내의 gene function site를 간접적 분석하며 또한 종내 heterochromatin의 다형상(polymorphism)의 존재 유무도 분석 구명하고 자 하였다.

제 2 절 재료 및 방법

1. 공시계

본 시험은 진주산업대학교 동물사육장 및 축산기술연구소에서 사육 중인 품종 검정을 완료한 재래닭 300수 및 대조 품종으로 Leghorn종 100수를 대상으로 각 개체별 수정란 및 혈액채취로서 염색체 분석과 핵형 분석을 수행하였다

2. 혈액배양으로부터 염색체의 분리 방법

백혈구 배양법을 이용한 염색체의 분리는 손과 신(1997)이 제시한 가금류의 혈액배양법을 다소 변형시켜 다음과 같이 수행한다.

- ① 혈액채취 : 익정맥(翼靜脈)으로 부터 3ml의 혈액 채취
- ② 배 양 : lymphocyte를 이용하여 72시간 배양
- ③ 중기상유도 : 전 처리 1시간전 colcemid의 주입
- ④ 전처리(harvest) : 원심분리후 세포 분리
- ⑤ 저장처리(hypotonic) : 저장액 (distilled water & calf serum)에 20분간 저장처리
- ⑥ 고정처리(fixation) : 원심분리후 고정액(Carnoy's solution)에 고정
- ⑦ 표본제작 : 고정 세포액을 slide상에 5~6방울 적하
- ⑧ Air drying 및 염색 : 건조후 Giemsa염색

3. 초기배자를 이용한 염색체 분리

- ① 수정란의 수집 : 5일간격으로 인공수정에 의한 재래닭의 수정란 수집

- ② 수정란의 배양 : 37.5°C의 부화기내 24~48시간 배양
- ③ 중기상유도 : 기공을 통하여 전 처리 2시간전 EtBr과 colcemid의 주입
- ④ 배자 채취 : 파각후 배자만을 채취
- ⑤ 저장처리(hypotonic) : 저장액 (0.3% sodium citrate & calf serum)에 20분간 저장처리
- ⑥ 고정처리(fixation) : 원심분리후 고정액(Carnoy's solution)에 고정
- ⑦ 표본제작 : 고정 세포액을 slide상에 5~6방울 적하
- ⑧ Air drying 및 염색 : 건조후 Giemsa염색

4. 핵형분석

- ① 검경 및 사진촬영: 광학 현미경하에서 적절한 중기상을 저감도 필립으로 촬영
- ② 현 상 : 현상액(D-19)로 5~6분간 현상
- ③ 인화 및 확대 : 인화액(D-72)로 인화후 핵형분석에 이용할 상은 확대
- ④ 재 배 열 : 상동염색체별로 재 배열
- ⑤ 재 촬영 : 복사필립(copy film)을 이용하여 재 배열상의 촬영

5. High-Resolution banding

- ① Lymphocyte의 배양: 5% CO₂, 37°C에 72시간 배양
- ② Cell synchronize: MTX 처리, 17시간 재 배양
- ③ Rinsing : medium으로 3회 이상 rinsing
- ④ 재 배 양 : thymidine 또는 EtBr을 함유한 배양액으로 6시간 재

배양

- ⑤ 중기상 억제: harvest 하기 10~15분 전 colcemid 첨가
- ⑥ 저장처리, 고정처리
- ⑦ 표본제작 : 고정 세포액을 slide상에 5~6방울 적하
- ⑧ Air drying
- ⑨ G-banding

6. GTG-banding 분석

도말된 표본을 55-60°C slide warmer상에 overnight

- ① Trypsin 처리 : 0.05% trypsin(D-PBS solu.)으로 30초~1분 처리
- ② Saline 수세 : 4~5 회
- ③ Giemsa 염색 : 5% Giemsa solu.으로 3~4 분간 염색
- ④ 검경 및 촬영

7. C-banding 분석

최소 1주일간 자연건조된 표본이용

- ① HCl 처리 : 0.2 N HCl에 1시간 정치
- ② Ba(OH)₂ 처리 : 5% Ba(OH)₂ 에 20~30분간 침적후 0.05 N HCl
에 수세
- ③ 2XSSC 처리 : 60°C에 1시간 정치
- ④ 수세 및 염색 : D.W로 수세후 2% Giemsa용액에 1시간 염색
- ⑤ 검경 및 촬영

8. 통계 분석

- ① 상대적 길이 및 동원체 지수에 대한 품종 간의 t-test

② 품종 간 band양상의 유의성 검정

③ 재래닭의 경제능력 분석 및 유전 모수 추정

제 3 절 결과 및 고찰

1. 염색체 분석에 의한 재래닭의 표준 표지설정

가. 고분염 염색체 분리 기법 개발

1) 닭의 혈액배양을 이용한 고분염 염색체의 분리 기법

세포 분열시 나타나는 염색체는 chromatin의 응축 양상으로서 염색체 분석을 위하여서는 세포 배양 중 colchicine과 같은 분열억제제를 첨가하여 중기상을 유도하게된다. 그러나 고정도 핵형 분석(high-resolution karyotyping)을 위하여서는 중기상보다 길고 응축이 덜한 전기상으로 분석하는 것이 훨씬 바람직하다. 따라서 본 연구에서는 닭의 혈액 배양으로부터 고정도 염색체(high-resolution chromosomes) 분리를 위하여 세포분열을 억제하고 염색체의 응축을 저지하는 다양한 분열억제제를 이용하여 염색체 분석의 새로운 방법을 개발하고 자 한 것으로 혈액 배양으로부터 chromatin 응축 억제제, 방추사 억제물질 및 이들의 처리 시간을 조합한 비교 분리방법을 시도한 바 표 44와 같다.

High-Resolution banding방법은 세포 배양시 모든 세포들을 synchronize시켜 mitotic index의 효율을 증가시키고, 또한 염색체의 상을 인위적으로 보다 길게 유지시키는 것으로서 모든 세포의 분열상태를 간기 중 S phase로 억제시킨 후 thymidine-rich medium을 첨가하여 이 상태를 풀어준 후 colcemid 등 방추사 억제물질을 단시간 투여하여 염색체들이 동일하게 prophase 혹은 prometaphase가 되도록 유도하는 것이다. 이러한 원리를 이용하여 본 실험에서는 methotrexate(MTX)로서 세포들을 동기화 시키고, thymidine과 colcemid처리로서 분열을 재개시킨 다음 중기상을 유도하는 방법과

한편으로 세포분열의 G₂단계동안 염색체의 수축을 억제하는 ethidium bromide(EtBr)를 배양 종료전 적절한 시간동안 처리하여 고해상 중기상을 수확하는 방법을 비교 검토하였다.

Table 44. The duration and treatment of culture for high resolution chromosome preparation

Treatment	Methotrexate	Thymidin	Ethidium bromide	Colcemid
Colcemid ¹	Trt 1	-	-	15 minutes
	Trt 2	-	-	60 minutes
	Trt 3	-	-	90 minutes
	Trt 4	-	-	120 minutes
Ethidium bromide ²	Trt 1	-	2. hours	-
	Trt 2	-	2 hours	30 minutes
	Trt 3	-	2.5 hours	30 minutes
	Trt 4	-	3 hours	30 minutes
MTX & thymidine ³	Trt 1	17 hours	5 hours	6 minutes
	Trt 2	17 hours	5.5 hours	6 minutes
	Trt 3	17 hours	6 hours	6 minutes

¹Colcemid 처리구: 관행적인 방법으로 배양 종료 직전 2 μ g의 colcemid을 일정시간 처리

²EtBr 처리구: 배양 종료전 일정시간동안 100 μ g의 EtBr을 처리 후 처리간에 따라 0.2 μ g의 colcemid를 30분간 추가 처리

³MTX & Thymidin 처리구: 배양 종료전 17시간동안 10⁻⁶M의 MTX 처리후 5~6시간 10⁻³M의 Thymidin을 처리하고 0.2 μ g의 colcemid를 6분간 추가 처리

일반적으로 colcemid 처리는 방추사 형성을 억제함에 따라 처리시간 만큼 세포 분열 주기상에 중기상의 획득율이 높아지게 된다. 따라서 Table 45에 제시한 결과들은 이러한 이론적 근거를 충분히 뒷받침하는 것으로 처리 시간이 길어질수록 더욱 높은 세포분열 지수와 많은 중기상들이 유도되고 있다. 반면 중기상의 억제 시간이 길어질수록 응축도가 높아져 전기 혹은 전중기 상태의 상이 상대적으로 적어지고 보다 짧은 상태의 염색체들이 많이 된다. 세포분열의 G₂ 단계동안 염색체의 수축을 억제하는 ethidium bromide (EtBr)를 배양 종료전 적절한 시간동안 처리하고 이후 colcemid를 처리하여 고

해상 중기상을 수확하는 방법을 비교 검토한 바 EtBr의 영향으로 중기상의 유도가 현저히 줄어들음을 나타내었으며 전기상의 유도 또한 절대적인 분열지수의 저하로 바람직하지 못한 양상을 나타내었다. Methotrexate(MTX)와 thymidine의 처리 시간에 따른 비교 분석 결과 많은 세포들이 동기화되는 양상을 보이면서 상대적으로 많은 전기상이 유도되어 가장 바람직한 고정도 염색체를 분리할 수 있는 기법으로 나타났다. 따라서 닭의 혈액 배양으로부터 최적의 고정도 염색체의 유도 방법으로는 MTX 처리후 5시간 정도의 thymidine 처리가 세포들을 가장 적절히 동기화시키고 이후 짧은 colcemid의 처리가 염색체의 응축을 최소화할 수 있는 최적의 방법인 것으로 사료된다.

