

## 소에서의 유전적 다형의 이용†

신 형 두

축협중앙회 한우개량사업소 소 혈액형 실험실

## Utilization of Genetic Polymorphisms in Cattle†

H. D. Shin

*Bovine Blood Typing Laboratory, Korean Native Cattle Improvement Center, NLCF*

### SUMMARY

Several kinds of analytic methods for genetic polymorphism in cattle, including bovine blood typing, PCR-RFLP, BoLA and microsatellite typing were described. A few respect to consider for choosing method for actual application of genetic polymorphism were emphasized. The probability of relationship between characteristics and gene concerned, repetibility and easiness of methods applied and the possibility of clarification for segregation pattern should be deliberated.

### 서 론

유전적 다형(genetic polymorphisms)은 모든 유전학의 기본이 되는 각 개체별, 품종별 유전적 차이이다. 이러한 유전적 다형현상은 환경이나 조건에 따라 변동될 수 있는 생리적 다형과는 구분된다. 유전적 다형현상을 구명하기 위하여 여러가지 방법이 개발되었고 여러 측면에서 이용되고 있다. 가축에 있어서의 유전적 다형의 이용은 경제적인 측면이 주류를 이루고 있다. 즉 어떠한 유전자를 가진 개체가 경제적으로 우수하느냐 하는 것이다. 이러한 경제적인 측면은 여러가지로 구분될 수 있는데 산육량, 육질, 유량, 질병 저항성 등이 대표될 수 있다. 이외에 유전양식을 이용한 개체식별, 혈통확인 등에 이용되고 있다. 이러한 유전적 다형을 구명하기 위한 여러가지 측면과 방법이 개발되었으나 경제성, 편의성, 효용성 등의 문제 때문에 실제 이용되고 있는 방법은 그리 많지 못한 실정이다.

또한 전통적인 종축선발 방법과 같이 이용되는 다형이 하나의 유전자에 의하여 지배되지 않고 여

러 개의 유전자가 복합적으로 지배하는 산육능력이나 육질과 같은 다형은 그 종합적이고 실제적인 결과의 중요성에서 큰 의미를 가지나 이를 지배하는 유전자가 여러 개가 존재함으로써 뚜렷이 구분되는 차이를 도출해 내기가 어려운 점이 있다. 또 이러한 차이가 나타났다고 하더라도 유전양식을 규명하기는 거의 불가능한 것이다. 이에 비하여 단일한 유전자에 의하여 지배받는 형질은 그 종합적인 결과에 미치는 영향은 적지만 뚜렷한 대립형질을 밝혀낼 수 있고 유전양식을 규명할 수 있어서 정확한 결과를 예측할 수 있어 종축선발에도 이러한 유전자의 역할이 보강되고 있다.

실제 지금까지 개발된 방법을 통하여서 검출할 수 있는 다형을 지닌 유전자는 매우 많다. 그러나 이러한 유전적 다형을 실제 이용하려고 할 때 몇가지 고려해야 할 사항이 있다. 첫째, 검출되는 유전자와 알고자 하는 경제형질과의 연관의 개연성에 대한 고려가 선행되어야만 노력을 줄일 수 있을 것이다. 예를 들면 MHC(major histocompatibility) gene은 주로 백혈구의 구조와 기능을 coding하는 역할을 가지고 있기 때문에 질병 저항성과 관련이

† 1995년도 춘계 한국수정란이식학회 강연요지임.

있을 것이라는 개연성 아래 많은 시도가 활발히 추진되고 있는데, 이를 육질이나 산육량과 같은 경제형질과 상관관계를 규명하려 한다는 것은 그 결과를 얻기가 상대적으로 어려울 것이다.

둘째, 사용되는 방법의 재현성, 용이성 등이다. 아무리 좋은 방법이라고 하더라도 그 방법에 있어서 재현성이 떨어져 각 실험시기, 실험실간의 재현성이 확보되지 못하고 정보를 얻기 위한 시간과 비용이 많이 소요된다면 그러한 방법은 지양되어야 한다는 것이다. 몇년 전만해도 DNA finger printing, RAPD(random amplified polymorphic DNA)와 같은 방법이 많은 수의 다형을 얻을 수 있어 활발한 연구가 이루어졌으나 그 방법의 재현성, 용이성이 확보되지 못하는 경우가 많아 보편적인 방법으로 이용되지 않고 있는 추세이다.

셋째, 이용되는 유전자의 유전양식이 규명되어야 한다는 것이다. 즉 독립된 유전자의 유전양식과 정확한 chromosome location이 밝혀질 수 있는 유전자라야 그 이용이 실제적으로 용이하다. 즉, DNA finger printing, RAPD에 의하여 검출된 다형들은 그 유전양식이 밝혀지기 어렵고 여러개의 chromosome에 분포되어 있기 때문에 단순한 다형 이상의 이용이 어렵다.

