

# 體細胞核轉置複製荷蘭牛的端粒長度分析<sup>(1)</sup>

蕭振文<sup>(2)</sup> 蔡麗卿<sup>(2)</sup> 王君今<sup>(2)</sup> 陳裕信<sup>(2)</sup> 曲鳳翔<sup>(2)</sup>  
劉振發<sup>(2)</sup> 李善男<sup>(3)</sup> 陳立人<sup>(2)(4)</sup>

收件日期：96年5月3日；接受日期：96年6月13日

## 摘要

本研究主要目的在分析畜產試驗所應用體細胞核轉置 (somatic cell nuclear transfer, SCNT) 技術生產的4頭複製荷蘭牛與同年齡同性別對照牛在 2-3歲與3-4歲時的端粒 (telomere) 長度，以了解體細胞複製牛與正常牛隻端粒長度的變化。試驗自複製牛在年齡 2-3歲及3-4歲時分別採集全血，經遠心分離收集白血球萃取基因組 DNA，再應用測定套組完成端粒長度 (terminal restriction fragment, TRF) 分析。結果顯示，4頭複製牛在2至 3歲時端粒長度分別為 17.03、17.92、17.92及 17.19 kb，平均端粒長度  $17.52 \pm 0.41$  kb；而 6頭同年齡同性別對照牛之端粒長度分別為 17.79、17.96、17.86、17.03、17.37及 17.18 kb，平均端粒長度  $17.53 \pm 0.39$  kb，兩者間無顯著差異。複製牛在 3至 4 歲時端粒長度分別為 17.65、17.31、17.82及 17.13 kb，平均端粒長度  $17.48 \pm 0.31$  kb；而6頭同年齡同性別對照牛之端粒長度分別為18.76、15.04、19.47、17.59、17.31及 18.62 kb，平均端粒長度  $17.80 \pm 1.57$  kb，兩者間亦無顯著差異。供核的耳朵成纖維細胞端粒長度則為 17.07 kb，與複製牛比較無顯著差異。本研究顯示，應用 SCNT技術生產的複製牛其端粒長度在基因再程式化的過程能回復正常，而與正常對照組牛隻沒有差異，並未因為利用成體供核體細胞進行 SCNT 而導致複製牛端粒短化的現象。

關鍵詞：體細胞核轉置、複製、端粒長度、牛。

## 緒言

細胞核轉置 (nuclear transplantation, NT) 技術的概念始於1938年，首次將細胞核轉置成功應用於體細胞複製動物的紀錄是兩棲類的研究 (Briggs and King, 1952)。1997年，利用取自6歲母綿羊的乳腺上皮細胞為供核源，進行核轉置而獲得「桃莉」羊，首創哺乳動物體細胞核轉置

---

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第1368號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所生理組。

(3) 行政院農業委員會畜產試驗所副所長室。

(4) 通訊作者，E-mail：lrchen@mail.tlri.gov.tw。

(somatic cell nuclear transfer, SCNT) 的成功首例 (Wilmut *et al.*, 1997)。迄今，應用取自胎體或各種成體細胞進行 SCNT 而成功複製的動物，包括綿羊、牛、小鼠、山羊、豬、野牛、大鼠、貓、兔子、騾、馬、狗 (蕭等, 2006) 與狼 (Kim *et al.*, 2007)。複製技術之應用，可以擴大遺傳背景一致的高性能優良種畜、復育與保種高度瀕臨絕種動物及基因轉置家畜的生產；同時對於關鍵生物技術、基礎研究與組織再生的研究也具重要潛力 (Campbell, 2002; Prather *et al.*, 1999)。