Table 45. The effect of culture methods on the number of cells of prophase and metaphase in chick lymphocyte culture

Treatment	n	Prophase	Metaphase	Total
Col. 15m	17	1.5±0.94 ^b (5.2)	27.1±4.27 ^{cd} (94.8)	28.5±4.81 ^{cd} (100)
Col. 60m	27	3.9±1.26 ^b (5.4)	68.0±14.83 ^{bcd} (94.6)	71.9±15.56 ^{bcd} (100)
Col. 90m	25	2.8±0.87 ^b (2.2)	125.8±15.84 ^{bc} (97.8)	128.6±16.1 ^{bc} (100)
Col. 120m	17	5.3±1.51 ^b (1.5)	346.2±86.29 ^a (98.5)	351.5±87.27 ^a (100)
EtBr 2h Non Col.	39	2.7±0.84 ^b (22.7)	9.2±0.96 ^d (77.3)	11.9±1.16 ^d (100)
EtBr 2h Col. 30m	12	5.8±2.2 ^b (22.4)	20.0±2.68 ^d (77.6)	25.8±3.19 ^{cd} (100)
EtBr 2.5h Col. 30m	14	2.5±1.14 ^b (9.6)	23.6±3.8 ^{cd} (90.4)	26.1±4.2 ^{cd} (100)
EtBr 3h Col. 30m	43	4.0±0.84 ^b (20.1)	15.9±1.4 ^d (79.9)	19.9±1.61 ^{cd} (100)
MTX & Thy 5h	46	21.2±3.32 ^a (22.8)	71.7±8.21 ^{bcd} (77.2)	92.9±10.89 ^{bcd} (100)
MTX & Thy 5.5h	24	24.8±7.09 ^a (14.1)	151.7±28.15 ^b (85.9)	176.5±33.91 ^b (100)
MTX & Thy 6h	24	6.5±1.61 ^b (4.4)	142.9±20.8 ^b (95.6)	149.4±22.13 ^b (100)

Data are mean±SE per slide. ^{a,b,c,d}Means with different superscripts within a column differ(P<0.001). Parentheses are the induction ratio of cells to total observed number(%)

2) 닭의 초기배자를 이용한 고정도 염색체 분리 기법

본 연구에서는 세포분열을 억제하고 염색체의 응축을 막는 ethidium bromide를 이용하여 닭의 초기 배자로부터 보다 긴 고정도 염색체를 분리하여 trypsin을 처리한 후 GTG-banding을 하는 새로운 분리기법을 개발하고자 하였다.

Ethidium Bromide(2,7-Diamino-10-ethyl-9-phenylphenanthridinium bromide; EtBr)는 생체 내 DNA 합성을 억제하는 화학적 제재로서 DNA 뿐만 아니라 RNA의 합성도 저해하는 작용을 가진다. 또한 DNA의 염기서열 사이에 삽입하여 결합하는 능력을 지니고 세포 배양시 EtBr의 첨가는 세포분열을 중지시키며 형성된 염색체의 응축을 막는 부수적 효과도 기대할 수 있다(Cantor와 Schimmel, 1980). 따라서 본 실험에서는 닭의 초기 배자로부터 고정도 염색체의 분리방법을 개발하고자 배양 종료시 EtBr 및 EtBr과 colchicine의 병행 처리를 시도하여 이의 효과를 살펴보았다. 우선 EtBr의 처리가 세포분열 주기상 염색체 유도에 미치는 영향을 알기 위하여 이들의 농도 및 처리시간에 따른 획득 중기상 수와 전기상의 수를 분석하고, 얻어진 염색체의 형태를 비교 고찰하였다. EtBr의 처리 농도는 $5\mu\text{g}$ 과 $10\mu\text{g}$ 으로 하고, 이들의 처리시간을 각각 2시간 및 2.5시간으로 하였으며, colchicine과 병행 처리시 EtBr 처리 후 colchicine $100\mu\text{g}$ 을 30분 및 60분간 노출하였다. 대조구로서는 관행적인 방법으로 colchicine만을 $200\mu\text{g}$ 주입하고 2시간 재 배양하였다.

Table 46은 EtBr의 처리 농도별 중기와 전기상의 유도율을 비교한 것으로 EtBr의 농도에 따라서는 유도되는 전기상과 중기상의 수에 유의적 차이가 없는 것으로 나타났고, 염색체의 형태적 양상에도 별다른 차이가 없었다. Table 47은 EtBr과 colchicine의 처리 방

법 및 처리 시간에 따른 중기상과 전기상의 획득율을 비교한 것으로 EtBr을 처리한 것이 colchicine만 처리한 것(대조구)에 비해 전기상의 유도율이 현저히 높은 것으로 나타났다. 따라서 EtBr이 초기 배자 세포의 응축 및 분열 저지에 효과가 있는 것으로 사료되고 염색체 분리시 고정도 염색체를 유도할 수 있는 분열억제제로서의 기능을 가진 것으로 보인다. 또한 EtBr처리 후 colchicine처리는 EtBr의 단독 처리에 비해 전기상의 획득율은 큰 차이가 없었으나 중기상의 경우 월등히 많은 획득율을 나타내었다. 한편 처리 시간별 EtBr과 colchicine의 병행 처리 결과 중기상의 유도율에 있어서는 처리 시간에 따른 상호 작용이 존재하였는데 EtBr의 처리 시간이 짧을 경우 colchicine의 처리 시간을 다소 길게 하고 반면 EtBr의 노출 시간이 긴 경우 colchicine의 처리 시간을 짧게 하는 것이 보다 높은 중기상수를 유도하는 것으로 나타났다. 따라서 처리 방법 및 처리 시간별 비교 분석 결과 EtBr을 배양 종료 2.5시간 전에 처리 한 후 colchicine을 60분간 처리하는 것이 전기상의 수가 가장 많이 유도되었으나, 전, 중기의 유도율 및 염색체의 형태적 양상을 고려할 때 EtBr을 배양 종료 2시간 전에 처리하고 colchicine을 60분간 처리하는 것이 가장 바람직한 양상을 보였다.

Table 46. Effect of the concentration of EtBr on the yield of prophase and metaphase chick chromosomes

Con. of EtBr	Embryos	Prophase	Metaphase	Total
5 μ E	135	5.86 \pm 0.41(3.6%)	202.70 \pm 15.72(96.4%)	208.64 \pm 15.80(100%)
10 μ E	117	5.49 \pm 0.44(4.0%)	214.06 \pm 17.36(96.0%)	219.63 \pm 17.36(100%)

Data are mean \pm SE per slide. Parentheses are the induction rates of cells to total number(%).

Table 47. Effects of treatments of EtBr and colchicine on the number of prophase and metaphase chromosomes in chick embryonic culture

Duration of exposure		embryos	Prophase	Metaphase	Total
EtBr	Colchicine				
-	2 hours (Control)	38	2.53 ± 0.33 ^b (1.43±0.79)	204.79 ± 20.70 ^{bc} (98.57±0.79)	207.32 ± 20.85 ^{bc} (100)
2 hours	-	37	5.62 ± 1.00 ^a (3.88±0.65)	152.54 ± 15.28 ^c (96.12±0.65)	158.16 ± 15.52 ^c (100)
2 hours	30 min	49	5.24 ± 0.35 ^a (3.87±0.28)	156.63 ± 16.90 ^c (95.77±0.37)	162.29 ± 17.04 ^c (100)
2 hours	60 min	57	5.33 ± 0.64 ^a (2.93±0.39)	297.72 ± 32.24 ^a (97.07±0.39)	303.05 ± 32.24 ^a (100)
2.5 hours	30 min	58	5.36 ± 0.52 ^a (3.39±0.45)	244.60 ± 29.37 ^{ab} (96.61±0.45)	249.97 ± 29.52 ^{ab} (100)
2.5 hours	60 min	51	6.92 ± 0.86 ^a (4.80±0.61)	155.57 ± 13.93 ^c (95.20±0.61)	162.49 ± 14.03 ^c (100)

Data are mean ± SE per slide. ^{a,b,c}Means with different superscripts within a column differ (P<0.001). Parentheses are the induction ratio of cells to total observed number(%)

나. 닭의 고분염 염색체의 형태적 양상

다양한 배양법을 이용한 닭의 각 분열 시기별 염색체 양상을 Figure 20에 제시하였고, Figure 21에서는 닭의 대형염색체에 국한하여 중기상의 염색체 길이를 100으로 하였을 때 전기 및 전중기상의 염색체 길이의 상대적 비율을 제시한 것으로 평균 전기상은 중기상의 189%로 중기상에 비해 약 1.8배정도 더 긴 형태로 나타났다. 또한 Table 48에서는 분열 시기별 닭의 대형염색체의 band수를 비교 분석한 것으로 전기상이 중기에 비하여 약 50여개의 band수가 증가됨을 알 수 있었다.

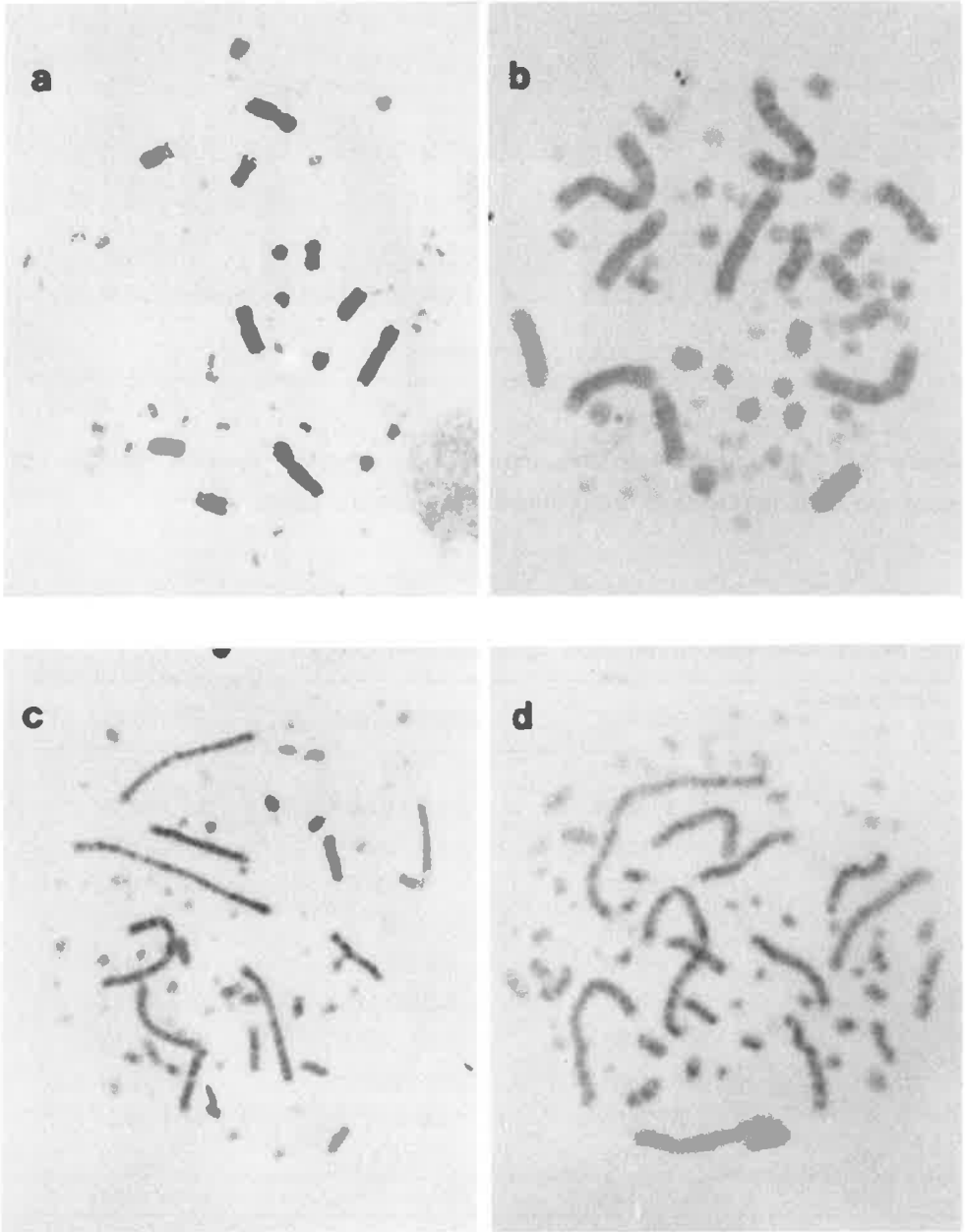


Figure 20. G-banded chick chromosome spreads of metaphase(a), prometaphase(b), late prophase(c) and early prophase(d)