지금까지의 가축개량은 여러가지 유전자가 복합적으로 작용하여 나타나는 산육량, 체구, 육질 등의 경제형질에 의하여 이루어져 왔으나 근래에 이르러 여러가지 첨단 축산기술이 개발되면서 특정 유전자가 미치는 영향을 고려하는 MAS(marker assisted selection)가 가능하게 되어 가축개량을 가속화하고 있다. 그러나 축산선진국에서는 이미 그 기술이 개발되어 그 효용성에 대한 검증이 끝나고 일반적으로 적용되고 있는 기술들을 국내에서는 적절히 이용하지 못하고 있는 실정이다.

이에 본 논문은 이러한 기술 중 국내에서 이미 적용하고 있거나 가까운 장래에 적용 가능한 축산기술을 중심으로 고찰하고자 한다.

## 본 론

### 1. 혈액형 검사(Blood-typing)

소의 혈액형 검사는 1940년대 미국에서 최초로

친자 확인을 위한 혈액형 검사를 시작한 이후 많은 나라에서 가축개량사업이 활발해지고 이에 따른 종축등록, 검정업무 등이 활발하여짐에 따라 정확한 혈통관리의 중요성이 증대되고 이에 혈액형 검사가 결정적인 역할을 할 수 있다는 것이 인정되면서 세계적으로 전파되었다. 현재 40여개국에서 혈액형 검사를 실시하고 있으며, 이는 등록사업 및 검정사업의 정확성을 제고하고 그 기초자료를 제공하고 있다(Stormont, 1978).

혈액형에 의한 친자 확인은 부모가 가지지 않은 어떤 유전자도 자손이 지닐 수 없다는 단순한 원리에 의한다. 즉 자손이 가진 어떤 유전자가 부모에 출현하지 않으면 그 친자 관계는 오류가 있다고 판단할 수 있다. 따라서 많은 종류의 유전자를 친자간에 비교하게 되면 거의 모든 친자 오류는 검출되게 된다.

소의 혈액형은 일반적으로 11개 시스템과 8개 단백질다형에 의하여 분류된다. 이 11개 시스템에는 약 90여개의 혈액형인자(항원)가 국제적으로 인정되고 있고 단백질다형으로는 8개 유전자좌가 이용되고 있다(ISAG, 1994, Table 1, 2). 이러한 혈액형 시스템의 각 항원과 단백질다형의 분석기술은 2년마다 국제비교시험을 통하여 표준화 되고 있고, 이에 의하여 혈액형 검사 자료의 국제교류도 가능하여지는 것이다.

국내의 혈액형 검사는 축협 소 혈액형실험실에서 국제공인된 40여종의 표준혈청과 8개 유전자좌를 이용하여 분석하고 있으며, 1991년부터 실무에 적용하고 있다. 실제 국내에서 처음 혈액형 검사가 도입되었을 때는 40%를 넘어서는 친자오류가 발견되었으나 현재에는 10% 미만으로 점차 줄어들고 있는 추세이다.

이러한 친자 오류의 가능성은 상상외로 많은 단계에 존재한다. 주요한 친자 오류의 가능성을 분석해보면 다음과 같다.

- 1) 정액 생산단계에서의 오류
- 2) 인공수정시 정액번호의 오기
- 3) 재수정 후 정액번호의 미기입
- 4) 분만 후 명호 부착시 오류
- 5) 다두사육시 친자관계의 어미-송아지 관계의 혼란

Table 1. Internationally recognized bovine blood group systems and factors reported in I.S.A.G. comparison test, 1993/ 94

System	Factor
A	A1, A2, D, H, Z'
B	B1, B2, G1, G2, G3, K, I1, I2, O1, O2, O3, O4, P1, P2, Q, T1, T2, Y1, Y2, A', B', D', E'1, E'2, E'3, E'4, F'1, F'2, G', I'1, I'2, J'1, J'2, K', O'1, O'2, P'1, P'2, Q', Y', A'', B'', D'', G'', I'', J'', F'', K'', O''
C	C1, C2, E, R1, R2, W, X0, X1, X2, C', L', X', C''1, C''2
F	F1, F2, V1, V2, N', V'
J	J
L	L
M	M1, M2, M'
S	S, H', U1, U2, U'1, U'2, H'', S'', U''
Z	Z1, Z2, Z+
R'	R', S'
T	T'

