

한우 불포화지방산 생합성 효소(SCD) 유전자가 도체 및 육질형질에 미치는 영향

신성철* · 김희찬 · 김기락 · 정화철 · 최은주 · 조하나 · 전상희 · 권수연 · 김보현 · 정구용¹ · 정의룡

상지대학교 응용동물과학부 생명공학과, ¹상지대학교 응용동물과학부 동물자원학과

서 론

쇠고기의 육질은 근내지방도, 육색 및 지방색, 조직감 등에 의해 결정된다. 고기의 맛은 연도, 다즙성 및 풍미에 의해 좌우되는데 근내지방이 많을수록 맛이 좋고 부드러운 고급육이라고 할 수 있다. 특히, 쇠고기의 근내지방을 구성하는 올레인산(oleic acid, 18:1)은 풍미를 좋게 하는 물질로 작용한다. 쇠고기의 독특한 풍미는 불포화 지방산 함량이 미친다고 알려져 있는데 한우가 수입 쇠고기 품종들에 비해 불포화 지방산 특히, 올레인산 함량이 많은 것으로 보고된 바 있다. 그동안 발표된 쇠고기 품질에 관련된 연구결과를 살펴보면 쇠고기내의 올레인산 함량은 소 품종에 따라 차이가 많고, 쇠고기 내 올레인산 증가는 지방 품질 및 쇠고기의 기호성(맛)을 결정하는 주요인이 된다¹⁾. 결국 쇠고기의 풍미와 다즙성은 올레인산의 함량을 증가시킴으로서 향상시킬 수 있을 것이다.

Stearoyl-CoA desaturase(SCD)는 포화지방산을 불포화지방산으로 전환하는데 관여하는 효소로서 stearic acid 및 palmitic acid를 w-9 계열의 단일불포화지방산인 oleic acid로 전환하는 $\Delta 9$ -desaturase이다²⁾. 소의 지방은 6종류의 주요 지방산으로 구성되어 있고 이 가운데 포화지방산의 하나가 stearic acid이다. Stearic acid는 축적된 체지방을 경화시키고 융점을 증가시킨다. 반대로 올레인산은 지방을 연화시키고 융점을 낮춘다. 또한, SCD 효소 활성이 억제될 경우 지방 조직내 stearic acid의 포화지방산 축적을 가져와 실질적으로 지방 경화 증가를 초래한다^{3)~5)}. 이처럼 SCD는 체지방의 융점을 결정하는데 중요한 역할을 담당하여 결과적으로 육질에 영향을 미친다. 따라서 이 같은 생리적 특성을 지닌 SCD 유전자를 이용할 경우 부드러운 연성 지방의 축적과 올레인 지방산이 풍부한 맛있고 영양가 높은 고품질 고급육 한우고기 생산이 가능할 것이다.

따라서, 본 연구는 포유동물의 불포화지방산 합성과정을 조절하는 주요 효소이자 지방대사(lipid metabolism) 생리적 기능을 갖는 SCD 유전자의 특정 SNP marker를 이용하여 체지방 축적(근내지방도)과 등지방 두께가 높은 고품질 고급육 한우를 조기에 식별하여 선발하는 기술을 개발하고자 수행하였다.

재료 및 방법

본 연구에서 능력검정을 통해 혈통기록과 검정성적을 보유하고 있는 한우 309 두를 대상으로

Table 1. Primer sequences of SCD gene for PCR-SSCP analysis

Primer name	Primer sequence (5'-3')	Product size(bp)	GenBank accession no.
SCD-F 4416	AGCAGTATCCACCATGAAGT	211	DQ 069783
SCD-R 4626	ATAAAAAGGGAAAAATCCCA		

각 시험측으로부터 게놈 DNA의 분리 추출은 Miller 등(1988)의 방법을 일부 변경하여 분리 추출하였으며 DNA 농도 측정 후 TE buffer(10mM Tris-HCl, pH 7.4; 1mM EDTA)에 용해하여 -20℃ 냉동고에 보존하고 공시재료로 사용하였다.