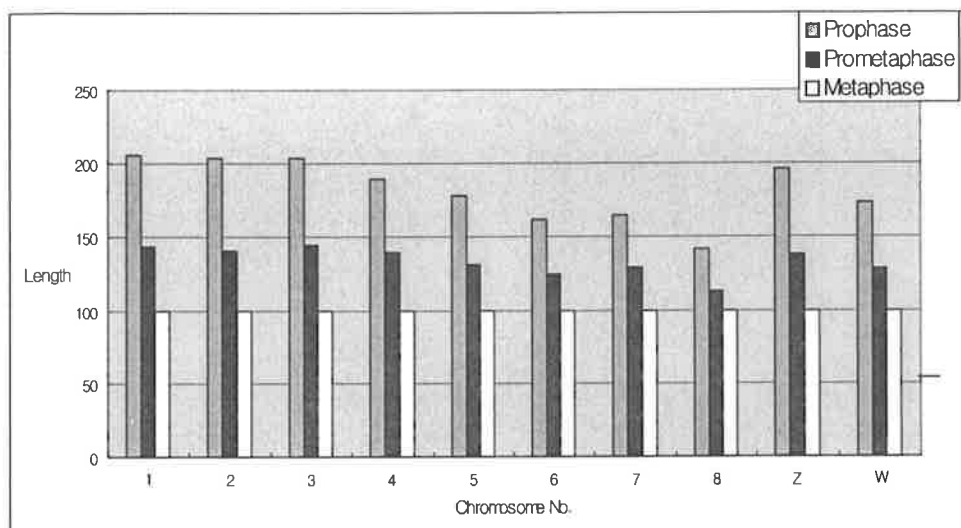


Figure 21. Idiogrammatic representation of the relative length of prophase and metaphase macrochromosomes in chick

Table 48. Comparison of the number of GTG-bands on chick prophase, pro- metaphase and metaphase macrochromosomes

Chromosome No.	Metaphase	Prometaphase	Prophase
n	120	136	104
1	18.8±0.38	26.3±0.45	30.5±0.72
2	16.0±0.33	22.7±0.77	25.4±0.51
3	12.4±0.27	17.1±0.3	19.2±0.43
4	9.7±0.18	12.9±0.22	15.2±0.34
5	6.7±0.13	8.9±0.16	10.5±0.23
6	5.6±0.09	6.6±0.11	7.3±0.17
7	5.0±0.07	5.7±0.09	6.3±0.12
8	4.4±0.07	5.1±0.07	5.3±0.10
Z	9.5±0.16	12.6±0.21	14.1±0.37
W	5.1±0.09	6.0±0.11	7.1±0.16
Total	93.1±1.34	124.3±1.86	141.2±2.87

다. 재래닭의 G-banding양상과 핵형분석

염색체 내 DNA구성이나 이들의 화학적 조성에 따라 나타나는 banding방법들이 개발되면서 이를 이용하여 각 종의 유전적 특성이나 유전적 기초자료를 제공하고 있다. 염색체의 G-banding은 분리된 염색체에 trypsin이나 urea 또는 hot saline-citrate에 slides를 처리한 후 Giemsa 염색을 함으로서 생성되는 banding양상이다. 본 연구에서는 한국 재래닭 염색체의 G-band양상을 고찰함으로서 재래닭 염색체의 G-banded 핵형 표준을 제시하고 이에 대한 유전적 표지인자로서의 기초자료를 제공하고 자 하였다.

재래닭 염색체는 약 8쌍 정도의 대형염색체(macrochromosomes)와 31쌍 정도의 소형염색체(microchromosomes)로 구성되어 총 78개의 염색체로 구성되고, 성 염색체는 수컷이 ZZ, 암컷이 ZW형태로서 암컷 hetero형을 나타내고 있다. 또한 이들 염색체들의 형태적 특징으로서 Table 49에 제시된 바와 같이 1번 염색체가 가장 긴 metacentric chromosomes이고, 2번은 그 다음 크기인 submetacentric chromosomes, 3번, 5번 및 7번은 거의 p-arm이 없는 acrocentric chromosomes이며, 4번은 다소 p-arm이 있는 acrocentric chromosomes이다. 한편 성 염색체인 Z, W와 8번 염색체는 거의 장완과 단완의 길이가 비슷한 metacentric chromosomes이었다.

Figure 22에 제시한 재래닭 염색체의 G-band 핵형 양상은 8개의 대형염색체에서 모두 각 상동염색체간에 뚜렷하고 일정한 band양상을 나타내고있다. 또한 p-arm과 q-arm의 구분도 명확하게 인지할 수 있는 바 Z염색체의 경우 5번째의 크기로서 장완(q-arm)과 단완(p-arm)의 길이가 거의 유사하지만 p-arm의 말단부위는 넓게 형성

Table 49. The centromeric index and relative length of macrochromosomes of Korean Native Chick

Chro. No.	Relative length				Centromeric index				Chromosome nomenclature
	Prophase	Prometaphase	Metaphase	Total	Prophase	Prometaphase	Metaphase	Total	
n	52	114	218	384	52	114	218	384	
1	24.45 ±0.32	23.83 ±0.16	22.76 ±0.15	23.31 ±0.11	42.31 ±0.60	39.42 ±0.31	37.99 ±0.34	39.00 ±0.24	metacentric
2	19.09 ±0.29	18.18 ±0.15	17.50 ±0.11	17.91 ±0.09	36.55 ±0.87	35.00 ±0.45	35.06 ±0.34	35.24 ±0.26	submetacentric
3	12.99 ±0.18	13.22 ±0.13	12.58 ±0.10	12.83 ±0.08	0	0	0	0	acrocentric
4	10.74 ±0.29	10.81 ±0.12	10.56 ±0.08	10.66 ±0.07	20.47 ±0.94	22.74 ±0.74	25.91 ±0.43	24.23 ±0.37*	acrocentric
5	6.64 ±0.15	6.95 ±0.07	7.37 ±0.08	7.15 ±0.06	0	0	0	0	acrocentric
6	4.29 ±0.08	4.65 ±0.07	5.27 ±0.07	4.95 ±0.05	26.07 ±0.80	31.00 ±0.89	32.78 ±0.57	31.34 ±0.45*	submetacentric
7	3.78 ±0.08	4.26 ±0.06	4.65 ±0.06	4.41 ±0.04	0	0	0	0	acrocentric
8	3.19 ±0.07	3.69 ±0.07	4.37 ±0.06	4.01 ±0.05	43.20 ±0.79	45.03 ±0.62	45.83 ±0.32	45.24 ±0.28	metacentric
Z	10.62 ±0.30	10.17 ±0.14	10.38 ±0.09	10.34 ±0.08	47.12 ±0.46	47.22 ±0.43	46.89 ±0.27	47.02 ±0.21	metacentric
W	4.22 ±0.20	4.24 ±0.1	4.57 ±0.06	4.42 ±0.05	47.24 ±0.43	46.71 ±0.46	47.45 ±0.21	47.20 ±0.19	metacentric

*p<0.05

된 뚜렷한 light-band가 있는 반면 q-arm의 말단부에는 짧고 짙은 dark-band가 형성된다. 이러한 재래닭의 G-band 핵형 양상의 표준 모식도를 Figure 23에 제시하였으며 본 양상은 손과 오(1987)가 제시한 각 품종별 대형염색체의 G-band 표준모식도나 Fechheimer(1990)가 제시한 닭의 G-band 양상과 거의 일치되는 land marker를 보인다.

