

DNA 多型에 있어서 珍島犬과 雜種犬과의 比較

韓邦根·金周憲*·姜鈺遠·池本卯典**
全南大學校 獸醫科大學·慶尙大學校 獸醫科大學*
日本 自治醫科大學**
(1992년 8월 6일 접수)

Polymorphism of mitochondrial DNA in Jindo dogs and Japanese mongrels dogs

Bang-keun Han, Joo-heon Kim*, Ju-won Kang, Shigenori Ikemoto**
College of Veterinary Medicine, Chonnam National University
*College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University**
*Jichi Medical School, Japan***
(Received Aug 6, 1992)

Abstract : Mitochondrial DNA (mt DNA) of Mammalian is the circular one which the 16.5K base pairs and show the maternal inheritance.

Evolutional speed of nucleotide sequence is very fast. So that polymorphic analysis of mt DNA provide the useful informations to investigate the genetic relations of interspecies.

Authors trials were focussed to compare with the polymorphic differences of mitochondrial DNA between Jindo and Japanese mongrel dogs.

DNA was extracted from bloods of 21 head of Jindo dogs and 20 head of Japanese dogs and isolated using 10 kinds of restriction endonucleases (Apa I, BamH I, Bgl II, EcoR I, EcoR V, Hinc II, Hind III, Pst I, Sty I, Xba I) and then separated by the agarose gel electrophoresis.

After southern blotting hybridization was completed using the mtDNA of Japanese mongrel dogs as a probe.

Autoradiography was used to compare the polymorphism of mtDNA both dogs.

The results obtained were as follows ;

1. mt DNA of Jindo dog showed polymorphism resulting cleavage with four kinds of restriction endonuclease, Apa I, EcoR V, Hinc II, Sty I. While in the Japanese mongrel dogs observed the polymorphism in the five kinds of restriction endonuclease supplemented with EcoR I.

2. Compared with both dogs the frequency differences of DNA polymorphism were recognized in the specific restriction endonuclease Apa I. Consequently in the restriction endonuclease Apa I both dogs classified with three types as A, B, C however in the Jindo dogs frequency of C type was 71.5 percent but in Japanese mongrel dogs observed 45 percent in the A type.

3. DNA polymorphism obtained from the use of five kinds of restriction endonuclease were classified with seven types.

In Jindo dogs frequency was highest in the type 6 as 71.4 percent but in the Japanese mongrel dogs showed 35 percent in the type 5.

4. Genetic distances calculated by NEI method showed 0.0089 in Jindo dogs and was 0.0094 in the Japanese mongrel dogs.

緒 論

哺乳動物의 mitochondrial DNA(mtDNA)는 大略 16.5kbp의 閉鎖環狀分子이며 mtDNA는 母系에서 遺傳되어 지는데 이는 人間과 또 다른 哺乳動物들^{2,3}에서도 示唆되고 있다.

哺乳動物의 mtDNA genome의 完全한 nucleotide配列이 人間⁴, 암소⁵, 마우스⁶와 랫트⁷ 등에서 證明되었다.

12S와 16S rRNA, 22tRNA, cytochrome C oxidase subunit, I, II, III ATPase subunit 6, cytochrome b와 8個未確認된 蛋白質들이 이 遺傳子에 存在해 있었다.⁴⁻⁶

이 mitochondrial gene의 配列은 哺乳動物間에서 잘 保存되어져 왔다.⁴⁻⁷ 그러나 이러한 保存特徵에도 不拘하고 mtDNA의 nucleotide 配列이 빠르게 進化하는 것으로 나타나 있다.^{8,9} 그리고 mitochondrial genome의 進化頻도는 細胞核 DNA에 比較해서 5~10倍 높게 나타나고 있다.^{8,9} 이러한 進化性質 그것의 減少된 크기, 많은 複製數와 遺傳의 非性的 樣式 때문에 mtDNA는 進化遺傳學 研究에 매우 有用한 手段이 되었다.

個體間的 實質的인 配列의 多樣성이 mtDNA에서 報告 되어진 以來로 mtDNA의 多型은 制限 endonuclease를 使用해서 뿐만 아니라 nucleotide sequence를 決定함으로써 人間과 몇몇 動物에서 廣範圍하게 분석해 왔다.^{8,10-22} 또한 몇가지의 制限 endonuclease를 使用한 分析으로부터 얻어진 結果는 mtDNA型들과 人間의 人種起源 사이의 높은 聯關성을 보여주고 있다.²³⁻²⁷ mtDNA 안의 制限된 部位의 變化를 가르키는 點變位와 더불어 길이 變位가 또한 나타나고 있다.^{28,29}

기타 많은 研究者에 의해 몇몇 動物種에서 制限 endonuclease를 使用해서 mtDNA型이 分析되어졌다.^{10,17,19-22,30-34} 그러나 개에서의 mtDNA에 關한 data는 거의 없다. 따라서 著者 등은 韓國珍島犬의 mtDNA多型을 調査하였고 다음에 日本產 雜種犬의 mtDNA型을 分析하여 兩者를 遺傳的으로 比較檢討 하였기에 報告하는 바이다.