進行體細胞核轉置時，供核細胞置入已去核的未受精卵，將經歷染色質重組、DNA 甲基化、基因組銘印效應 (imprinting)、端粒長度的回復、組蛋白 (histone) 的修飾作用、epigenetic 傳承及 X-染色體失去活性等過程。正常體細胞之壽命有限，在歷經多次細胞分裂後即進入衰老期；引起細胞衰老的主要因素與染色體的端粒 (telomere) 變短有關係 (Faragher and Kipling, 1998)。端粒位於染色體末端，由短小的重複 DNA 序列組成 (McEachern *et al.*, 2000; Blasco, 2002)。至今，許多動物的端粒已受到研究，不同物種間的端粒變異極小，甚至演化上歧異度極大的物種亦然；例如單細胞生物四膜蟲 (*Tetrahymena*) 的端粒 DNA 序列為 TTGGGG，而人類的端粒 DNA 序列為 TTAGGG。端粒隨著細胞的分裂次數增加而逐漸縮短，又被稱為細胞的「有絲分裂時鐘」(mitotic clock) (Harley *et al.*, 1990; Kozik *et al.*, 1998)。端粒對於保持染色體的穩定、細胞活性及基因組的完整具有重要功能，端粒變短將使染色體纏黏並使細胞發生異常死亡。第一隻 SCNT「桃莉」羊的出生成為大眾關注之焦點，除開啟體細胞複製動物的研究熱潮外，也讓 SCNT 動物的老化與端粒長度成為研究重點。迄今，SCNT 動物的端粒已有相當多的研究，惟獲得之結果相當分歧 (蕭等, 2006)。本研究在分析 SCNT 複製牛及同年齡同性別對照牛的端粒長度，以探討 SCNT 操作對於端粒長度與細胞老化間的關係，藉由比較複製動物及同齡正常對照動物的端粒長度，了解動物間的端粒變異與端粒回復的作用。

## 材料與方法

### I. 試驗動物之血樣採集與基因組 DNA 萃取

4 頭複製及 6 頭同年齡同性別荷蘭乳牛的分娩日期、年齡及採樣日期等資料如表 1 所示。牛隻血液採集日期 2006 年 4 月 18 日 (2-3 歲) 及 2007 年 1 月 8 日 (3-4 歲) 共兩次。自乳牛採集全血後置入添加抗凝血劑 (heparin) 之離心管，經  $1,000 \times g$  離心收集白血球，再利用基因組 DNA 純化套組 (Qiagen, GmbH, Germany) 並按照其操作步驟萃取、純化與定量基因組 DNA。SCNT 時做為供核之纖維細胞係培養自高雄牧場出生日期為 1998 年 8 月 12 日的 921 號優良母牛的耳朵組織，採集耳朵組織時為 38 月齡。

### II. 端粒長度分析

端粒長度分析乃應用 Telo TAGGG 端粒長度分析套組 (Roche Molecular Biochemicals, Canada) 並按其方法進行端粒限制片段長度 (Telomere Restriction Fragment, TRF) 測定。首先將萃取的  $1-2.5 \mu g$  乳牛基因組 DNA 經限制酶 *HinfI/RsaI* ( $4 U/\mu g$  基因組 DNA) 在  $37^\circ C$  作用 12-16 hr 後進行 0.7% 瓊脂糖膠體 (agarose gel) 電泳，條件為  $5 V/cm$  4 hr；之後膠體經變性 (denaturation)、中和 (neutralization) 處理與南方轉漬 (Southern blot) 到帶正電的尼龍膜 (Roche Diagnostic, GmbH, Mannheim, Germany)。尼龍膜在 40 ml DIG Easy Hyb (Roche) 中進行  $42^\circ C$  2 hr 的預雜交，再與 biotinylated Telomere Probe (Roche Molecular Biochemicals, USA) 進行  $42^\circ C$  16 hr 的雜交反應。雜交後尼龍膜在 50 ml  $0.5 \times$  洗滌液 (SSC,  $1 \times$  SSC: 0.15 M NaCl, 0.015 M sodium citrate) 室溫清洗 3 次，每次 15 min。最後將尼龍膜取出以微波用膠膜包覆後，放入卡匣內進行 X-光片的顯

影，或直接將尼龍膜置入LAS-3000 (Luminescent Image Analyzer, Fujifilm, Japan) 化學冷光影像系統截取影像，再利用內含之影像分析軟體，按照端粒長度計算公式  $\Sigma (ODi \times Li) / \Sigma (ODi)$  計算平均的端粒長度 (TRF)；公式中  $ODi$  代表訊號強度， $Li$  則代表每一電泳條帶中每一分析點內的端粒長度；計算長度範圍 3-50 kb 內的加總值。

表 1. 複製牛及同齡同性別對照牛的基本資料

Table 1. The background information of cloned cattle and their age-match control animals

Animal No.	Sex	Birthday
SCNT Cattle*		
Ju-yi # 1	Female	Feb. 2, 2003
Ju-yi # 2	Female	Dec. 11, 2003
Ju-yi # 3	Female	Jan. 16, 2004
Ju-yi # 4	Female	Jan. 22, 2004
Age-match control*		
Control # 1	Female	Jan. 16, 2003
Control # 2	Female	Jan. 22, 2003
Control # 3	Female	Mar. 22, 2003
Control # 4	Female	Feb. 17, 2004
Control # 5	Female	Feb. 17, 2004
Control # 6	Female	Feb. 10, 2004

\*Blood samples were collected on April 18, 2006 and January 8, 2007.

