

모색발현 유전자의 DNA Marker를 이용한 쇠고기 품종 판별

신성철*, 채지선, 김혜정, 최은주, 김희선, 김현석, 정의룡, 정구용¹
 상지대학교 생명자원과학대학 생명공학과
¹상지대학교 생명자원과학대학 동물자원학과

서 론

소의 외형적 특징인 모색은 품종을 식별할 수 있는 수단으로 이용될 수 있는 대표적인 유전형질이다. 그러나, 모색의 표현형으로 구별되는 소 품종이라 할지라도 도축하여 쇠고기 형태로 전환되면 정확한 품종식별은 거의 불가능하다고 할 수 있다. 특히, 우리나라 한우육의 경우 쇠고기 유통과정에서 수입 쇠고기와 국내산 젓소고기가 한우육으로 둔갑되어 판매되는 부조리가 성행하고 생우 수입 및 국내산 육우라는 이름으로 시판되고 있는 젓소고기 유통체계에서 쇠고기 부정 유통을 방지하고 순수 한우육을 보호 육성할 수 있는 제도적 장치가 시급히 마련되어야 하며 이를 위해 한우고기를 다른 품종의 쇠고기와 명확히 구별할 수 있는 과학적이고 객관적인 한우육 판별기술이 개발이 선행되어야 한다.

그동안 분자생물학 및 분자유전학의 발달에 따라 국내에서 한우를 타 축우품종과 식별하기 위한 많은 연구가 DNA level에서 진행되었으나 판별신뢰도가 낮아 실용화되지 못하였다. 최근 포유동물 모색관련 유전자의 하나인 melanocortin receptor 1(MC1R) 유전자의 DNA marker를 이용한 유전자 감식 기술이 개발되어 한우와 젓소의 품종판별에 실제 활용되고 있다^(1,2). 그러나, 아직까지 한우고기를 젓소고기 이외의 수입육과 완전하게 판별할 수 있는 DNA검사 기술이 개발되지 않아 이에 대한 지속적인 연구가 요구되고 있다.

본 연구는 소의 모색발현에 직접 관여하는 MC1R, MGF(mast cell growth factor), TYRP1 (tyrosinase-related protein 1) 및 *c-kit* 유전자들 가운데 MC1R, MGF 및 TYRP1 3종류의 모색유전자에 대하여 PCR-RFLP 기법을 이용하여 DNA marker를 분석하고 한우고기 및 쇠고기 품종 판별에 이용 가능성을 알아보기 위해 수행하였다.

재료 및 방법

본 연구에 사용한 공시재료로서 정육시료는 강원도 횡성 도축장에서 도축된 한우 80개체와 Holstein종 젓소 50개체로부터 각각 채취하였고 또한, 축산연구소 한우시험장에서 혈통보존되고 있는 한우 150두와 수입육우 품종으로서 Angus, Hereford 및 Charolais 3품종 각 30두 그리고 일반 목장에서 사육 관리되고 있는 젓소 60두를 임의 선별하고 이들 각 공시축으로부터 혈액시료를 채취하였

다. 근육조직(약 10g)과 혈액(5ml)으로부터 genomic DNA의 추출 및 정제는 정 등⁽¹⁾의 방법에 따라 실시하였다. 그리고 MC1R, MGF 및 TYRP1 모색 유전자의 특정 염기서열 부위를 증폭하기 위한 primer는 Table 1과 같다.

PCR종료 후 MC1R유전자의 739bp 증폭산물은 *Msp I* 그리고 MGF 유전자의 875 bp 및 TYRP1 유전자의 141 bp 증폭산물은 *HaeIII* 제한효소로 각각 절단하고 2% agarose gel 또는 13% polyacrylamide gel로 전기영동하여 분리한 후 ethidium bromide 또는 silver 염색법으로 DNA band를 검출하고 각 시료별 유전자형을 판정하였다.

Table 1. Primer sequences for PCR amplification of MC1R, MGF and TYRP1 genes

Gene	Locus	Amplified Region	Primers (5' to 3')
MC1R	Extension(E)	Exon 1	F- AGTGCCTGGAGGTGTCATCC R- GAAGTCTCTGAAGATGCAGCC
MGF	Roan(R)	Intron 8	F- TGTAAAACGACGGCCAGTA R- TCTCCAATTACCTGTGAAAT AGCCACAATTACTTCTTG
TYRP1	Brown-locus Protein(b)	Exon 7	F- ATCCACTGGAAAATGCCCC TATTGGC R- ACTCACTTGGCCATTGAATTC

