

## 웅성 특이적 유전자 분석기법을 이용한 쇠고기 성(性) 판별

신성철 · 김기락 · 정화철 · 박종근 · 신기현 · 채지선 · 정구용<sup>1</sup> · 정의룡\*

상지대학교 생명공학과, <sup>1</sup>상지대학교 동물자원학과

### 서 론

국민소득 증대와 식생활 개선으로 쇠고기 수요가 양적으로 급증 할 뿐 만 아니라 최근에는 well-being 열풍과 더불어 질적으로 우수한 고품질 쇠고기를 선호하는 경향을 보이고 있다. 식육의 품질에 영향을 미치는 여러 요인들 가운데 가축의 성별도 품질결정의 주요 요인의 하나로 평가 할 수 있다. 즉, 식육동물의 성에 따라 성호르몬 분비 등 생리적 차이로 육질에 차이가 있고 일반적으로 수컷은 암컷에 비해 육질이 좋지 않은 경향이 있는 것으로 알려져 있다. 국내 쇠고기 시장에서 고품질 쇠고기의 건전하고 올바른 유통체계를 확립하기 위해서는 값싼 수입 쇠고기와 젓소고기가 고가의 한우육으로 그리고 수소 고기가 암소 고기로 둔갑 판매되는 부정육 유통 방지 및 단속을 위한 한우육 등 쇠고기 품종 판별 기술 개발과 함께 쇠고기의 성을 과학적으로 감별할 수 있는 쇠고기 성 판별기술 개발이 요구된다. 포유동물의 Y-염색체 DNA 영역에는 SRY 및 ZFY의 웅성 특이적 성 결정 유전자가 각각 존재하는 것으로 알려져 있다<sup>(1)</sup>. 그동안 Y-염색체 특이적 DNA 염기서열을 이용한 수정란의 성 판별기술이 보고된 바 있으나<sup>(2)</sup> 쇠고기의 성 판별 기술에 관해서는 아직까지 보고된 바 없다. 따라서 본 연구는 SRY 또는 ZFY의 웅성 특이적 성 결정 유전자의 특정 염기서열을 포함하는 primer를 이용한 polymerase chain reaction(PCR)의 DNA분석 기법을 이용하여 쇠고기 성판별 기술을 개발하기 위해 수행하였다.

### 재료 및 방법

본 연구에서 사용한 공시재료는 한우와 Holstein 종 젓소의 암수 각 10두씩으로부터 정육시료를 채취하고 이들 쇠고기로부터 DNA 시료를 분리 정제하였다. 쇠고기의 성 감별을 위한 SRY 및 ZFY 성 결정 유전자의 PCR 증폭을 위한 primer의 염기서열은 Table 1 과 같다.

SRY 유전자의 PCR 증폭을 위한 반응액 조성은 genomic DNA 50ng, sense 및 anti-sense primer 각 0.1 $\mu$ M, dNTP 각 250 $\mu$ M, 10 X PCR buffer 2 $\mu$ l 그리고 Taq DNA polymerase 1 unit을 첨가하여 최종 부피를 20 $\mu$ l로 조정하였다. 또한 ZFY 유전자의 PCR

반응액 조성은 genomic DNA 50ng, sense primer 0.4 $\mu$ M, anti-sense primer 0.2 $\mu$ M, dNTP 각 250 $\mu$ M, 10 X PCR buffer 2 $\mu$ l, 그리고 Taq DNA polymerase 1 unit을 첨가하여 최종 부피를 20 $\mu$ l로 조정하였다. PCR cycle은 SRY과 ZFY 유전자 모두 최초 94 $^{\circ}$ C에서 5분간 예비가열 한 후, 94 $^{\circ}$ C에서 20초, 58 $^{\circ}$ C에서 30초 그리고 72 $^{\circ}$ C에서 1분간의 cycle을 총 35회 반복한 후 마지막으로 72 $^{\circ}$ C에서 5분간 가열하고 PCR 반응을 종료하였다. PCR 종료 후, 각 PCR 증폭산물의 DNA band 검출을 위해 1.5%의 agarose gel을 이용하여 전기영동 한 다음 염색하여 음성 특이적 DNA band 존재 여부에 따라 쇠고기의 성을 판정하였다.