SCNT, somatic cell nuclear transfer.

### III. 統計分析

複製牛及正常對照乳牛的端粒長度 TRF 測定後，應用 SAS 統計軟體進行 Student's t-test 分析，差異顯著水準為  $P < 0.05$ 。

## 結果與討論

本研究之主要目的在分析畜產試驗所應用 SCNT 生產的 4 頭複製荷蘭牛與同年齡同性別對照牛在 2-3 歲與 3-4 歲時的端粒長度，以了解體細胞複製牛與正常牛隻的端粒長度。試驗分別自複製牛與對照牛在年齡 2-3 歲及 3-4 歲時採集全血，分離白血球萃取基因組 DNA，再應用分析套組完成端粒長度測定。結果顯示，4 頭複製牛在 2-3 歲時的端粒長度分別為 17.03、17.92、17.92 及 17.19 kb，平均端粒長度為  $17.52 \pm 0.41$  kb (圖 1A)；而 6 頭同年齡同性別對照牛在之端粒長度分別為 17.79、17.96、17.86、17.03、17.37 及 17.18，平均端粒長度為  $17.53 \pm 0.39$  kb (圖 1B)，兩者間無顯著差異 (圖 2A)。複製牛在 3 至 4 歲時的端粒長度分別為 17.65、17.31、17.82 及 17.13 kb，平均端粒長度為  $17.48 \pm 0.31$  kb；而 6 頭同年齡同性別對照牛在之端粒長度分別為 18.76、15.04、19.47、17.59、17.31 及 18.62 kb，平均端粒長度為  $17.80 \pm 1.57$  kb (圖 1C)，兩者間亦無顯著差異 (圖 2A)。採集自 38 月齡高產母牛耳朵組織所培養的供核體細胞，其端粒長度為 17.07 kb (圖 1 及圖 2)，和複製牛及對照牛皆無顯著差異。本研究顯示，應用成體供核體細胞進行 SCNT 生產的複製乳牛，其端粒長度與對照牛相似，推測在核轉置後基因再程式化的過程順利，使端粒的長度得以回復正常，並未因為使用成體供核體細胞而導致端粒短化的現象。