Table 2. Eight loci of blood proteins and alleles reported in I.S.A.G. comparison test, 1993/ 94

Loci	Alleles
Transferin	H, GKE, A, B, D1, D2, E, GSA, I, J
Post-transferin-2	F, S
Hemoglobin	A, B, C, I, D, DZAM, XBAL, E, G, H
Albumin	G, A, D, E, F, B, C
Post-albumin	A, B, C
Amylase-I	A, B, C
Carbonic anhydrase	C, F, S, SPI, Z
Ceruloplasmin	A, B, C

6) 수정란 이식 생산우의 기록 착오

7) 의도적인 친자 오류

따라서 이러한 친자 오류의 가능성에 의하여 현재 국내에서 등록되어 있는 소 가운데 약 40%이상이 친자 오류를 지니고 있다고 하여도 무리는 아닐 것

이다. 가축개량을 위하여 검정사업 및 혈통등록사업을 국가적인 사업으로 시행하고 있으면서 이러한 혈액형 검사를 아직도 실무에 적용시키지 않고 있다는 것은 부끄러운 일이다.

## 2. PCR-RFLP

### 1) 경제형질 관련 유전자 분석

카파카제인은 총 우유단백질의 8~15%, 베타 락토글로불린은 유청단백질의 주성분으로 총 우유단백질의 7~12%를 차지하는 유단백질의 주요 성분이다.

유우에 있어서 카파카제인의 유전자형이 BB형인 소가 AA형인 소보다 한 착유기간당 약 500kg 정도 유량이 더 많고(Schaar 등, 1985) 베타락토글로불린은 AA형인 소가 BB형인 소바 유단백질이 0.08%정도 높다고 한다(Marziali와 Ng-Kwai Hang, 1986). 즉 카파카제인 유전자형이 BB형이고 베타 락토글로불린 유전자형이 AA인 소가 유량 및 유질이 좋다. 따라서 분만후 비유량이 적어서 충분한 성장이 어려운 한우에 있어서 유량 및 유질에 영향을 미치는 이들 형질을 적용시킨다면 비유량 증대로 성장향상에 도움이 될 것으로 기대된다. 이외에도 베타 카제인, 알파 S2 카제인(Osta 등, 1995b) 및 알파 락토알부민(Osta 등, 1995a) 등에 대한 PCR-RFLP 분석기술이 정립되어 있다.

### 2) 특정 유전질환 검사 기법

#### (1) Bovine leukocyte adhesion deficiency(BLAD)

소 백혈구유착결손증(bovine leukocyte adhesion deficiency, BLAD)은 정상 소의 경우 염증이 생기면 이를 치료하는 백혈구가 염증부위로 이동하여 자연치유가 되나, 이 유전병을 가진 소는 백혈구를 염증부위로 이동토록 하는 인자가 결핍되어 염증치료가 정상적으로 이루어지지 않게 되는 유전질환으로(Nagahase와 Kanemaki, 1993) 종축을 사전에 검사함으로써 예방할 수 있다.

#### (2) Deficiency of uridine monophosphate synthase(DUMPS)

DUMPS은 주로 Holstein에서 나타나며 uridine

monophosphate synthase가 결핍되어 homozygous affected embryo가 임신 40일경 유실되고 heterozygote도 이 enzyme의 activity가 떨어져 우유나 오줌에서의 orotic acid의 수준이 높아지는 유전 질병이다(Shanks와 Robinson, 1989). 이 질병의 진단 역시 PCR-RFLP에 의하여 진단이 간단하게 이루어질 수 있게 되었다(Schwenger 등, 1993).

### 3) 성 특이 유전자 분석(Sex-specific gene typing)

Aasen과 Medrano(1990)은 Y chromosome specific한 ZFY(zinc-finger protein) 유전자를 PCR-RFLP를 통하여 분석함으로써 이 방법을 성 구별된 수정란(sexing embryo) 생산에 이용할 수 있게 되었다.

### 3. BoLA(Bovine Lymphocyte Antigen)

소 백혈구항원 시스템(bovine lymphocyte antigen ; BoLA)은 소의 major histocompatibility

complex(MHC)이며(Amorena와 Stone, 1978) 이는 23번 염색체상에 linkage group을 이루고 있다(Fries 등, 1986).

MHC gene은 T-cell 표면의 항원성을 나타내는 물질을 발현시킴으로써 면역반응에서 필수적인 역할을 한다(Allen 등, 1987). MHC gene은 그들의 면역학적인 성질에 따라 3개 그룹으로 나누어진다.