材料 및 方法

末梢血液에서 DNA抽出 : EDTA添加한 珍島犬血液約 5ml에 10倍量의 Lysis buffer^{#1}를 添加하여 溶血시킨 후 1000×g 10分間 4℃로 遠心分離하고 血球를 pellet로 回收하였다.

다음에 EDTA buffer^{#2} 3ml를 添加하여 교반한 후 S-DS 및 protenase K를 最終濃度 0.5% 50 μg/ml 되도록 添加하여 37℃에서 一晝夜 反應시켰다. 反應 phenol處理^{#3}를 3回 chloroform處理^{#4}를 1回 行하여 ethanol로

沈殿시켜서 DNA를 pellet로 回收하였다.

Ethanol 沈殿하여 回收한 pellet를 TE buffer pH 8.0^{#5}를 3ml 添加하여 溶解한 후 RNase(最適濃度 20 μg/ml)를 添加하고 37℃ 1時間 反應시켰다.

그 後 phenol處理 2回 chloroform處理 1回로서 ethanol 沈殿하여 DNA를 回收하였다. 抽出한 DNA를 TE buffer pH 8.0/ml에서 溶解한 후 OD₂₈₀을 測定하여 濃度 및 精度^{#6}를 確認하였다.

#1 : Lysis buffer :

0.32M Sucrose
5mM MgCl₂
10mM Tris-HCl pH 7.5
1% Tritonx-100

#2 : EDTA buffer :

24mM EDTA
75mM NaCl

#3 : Phenol처리 :

DNA를 含有하고 溶液에 同量의 Phenol : chloroform : isoamyl alcohol (25 : 24 : 1) 첨가하여 교반한 後 1600×g 10分間 遠心分離하여 上層部分(上層은 Phenol : chloroform : isoamyl alcohol 溶液)을 새로운 試驗管에 取한다. 이 處理를 反復한다.

#4 : chloroform處理 :

DNA를 包含한 溶液에 同量의 chloroform : isoamyl alcohol (24:1)를 添加하여 교반한 後 1600×g 10分間 遠心分離하여 上層部分을 別途의 試驗管에 取한다.

#5 : TE buffer pH 8.0 :

10mM Tris-HCl pH 8.0
1mM EDTA

#6 : DNA의 精度, 濃度の 測定

OD₂₆₀/OD₂₈₀ > 1.8 : 精度
OD₂₆₀ = 50mg/ml : DNA濃度

Probe용 개 mitochondrial DNA의 精製 : 개 mitochondrial DNA는 腎臟으로부터 精製한다.

腎臟을 0.21M Mannitol, 0.07M Sucrose, 0.05M Tris-HCl pH 7.5 3mM CaCl₂ 溶液中에서 homogenization한 後 EDTA pH 7.5를 最終濃度 10mM 되도록 添加한다. 700×g 5분간 遠心해서 核 및 細胞殘査를 除去한 後 20000×g 20분간 遠心해서 mitochondria를 pellet하여 回收한다. Mitochondria의 pellet는 0.1M NaCl, 0.05M Tris-HCl pH 8.0, 0.01M EDTA 용액 3ml에 浮遊케한 後 25% SDS를 0.15ml 添加하여 37℃로 5분간 反應시켜 mitochondria를 溶解한다.

Mitochondria의 溶解液은 7M CsCl을 0.5ml 添加한 후 水中에 1時間 放置하여 高分子 DNA 및 蛋白을 沈澱시킨다. 20000×g 10분간 遠心하여 沈澱物을 除去한 후 CsCl을 1.58g/cm³되도록 添加하고 20°C로 18時間 遠心하여 mtDNA band를 回收한다. 이 cesium chloride 密度 勾配 遠心分離法을 2回 反復하고 精製 mtDNA를 얻는다.

珍島犬의 mtDNA切片 pattern의 檢出: 珍島犬 末梢血液에서 抽出한 DNA를 多型이 認定되는 適當한 制限酵素 Apa I, BamH II, Bgl II, EcoR I, EcoR V, Hae II, Hinc II, Hind III, Pst I, Sal I, Sca I, Stu I, Sty I, Xba I로 切斷한 후 8% agarose gel 電氣泳動法으로 分離하여 southern法에 의해 agarose gel에서 nylon membrane으로 轉寫하였다. 그 후 nylon membrane을 32p 標識한 정제 mtDNA를 probe로 하여 hybridization 하고 autoradiography로 切斷한 mtDNA pattern을 檢出하였다.