Table 1. Primer sequences of sex-determining genes for PCR amplification.

Sex-determining gene	Primer sequence (5' to 3')	Annealing (°C)	Fragment size(bp)
SRY	ACAGAGACTACTAGCCATACAC	58	1,348
	CAATTTTCTACTTTAGCCTAAT		
ZFY	GGTGAGGGCACATGAGTTC	58	979
	CTCTGCAGGTGGTTGTGTA		

## 결과 및 고찰

포유동물의 Y-염색체상에는 음성에 특이적으로 존재하는 SRY 및 ZFY 두 종류의 성 결정 유전자가 알려져 있다. SRY 및 ZFY의 성 결정 유전자를 이용하여 쇠고기의 Y-염색체 특이적인 DNA marker 분석을 위해 관련 유전자의 영역에 특정 염기서열을 포함하는 primer를 이용하여 PCR 증폭을 실시한 후, 각각의 증폭산물을 1.5% agarose gel에 전기영동 한 후, ethidium bromide 염색을 통해 검출된 DNA band 전기영동상은 Fig. 1과 2에 각각 제시한 바와 같다. SRY 유전자는 Y-염색체의 음성 특이적 영역에 위치하며 정소분화에 관련된 전사인자를 지정하는 유전자로 보고되어져 있어 SRY 유전자는 오직 음성 개체에만 발현된다.

SRY 유전자에서 Fig. 1에서 보는 바와 같이 한우 및 젖소 음성개체의 쇠고기는 모두 1,348 bp 크기의 음성 특이적 단일 DNA band가 검출되었으나 자성개체의 쇠고기에서는 음성 특이적 DNA band가 전혀 검출되지 않았다. 또한, ZFY(zinc finger Y-linked gene) 유전자에서도 Figure 2에서 보는 바와 같이 한우 및 젖소 음성개체의 쇠고기에서 979 bp 크기의 단편을 가진 ZFY DNA band가 검출되었으나, 자성개체의 쇠고기에서는 ZFY의 DNA band가 전혀 검출되지 않은 것을 확인 할 수 있었다. 즉, 쇠고기 성감별을 위한 두 종류의 성 결정 유전자 SRY 및 ZFY 모두 수소의 쇠고기에서 특이적인 PCR 증폭 반응을 나타냈고, 이와 반대로 암소의 쇠고기에서는 이들 음성 특이적 유전자의 부재로 PCR 증폭이 이루어지지 않아 DNA band가 전혀 검출되지 않았다. 따라서, SRY과 ZFY 두개의 음성

특이적 성 결정유전자는 시중에서 유통 판매되고 있는 쇠고기의 암수 성감별을 위한 유용한 DNA marker로 활용할 수 있을 것이다.

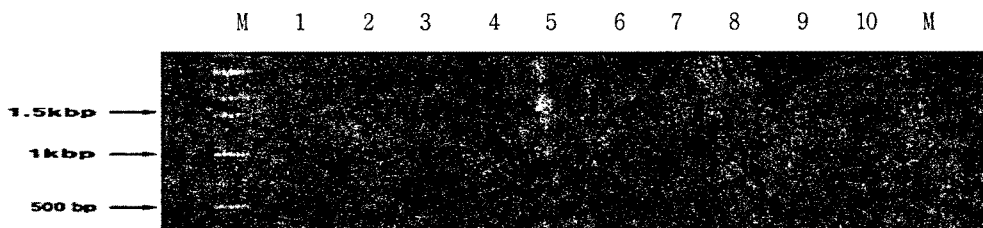


Figure 1. Agarose gel electrophoresis of PCR products of SRY gene from Hanwoo and Holstein beef. lanes 1, 3 and 5, Hanwoo males; lanes 2, 4 and 6, Hanwoo females; lanes 7 and 9, Holstein males and lanes 8 and 10, Holstein females. M: 1 kb DNA size marker.

