

## 분자세포유전학적 기법을 이용한 Freemartin의 진단

강민영, 전해정, 손시환

진주산업대학교 동물생명과학과 · 동물생명산업연구센터

프리마틴(freemartin)이라 함은 반추동물들 중 특히 소에서 나타나는 간성(intersex)형태로 이성 쌍자의 경우 태어난 암컷의 대부분이 정상적인 자성 생식기의 발육 및 발생양상을 지니지 못하여 생식불능상태로 되는 것으로 알려져 있다. 최근 실용화된 수정란이식이나 쌍자유기 등의 기술은 현재 일반 농가에 까지 정책적으로 확대 보급되어 산업화되고 있는 실정이나 불행히도 이러한 기술들을 이용하여 생산된 개체들 중 상당수가 이성쌍자로 이들 중 암컷 개체들은 거의 freemartin으로 생산되어 실지 노력에 비해 경제적 효과들을 크게 반감시키고 있다. 뿐만 아니라 생산된 freemartin 개체들에 대하여 조기 진단 없이 다만 형태적으로 암컷으로 판단하여 번식우로 사양관리 함에 따른 경제적 손실이 매우 크다 할 수 있겠다.

따라서 본 연구에서는 소의 Y-염색체 특이 DNA probe를 이용한 Fluorescence *in situ* Hybridization(FISH)방법에 의해 프리마틴의 실험실적 조기진단방법을 개발하고자 하였다. 소의 Y-염색체 특이 DNA probe의 제작은 bovine male-specific repetitive DNA로 알려진 BC1.2의 염기서열 54bp를 포함할 수 있도록 PCR primers를 제작하고 이들 PCR product들을 Dig-PCR probe synthesis labeling 방법에 의해 FISH용 probe로 완성하였다. 본 probe의 검경을 위하여 수컷의 백혈구 세포 및 이로부터 분리된 중기상 표본에 FISH를 시행한 결과 Y-염색체에만 특이적으로 접합하였고, Yp13 부위에 이의 위치가 확인되었다. 본 probe를 이용하여 freemartin의 진단을 위하여 진주 인근 농장에서 사육중인 한우 및 Holstein 이성쌍자 암수 18두를 대상으로 이들의 혈액으로부터 FISH를 수행하였다. FISH 분석 결과 freemartin 개체들뿐만 아니라 이의 이성 쌍자 수컷에서도 XY 세포와 XX세포가 혼재되었음을 보여주었고, 이러한 결과는 이들 개체들에 대한 세포유전학적 핵형 분석의 결과와도 일치하였다. 뿐만 아니라 FISH probe는 배양된 세포는 물론 배양되지 않은 세포에서도 Y-염색체 특이적인 형광접합 발현양상을 나타내므로, 본 FISH 기법은 세포 배양을 통한 염색체의 유도 없이도 채취한 조직 또는 세포로부터 직접 진단이 가능하고, 극미량의 표본으로부터도 분석이 가능하여 보다 신속하고 명확한 freemartin의 진단 수단이 될 수 있을 것으로 사료된다.

Key words) *Freemartin, Cattle, Y-chromdsome specific DNA, FISH, PCR*