結 果

珍島犬과 日本 雜種犬을 對象으로 mitochondrial DNA 多型을 比較檢討하기 위하여 珍島犬 21頭와 日本 雜種犬 20頭의 血液에서 DNA를 抽出하여 10種類의 制限酵素 즉, Apa I, BamH I, Bgl II, EcoR I, EcoR V, Hinc II, Hind III, Pst I, Sty I, Xba I를 利用하여 切斷한 후 agarose gel電氣泳動法으로 分離하여 다음과

같은 結果를 얻었다.

珍島犬에 있어 Apa I (Fig 1)을 이용한 A type의 경우 10.7Kb와 4.8Kb 2個의 fragment가 주로 나타났으며, B type의 경우 10.7Kb fragment에 2個所에 Apa I의 切斷部位가 생기고 6.9, 3.8, 1.4Kb 3개의 fragment가 나타났다.

C type의 경우 10.7Kb fragment에 1개소의 切斷部位가 생기고 fragment 6.9와 겹쳐 있지만 4.8Kb fragment가 생겼다.

다음 EcoR V (Fig 1)에 있어서의 A의 경우에 11.8, 2.2 및 1.5Kb 3개의 fragment가 생기고 B type의 경우는 11.8Kb의 fragment에 1個所의 切斷部位가 생기고 9.4와 2.4Kb의 fragment가 생겼다.

Hinc II (Fig 2)의 경우에 있어서 A type의 경우 8個의 fragment가 생겼으나, B type의 경우는 3.3Kb와 1.8Kb의 fragment가 消失하였으며, 5.1kb의 fragment가 나타났다. Sty I (Fig 2)의 경우에 있어서 A type의 경우 여기에는 나타나 있지 않았으나, 0.1Kb fragment를 포함하여 9個의 fragment가 나타나었고, B type의 경우에는 2.1Kb와 잘 안보이나, 0.1Kb의 切斷部位가 消失하여 2.2Kb의 fragment가 나타났다.

나머지 6개의 制限酵素 EcoR I, BamH I, Bal II, Hind III, Pst I, Xba I (Fig 3)에 대해서는 이와같은 反應이 나타났으나 多型이 나타나지 않았다.

以上을 綜合한 Table 1에서는 使用한 酵素多型의 種

Table 1. Numbers of cleavage sites of Jindo-dog mtDNA for 10 restriction enzymes and the length of fragment

Enzymes	Morphs	Number of cleavage sites	Length of fragments				
Apa I	A	2	10.7	4.8			
	B	4	8.9	4.8	3.8	1.4	
	C	3	6.9	4.8			
EcoR V	A	3	11.8	2.2	1.5		
	B	4	9.4	2.4	2.2	1.5	
Hinc II	A	8	3.3	2.5	2.2	2.0	
			1.8	1.7	0.75	0.65	
	B	7	5.1	2.5	2.2	2.0	
Sty I	A	9	3.6	2.3	2.2	2.0	1.7
			1.5	0.8	0.5	0.1	
	B	8	3.6	2.3	2.2	2.0	
			1.7	1.5	0.8	0.5	
EcoR I	A	3	8.0	7.5	0.6		
BamH I	A	3	11.5	3.4	0.6		
Bgl I	A	3	9.8	3.8	3.2		
Hind III	A	2	16.5	2.0			
Pst I	A	1	17.0				
Xba I	A	2	13.0	2.9			

Table 2. Number and frequencies of mtDNA morphs in mongrel dogs and Jindo dogs

Enzymes	Morphs	Mongrel		Jindo	
		No.	freq.(%)	No.	freq.(%)
Apa I	A	9	45.0	4	19.0
	B	7	35.0	2	9.5
	C	4	20.0	15	71.5
EcoR V	A	16	80.0	18	85.7
	B	4	20.0	3	14.3
Hinc II	A	17	85.0	18	85.7
	B	3	15.0	3	14.3
Sty I	A	16	80.0	18	85.7
	B	4	20.0	3	14.3
EcoR I	A	16	80.0	21	100.0
	B	2	10.0	0	0.0
	C	2	10.0	0	0.0