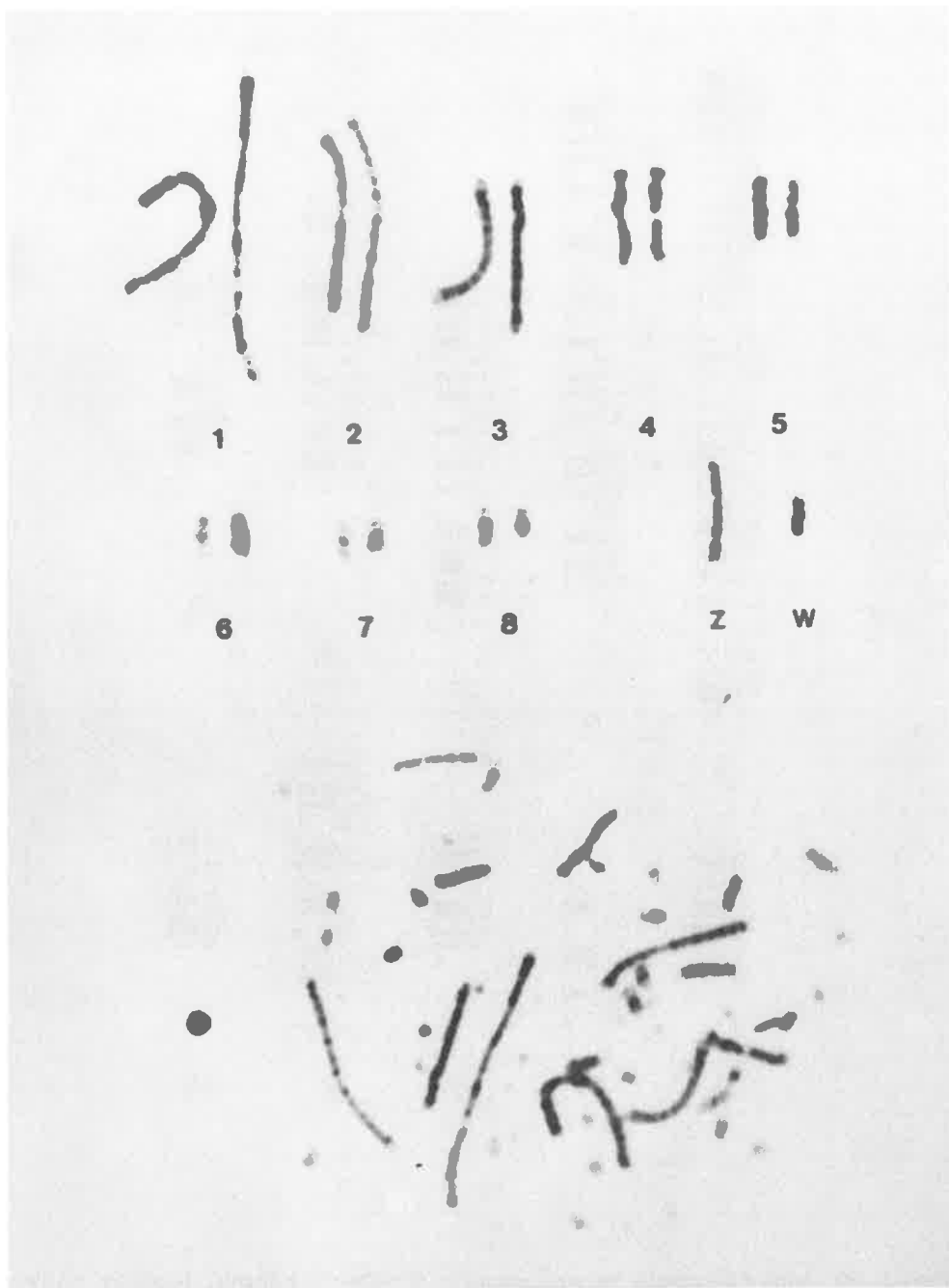


Figure 22. The G-banded karyotype of Korean Native Chick

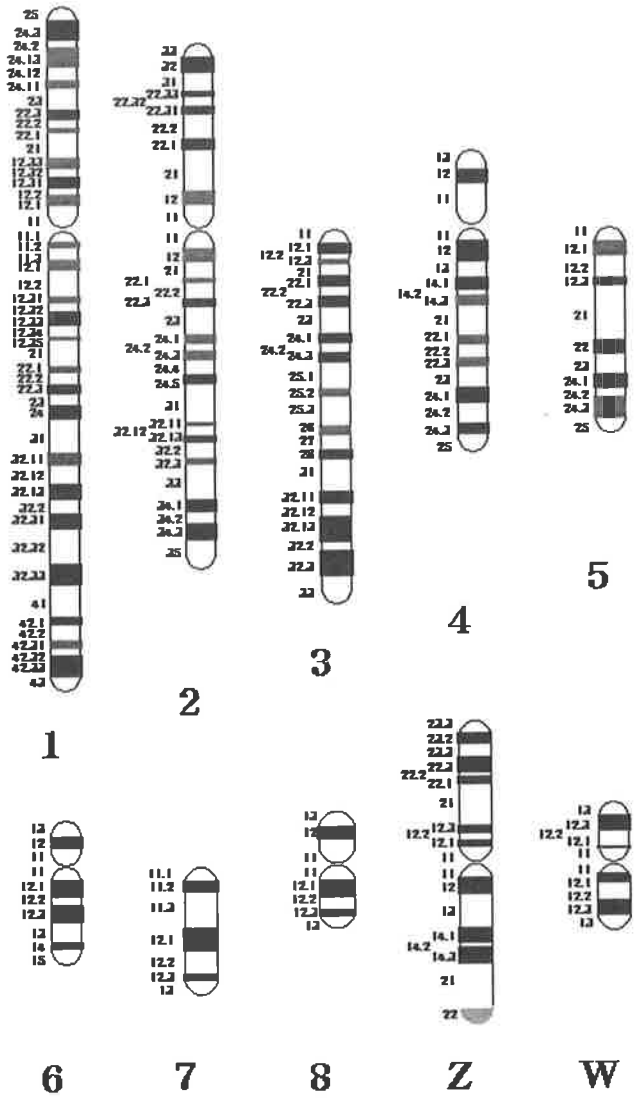


Figure 23. Idiogrammatic representation of the G-banded Korean native chick karyotype

라. 한국재래계의 C-banding양상과 heterochromatin의 분포양상 분석

Figure 24은 한국재래계 염색체의 분열시기별 C-banding양상이고, Figure 25는 이의 핵형양상을 제시한 것이다. C-banding분석 결과 재래계의 거의 모든 염색체의 동원체 부분과 대형염색체의 말단 부위에 이의 발현을 나타내었다. 그러나 발현 양상에 있어 개체간 혹은 동일 개체의 세포간에도 발현의 다형양상을 나타내고 있는 바, 특히 Z염색체의 말단과 3번 염색체의 동원체에서는 상동염색체간에도 C-band의 다형성을 나타내었다.

Table. 50은 3번 염색체 동원체와 Z염색체 말단부의 C-band의 발현양상의 빈도를 나타낸 것으로 3번 염색체 동원체의 경우 상동염색체 모두에 C-bands가 존재하는 경우(+/+), 상동염색체중 1개에만 있는 경우(+/-) 및 모두에서 존재 하지 않는 것(-/-)이 각각 17%, 24%와 55%의 빈도를 보였다. 수컷에 있어 Z염색체 말단부의 발현빈도는 Z 염색체 모두에 C-bands가 존재하는 경우(+/+)와 하나의 Z 염색체에만 존재하는 경우(+/-) 및 모두에서 존재하지 않는 양상(-/-)을 보이면서 두 개의 Z 염색체 모두에 존재하는 빈도가 크게 높게 나타났다.

Table 51는 한국재래계에서 대형염색체 상의 C-bands의 출현 빈도를 분석한 것으로 W염색체 전체와 Z염색체 말단부에서는 거의 모든 염색체에 C-bands의 존재가 확인되었다. 이러한 결과는 오 등 (1990)이 보고한 닭의 W 염색체의 heterochromatin 발현 양상과 동일한 결과이고 Z 염색체의 heterochromatin 다형성과도 동일한 결과를 나타내었다.

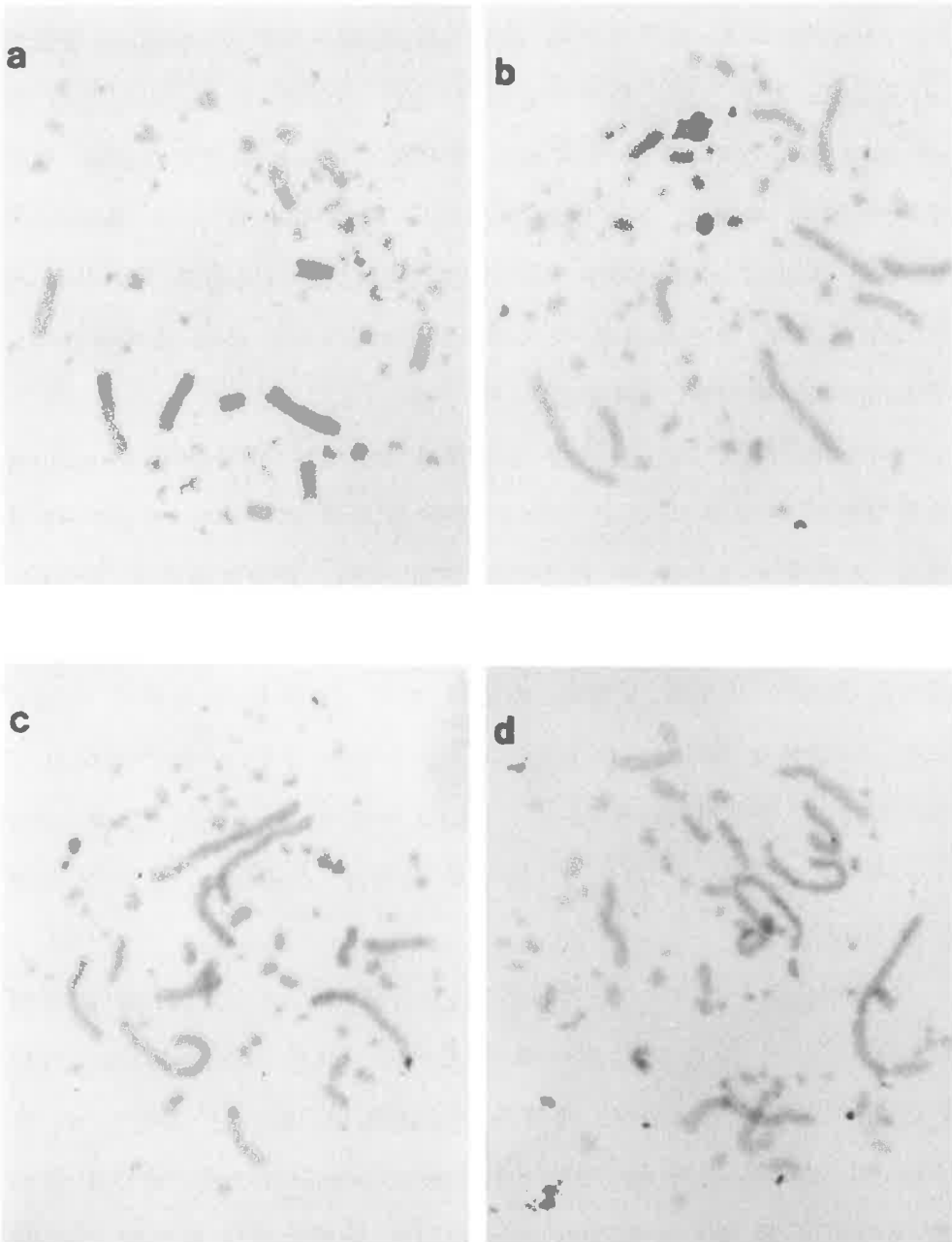


Figure 24. C-banded chromosome spreads of metaphase(a-b), prometaphase(c) and prophase(d) of Korean Native Chick