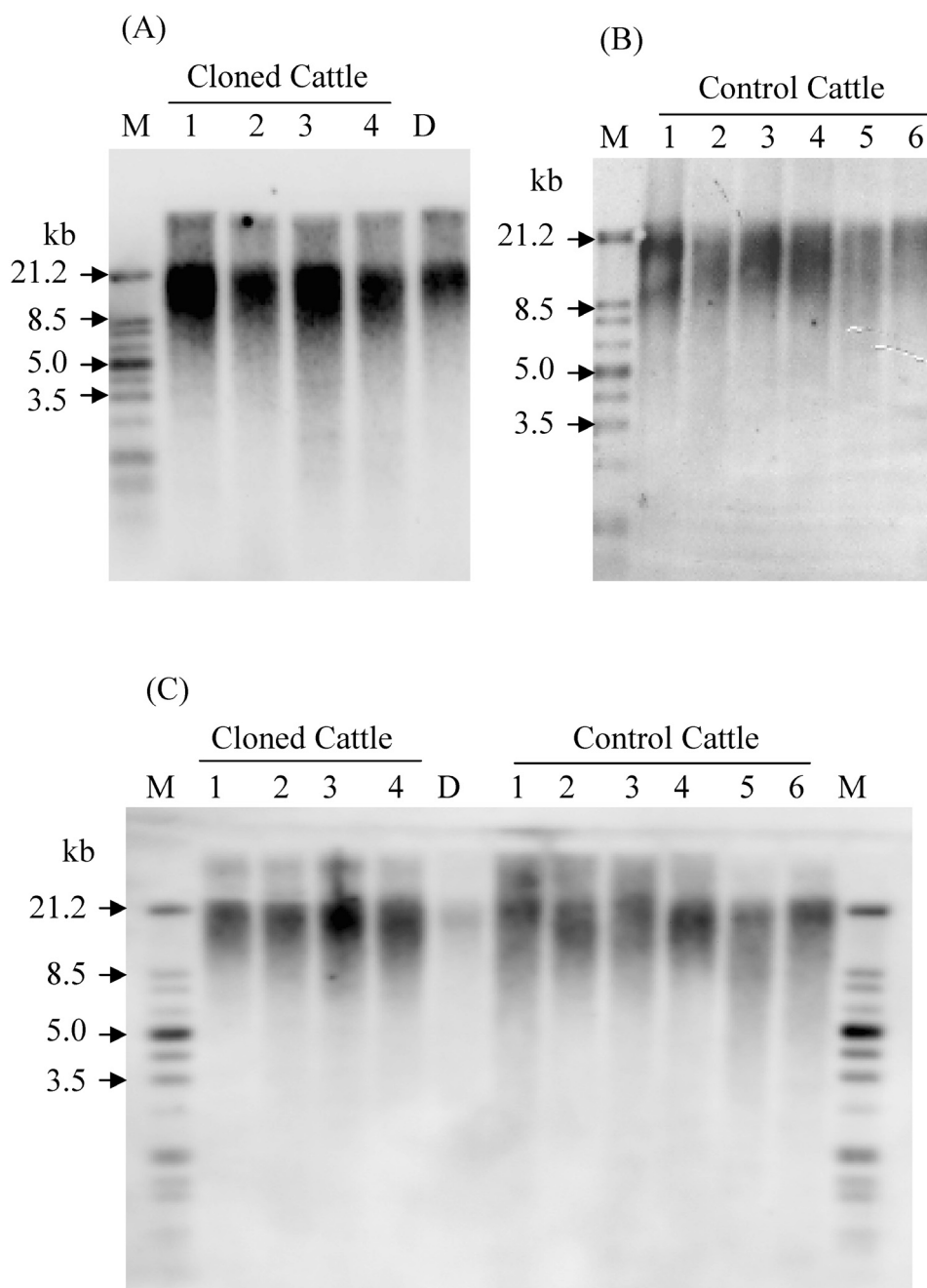


圖 1. 複製牛及同齡對照牛在2-3歲 (A與 B)及3-4歲 (C) 的端粒長度分析。D為供核成纖維細胞，M為分子量標記。

Fig. 1. Detection of telomere length in cloned cattle and their age-match counterparts at 2-3 (A and B) and 3-4 (C) year-old, respectively. D: donor fibroblasts, M: molecular weight markers.