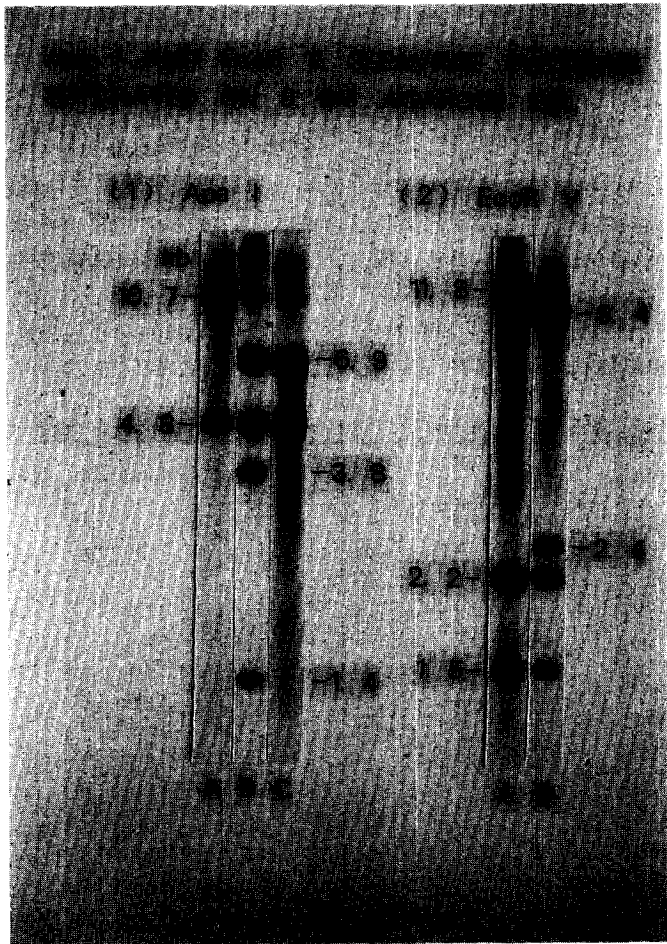


Fig 1. Apa I And EcoR I Cleavage Patterns separated on 0.8% agarose gel

類 分裂部位의 數 및 fragment 길이를 표시하여 比較해 보았으나 6鹽基를 認識하는 10種類의 制限酵素중 4種類

에 있어서 多型이 나왔고 나머지 6개의 制限酵素에서는 多型이 나타나지 않았다.

Table 3. mtDNA types based on the morphs observed in 20 mongrel dogs and 21 Jindo dogs using five restriction enzymes

Types	Enzyme morphs					Mongrel		Jindo	
	Apa I	EcoR V	Hinc II	Sty I	EcoR I	No.	%	No.	%
1	A	A	A	A	A	3	15.0	1	4.8
2	A	A	A	A	B	2	10.0	0	0.0
3	A	B	B	B	A	3	15.0	3	14.3
4	A	B	A	B	C	1	5.0	0	0.0
5	B	A	A	A	A	7	35.0	2	9.5
6	C	A	A	A	A	3	15.0	15	71.4
7	C	A	A	A	C	1	5.0	0	0.0
Total						20	100.0	21	100.0

