

## 게사니와 검은고니에서 성염색체특이적인 *CHD*유전자단편증폭에 의한 성감별

고수경, 조정혁, 강철호

위대한 령도자 김정일동지께서는 다음과 같이 교시하시였다.

《최신과학기술에 기초하여 가금업을 대대적으로 발전시키는것은 인민생활을 높이기 위하여 우리 당이 내세운 중요한 방침입니다.》(《김정일선집》 증보판 제21권 24페이지)

최근에 여러 나라들에서는 관상적가치와 경제적가치가 큰 야생조류들을 인공양식하여 큰 실리를 얻고있다.

검은고니(*Cygnus atratus*)는 오리-기러기과(Anatidae)에 속하는 야생조류로서 관상적가치와 경제적가치가 큰 종이다. 그러나 검은고니는 형태학적으로 암수를 구별하기가 어렵다. 검은고니를 인공양식하는데서 초기단계(3달나이)에서의 성감별은 기초적이면서도 아주 중요한 문제로 나선다.

이로부터 우리는 이미 암수가 구별된 게사니를 대조로 하여 검은고니에서 분자표식자에 의한 방법으로 성을 감별하기 위한 연구를 하였다.

### 재료와 방법

성감별을 위한 재료로는 형태학적으로 암수가 구별된 게사니(3쌍, 6마리)와 암수가 구별되지 않은 검은고니(10마리)를 리용하였다.

DNA분리용재료로는 깃털을 리용하였다. 시험에 리용되는 시약들은 분석순이었으며 깃시료에서 DNA는 페놀-클로로포름법과 에타놀침전법으로 추출분리[1]하였다. 성감별에 리용된 분자표식자를 증폭하는데 매-독수리과와 황새과를 비롯한 야생조류들의 성감별에 많이 리용되는 2550F/2718R프라이머를 리용[2]하였다.

2550F: 5'-GTTACTGATTCGTCTACGAGA-3'

2718R: 5'-ATTGAAATGATCCAGTGCTTG-3'

PCR반응계조성의 구성과 PCR조건은 선행방법[1]을 약간 수정하여 정하였다.

ES효소완충액복합제 12.5  $\mu$ L, 2550F 1  $\mu$ L, 2718R 1  $\mu$ L, 주형DNA 1  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 9.5  $\mu$ L, 총반응체적 25  $\mu$ L로 PCR반응계를 구성하였다.

PCR반응조건은 다음과 같다.

초기변성 94°C에서 5min→변성 94°C에서 30s, 아닐링 46°C에서 45s,

연장 72°C에서 50s, 순환회수 30회→마감연장 72°C에서 10min

### 결과 및 고찰

*CHD*(Chromo-Helicase DNA)유전자는 조류의 Z와 W성염색체의 크로모-헬리카제 DNA 결합아단위단백질을 암호화한다.[1, 2] 이때 Z염색체와 W염색체에 있는 *CHD*유전자의 크기는 서로 다르다. 그러므로 PCR증폭과정에 생기는 *CHD-Z*단편과 *CHD-W*단편의 크기차이를 리용하여 암수를 구별할수 있다.

## 1) 게사니에서 2550F/2718R프라이머에 의한 성감별

대조구로서 형태학적으로 암수가 구별된 3달나이의 게사니로부터 채집한 6개의 깃털 시료(암컷 3마리, 수컷 3마리)에서 분리한 DNA시료를 가지고 예비실험을 하였다.

게사니에서 2550F/2718R프라이머에 의한 *CHD*유전자단편증폭산물의 1% 아가로즈겔전기영동결과는 그림 1과 같다.

그림 1에서 보는바와 같이 영동상에서 암컷과 수컷시료들사이에 명백한 차이가 있었다.

암컷에 해당되는 1, 3, 5번 시료들에서는 여러개의 희미한 띠들과 함께 500bp 근방에서 1개의 선명한 띠가 관찰되었지만 수컷에 해당되는 2, 4, 6번 시료들에서는 암컷시료들에서와 같이 희미한 띠들이 있었지만 500bp 근방에서 선명한 띠는 관찰되지 않았다.

조류에서 2550F/2718R프라이머로 *CHD-Z*와 *CHD-W*유전자단편을 증폭할 때 각각 600bp와 500bp 근방에서 띠가 관찰된다.[2] 그러나 우리의 실험에서 대조로 리용한 게사니에서는 600bp 근방에서 띠가 아주 희미하게 관찰되었고 500bp 근방에서만 *CHD-W*에 해당하는 띠가 선명하게 관찰되었다. 이것은 2550F/2718R프라이머가 Z염색체에서보다 W염색체에서 *CHD*유전자단편을 더 효율적으로 증폭한다는것을 보여준다.