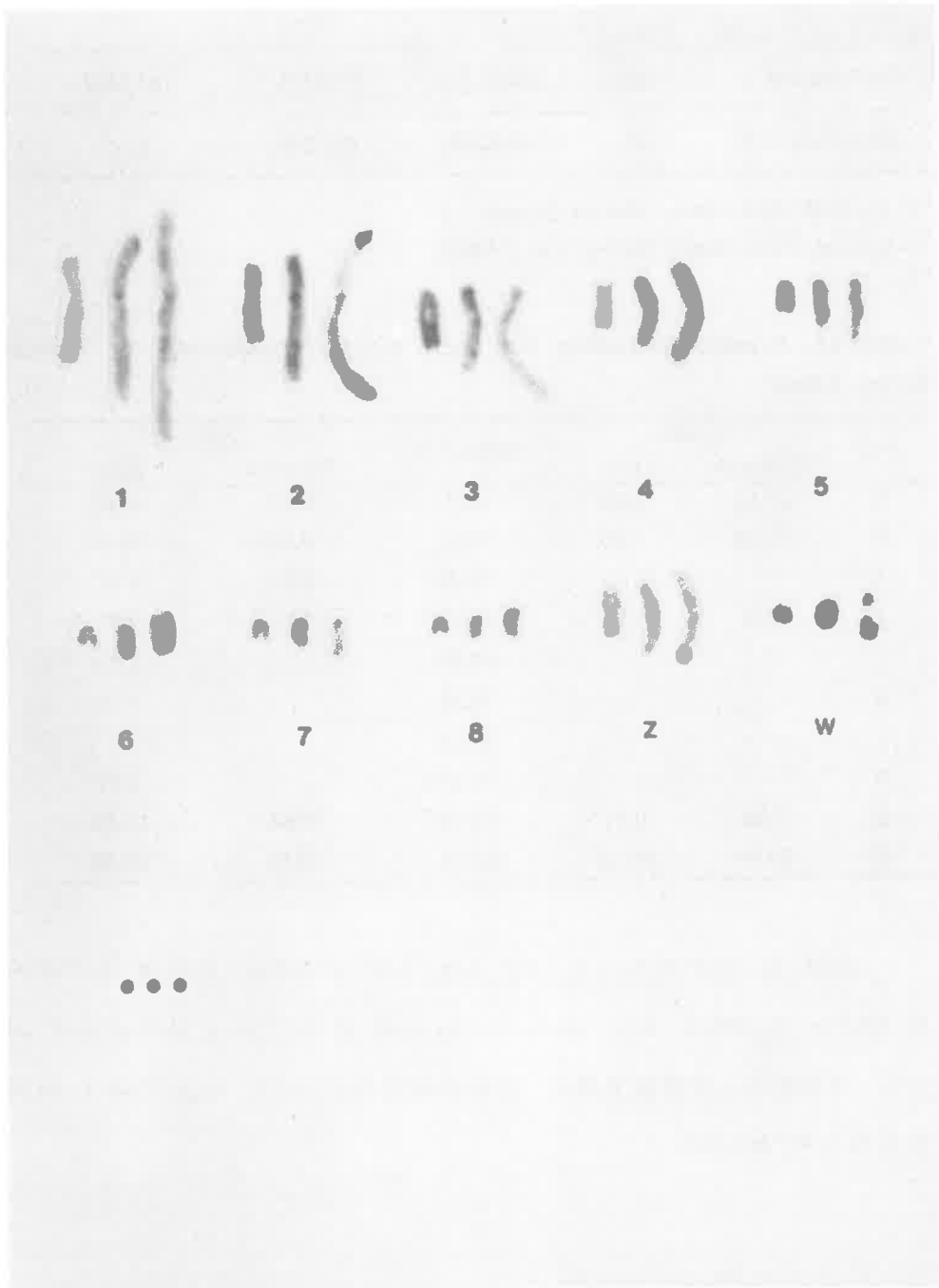


Figure 25. C-banded karyotype of Korean Native Chick with metaphase(left), prometaphase(middle) and prophase(right)

Table 50. C-band heteromorphic pattern on chick chromosomes 3 and Z

Heteromorphic pattern for C-band	Observed No.	+/+	+/-	-/-
Chromosome 3	328	56(17.1%)	91(24.7)	181(55.2)
Chromosome Z	80	55(68.8)	19(23.8)	6(7.5)

"+" signifies chromosome bearing C-band

"-" signifies chromosome bearing non C-band

Table 51. C-band frequency on each macrochromosomes of Korean Native Chick

No	p-arm		Centromere	q-arm	
	Proximal	Distal		Proximal	Distal
1	20.63	0.83	40.1	0.21	18.02
2	13.44	1.88	44.9	0.63	18.44
3			76.46	0.21	3.02
4	0.94	1.67	69.79	0.21	7.81
5			66.56		1.15
6			58.23		0.1
7			39.58		
8			31.77		0.21
Z	6.68	0.41	14.99	0.54	95.78
W	99.56	99.56	99.56	99.56	99.56

한편 본 연구에서 3번, 4번, 5번, 6번 염색체의 동원체 부위에서도 58.23~76.46%로 다소 높은 C-bands의 출현빈도가 분석되었고 이 밖의 대부분의 대형염색체의 말단부위에서도 낮은 빈도이나마 이의 출현양상을 보였다.

마. 한국재래계의 염색체 분염표지설정을 위한 품종간 비교분석

1) 품종간 염색체의 형태적 비교

한국 재래계의 염색체 표지 설정을 위하여 우선 품종간 염색체의 형태적 양상을 비교 분석하였다. 염색체의 형태 양상의 비교 분석을 위하여 재래계 및 single comb White Leghorn의 8쌍의 대형염색체에 대한 상대적 길이와 동원체 지수를 분석하고 이의 차이점을 살펴보았다.

Table 52에 제시된 바와 같이 품종간 모든 대형염색체의 형태적 분류 양상은 동일하였다. 즉, 재래계 대형염색체의 상대적 길이와 동원체 지수는 White Leghorn의 대형염색체와 거의 대부분 유사하게 나타났고 단지 W염색체의 상대적 길이와 4번, 6번 염색체의 동원체 지수에서만 차이를 보였다. 그러나 이러한 차이는 W염색체를 비롯한 4번과 6번 염색체의 길이가 상대적으로 짧음에 따라 측정치의

Table 52. The centromeric index and relative length of macrochromosomes of Korean Native Chick and White Leghorn

Chro. No.	Relative length		Centromeric index		Chromosome nomenclature
	Korean Native Chick	White Leghorn	Korean Native Chick	White Leghorn	
n	382	256	384	272	
1	23.31±0.11	23.19±0.14	39.00±0.24	38.27±0.29	metacentric
2	17.91±0.09	17.54±0.12	35.24±0.26	34.35±0.30	submetacentric
3	12.83±0.08	12.96±0.10	0	0	acrocentric
4	10.66±0.07	10.48±0.07	24.23±0.37**	21.90±0.29	acrocentric
5	7.15±0.06	7.09±0.05	0	0	acrocentric
6	4.95±0.05	5.0±0.07	31.34±0.45**	29.30±0.53	submetacentric
7	4.41±0.04	4.45±0.05	0	0	acrocentric
8	4.01±0.05	4.26±0.14	45.24±0.28	45.44±0.28	metacentric
Z	10.34±0.08	10.42±0.09	47.02±0.21	46.51±0.20	metacentric
W	4.42±0.05	4.63±0.05**	47.20±0.19	47.21±0.27	metacentric

**p<0.01

편이현상과 분석상의 오차로 사료되며 진정한 품종간 차이는 아닌 것으로 해석된다.

2) 품종간 GTG-banding양상 비교

재래계의 GTG-banding의 표지를 제시하기 위해서 White Leghorn의 GTG-banding 및 국제표준핵형(ISSAK, 1999)과 비교 분석하였다. 분석된 자료를 토대로 재래계와 White Leghorn의 Idiogram을 Figure 26에 비교 제시하였으며, 이들간 band의 비교 분석 내용은 다음과 같다.

가) 1번 염색체

국제표준핵형(International System for Standardized Avian Karyotypes; ISSAK)은 p-arm에 11~16, 21~29와 q-arm에 11~14, 21~24, 31~36, 41~45로 구분되어져 dark band 16개와 light band는 18개이며 모두 34개의 band가 있다. White Leghorn은 p-arm에 11~12.33, 21~25와 q-arm에 11.1~12.3, 21~24, 31~32.33, 41~43으로 구분되어져 dark band 17개, light band 19개로 모두 36개의 band가 있다. 한국재래계에서는 p-arm에서 22에서 22.1~22.3으로 q-arm에서 11에서 11.1~11.3으로 12.3이 12.31~12.35로 22에서 22.1~22.3으로 32.1에서 32.11~32.13으로 32.3에서 32.31~32.33으로 42.3에서 42.31~42.33으로 분리양상을 보여 dark band 23개와 light band 25개로 모두 48개의 band가 있다.

나) 2번 염색체

국제표준핵형은 p에 11~14, 21~24, 31~33과 q에 11~12, 21~28, 31~37로 구분되어져 dark band 13개, light band 15개이며 모두 28개가 있다. White Leghorn은 p에 11~12, 21~22.3, 31~33과

q-arm에 11.1~11.3, 21~23, 31~35로 구분되어져 dark band 13개, light band 15개로 모두 28개의 band가 있다. 한국재래계에서는 32에서 32.1~32.3으로, 32.1에서 32.11~32.13으로 분리양상을 보여 dark band 16개와 light band 18개로 모두 34개의 band가 있다.

다) 3번 염색체

국제표준핵형은 p-arm에 11~12와 q-arm에 11~12, 21~29, 31~37로 구분되어져 dark band 10개와 light band는 11개이며 모두 21개의 band가 있다. White Leghorn은 p-arm이 없고, q-arm에 11~12, 22.11~26.3, 31~35로 구분되어져 dark band 11개, light band 12개로 모두 23개의 band가 있다. 한국재래계에서는 p-arm이 없고, q-arm에서 12가 12.1~12.3으로 22에서 22.1~22.3으로 24에서 24.1~24.3으로 25에서 25.1~25.3으로 분리양상을 보여 dark band 12개와 light band 13개로 모두 25개의 band가 있다.

라) 4번 염색체

국제표준핵형은 p-arm에 11~13와 q-arm에 11~14, 21~25로 구분되어져 dark band 5개 light band는 7개이며 모두 12개의 band가 있다. White Leghorn은 p-arm에 11.1~13과 q-arm에 11~14.3, 21~25로 구분되어져 dark band 9개, light band 11개로 모두 20개의 band가 있다. 한국재래계는 p-arm에 dark band가 1개만 나타나서 dark band가 8개와 light band가 10개로 모두 18개의 band가 있다.

마) 5번 염색체

국제표준핵형은 p-arm에 11과 q-arm에 11~16, 21~28로 구분되어져 dark band 6개, light band 6개이며 모두 12개의 band가 있다. White Leghorn은 p-arm이 없고, 나머지 band는 동일한 양상을 나타내었다. 한국재래계에서도 p-arm이 없고 나머지 band는 국제표

준핵형과 White Leghorn과 동일한 양상을 나타내었다.

바) 6번 염색체

국제표준핵형은 satellite가 있고 q-arm에 11~17로 구분되어져 dark band 4개, light band는 3개이며 모두 7개의 band가 있다. White Leghorn은 p-arm에 11~13, q-arm에서는 11~15로 구분되어져 dark band 4개와 light band 6개로 모두 10개의 band가 있다. 한국재래계에서는 White Leghorn과 동일하게 p-arm에서 11~13, q-arm에서는 11의 dark band가 없었고, 말단에 light band가 있어 dark band 4개와 light band 6개로 모두 10개의 band가 있다.

사) 7번 염색체

국제표준핵형은 p-arm에 11~12와 q-arm에 11~16으로 구분되어져 dark band 4개, light band는 4개이며 모두 8개의 band가 있다. White Leghorn은 11.1~13으로 12.1이 12.11~12.13으로 나누어져 dark band 4개, light band 4개로 모두 8개의 band가 있다. 한국재래계에서는 p-arm이 없고 q-arm에서는 국제표준핵형과 동일한 band양상을 보여 dark band 3개, light band 4개로 모두 7개의 band가 있다.