한우 SCD 유전자의 인트론(intron) 7번 영역의 SNP 검출을 위해 211 bp 크기의 DNA 단편을 증폭하기 위한 primer를 제작하고(Table 1) 혈연관계가 없는 60두의 한우 Pooled DNA를 이용하여 Direct sequencing 방법으로 PCR 증폭산물 DNA의 전체 염기서열을 분석하였다. 한우 SCD 유전자의 PCR 증폭을 위한 반응액은 template DNA 50ng, primer 각 10 pmol, dNTP 각 200 μ M, 10 X PCR buffer 2 μ l, 1.5mM MgCl₂ 그리고 Taq DNA polymerase 1.0 unit를 첨가하여 PCR 반응액을 총 20 μ l로 조정하였다. PCR cycle은 최초 94℃에서 5분간 예비가열한 후 94℃에서 30초, 51℃에서 30초 그리고 72℃에서 45초 cycle을 총 35회 반복한 다음 마지막으로 72℃에서 5분간 가열하고 DNA 증폭과정을 종료하였다. PCR 종료 후 약 3 μ l의 PCR 증폭산물을 2.5%의 agarose gel에 전기영동하여 DNA의 증폭 여부 및 크기를 확인한 다음, PCR Product 시료와 primer 를 BigDye Ver. 3.1 을 이용하여 direct sequencing 반응을 수행하였다. 일차 반응산물을 BigDye clean up solution을 이용하여 BigDye 및 primer를 제거한 다음 70% ethanol로 세척하여 sequencing 반응물을 정제하였다. 그 다음 ABI 3100 DNA analyzer을 이용하여 sequencing을 수행하였다.

한우 SCD 유전자의 SSCP(single strand conformation polymorphism)분석은 PCR증폭 산물 2 μ l에 8 μ l의 formamide dye (98% formamide, 20mM EDTA, 0.05% bromophenol blue, 0.05% xylene cyanol)를 첨가하고 95℃에서 5분간 변성시킨 후 즉시 ice에 5분간 보관하여 reannealing 을 방지한 다음 12% (49:1) non-denaturation polyacrylamide gel 을 이용하여 250 volt에서 약 6시간 동안 전기영동을 실시한 후 silver staining으로 SSCP의 DNA band 를 검출하고 각 banding pattern 에 따른 SSCP 유전자형을 결정하였다.결정된 SCD 유전자의 SSCP 유전자형과 도체특성 및 육질에 대한 연관성을 분석하기 위하여 SAS® 8.1 Package/PC (SAS, 1990)를 이용하여 일반 선형모형(GLM)으로 통계 분석하였다.

결과 및 고찰

검정 개체별 SCD 유전자의 Intron 7번째 영역 내 특정 SNP 유전자형을 결정하기 위하여 검출된 SNP 염기치환 부위를 포함하는 211bp 단편을 증폭하고 SSCP marker를 분석한 결과, Figure 1의 전기영동 사진에서 보는 바와 같이 단일 band를 갖는 homo형과 두개의 band를 갖는 hetero형의 3종류 SSCP 유전자형이 검출되었다. 그리고 SSCP 유전자형의 염기변이를 확

인하기 위하여 각 유전자형의 염기서열을 분석한 결과, Figure 2에서 보는 바와 같이 증폭부위의 122번째 염기에서 A/G의 염기치환에 의한 A/A, G/G 및 A/G SNP 유전자형에 각각 해당하는 SSCP marker type 을 결정하였다. 한우 집단을 대상으로 분석한 SCD 유전자의 SNP 대립유전자 빈도와 유전자형 출현율을 분석한 결과 A 와 G 대립유전자 출현빈도는 각각 0.46과 0.54로 G 대립유전자 빈도가 다소 높았고, SNP 유전자형은 AA형 21.1%, AG형 49.7% 그리고 GG형은 29.2%였다. 한우 SCD 유전자의 SNP Marker 유전자형이 도체형질 및 육질형질의 육종가 추정치에 미치는 효과를 규명하기 위하여 SAS® 8.1 Package/PC 를 이용하여 PROC GLM 으로 통계 처리하였으며, 유전자형의 효과가 유의성이 인정된 형질들에 대해 DMRT(Duncan's Multiple Range Test) 방법으로 각 유전자형의 least square means 간의 차이에 대한 유의성 검정을 실시하였다. 본 실험을 통해 발견된 SCD 유전자의 특정한 SNP 유전자형과 한우의 각종 도체 및 육질형질간의 관련성을 통계 분석한 결과 근내지방도 및 등지방 두께에 대한 고도의 유의적 연관성이 입증되었다[Table 2]. 즉, A/G 유전자형을 가진 개체들의 근내지방도가 각각 A/A 유전자형을 가진 개체들에 비해 약 0.675(28.2%), 그리고 G/G 유전자형을 가진 개체들에 비해 0.624(26.1%) 높은 것으로 나타났다. 또한 등지방두께는 A/G 유전자형을 가진 개체들이 A/A 유전자형을 가진 개체들에 비해 약 0.334(76.3%), 그리고 G/G 유전자형을 가진 개체들에 비해 약 0.279(85.0%) 정도 높은 것으로 나타났다. 이상의 결과를 종합해 볼 때 SCD 유전자의 특정 SNP 유전자형은 한우의 근내지방도 및 등지방두께에 대한 고도의 유의적 연관성이 입증되어 한우의 육질개량을 위한 DNA 표지인자로 이용 가능성이 확인되었다.