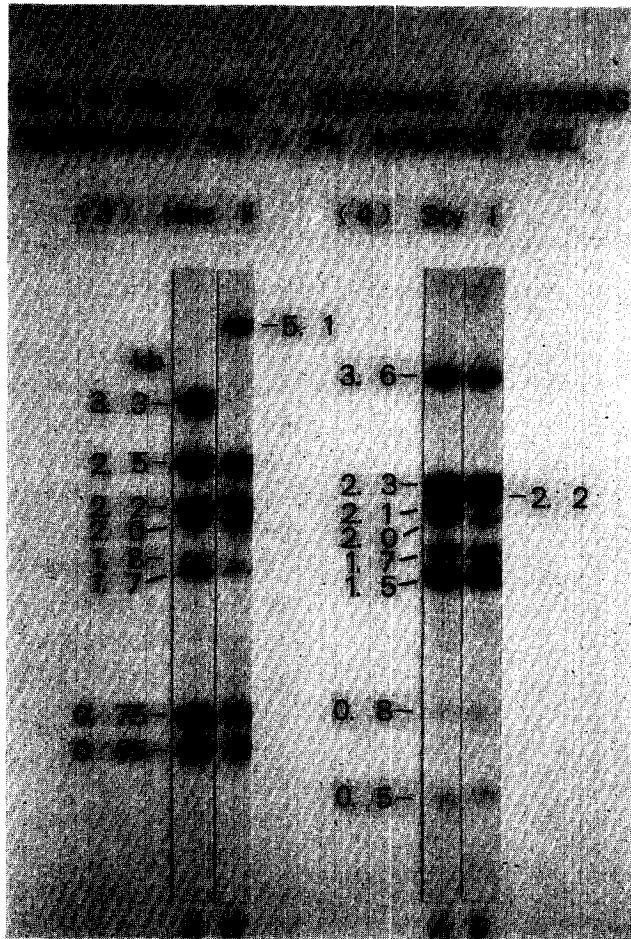


Fig 2. Hinc II and Sty I Cleavage patterns separated on 1.2% agarose gel

다음에 珍島犬과 日本 雜種犬에 대해서 DNA 多型的 發現頻度を 比較해 보았다(Table 2). 日本 雜種犬에서는 上記 4種類外에 EcoR I을 包含한 5種類の 制限酵素에 의해서 多型이 나타났으며 3個型으로 分類되었다.

EcoR I에 있어서 진도견에서는 다형이 나타나지

않았으며 A型 뿐인데 比해서 雜種犬에서는 ABC 3型으로 分類되었다.

特徴으로는 Apa I에 있어서 A형이 45%인데 비해서 진도견에서는 C형이 71.5%로 높은 頻度로 나타났다.

兩品種에서 5種類の 制限酵素에 의해 얻어진 mtDNA

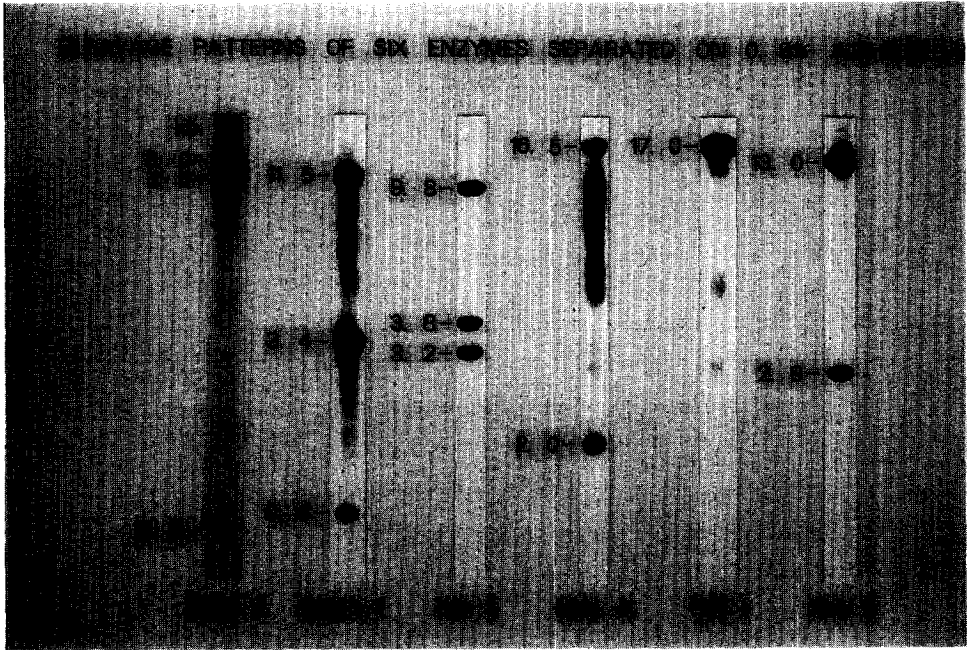


Fig 3. Cleavage patterns of six enzymes separated on 0.8% agarose gel

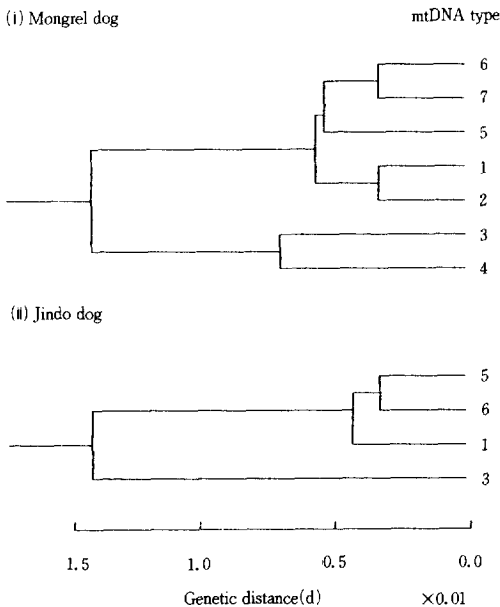


Fig 4. Comparison of phylogenetic tree based on genetic distance for mongrel dogs and Jindo dogs.

多型을 조합해 보면 Table 3과 같이 7種類の type으로 분류되었다.