아) 8번 염색체

국제표준핵형은 p-arm에 11~13과 q-arm에 11~13으로 구분되어져 dark band 3개, light band는 3개이며 모두 6개의 band가 있다. White Leghorn은 p-arm에 11~13과 q-arm에 11~13으로 구분되어져 dark band 3개, light band 5개로 모두 8개의 band가 있다. 한국재래계에서는 p-arm에서 dark band 1개, light 2개로 되어 있고, q-arm에서 12가 12.1~12.3으로 분리양상을 보여 dark band 3개와 light band 5개로 모두 8개의 band가 있어 White Leghorn과 동일한

band 양상을 보였다.

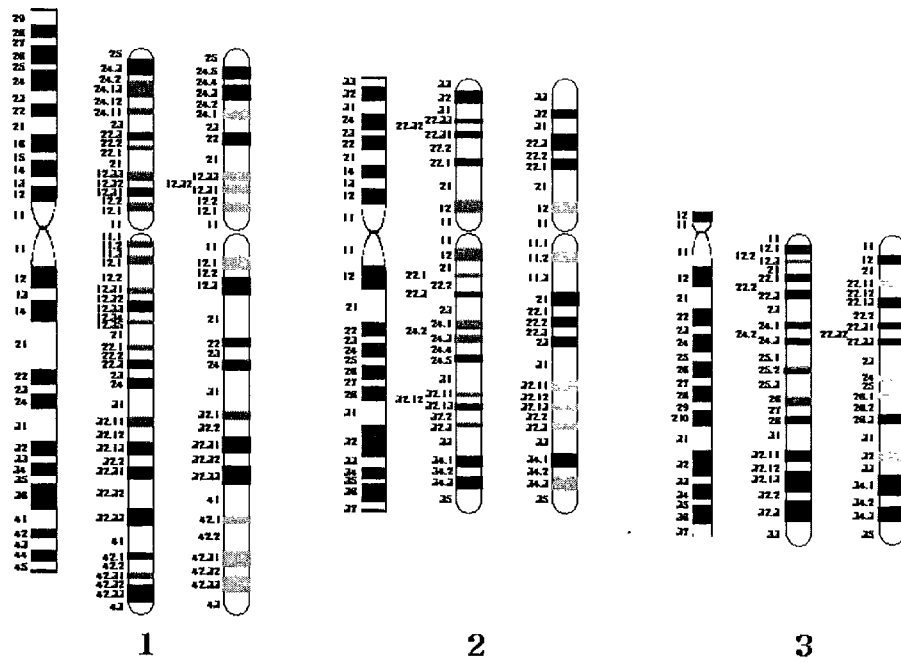
자) Z 염색체

국제표준핵형은 p-arm에 11~13, 21~24와 q-arm에 11~16, 21~22로 구분되어져 dark band 8개, light band는 7개이며 모두 15개의 band가 있다. White Leghorn은 p-arm에 11~23, q-arm에 11~14.3, 21.1~21.3으로 구분되어져 dark band 7개, light band 9개로 모두 16개의 band가 있다. 한국재래계에서는 p-arm에 22가 22.1~22.5로 분열양상을 보여 dark band 9개, light band 10개로 모두 19개의 band가 있다.

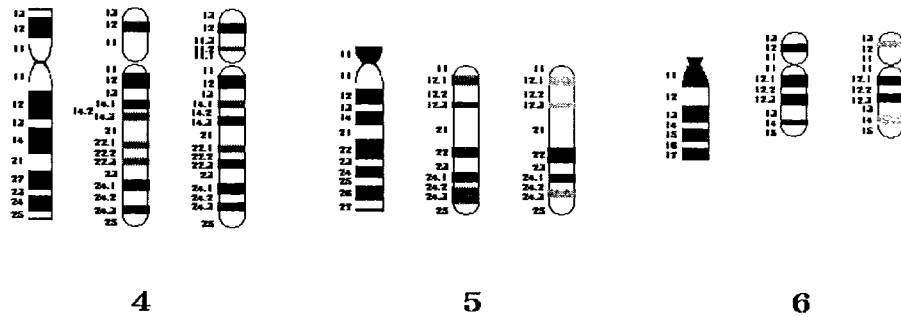
차) W 염색체

국제표준핵형은 p-arm에 11~14와 q-arm에 11~14로 구분되어져 dark band 4개, light band는 4개이며 모두 8개의 band가 있다. White Leghorn과 한국재래계도 동일한 band양상을 나타내었다.

이상의 분석 결과 재래계와 White Leghorn 품종 본 연구에서 분석된 G-분염 표지가 국제표준핵형에서 제시한 분염표지 보다 훨씬 많음을 알수 있었는데 이는 본 연구에서 개발된 고분염분석법이 banding의 분석에 보다 효과적임을 시사하는 것이다. 한편 재래계와 레그혼간의 핵형 양상에 있어서는 각 염색체에 따라 band수와 band의 위치에 다소의 차이를 보였다. 특히 1번 q-arm과 Z염색체의 p-arm에서 band의 수적 차이를 보인 바 이는 품종간 유전적 차이에 기인된 표지로 제시하기보다는 유도된 염색체의 길이에 따른 차이인 것으로 사료된다. 따라서 닭의 8개의 대형염색체상 G-band양상에 있어서는 재래계와 White Leghorn간에 차이가 없는 것으로 보여진다.

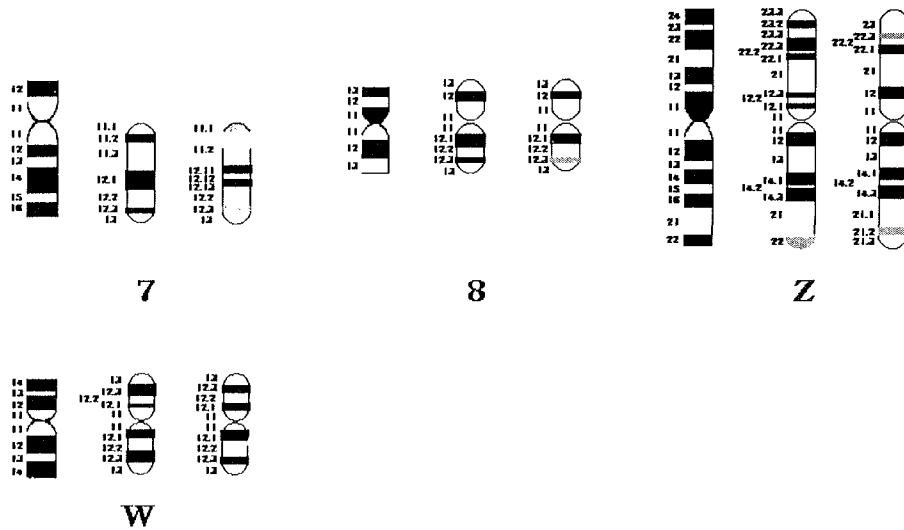


Left : ISSAK, Middle : Korean Native Chick, Right : White Leghorn



Left : ISSAK, Middle : Korean Native Chick, Right : White Leghorn

Fig 26. Alignment of G-banded karyotypes macrochromosomes in the ISSAK(1999) standard for Chick(left), Korean Native Chick(middle) and White Leghorn(right).



Left : ISSAK, Middle : Korean Native Chick, Right : White Leghorn

Fig 26. continued

3) 품종간 CBG-banding양상 및 heterochromatin 분포 양상

Table. 53은 한국재래계와 단관백색레그혼 종간의 3번 염색체 동원체와 Z염색체 말단부에 나타나는 C-band의 발현양상을 비교 분석하여 제시한 것이다. 분석 결과 두 품종간의 3번 염색체 및 Z 염색체의 다형현상이 존재함을 알 수 있었고, 종간 다형성의 분포 비율이 유의하게 차이가 있음을 알 수 있었다. 3번 염색체의 경우 한국재래계는 C-band가 모든 상동염색체에 전혀 존재하지 않는 것이 가장 높은 빈도를 보였으나 레그혼의 경우 상동 염색체 모두에서 존재하는 것이 가장 높은 빈도로 나타났다. 반면 Z 염색체의 경우에는 두 품종간 발현율의 양상에서 비슷한 경향을 나타내고 있으나 레그혼에

서 두 개의 Z 염색체 모두에서의 발현율이 재래계에 비해 훨씬 높은 양상이다.

Figure 27은 한국재래계와 White Leghorn에서 대형염색체 상의 C-bands의 출현빈도를 분석하고 이의 양상을 모식도로 제시한 것이다. 거의 대부분의 상 염색체의 경우 레그혼이 재래계에 비해 상대적 C-band의 출현율이 낮음을 알 수 있었으나 W염색체의 경우는 재래계와 같이 모든 염색체에서 C-band가 나타났다.

Table 53. C-band heteromorphic pattern on chromosomes 3 and Z in Korean Native chick(KNC) and White Leghorn(WL)

Heteromorphic pattern for C-band	+/+		+/-		-/-	
	KNC	WL	KNC	WL	KNC	WL
chromosome 3	56(17.1%)	293(60.8)	91(27.7)	150(31.1)	181(55.2)	39(8.1)
chromosome Z	55(68.8)	239(93.7)	19(23.8)	15(5.9)	6(7.5)	1(0.4)

"+" signifies chromosome bearing C-band

"-" signifies chromosome bearing non C-band

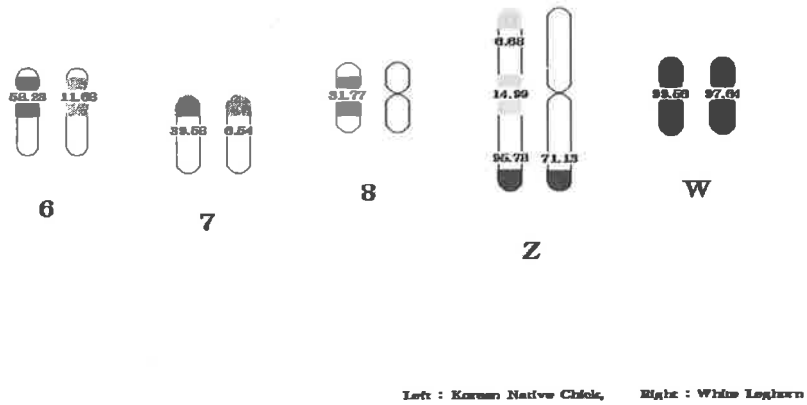
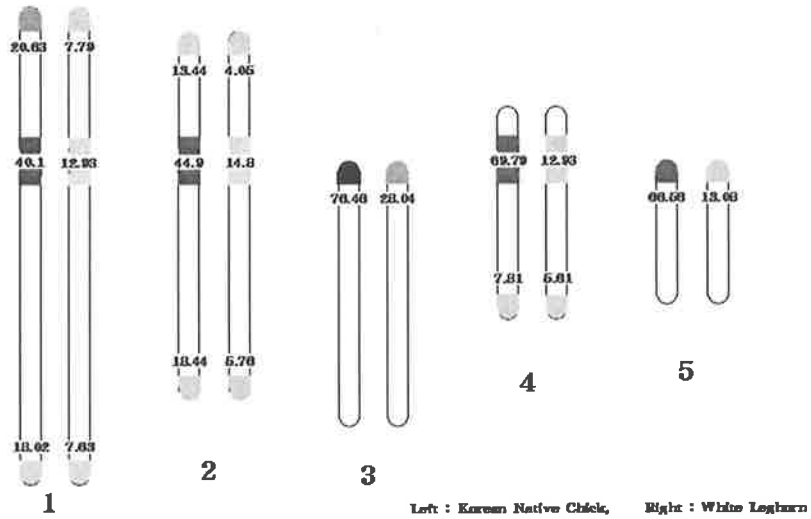