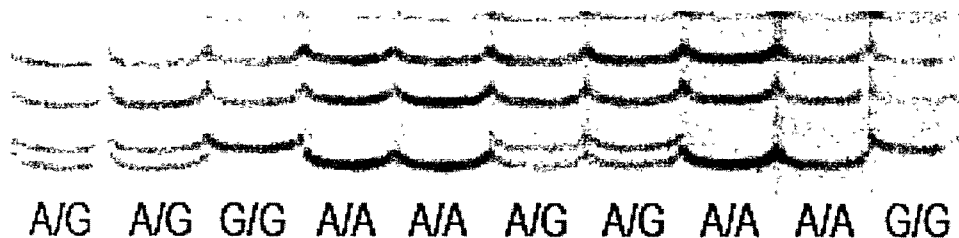


Fig. 1. Detection of three-allele SSCP markers in intron VII of SCD gene with point mutation(A↔G) in Hanwoo by PCR-SSCP analysis.

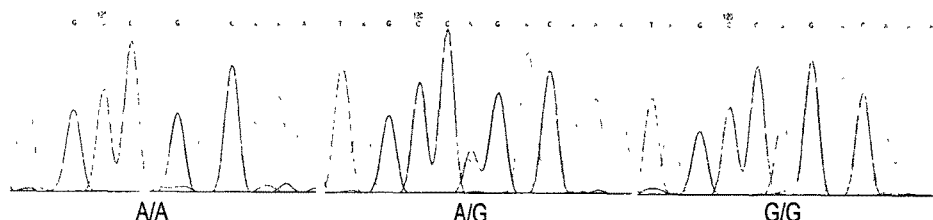


Fig. 2. Chromatograms from SNP sequence at position intron VII of SCD gene in Hanwoo.

Table 2. Least squares means and standard errors for carcass traits and meat quality of different SCD genotype in Hanwoo population

Traits	SNP genotype of SCD gene			P-value
	AA	AG	GG	
LW/kg	530.831± 9.100	551.153± 5.899	544.433± 7.858	0.1764
CW/kg	302.341± 5.837	315.791± 3.784	311.704± 5.040	0.1582
DP/%	56.847± 0.279	57.276± 0.181	57.206± 0.241	0.4291
LMA/cm ²	74.687± 1.485	75.367± 0.963	75.058± 1.282	0.9268
MS/1~7	1.719± 0.209 ^b	2.394± 0.135 ^a	1.770± 0.180 ^b	0.0045 ^{**}
BVBF/cm	-0.104± 0.096 ^b	0.230± 0.062 ^a	-0.049± 0.019 ^b	0.0013 ^{**}

LW, live weight; CW, carcass weight; DP, dressing percentage; MS, marbling score; LMA, M. *Longissimus dori* area; BF, backfat thickness.

^{**} Effect was significant at P<0.01.

^{a,b} Within a row, means without a common superscript letter differ(P<0.05).

요 약

본 연구는 고등동물의 불포화지방산 생합성의 핵심 효소로 알려져 있는 Stearoyl-CoA desaturase(SCD) 유전자의 특정한 단일염기다형(single nucleotide polymorphism; SNP)이 한우의 도체 및 육질형질에 미치는 영향을 분석하기 위해 SCD 유전자의 Intron 7번 영역의 특정 부위를 포함하는 primer를 제작하고, 염기서열 분석을 통하여 유전자 구조를 해석한 결과 총 211bp 크기를 갖는 염기서열의 122번째에서 아데닌(A)↔구아닌(G) 염기치환으로 발생한 단일염기다형(SNP) 부위를 발견하였다. 이들 단일염기다형 염기서열 부위를 PCR-SSCP(single-strand conformation polymorphism) 기법을 이용하여 분석한 결과 3종류의 SNP 유전자형(A/A, A/G 및 G/G)을 검출하였다. 이 가운데 A/G 유전자형이 한우의 근내지방도와 등지방두께와 고도의 유의적 연관성이 있다는 새로운 사실을 발견하였다. 따라서, 본 연구를 통해 개발된 한우 SCD 유전자의 특정한 단일 염기다형 표지인자는 한우의 연령 및 성별에 관계없이 육질이 우수한 고급육을 생산하는 우량 한우의 조기식별에 매우 유용한 DNA 표지인자로 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

참고문헌

1. Yoshimura, T. and Namikawa, K. (1983) *J. Zootech. Sci.*, 54, 97-100.
2. Ren, J., et al. (2004) *J. Anim. Sci.*, 35, 255-257.
3. Yang, A., et al. (1999) *Lipids* 34, 971-978.
4. Cambel, E. M. G., et al. (2001) *J. Anim. Sci.*, 79, 1954-1955
5. Smith, S. B., et al. (1998) *Lipids* 33, 197-207