결과 및 고찰

MC1R, MGF 및 TYRP1 유전자는 포유동물에서 품종 및 개체의 모색발현을 지배하는 유전자로서 모색 표현형 변이에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다^(3,4). MC1R은 Extension(E) 좌위에 의해 멜라닌의 확산 및 합성을 자극하는 호르몬 수용체로서 phaeomelanin(적색)과 eumelanin(갈색 또는 흑색)의 색소합성 조절에 중요한 역할을 담당하며, MGF는 단색(solid color)과 백색이 혼합된 조모색(roan)과 단색을 갖는 유색개체 및 색소가 결여되어 백색을 나타내는 모색을 결정하고, 갈색(Brown) 유전자 좌위에 의해 지정되는 TYRP1은 멜라닌 합성경로 과정에서 eumelanin과 관련된 모색발현에 영향을 미치며 소의 모색을 dilution시키는 후보유전자로 알려져 있다. 본 연구는 축우의 모색발현을 지배하는 MC1R, MGF 및 TYRP1 모색유전자를 이용한 한우육 판별기술을 개발하고자 PCR-RFLP 기법으로 이들 모색유전자의 유전자형을 분석하였다.

MC1R 유전자의 RFLP는 GenBank(S71017)에 등록된 bovine receptor BDF3 cDNA 영역의 228번에서 966번째 염기배열 부위에 위치한 Extension 좌위를 primer로 증폭한 후 PCR증폭산물을 *Msp I* 제한효소로 절단하고 DNA band를 전기영동법으로 검출하였다(Fig. 1).

한편, MGF 유전자의 RFLP 분석을 위해 MGF cDNA의 intron 8번의 염기서열 부위를 포함하는 875bp 증폭산물을 제한효소로 절단한 각 품종별 RFLP 양상은 Fig. 2와 같다. MGF 유전자의 175번째 염기서열(AF274537)에서 G 또는 A 염기 치환 유무에 따른 단일염기치환으로 R 대립유전자는 G

Table 2. Genotype frequencies of MC1R gene among cattle breeds

Breed	No. of samples	MC1R genotype					
		E ^D /E ^D	E ^D /E ⁺	E ^D /e	E ⁺ /E ⁺	E ⁺ /e	e/e
Hanwoo	230					21(0.09)	209(0.91)
Holstein	110	101(0.92)					
Angus	30	20(0.67)		9(0.08)			
Hereford	30		7(0.23)	3(0.10)		6(0.20)	24(0.80)
Charolais	30				11(0.37)		19(0.63)
Total	430	121(0.28)	7(0.02)	12(0.03)	11(0.03)	26(0.06)	252(0.58)

* Numbers in parentheses represent percentage.

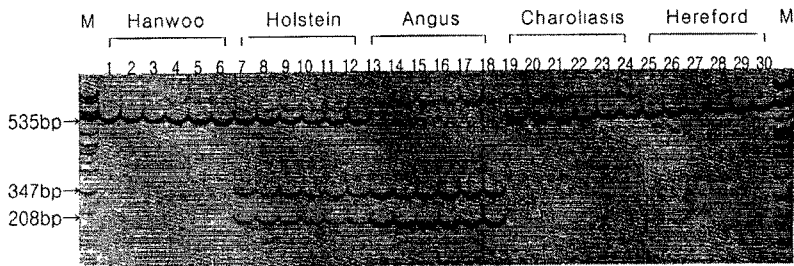


Fig. 1. PCR-RFLP type of MC1R gene in 12% PAGE gel following digestion with Msp I restriction enzyme of 535bp PCR product.

→A로 치환되어 제한효소 인지부위의 소실로 835와 40 bp 두개의 band가 검출되었고, r대립유전자는 A→G로 치환되어 제한효소의 인지부위의 수에 따라 620, 215 및 40 bp 크기의 3개의 절편이 생성되었다. 그리고 R/r hetero형은 R과 r 대립유전자의 양쪽 DNA band를 모두 공유하고 있는 835, 620 및 215 bp의 단편이 검출되었다.

이와 같은 RFLP type을 기초로 한우와 Hostein 중 젃소 그리고 Angus, Hereford 및 Charolais 수입 육우 3 품종에 대한 MGF 좌위의 유전자형 출현빈도를 분석한 결과 Table 3과 같이 한우는 r/r과 R/r 2종류의 유전자형이 확인되었으며 이 가운데 r/r형이 전체의 75%를 차지하는 매우 높은 출현율을 보인 반면 R/r형은 25%로 출현빈도가 낮은 경향을 나타냈다. 한편, Hereford 종에서는 한우에서는 검출되지 않은 R/R 유전자형의 출현빈도가 80%로 매우 높은 출현율을 보였으며 R/r형은 20%로 낮은 출현율을 나타냈다. 또한, Charolais 종은 r/r 유전자형이 100%의 출현빈도를 나타냈으며 흑반점의 모색을 지닌 Hostein 종과 전신 흑모 단일색인 Angus 종은 R/r 1종류의 유전자형의 출현빈도가 100%임을 확인하였다. 따라서, Hostein 종 젃소와 수입육우 3품종의 모색발현을 지배하는 MGF 유전자형 출현양상은 한우의 MGF 유전자형 출현양상과 확실한 차이가 인정되었다.