이러한 결과는 형태학적으로 암수구별이 힘든 오리-기러기과의 야생조류에서 2550F/2718R프라이머를 리용하여 W염색체에 특이적인 *CHD-W*유전자단편을 증폭하여 암수를 결정할수 있다는것을 보여준다.

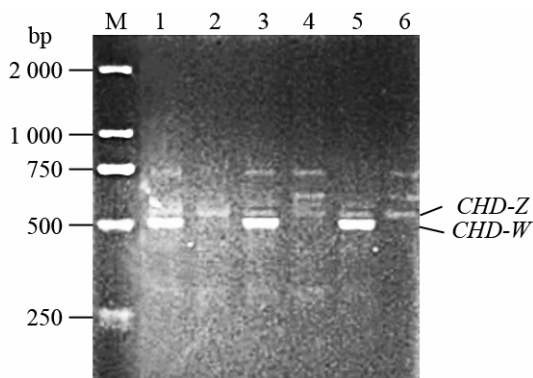


그림 1. 게사니에서 2550F/2718R프라이머에 의한 *CHD*유전자단편증폭산물의 1% 아가로즈겔전기영동결과  
M은 분자크기표식자, 1-6은 시료번호임.  
(♀: 1, 3, 5, ♂: 2, 4, 6)

## 2) 검은고니에서 2550F/2718R프라이머에 의한 성감별

우의 실험결과에 준하여 암수감별이 되지 않은 검은고니 10마리를 대상으로 성감별을 진행하였다.

검은고니에서 2550F/2718R프라이머에 의한 *CHD*유전자단편증폭산물의 1% 아가로즈겔전기영동결과는 그림 2와 같다.

그림 2에서 보는바와 같이 2, 3, 7, 9, 10번 시료들에서 500bp 근방에서 암컷에 해당되는 띠들이 뚜렷하게 관찰되었지만 1, 4, 5, 6, 8번 시료들에서는 이와 같은 영역에서 띠가 관찰되지 않았다. 따라서 검은고니 10마리가운데서 각각 암컷은 5마리이고 수컷도 5마리라는것을 알수 있다.

이외에도 다른 영역에서 여러개의 띠들이 관찰되었는데 이것은 이 프라

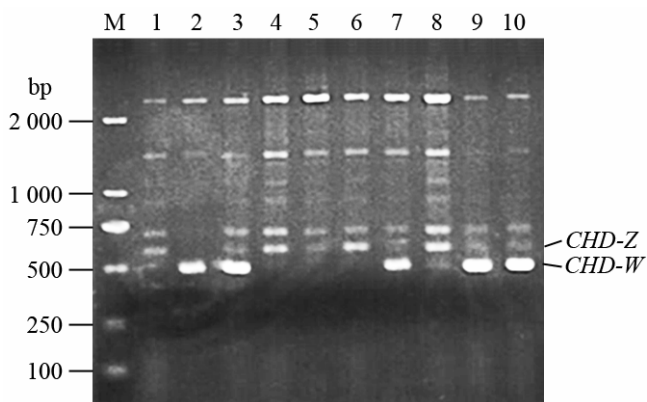


그림 2. 검은고니에서 2550F/2718R프라이머에 의한 *CHD*유전자단편증폭산물의 1% 아가로즈겔전기영동결과  
M은 분자크기표식자, 1-10은 시료번호임.

이머에 의하여 종에 따라 여러개의 비특이적인 띠도 증폭될수 있다는것을 보여준다. 이것은 프라이머를 리용할 때 일부 종들에서 또는 종안에서 암수에 따라 성염색체유전자와 관련이 없는 비특이적인 영역도 증폭된다는 연구결과[3]와도 일치된다. 그러나 우리의 실험에서는 이러한 비특이적인 띠들이 2550F/2718R프라이머에 의하여 증폭되는 *CHD-W*단편 증폭산물의 띠와 겔영동상에서 명백하게 구별되었다.

## 맺 는 말

조류의 *CHD*유전자를 증폭하는 2550F/2718R프라이머를 리용하여 게사니와 검은고니에서 암수를 감별할수 있다.

## 참 고 문 헌

- [1] 김일성종합대학학보(자연과학), 61, 2, 95, 주체104(2015).
- [2] S. Sulandari et al.; HAYATI Journal of Biosciences, 19, 4, 190, 2012.
- [3] N. Vali et al.; African Journal of Biotechnology, 10, 80, 18593, 2017.

주체109(2020)년 10월 5일 원고접수

## Sex Identification by Sex Chromosome-Specific *CHD* Gene Fragment Amplification in *Anser domesticus* and *Cygnus atratus*

Ko Su Gyong, Jo Jong Hyok and Kang Chol Ho

We proposed a method to identify sex in black swan, using *CHD* gene-specific 2550F/2718R primer, which specially amplified about 500bp region of *CHD-W* gene in breeding of Anatidae.

Keywords: *CHD* gene, 2550F/2718R, black swan, Anatidae