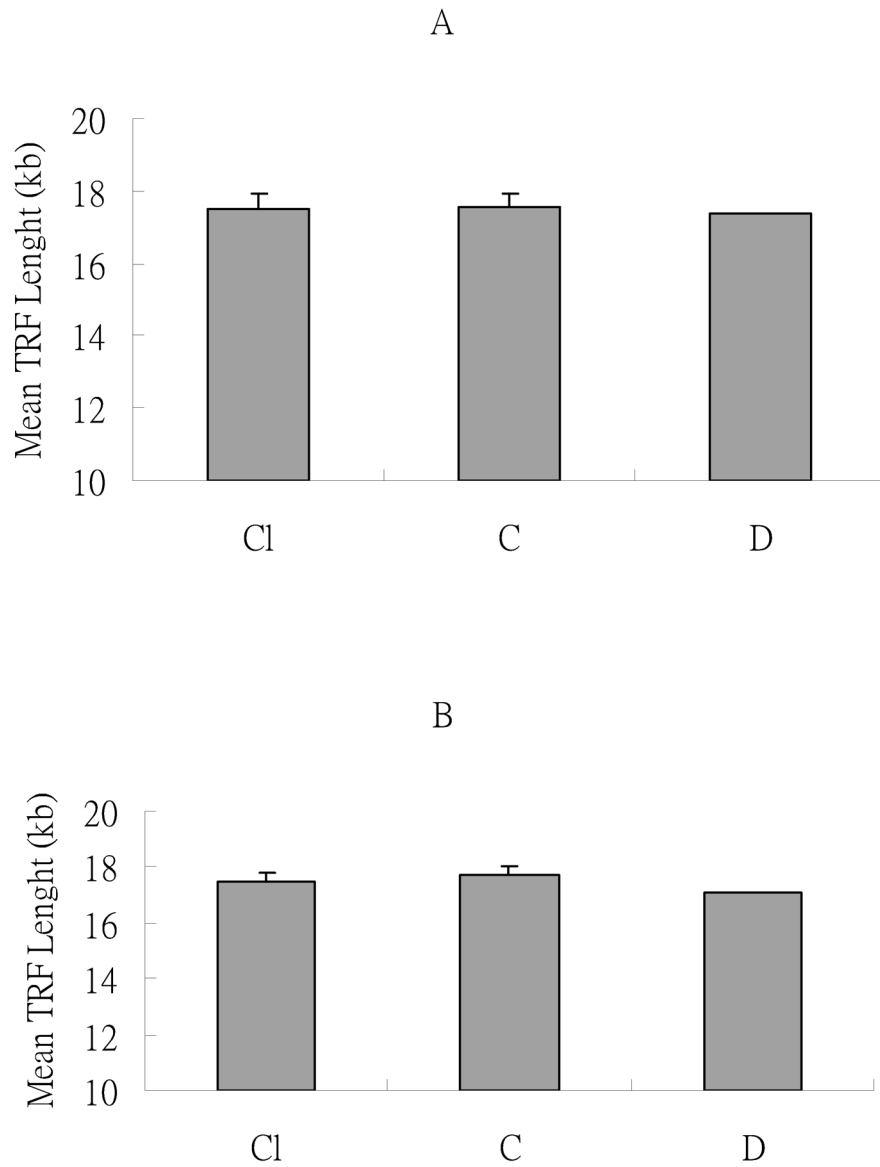


圖 2. 複製牛 (Cl) 與同齡正常對照牛 (C) 之平均端粒長度 (Mean  $\pm$  SD)。A與 B分別為複製牛2-3歲及3-4歲之平均端粒長度，D為供核成纖維細胞。

Fig. 2. Telomere length (Mean  $\pm$  SD) of cloned cattle (Cl) and their age-match counterparts (C). A and B showed the telomere length of cloned cattle at 2-3 and 3-4 year-old, respectively. Cl: cloned cattle, C: normal control cattle, D: donor fibroblasts.

自 1997 年 SCNT 複製羊成功生產之後，應用不同供核細胞進行各種複製動物的生產不斷有成功的例子出現（蕭等，2006）。關於 SCNT 牛隻與正常對照牛之端粒長度比較已有學者研究，獲得之結果並不一致（Tamada and Kikyo, 2004），分別有複製牛的端粒變短（Shiels *et al.*, 1999; Miyashita *et al.*, 2002; Clark *et al.*, 2003）、端粒變長（Lanza *et al.*, 2000; Miyashita *et al.*, 2002; Jeon *et al.*, 2005）或具有正常長度（Betts *et al.*, 2001; Jiang *et al.*, 2004）等結果。此種變異，可能與供核細胞的種類（Morin, 1989）、胚發育時端粒酶再程式化之效率、動物種別與個體之差異（Betts *et al.*, 2001; Jeon *et al.*, 2005; Lanza *et al.*, 2000; Shiels *et al.*, 1999）、核轉置之操作方法（Lanza *et al.*, 2000; Tian *et al.*, 2000）、分析的組織或細胞種類不同（Lanza *et al.*, 2000; Betts *et al.*, 2001）所致。取自老化的供核細胞產製的複製仔牛端粒長度可以回復正常長度（Betts *et al.*, 2001），或甚至較正常的對照仔牛為長（Lanza *et al.*, 2000）。複製公牛的皮膚端粒長度與對照動物相似，但睪丸之端粒則明顯較正常對照公牛為短（Betts *et al.*, 2005）。

應用成體或胎體成纖維細胞做為供核細胞生產的複製牛胚，在桑椹期與囊胚期的端粒長度雖然與正常胚相似；然供核源為胎體成纖維細胞者其端粒較應用成體細胞者為長。而正常體內胚或體外生產之桑椹胚之端粒長度相近，均比 SCNT 桑椹期牛胚為長。體外生產牛胚或 SCNT 的牛囊胚，端粒長度均較桑椹期為長（Schaetzlein *et al.*, 2004），顯示牛胚的端粒延長似乎在囊胚期進行，此時的端粒酶強烈地表現並調節端粒之長度（Xu and Yang, 2000）。而應用成體或胎體成纖維細胞所產製的複製桑椹胚或囊胚，均具有正常之端粒延長作用（Schaetzlein *et al.*, 2004）。而供核細胞核進行再程式化、生殖細胞中端粒結構的重組與端粒酶之活性，均可能為促進複製動物端粒回復的主要原因（Miyashita *et al.*, 2003）。