Figure 27. Idiogrammatic representation of C-banded karyotype of macrochromosomes in Korean Native Chick and White Leghorn

2. 한국 재래계의 형태적 특성과 경제능력 분석

가. 공식계 확보

국내에 산재된 재래닭을 1992~1994년에 수집하여 기초집단으로 조성하고 외모와 능력에 따른 선발을 실시하여 적갈색, 황갈색, 흑색, 백색, 회갈색의 5계통에 대하여 매년 1세대를 계대유지하면서 현재 순도 97%로 순수화 복원하여 5~6세대간 유지개량하고 있다. 1세대를 유지하는데는 계통당 800~1,000수를 검정하여 200~250수를 선발하고 아버가계 20~30수와 어미가계 150~250수에 대하여 혈연을 고려한 혈통번식을 실시하며 능력선발은 산란, 산육성 형질에 대하여 개체별로 조사한 검정성적을 기준으로 선발하고 외모선발은 계통별 외모특징에 의하여 선발하였다.

나. 한국재래닭의 특징

- ① 한국재래닭이라 함은 예로부터 우리나라에서 사육되어온 닭으로 근대에 다른 품종과 섞임이 없이 분리 사육되어온 닭
- ② 몸이 가벼우며 날개는 강해서 나르는 힘이 풍부함
- ③ 알을 품는 성질(취소성)이 강하고 부화된 병아리를 잘 기를
- ④ 벗은 적색, 단관이고 고기수염은 길며 목의 깃털이 많음
- ⑤ 체형은 장방형으로 체고는 수컷 28cm, 암컷 23cm 내외, 체장은 수컷 26cm, 암컷 22cm 내외임
- ⑥ 체중은 수컷 2.4kg, 암컷 1.9kg 내외이고 연간산란수는 175~180개 내외, 난형은 타원형으로 난각색은 갈색이고 난중은 52g 내외임
- ⑦ 근육은 지방이 적고 비육은 잘 되지 않지만 맛이 좋음
- ⑧ 축산기술연구소에서는 우리나라 각 지방에서 사육되어오던 지역 토종닭을 수집하여 외모특징에 따라 계통을 조성하였음

다. 한국재래닭의 계종별 외모 특징

한국재래계의 계통별 외모특징은 Figure 28과 같고, 이들의 형태적 특징을 요약하면 Table 54와 같다.

- ① 적갈색종 및 황갈색종은 깃털색이 갈색에 속하는 것으로 진한 갈색을 띠는 것을 적갈색종, 연한 갈색은 황갈색종으로 구분함
- ② 수탉은 머리와 목 깃털은 황갈 또는 적갈색, 어깨 및 등은 암적갈 또는 흑색, 가슴과 다리는 적갈 또는 흑색, 복익우는 녹흑색 띠, 부익우는 적갈색 또는 흑색, 주익우 끝은 흑갈색 또는 흑색, 꼬리는 녹흑색 띠를 가지고 있음
- ③ 암탉은 회갈색으로 깃털마다 검은 줄무늬, 꼬리는 흑색, 등 및 날개는 회갈색의 바탕에 흑조가 보통이나 때로는 은회색의 바탕에 흑조도 있음
- ④ 흑색종은 원래 깃털이 흑색이지만 다소 녹색을 띠는 것이 보통이고, 벗은 적색 또는 암적색, 부리 및 정강이는 회흑색임
- ⑤ 백색종은 깃털이 백색, 부리와 정강이는 황색 또는 회흑색임

라. 한국재래닭 원종계의 육성기 능력(Table 55)

- ① 한국재래닭의 육성율은 계통에 따라 거의 차이가 없으며, 20주령까지의 육성율은 95.2~97.8%
- ② 주령별 체중은 14주령에서 적갈색, 황갈색 및 흑색이 각각 1,078g, 1,059g 및 1,089g으로 비슷하였고, 20주령에서는 각각 1,515g, 1,481g 및 1,505g으로 계통간에 큰 차이가 없었음
- ③ 수탉의 8주령 체중은 630g으로 암탉에 비하여 21% 높으며, 16주령 체중은 1,735g으로 암탉체중보다 39% 높고, 20주령 체중은 2,040g으로 암탉보다 36% 높음(Table 56)

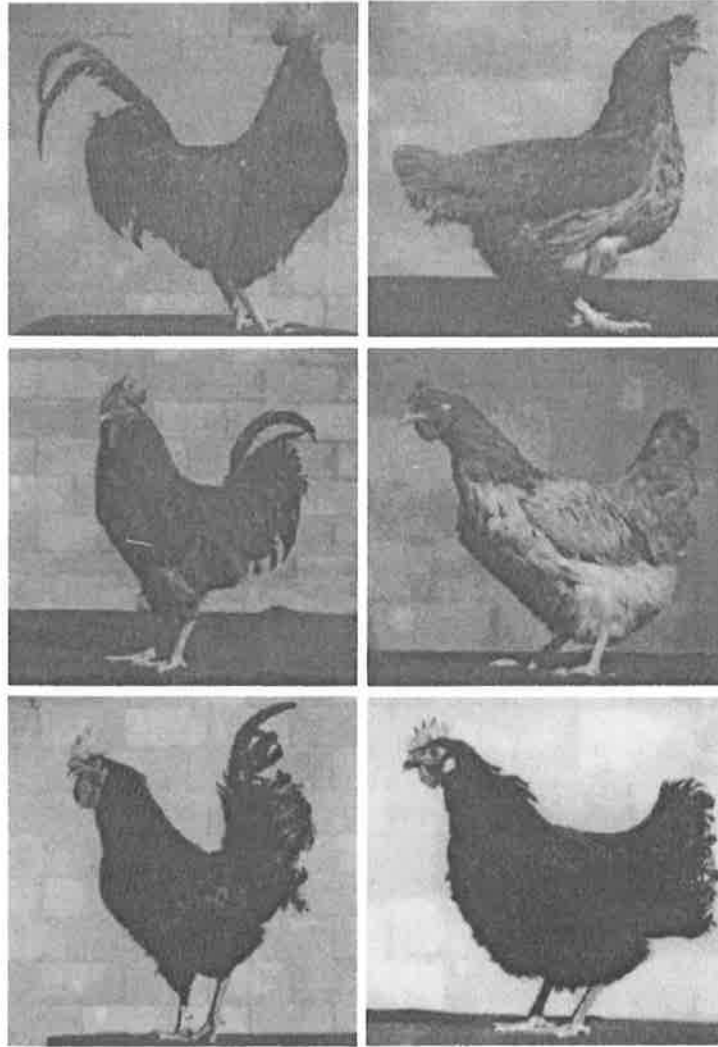


Figure 28. 한국재래계의 계통별 외모특성; 적갈색 계통 ♂,♀(상), 황갈색 계통 ♂,♀(중), 흑색계통 ♂,♀(하)

Table 54. 한국재래닭 원종계의 계통별 외모특징

주요부위	외모특징	계통별 외모색				
		적갈	황갈	흑	백	회갈
체형	소형, 장방형	적갈	담황	흑	백	회갈
벚	홀벚, 관침 5개	선홍	선홍	암적	선홍	선홍
머리	중간크기	적갈	황갈	흑	백	황갈, 흑반
부리	단단, 조금굽음	황갈	황갈	흑	황갈	황갈
눈	맑고 투명	밤색	밤색	진한밤색	밤색	밤색
깃털	중간크기, 타원형	선홍, 백	선홍, 백	적, 백	선홍, 백	선홍, 백
고기수염	턱밑	선홍	선홍	적, 흑적	선홍	선홍
목	직립	적갈	황갈	흑	백	회갈
등	후구로 경사	적갈	황갈	흑	백	회갈, 적갈
날개	나는 힘이 강함	적갈, 흑	황갈, 흑	흑	백	회갈, 적갈
꼬리	꼬리깃 김	녹흑	녹흑	흑	백	녹흑
정강이	우모없음	회흑	회흑	회흑, 흑	회흑	회흑
발가락	4개 우모없음	회흑	회흑	흑	회흑	회흑

Table 55. 암탉의 주령별 육성을 및 체중

계통별	육성율(%)		체중(g)	
	0~14주령	0~20주령	14주령	20주령
적갈색	98.2	97.8	1,078	1,515
황갈색	97.4	97.0	1,059	1,481
흑 색	97.0	95.2	1,089	1,505

Table 56. 수탉의 주령별 체중과 암탉대 비율

주령	체중	암탉대 비율(%)	주령	체중	암탉대 비율(%)
2	110	100	12	1,175	125
4	250	109	14	1,360	133
6	415	115	16	1,735	139
8	630	121	18	1,920	138
10	890	124	20	2,040	136

마. 한국재래닭 원종계의 산란기 능력

- ① 초산일령은 황갈색 계통이 가장 빨랐고, 적갈색, 흑색계통의 순이 었음(Table 57)
- ② 산란율은 황갈색계통이 높았고, 난중은 46.3~47.5g으로 비슷하였 음
- ③ 1일 1수당 평균사료섭취량은 산란율이 높은 황갈색 계통이 많았 고, 사료 요구율은 낮았음(Table 58)
- ④ 산란 kg당 ME요구량 및 CP요구량은 황갈색 계통이 적었음
- ⑤ 산란후기의 난각강도는 2.93~3.37kg/cm²으로 흑색이 가장 낮았으 며, 난각 후도는 314.5~337.3 μ m로서 흑색이 낮았음(Table 59)
- ⑥ 농후난백고, 난황착색도, Haugh Unit, 난형 및 난황계수는 비슷하 였음