TYRPI 유전자의 RFLP 분석은 GeneBank(AF001295)에 등록된 7번째 exon부위의 141 bp 단편을 증폭하여 유전자형을 검출한 결과 한우와 젃소에서 모두 동일한 RFLP 유전자형이 검출되어 TYRPI 모색 유전자를 이용한 쇠고기 품종 구별은 불가능한 것으로 나타났다.

Table 3. Genotype frequencies of MGF gene among cattle breeds

Breed	No. of samples	MGF genotype			Allele	
		RR	Rr	rr	R	r
Hanwoo	100		25(0.25)*	75(0.75)	0.125	0.875
Holstein	100		100(1.00)		0.500	0.500
Angus	20		20(1.00)		0.500	0.500
Hereford	20	16(0.80)	4(0.20)		0.900	0.100
Charolais	20			20(1.00)		1.000
Total	260	16(0.06)	149(0.51)	95(0.37)	0.405	0.595

* Numbers in parentheses represent percentage.

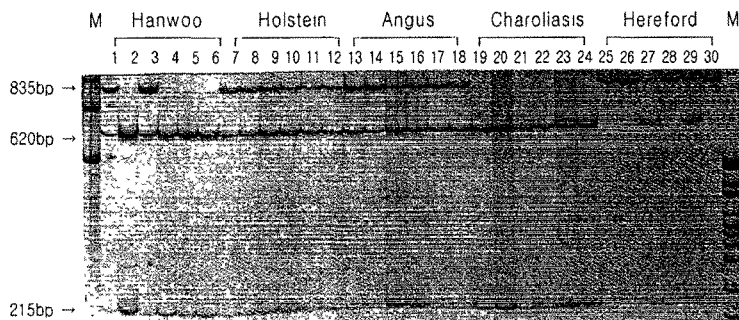


Fig. 2. PCR-RFLP type of MGF gene in 12% PAGE gel following digestion with *Hea* III restriction enzyme of 875bp PCR product.

요 약

본 연구는 축우의 모색발현을 조절하는 MC1R, MGF 및 TYRP1 3종류의 모색 유전자를 이용하여 한우육 판별기술을 개발하고자 PCR-RFLP 기법으로 이들 모색유전자 좌위의 대립유전자를 검출하고 각 품종 간 RFLP 유전자형 출현빈도를 비교 분석하였다. MC1R 유전자의 RFLP 유전자형 출현 빈도에서 한우는 e/e와 E+/e형이 출현되었고 이외의 다른 유전자형의 출현은 전혀 인정되지 않았다. 그러나, Holstein종 젖소는 E^D/E^D와 E^D/e 2종류의 유전자형 그리고 Angus 종에서는 E^D/E^D, E^D/E⁺ 및 E^D/e 3종류의 유전자형이 각각 출현하여 한우와 이들 두 품종간의 MC1R 유전자형 출현빈도에 뚜렷한 차이가 인정되었다. MGF 유전자의 RFLP 유전자형 출현빈도에서 한우는 R/r과 r/r형이 각각 25%와 75%로 r형의 출현율이 비교적 높았으며 Holstein종과 Angus 종은 R/r형이 100% 출현했으며, Charolais 종은 r/r형이 100% 출현하였고 이외의 다른 유전자형은 인정되지 않았으며 Hereford종은 RR형이 80% 그리고 R/r형이 20%의 출현율을 보여 RR형의 출현율이 매우 높아 한우와 Holstein 및 육우 품종간의 MGF 유전자형 출현빈도에 명백한 차이가 인정되었다. 따라서, 소 모색관련 MC1R과 MGF 유전자의 품종 특이적 PCR-RFLP 유전자형은 한우육과 국내산 Hostein 젖소육 및 도입육우 품종을 식별하는데 매우 유용한 DNA marker로 이용될 수 있음이 확인되었다.

참고문헌

1. 정의룡 등(2000). *동물자원지*, **42**, 379-390.
2. 김태현 등(2000). *동물자원지*, **42**, 735-744.
3. Berryere, T. G. et al. (2003). *Anim. Genet.*, **34**, 169-175.
4. Klungland, H. et al. (1995). *Mamm. Genome*, **6**, 636