Kubota *et al.* (2004) 進行日本和牛種公牛的連續複製，生產的複製牛具有健康外表及正常的端粒長度。供核細胞經體外培養繼代 15 次，端粒長度為  $14.7 \pm 0.4$  kb 到  $12.8 \pm 0.4$  kb。而複製第一代與第二代牛隻之成纖維細胞端粒分別為  $15.4 \pm 0.5$  kb 到  $16.1 \pm 0.7$  kb，與自然配種所生的同齡對照仔牛相似，且均比原來供核公牛的端粒為長。供核細胞、第一代與第二代複製牛白血球端粒分別為  $13.8 \pm 0.8$  kb、 $15.3 \pm 0.8$  kb 與  $15.7 \pm 0.8$  kb。12 歲的日本和牛種公因遺傳性能優異，應用人工授精已生產數萬隻優良後代。應用 SCNT 複製的二頭日本和牛種公，採精進行人工授精後順利產下仔牛。2 頭複製公牛與正常對照公牛之精子端粒分別為 25.8 kb、20.9 kb 與  $22.42 \pm 0.31$  kb。而供核之老公牛的肌肉細胞及精子端粒分別為 20.1 kb 與 22.2 kb。具有較長端粒的複製公牛，採精進行人工授精，生下 9 頭雌性仔牛之平均端粒長度為  $20.06 \pm 0.45$  kb，同期對照仔牛之平均端粒長度則為  $19.97 \pm 0.41$  kb（Miyashita *et al.*, 2003）。

Tian *et al.* (2000) 應用 13 歲乳母牛的成纖維細胞與卵丘細胞做為供核源，產製 10 頭複製仔牛，而 6 隻在分娩後早夭仔牛、4 頭存活仔牛及正常對照仔牛之平均端粒長度分別為  $15.87 \pm 0.40$  kb、 $15.38 \pm 0.62$  kb 及  $14.73 \pm 0.49$  kb，彼此間並無顯著差異，但均比供核母牛的  $12.43 \pm 0.49$  kb 為長。顯示取自 13 歲乳牛的供核細胞雖然端粒較短，但經過複製之後，無論分娩後子代能否存活，均能使供核體細胞的端粒回復，而複製仔牛出生後的高死亡率似與端粒變短無關。應用胎體供核細胞產製的複製牛，亦有端粒較同年齡對照牛隻為長的結果（Lanza *et al.*, 2000）。此種分析結果之差異，除了與應用的供核細胞或細胞培養條件之不同有關，與供核細胞短暫培養之後即進行 SCNT（Tian *et al.*, 2000），或是經長期培養至近乎老化期才進行 SCNT（Lanza *et al.*, 2000）亦有關係。老化的供核細胞，或許在基因再程式化時之過度補償，也可能導致複製動物的端粒較胎體供核細胞為長的例子（Tian *et al.*, 2000）。

Lanza *et al.* (2000) 分析複製仔牛的組織端粒，發現與同齡對照牛隻相似。應用老化的供核細胞生產的複製牛與同年齡仔牛比較，有端粒明顯加長（Betts *et al.*, 2001）或長度正常（Lanza *et al.*, 2000）的結果。5-10 月齡複製牛白血球之端粒較同齡對照牛或初生牛隻為長（Betts *et al.*,



2001)。Miyashita *et al.* (2002) 應用 4 種不同供核細胞生產複製牛，結果以上皮細胞產製的複製牛，其端粒明顯比應用肌肉細胞或成纖維細胞者生產之複製牛為短。Jeon *et al.* (2005) 應用取自 10 歲母牛端粒長為  $18.5 \pm 0.5$  kb 的耳朵成纖維細胞進行 SCNT。所產製之複製仔牛 7 日齡之端粒長  $20.5 \pm 0.5$  kb，成長到 1.5 歲時的平均端粒為  $18.0 \pm 0.5$  kb，均與供核之 10 歲母牛的耳朵成纖維細胞無差異。