雜種犬의 경우 7 type 중에서 type 5가 35%로 많았고 진도견에서는 1, 3, 5, 6, 4개 type만이 분류되었고 더

욱 type 6이 71.4%로 대단히 高頻度로 나타났다.

mtDNA type에서 NEI方法에 의해 兩犬種의 系統樹, 遺傳距離를 求하면 다음과 같다.

雜種犬에서는 1, 2, 5, 7, 6 type와 3, 4 type 2개 集團으로 分類되는데 比해서 진도견에서는 集團이 갈라지지 않았다.

遺傳距離를 求하면 雜種犬에서는 0.0094인데 진도견에서는 0.0086으로 대단히 近似位置로 나타난 것으로 보아 兩犬種의 先祖는 대단히 가깝다고 推測되며 또 mtDNA type에서 진도견은 대단히 系統이 잘 保全되고 있다고 示唆되었다.

考 察

珍島犬에서 mtDNA 多型은 10個의 制限酵素중 4種類의 制限酵素인 Apa I, EcoR V, Hinc II, Sty I에서 日本産 雜種犬에서는 EcoR I이 追加되어 5種類の 制限酵素에서 mtDNA 多型이 觀察되었다.

兩品種 間에서 mtDNA의 分割樣相에서 Apa I은 特異한 pattern이 나타났는데 A type은 2개, B type은 4개, C type은 3개 fragment로 나타났으며 兩品種間에 出現頻度는 雜種犬에서 A type(45.0%)이 珍島犬에서는 C type(71.5%)이 가장 高頻度로 나타났다.

EcoR V는 2 type으로 나타났으며 A type은 3개, B type은 4개 fragment로 나타났고, 出現頻度는 A type에

서 雜種犬이 80%, 珍島犬은 85.7%로 높게 나타났다.

Hinc II는 2 type으로 나타났는데 A type은 8개 B type은 7개 fragment로 나타났으며 出現頻도는 A type에서 雜種犬이 85.0% 珍島犬은 85.7%로 높게 나타났다.

그리고 Sty I은 2 type으로 나타났는데 A type은 9개 fragment로, B type은 8개 fragment로 나타났고 出現頻도는 A type에서 雜種犬이 80.0%, 珍島犬이 85.7%로 높게 나타났다.

EcoR I에서 珍島犬은 多型이 나타나지 않았으나 日本産 雜種犬에서는 3 type로 多型이 나타났으며 특히 A type이 80.0%로 가장 많은 出現頻도를 나타냈다.

mtDNA는 動物과 人間에서 進化遺傳學研究에 있어서 훌륭한 手段으로 言及되어 왔다.^{8,9,13,18,21,25-27}

本 研究은 mtDNA가 개에서 遺傳學研究을 위한 有用한 手段임을 보여주고 있다.

兩品種에서 6가지 核酸配列이 認識되는 5개의 制限酵素를 利用해서 얻은 結果를 7 type로 分類하였으며, 雜種犬은 7 type중에서 type 5가 가장 出現頻도가 높았고 珍島犬에서는 4個 type중에서 type 6이 가장 높은 頻도를 나타냈다.

Tsuchida 등³⁴은 개의 mtDNA의 制限酵素切片 pattern을 17例의 개에서 檢討하였다.

즉, Rsa I에 의해 5type, Hae III에 의해 4 type, Alu I에 의해 3 type 그리고 Hinf I 및 Msp I에 의해서는 각각 2 type으로 分類되었다.

또 Alu I, Hae III, Hinf I, Msp I 및 Rsa I을 利用한 制限酵素切片 pattern에 의한 mtDNA多型和 6鹽基 認識 制限酵素 Apa I, EcoR I, EcoR V, Hinc II 및 Sty I에 의한 多型과의 組合에 의한 結果는 8군으로 分類가 되었다.

Tsuchida 등³⁴은 개에서 nucleotide diversity의 平均 値를 Nei와 Li³⁵의 方法에 의하여 0.0055로 算出하였다.

人間群에서의 報告値는 Brown 등¹¹에 의하여 0.0036, Horai 등에 의해서는 0.0042이었다.

이와같이 개에서의 nucleotide diversity 값은 人間보다 높았다.

本 實驗에서는 두 品種의 개로 부터 5種의 制限 endonuclease에 의해 觀察된 mtDNA 多型을 組合하여 7 type로 分類하였으며 그것을 개 mtDNA형의 系統進化를 만들기 위해 使用하였다.

즉, 雜種犬에서는 두개 集團이 分類되는데 비해 珍島犬에서는 集團이 分類되지 않았고 集團距離도 近似値로 나타난 것으로 보아 先祖가 대단히 가까운 것으로 推測되었다.