Table 57. 초산일령, 성계생존율 및 산란율, 평균난중

계통별	초산일령(일)	성계생존율(%)	평균산란율(%)	평균난중(g)
적갈색	165.8	88.8	53.3	47.5
황갈색	159.0	92.3	60.7	46.3
흑 색	168.3	83.3	55.3	46.8

Table 58. 사료이용성 및 영양소 요구량

계통별	사료이용성		산란 kg당 영양소 요구량	
	사료섭취량(g)	사료요구율	ME(kcal/kg)	CP(g)
적갈색	102.1	3.30	11,995	642.7
황갈색	104.1	3.05	10,300	564.4
흑 색	102.7	3.32	12,694	680.6

Table 59. 난각질 및 난질

계통	57주령시의 난각질 및 난질						
	난각강도 (kg/cm ²)	난각후도 (μ m)	농후난백고 (mm)	난황착색도	H.U	난형계수	난황계수
적갈색	3.36	337.3	4.97	6.84	70.6	77	46
황갈색	3.37	334.9	4.95	7.24	70.3	75	46
흑 색	2.93	314.5	4.94	7.18	70.6	74	48

바. 재래닭의 유전특성

1) 형질별 유전력

재래계의 경제형질에 대한 유전력의 추정치는 Table 60과 같다

Table 60. 재래계의 형질별 유전력

형 질	적갈색	황갈색	흑 색	백 색	평 균
시산일령	0.15	0.14	0.25	0.13	0.17
150일 체중	0.37	0.39	0.38	0.23	0.34
270일 체중	0.49	0.32	0.44	0.13	0.35
270일 산란수	0.27	0.15	0.15	0.13	0.18
시산난중	0.07	0.01	0.11	0.20	0.10
270일 난중	0.35	0.32	0.28	0.22	0.29

2) 가금의 표지인자에 의한 유전특성

- ① 갈색종은 억제인자(I)를 가지지 않는 iiCC인자형을 가짐
- ② 우모색은 은색(S)이나 황반색(B)은 극히 드물고 갈색바탕의 금색(s)이 일반적인 특징임
- ③ 흘벧은 rrpp인자형이고 회흑색의 정강이는 ididW-인자형으로 추정됨

3) 생화학적 유전표지분석에 의한 유전특성

① Post albumin좌위에서 A 대립유전자가 높은 빈도로 출현됨

② Tf좌위에서 C, A유전자 및 Es-1좌위 중 C대립유전자 출현

4) 유전면역학적 특성

① MHC class II에 대한 양성분포비율이 높게 나타남

② 재래닭에서 CD4, 개량재래닭에서 CD8항원이 높게 발현됨

참 고 문 헌

- Berger, R. 1972. Etude du caryotype du porc avec une nouvelle technique. *Exptl. Cell Res.* 75:298-300
- Bitgood, J. J. 1985. Locating pea comb and blue egg in relation to the centromere of chromosome 1 in the chicken. *Poul Sci.* 64:1141-1414
- Cantor, C. R. and Schimmel, P. R. 1980. *Biophysical chemistry. Part III: The behavior of biological macromolecules.* pp1251. Freeman Pub. San Francisco
- Carlenius, C., H. Rytman, H. Tegelstrom and H. Jansson. 1981. R-, G- and C-banded chromosomes in domestic fowl. *Hereditas* 94:61-66
- Comings, D. E. 1978. Mechanisms of chromosome banding and implications for chromosome structure. *Ann. Rev. Genet* 12:25-46
- Committee for the Standardized Karyotype of the Domestic Pig. 1988. Standard Karyotype of the domestic pig. *Hereditas* 109:151-157
- Fechheimer, N. S. 1990. Chromosomes of chickens. *Advances in Veterinary Sci. and Comparative Medicine* 34:169-207
- Francke, U. 1981. High resolution ideograms of trypsin-Giemsa banded human chromosomes. *Cytogenet Cell Genet* 31:24-32
- Francke, U. 1994. Digitized and differentially shaded human chromosome ideograms for genomic applications. *Cytogenet Cell Genet* 65:206-219

- Gallagher, D. S., Ryan, A. M., Liou, L. S., Sastry K. N., Womack, J. E. 1993. Somatic cell mapping of conglutinin(CGN1) to cattle syntenic group U29 and fluorescence in situ localization to chromosome 28. *Mamm Genet* 4:716-719
- Gustavsson I. 1969. Cytogenetics, distribution and phenotypic effects of a translocation in Swedish cattle. *Hereditas* 63:67-169
- Gustavsson, I., Hageltorn, M., Johansson, C., and Zech, L. 1972. Identification of the pig chromosomes by quinacrine mustard fluorescence technique. *Exptl. Cell Res.* 70:471-474
- Hansen, K. M. 1972. Bovine chromosome abnormality in three cases of lymphatic leukaemia in cattle. *Nature* 203:990
- Iannuzzi L., Gallagher, D. S., Ryan, A. M., Di Meo, G. P., Womack, J. E. 1993. Chromosomal localization of omega and trophoblast interferon genes in cattle and river buffalo by sequential R-banding and fluorescent in situ hybridization. *Cytogenet Cell Genet* 62(4):224-227
- Iannuzzi, L. 1996. G- and R-banded prometaphase karyotype in cattle(*Bos taurus* L.). *Chromosome Research* 4:448-456
- Ikeuchi, T., Sasaki, M. 1979. Accumulation of early mitotic cells in ethidium bromide treated human lymphocyte cultures. *Proc Japan Acad* 55:15-18
- Ikeuchi, T. 1984. Inhibitory effect of ethidium bromide on mitotic chromosome condensation and its application to high-resolution chromosome banding. *Cytogenet Cell Genet* 31:1-23

- ISCN. 1995. An International System for Human Cytogenetic Nomenclature (1995) *Cytogenet. Cell Genet*: Karger, pp.1-29
- ISCNDA. 1990. International system for cytogenetic nomenclature of domestic animals. *Cytogenet. Cell Genet* 53:65-79
- ISSAK. 1999. International System for Standardized Avian Karyotypes: Standardized banded karyotypes of the domestic fowl. *Cytogenet Cell Genet* 86:271-276
- Kaftanovskaya, H. M. and O. L. Serov. 1992. High-resolution G-banding sheep chromosomes. *J. Hered.* 83: 92 - 99
- King, W. A. 1990. Chromosome abnormalities and pregnancy failure in domestic animals. *Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine.* 34:229-250
- Levan, A., Fredga, K., Sandberg, A. A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 52:201-220
- Lin, C. C., D. R. Newton and R. B. Church. 1977. Identification and nomenclature for G-banded bovine chromosomes. *Can. J. of Genet. Cytol.* 19:271-282
- Moorhead, P. S., P. C. Nowell, W. J. Mellman, D. M. Battips and D. A. Hungerford. 1960. Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Exp. Cell Res.* 20:613-616
- Nowell, P. C. 1960. Phytohemagglutinin: an initiator of mitosis in cultures of normal human leucocytes. *Cancer Res* 20:462-466
- Reading Conference. 1980. Proceeding of the first international conference for the standardization of banded karyotypes of domestic animals. *Hereditas* 92:145-162

- Ryttman, H. and H. Tegelstrom. 1981. G-banded karyotypes of three Galliformes species, domestic fowl, quail, and turkey. *Hereditas* 94:165-170
- SAS. 1985. SAS user's guide: statistics, SAS Inst. Inc., Cary, NC.
- Shaw, E. M., J. S. Otis, K. S. Guise, and R. N. Shoffner. 1990. Borate G-banding technique applicable to in situ deoxyribonucleic acid/deoxyribosenucleic acid hybridized chicken chromosomes. *Poul. Sci.* 69:1046-1050
- Shoffner, R. N. 1981. Marker chromosomes and G-banding for location of genes in the chicken. *Poul. Sci.* 60:1372-1375
- Sohn, S. H., N. S. Fechheimer and B. K. Ohh, 1990. Leukocyte culture technique for the study of chromosomes in the Japanese quail. *Kor. J. Anim. Sci.* 32: 748-751
- Sohn, S. H. Fechheimer, N. S., Nestor, K. E. 1995. Transmission of C-band variants in Japanese quail. *AJAS* 8(2):171-174
- Stock, A. D. and T. O. Bunch. 1982. The evolutionary implications of chromosome banding pattern homologues in the bird order Galliformes. *Cytogenet. Cell Genet.* 34:136-148
- Sumner AT. 1972. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Exp Cell Res* 75:304-306
- Wang, H. C. and Federoff, S. 1974. Trypsin technique to reveal G-bands. In: *Tissue culture methods and applications*. New York. Academic Press.
- Wang, N., and R. N. Shoffner. 1974. Trypsin G- and C-banding for interchange analysis and sex identification in the chicken.

Chromosoma 47:61-69

- Yerle, M., Galman, O., and Echard, G. 1991. The high-resolution GTG-banding pattern of pig chromosomes. Cytogenet. Cell Genet. 56:45-47
- Yunis, J. J. 1976. High resolution of human chromosomes. Sci. 191: 1268 - 1270
- 김기원, 손시환, 문점동. 1994. Holstein종의 염색체 분염 분석. 진주 산업대 농업기술연구소보 7:1-11
- 김철욱, 손시환, 김형균, 오하식. 1994. 동원체지수 및 상대적길이에 의한 돼지의 품종별 핵형분석. 한국축산학회지 36:353-361
- 김철욱, 손시환. 1995. 염색체분염법(G-banding)에 의한 돼지의 품종별 유전적 표지인자 구명에 관한 연구. 한국축산학회지 37: 19-26
- 손시환, 신영수. 1997. High-Resolution banding에 의한 닭의 핵형분석. 한국동물유전육종학회지 1:(Unpublished)
- 손시환, 오봉국. 1987a. 닭 염색체의 분리분석 방법에 관한 연구. 가금학회지 14:89-96
- 손시환, 오봉국. 1987b. G-banding에 의한 닭 염색체 표지인자에 관한 연구. 한국축산학회지 29:524-531
- 손시환, 정구민. 1994. 혈액세포를 이용한 염색체 분리분석에 관한 방법적 고찰. 대한불임학회지 21:207-214
- 여정수. 1984. 한국 재래 축종인 한우의 염색체 분석. 한국축산학회지 26(3):225-230
- 여정수. 1987. 한우의 염색체 분염 분석에 의한 유전적 조성의 특징에 관한 연구. 한국축산학회지 29(3):107-111

- 오봉국, 손시환, 여정수. 1990. C-banding에 의한 닭의 heterochromatin 다형현상. 한국축산학회지 32:1-8
- 오봉국, 여정수, 손시환, 홍영호. 1991. 한우 염색체의 Constitutive Heterochromatin Banding 양상. 한국축산학회지 33:359-369
- 홍영호, 오봉국, 손시환. 1991. G-banding에 의한 한우 염색체 표지 인자에 관한 연구. 한국축산학회지 33:348-358