由端粒長度與細胞老化之間存在著密切關係，藉由比較複製動物及同齡正常對照動物的端粒長度，將可了解動物間的端粒變異，了解供核體細胞在 SCNT 後能否進行端粒回復的作用 (Betts *et al.*, 2001; Morin, 1989)。本研究結果，發現複製牛與同齡之正常對照牛之端粒長度無差異，與上述部份文獻之研究相似。本研究證明應用 SCNT 技術生產的複製牛，其調控端粒長度的相關基因可以順利的進行再程式化，使端粒維持一定的長度水準，並沒有因為使用成體之耳朵成纖維細胞做為供核細胞而導致端粒短化的老化現象。

## 致謝

感謝本所產業組同仁協助牛隻試驗樣品之採集，特致謝忱。

## 參考文獻

- 蕭振文、蔡麗卿、劉瑞珍、劉振發、陳立人。2006。體細胞核轉置家畜的端粒。科學農業 54:14-22。
- Betts, D., V. Bordinon, J. Hill, Q. Winger, M. Westhusin, L. Smith and W. King. 2001. Reprogramming of telomerase activity and rebuilding of telomere length in cloned cattle. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98:1077-1082.
- Betts, D., S. D. Perrault, J. Petrik, L. Lin, L. A. Favetta, C. L. Keefer and W. A. King. 2005. Telomere length analysis in goat clones and their offspring. *Mol. Reprod. Dev.* 72:461-470.
- Blasco, M. A. 2002. Telomerase beyond telomeres. *Nat. Rev. Cancer* 2:627-633.
- Briggs, R. and T. J. King. 1952. Transplantation of living nuclei from blastula cells into Enucleated Frogs' Eggs. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 38:455-463.
- Campbell, K. H. 2002. A background to nuclear transfer and its applications in agriculture and human therapeutic medicine. *J. Anat.* 200:267-275.
- Clark, A. J., P. Ferrier, S. Aslam, S. Burl, C. Denning, D. Wylie, A. Ross, P. de Sousa, I. Wilmut and W. Cui. 2003. Proliferative lifespan is conserved after nuclear transfer. *Nat. Cell Biol.* 5:535-538.
- Faragher, R. G. and D. Kipling. 1998. How might replicative senescence contribute to human aging? *Bioessays* 20:985-991.
- Harley, C. B., A. B. Futcher and C. W. Greider. 1990. Telomeres shorten during aging of human fibroblast. *Nature* 345:458-460.
- Jeon, H. Y., S. H. Hyun, G. S. Lee, K. S. Kim, S. Kim, Y. W. Jeong, S. K. Kang, B. C. Lee, J. Y. Han, C. Ahn and W. S. Hwang. 2005. The analysis of telomere length and telomerase activity in cloned pigs and cows. *Mol. Reprod. Dev.* 71:315-320.
- Jiang, L., D. B. Carter, J. Xu, X. Yang, R. S. Prather and X. C. Tian. 2004. Telomere lengths in cloned transgenic pigs. *Biol. Reprod.* 70:1589-1593.
- Kim, M. K., G. Jang, H. J. Oh, F. Yuda, J. J. Kim, W. S. Hwang, M. S. Hossein, J. J. Kim, N. S. Shin, S. K.