우리는 개에서 mtDNA의 多型和 몇몇 種의 起源間에

聯關이 있음을 알 수 있으며 mtDNA 多型的 進化論的 遺傳學的뿐만 아니라 개의 種의 保存을 爲해서 有用한 手段이 될 것으로 안다.

mtDNA 多型은 사람을 비롯하여 많은 動物에서 示唆되고 있듯이 개에 있어서도 高頻도로 檢出이 되어 有用한 遺傳標識으로 생각된다.

結 論

哺乳動物의 mitochondrial DNA(mtDNA)는 16.5Kbp의 環狀 DNA로서 母性遺傳을 나타내며 鹽基配列의 進化速度는 核 DNA에 比해서 매우 빠르며 制限酵素를 利用한 mtDNA 多型的 分析은 種屬間的 遺傳的 關係를 調査하는데 있어서 有效한 情報를 提供해 준다.

著者 등은 韓國의 진도견과 日本 雜種犬을 對象으로 mitochondrial DNA 多型을 比較檢討하기 爲하여 珍島犬 21頭의 血液에서 DNA를 抽出하여 10種類的 制限酵素(Apa I, BamH I, Bgl II, EcoR I, EcoR V, Hinc II, Hind III, Pst I, Sty I, Xba I)를 利用하여 切斷한 후 agarose gel 電氣泳動法으로 分離하여 southern blotting한 후 日本雜種犬의 mtDNA를 probe로 하여 hybridization을 한 후 autoradiography를 이용하여 兩犬種의 mtDNA 多型을 觀察하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 진도견의 mtDNA는 Apa I, EcoR V, Hinc II, Sty I의 4種類的 制限酵素로 切斷한 結果 多型을 나타냈으며 日本 雜種犬에 있어서는 다시 ECOR I를 添加한 5種類에서 多型이 觀察되었다.

2. 兩犬種을 比較하였을 때 制限酵素 Apa I에서 DNA 多型的 頻度差를 認定하였다. 즉, Apa I에서는 兩犬種은 A, B, C 세가지 型으로 分類되었고 진도견은 C型的 頻도가 71.5%로 雜種犬에서는 A型이 45%로 높게 나타났다.

3. 5種類的 制限酵素에 의하여 얻어진 DNA多型을 組合하여 7 type으로 分類되었는데 진도견에서는 type 6이 71.4%로 가장 많았고 雜種犬에서는 type 5가 35%로 많은 頻도를 나타냈다.

4. NEI의 方法에 의해서 遺傳距離를 求한 結果 진도견은 0.0089이었고 雜種犬은 0.0094이었다.

參 考 文 獻

1. Giles RE, Blanc H, Cann HM et al. Maternal inheritance of human mitochondrial DNA. Proc. Natl. Acad. Sci USA 1980 ; 77 : 6775.
2. Hutchison III CA, Newbold JE, Potter SS, et al. Maternal inheritance of mammalian mitochondrial