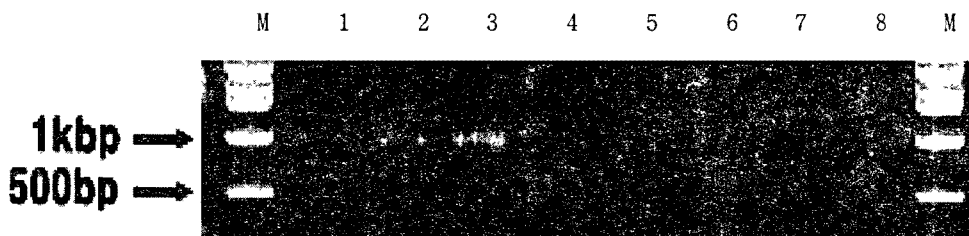


Figure 2. Agarose gel electrophoresis of PCR products of ZFY gene from Hanwoo and Holstein beef. Lanes 1 and 2, Hanwoo males; Lanes 5 and 6, Hanwoo females; lanes 3 and 4, Holstein males; lanes 7 and 8, Holstein females. M: 1 kb DNA size marker.

본 연구에서 개발한 쇠고기 성 판별 기술은 수소 고기가 암소 고기로 둔갑 판매되는 성 전환의 부정육 식별 및 단속에 정확하고 과학적인 DNA 분석기술로 이용할 수 있고 또한, SRY 및 ZFY 양성 특이적 유전자를 이용한 DNA 분석기술은 소 품종이외의 다른 포유동물 고기의 성 판별에도 활용 가능할 것이다.

## 요 약

본 연구는 polymerase chain reaction(PCR)기법을 이용하여 SRY 및 ZFY의 성 결정 유전자의 특정 염기서열을 포함하는 primer를 이용하여 Y-염색체 특이적인 쇠고기 성판별 기술을 개발하기 위해 수행하였다. 성 결정 유전자의 영역에 특정 염기서열을 포함하는 primer를 설계 합성하고 이들 primer를 이용하여 PCR 증폭을 실시한 다음, 각각의 증폭 산물을 1.5% agarose gel에 전기영동 하여 양성 특이적 DNA band의 증폭여부를 확인하

였다. SRY 유전자에서 웅성개체 쇠고기는 1,348 bp 크기의 단편을 가진 DNA band가 검출되었으나, 자성개체의 경우 DNA band가 전혀 검출되지 않은 것을 확인 할 수 있었다. 또한, ZFY 유전자에서 웅성개체의 쇠고기는 979 bp 크기의 단편을 가진 DNA band가 모두 검출되었으나, 자성개체의 쇠고기에서는 역시 DNA band가 전혀 검출되지 않았다. 즉, SRY 및 ZFY 유전자는 모두 수소에서 유래한 쇠고기에서 웅성 특이적인 DNA band가 정확히 검출된 반면 암소에서 유래한 쇠고기에서는 웅성 특이적 DNA band가 전혀 검출되지 않았다. 따라서, 본 연구에서 개발한 SRY 또는 ZFY의 웅성 특이적 성 결정유전자를 이용하는 쇠고기 성 감별기술은 시중에서 유통 판매되고 있는 쇠고기의 암수 성감별을 위한 유용한 DNA marker(DNA 표지인자)로 활용할 수 있을 것이다.

### 참 고 문 헌

1. Clawson, M. L. et al. (2004) *Animal Genetics* 35, 246-249.
2. Heaton, M. P. et al. (2002) *Mammalian Genome* 13, 272-281.