- Kang and B. C. Lee. 2007. Endangered wolves cloned from adult somatic cells. *Cloning Stem Cells*. 9:130-137.
- Kozik, A., E. M. Bradbury and A. Zalensky. 1998. Increased telomere size in sperm cells of mammals with long terminal (TTAGGG)<sub>n</sub> arrays. *Mol. Reprod. Dev.* 51:98-104.
- Kubota, C., X. C. Tian and X. Yang. 2004. Serial bull cloning by somatic cell nuclear transfer. *Nat. Biotechnol.* 22:693-694.
- Lanza, R. P., J. B. Cibelli, C. Blackwell, V. J. Cristofalo, M. K. Francis, G. M. Baerlocher, J. Mak, M. Schertzer, E. A. Chavez, N. Sawyer, P. M. Lansdorp and M. D. West. 2000. Extension of cell life-span and telomere length in animals cloned from senescent somatic cells. *Science* 288:665-669.
- McEachern, M. J., A. Kauskopf and E. H. Blackburn. 2000. Telomeres and their control. *Annu. Rev. Genet.* 34:331-358.
- Miyashita, N., K. Shiga, T. Fujita, H. Umeki, W. Sato, T. Suzuki and T. Nagai. 2003. Normal telomere lengths of spermatozoa in somatic cell-cloned bulls. *Theriogenology* 59:1557-1565.
- Miyashita, N., K. Shiga, M. Yonai, K. Kaneyama, S. Kobayashi, T. Kojima, Y. Goto, M. Kishi, H. Aso, T. Suzuki, M. Sakaguchi and T. Nagai. 2002. Remarkable differences in telomere lengths among cloned cattle derived from different cell types. *Biol. Reprod.* 66:1649-1655.
- Morin, G. B. 1989. The human telomere terminal transferase enzyme is a ribonucleoprotein that synthesizes TTAGGG repeats. *Cell* 59:521-529.
- Prather, R. S., T. Tao and Z. Machaty. 1999. Development of the techniques for nuclear transfer in pigs. *Theriogenology* 51:487-498.
- Schaetzlein, S., A. Lucas-Hahn, E. Lemme, W. A. Kues, M. Dorsch, M. P. Manns, H. Niemann and K. L. Rudolph. 2004. Telomere length is reset during early mammalian embryogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101:8034-8038.
- Shiels, P. G., D. A. J. Kind, K. H. Campbell, D. Waddington, I. Wilmut, A. Colman and A. E. Schnieke. 1999. Analysis of telomere lengths in cloned sheep. *Nature* 399:316-317.
- Tamada, H. and N. Kikyo. 2004. Nuclear reprogramming in mammalian somatic cell nuclear cloning. *Cytogenet. Genome Res.* 105:285-291.
- Tian, X. C., J. Xu and X. Yang. 2000. Normal telomere lengths found in cloned cattle. *Nat. Genet.* 26:272-273.
- Wilmut, I., A. E. Schnieke, J. McWhir, A. J. Kind and K. H. Campbell. 1997. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature* 385:810-813.
- Xu, J. and X. Yang. 2000. Telomerase activity in bovine embryos during early development. *Biol. Reprod.* 63:1124-1128.



## Telomere length analysis of cloned Holstein cattle produced by somatic cell nuclear transfer <sup>(1)</sup>

Jen-Wen Shiau <sup>(2)</sup>, Lee-Ching Tsai <sup>(2)</sup>, Chun-Chin Wang <sup>(2)</sup>,  
Yu-Hsin Chen <sup>(2)</sup>, Feng-Hsiang Chu <sup>(2)</sup>, Jenn-Fa Liou <sup>(2)</sup>,  
San-Nan Lee <sup>(3)</sup> and Lih-Ren Chen <sup>(2)(4)</sup>

Received : May. 3, 2007 ; Accepted : Jun. 13, 2007

### Abstract

The purpose of this study was to determine the telomere length of somatic cell nuclear transfer (SCNT) cloned calves and their age-match normal counterparts. Genomic DNA samples were purified from whole blood of cloned animals and their control counterparts for terminal restriction fragment (TRF) analyses. The results showed that the telomere lengths of four cloned calves at 2-3 years of age were 17.03, 17.92, 17.92 and 17.19 kb (mean TRF length =  $17.52 \pm 0.41$  kb), respectively. The telomere lengths of six age-match individual at the same age were 17.79, 17.96, 17.86, 17.03, 17.37 and 7.18 kb (mean TRF length =  $17.53 \pm 0.39$  kb), respectively. The telomere lengths of four cloned calves at 3-4 year of age were 17.65, 17.31, 17.82 and 17.13 kb (mean TRF length =  $17.48 \pm 0.31$  kb). The telomere lengths of six age-match individual at the same age were 18.76, 15.04, 19.47, 17.59, 17.31 and 18.62 kb (mean TRF length =  $17.80 \pm 1.57$  kb), respectively. There was no significant difference in TRF between cloned and normal age-match animals. Our results suggest that the genomes of cloned embryos were successfully reprogrammed after cloning and therefore the telomere length could be restored to the level as their normal counterparts animals.

Key words: Somatic cell nuclear transfer (SCNT), Cloning, Telomere length, Cattle.

---

(1) Contribution No.1368 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

(2) Physiology Division, COA-LRI, Hsinhua, Tainan 712, Taiwan, R.O.C.

(3) Deputy Director Office, COA-LRI, Hsinhua, Tainan 712, Taiwan, R.O.C.

(4) Corresponding author, E-mail: lrchen@mail.tlri.gov.tw