- DNA. *Nature* 1974 ; 251 : 536.
3. Watanabe T, Mizutani M, Wakana S, et al. Demonstration of maternal inheritance of avian mitochondrial DNA in chicken-quail hybrids. *J Exp Zool* 1985 ; 236~245.
 4. Anderson S, Bankier AT, Barrell BG, et al. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature* 1981 ; 290 : 457.
 5. Anderson S, De Bruijn MHL, Coulson AR, et al. Complete sequence of bovine mitochondrial DNA conserved features mammalian mitochondrial genome. *J Mol Biol* 1982 ; 156 : 683.
 6. Bibb MJ, Van Etten RA, Wright CT, et al. Sequence and gene organization of mouse mitochondrial DNA. *Cell* 1981 ; 26 : 169.
 7. Gadaleta G, Pepe G, De Candia G, et al. The complete nucleotide sequence of the Rattus norvegicus mitochondrial genome : Cryptic signals revealed by comparative analysis between vertebrates. *J Mol Evol* 1989 ; 28 : 497.
 8. Brown WM, George JM, Wilson AC. Rapid evolution of animal Mitochondrial DNA. *Proc. Natl. Acad Sci USA* 1979 ; 76 : 1967.
 9. Brown WM, Prager JM, Wilson AC. Mitochondrial DNA sequences of primates : Tempo and mode of evolution. *J Mol Evol* 1982 ; 18 : 225.
 10. Potter SS, Newbold JE, Hunchison III CA, et al. S-specific cleavage analysis of mammalian mitochondrial DNA. *Proc. Natl. Acad Sci USA* 1975 ; 72 : 44~96.
 11. Brown WM. polymorphism in mitochondrial DNA of humans as revealed by restriction endonuclease analysis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980 ; 77 : 36~45.
 12. Cann RL, Stoneking M, Wilson AC. Mitochondrial DNA and human evolution. *Nature* 1987 ; 31 : 325.
 13. Ferris SD, Brown WM, Davidson WS, et al. Extensive polymorphism in the mitochondrial DNA of apes. *Proc. Natl. Acad Sci USA* 1981 ; 78 : 63~79.
 14. Horai S, Gojobori T, Matsunaga E. Mitochondrial DNA polymorphism in Japanese I. Analysis with restriction enzymes of six base pair recognition. *Hum Genet* 1984 ; 68 : 324.
 15. Horai S, Matsunaga E. Mitochondrial DNA polymorphism in Japanese. II. Analysis with restriction enzymes of four of five base pair recognition. *Hum Genet* 1986 ; 72 : 105.
 16. Horai S, Hayasake K. Intraspecific nucleotide sequence differences in the major noncoding region of human mitochondrial DNA. *Am J Hum Genet.* 1990 ; 46 : 828.
 17. Tegelstrom H. Genetic variability in mitochondrial DNA in a regional population of the Great Tit (Parus major). *Biochem Genet* 1987 ; 25 : 95.
 18. Vigilant L, Pennington R, Happending H, et al. Mitochondrial DNA sequences in single hairs from a southern African population. *Proc. Natl Acad USA* 1989 ; 50 : 86~93.
 19. Watanabe T, Hayashi Y, Ogasawara N, et al. Polymorphism mitochondrial DNA in pigs based on restriction endonuclease cleavage patterns. *Biochem Genet* 1985a ; 23 : 947.
 20. Watanabe T, Hayashi Y, Semba R, et al. Bovine mitochondrial DNA polymorphism in restriction endonuclease cleavage patterns and the location of the polymorphic site. *Biochem Genet* 1985b ; 23 : 947.
 21. Watanabe T, Hayashi YU, Kimura JY, et al. Pig mitochondrial DNA : Polymorphism. restriction map orientation and sequence data. *Biochem Genet* 1986 ; 24 : 385.
 22. Yonekawa H, Moriwaki K, Gotoh O, et al. Origins of laboratory mice deduced from restriction patterns of mitochondrial DNA. *Differentiation* 1982 ; 22 : 222.
 23. Blanc H, Chen KH, Diamore MA, et al. Amino acid change associated with the major polymorphic Hinc II site of oriental and caucasian mitochondrial DNAs. *Am J Hum Genet* 1983 ; 35 : 167.
 24. Denaro M, Blanc H, Johnson MJ, et al. Ethnic variation in Hpa I endonuclease cleavage patterns of human mitochondrial DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981 ; 78 : 57~68.
 25. Excoffier L, Langaney A. origin and differentiation of human mitochondrial DNA. *Am J Hum Genet* 1989 ; 44 : 73.
 26. Hanihara S, Saitou N, Hirai M, et al. Mitochondrial DNA polymorphism among five Asian population. *Am J Hum Genet* 1988 ; 43 : 134.
 27. Johnson MJ, Wallace DC, Ferris SD, et al. Radiation of human mitochondrial DNA types analyzed by restriction endonuclease cleavage patterns. *J Mol*

- Evol* 1983 ; 19 : 255.
28. Cann RL, Wilson AC. Length mutations in human mitochondrial DNA *Genetics* 1983 ; 104 : 699.
 29. Hertzberg M, Mickleson KNP, Serieantson SW, et al. An asianspecific 9-6p deletion of mitochondrial DNA is frequently found in polynesians. *Am J Hum Genet* 1989 ; 44 : 504.
 30. Bhat PP, Mishra BP, Bhat PN. Polymorphism of mitochondrial DNA(mtDNA) in cattle and buffaloes. *Biochem Genet* 1990 ; 28 : 311.
 31. Robert A, Lansman RA, Shade RO, et al. The use of restriction endonucleases to measure mitochondrial DNA sequence relatedness in natural populations III. Techniques and potential appications. *J Mo Evol* 1981 ; 17 : 214.
 32. Wesley M, Brown WM, George JM, et al. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proc. Natl. Acad Sci USA* 1979 ; 76 : 1967.
 33. Wesley M, Brown WM, Prager EM, et al. Mitochondrial DNA Sequences of primates : Tempo and mode of evolution. *J Mol Evol* 1982 ; 18 : 225.
 34. Tsuchida S, Iketomoto S. Mitochondrial DNA polymorphism in dogs. *Biochem Genet* 1991.
 35. Nei M, Li WH. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979 ; 76 : 52~69.
-