MHC class I molecule의 면역학적 기능은 CD 8+cytotoxic T lymphocyte의 제한 요소(restriction element)로서 작용하는 것이다. 즉 t-cell의 antigen receptor는 MHC class I의 gene product가 존재하여야만 항원을 인지할 수 있다. 이들은 모든 세포에 존재하며 foreign tissue에 대한 거부 반응을 나타낸다.

MHC class II분자는  $\beta$ -lymphocyte 및 탐식세포(macrophage)의 표면에 존재하며 면역반응에 필수적인 세포간 교류를 그 기능으로 한다.

MHC class III gene은 보체 단백질(complement protein)을 발현시키며 이들은 체액성 면역반응

Table 3. Primer sequences of kappa-casein, beta-casein, beta-lactoglobulin, alpha-lactalbumin, alpha-s2 casein, BLAD gene, DUMP gene and ZFY/ ZFX gene(Medrano Analysis Lab)

Loci	Size	Primer sequence
Kappa-CN (Exon IV)	350	Primer 1:5'-ATC ATT TAT GGC CAT TCC ACC AAA G-3'(25mer) Primer 2:5'-GCC CAT TTC GCC TTC TCT GTA ACA GA-3'(26mer)
Beta-CN (Exon VII)	233	Primer 1:5'-CCA GAC ACA GTC TCT AGT CTA TCC C-3'(25mer) Primer 2:5'-CAA CAT CAG TGA GAG TCA GGC TCC G-3'(25mer)
Beta-LG	262	Primer 1:5'-GTC CTT GTG CTG GAC ACC GAC TAC A-3'(25mer) Primer 2:5'-CAG GAC ACC GGC TCC AGG TAT ATG-3'(24mer)
Alpha-LA*	583	Primer 1:5'-TTC CTG GAT GTA AGG GTT GA-3'(18mer) Primer 2:5'-GGT ATG AAA CGC GGT ACA GA-3'(18mer)
Alpha-s2CN**	396	Primer 1:5'-TGT GTA TTC TCT TGA GCC AC-3'(18mer) Primer 2:5'-TGA TTT CTC CAT TGC TCA CC-3'(18mer)
BLAD	98	Primer 1:5'-GAC CTT CCG GAG GTC CAA GG-3'(20mer) Primer 2:5'-CCA GCT TCT TGA CGT TGA CG-3'(20mer)
DUMPS***	108	Primer 1:5'-GCA AAT GGC TGA AGA ACA TTC TG-3'(23mer) Primer 2:5'-GCT TCT AAC TGA ACT CCT CGA GT-3'(23mer)
ZFY /ZFX gene	445	Primer 1:5'-ATA ATC ACA TGG AGA GCC ACA AGC T-3'(25mer) Primer 2:5'-GCA CTT CTT TGG TAT CTG AGA AAG T-3'(25mer)

\* Osta 등, 1995a

\*\* Osta 등, 1995b

\*\*\* Schwenger 등, 1993

Table 4. Digestion restriction enzyme and fragment size of kappa-casein, beta-lactoglobulin, beta-casein, alpha-lactalbumin, alpha-s2 casein, BLAD gene, DUMP gene and ZFY/ ZFX gene(Medrano Analysis Lab)

Loci	Amplified fragment size (bp)	R. enzyme	Alleles /Restriction fragment size	
			A	B
$\kappa$ -CN	350	Hinf I	134, 132, 84	266, 84
$\beta$ -CN	233	Msp I	34, 115, 84	233
$\beta$ -LG	262	Hae III	153, 109	74, 79, 109
$\alpha$ -LA*	583	Msp I	5833	393, 190
$\alpha$ s2-CN**	396	Mnl I	272, 124(A)	396(D)
BLAD	98	Hae III	33, 65(-)	98(+)
		Taq I	98(-)	30, 68(+)
DUMPS***	108	Ava I	53, 36, 9(-)	89, 9(+)
ZFY /ZFX	445	Pst I	445(Female)	344, 103(Male)

(humeral immune response)에서 항원-항체 결합물(antigen-antibody complex)이 용해되도록 하는 기능을 가지고 있다.

이중 가장 많은 다형을 지니고 있고 면역반응에 중심적인 역할을 하는 BoLA class II gene에는 두 개의 DQA와 DQB gene, 하나의 DRA와 세 개의 DRB gene, DNA와 DOB의 gene 및 DIB, DYA, DYB gene이 보고되어 있다(Stone과 Muggli-Cocckett, 1990).

BoLA class II의 단백질과 gene의 다형을 검출하는데에는 여러가지 방법이 이용되고 있다. 혈청학적인 방법, 일차원 등전점 전기영동(1-D IEF)이 단백질 다형의 검출에 이용되고 있고, 분자유전적인 차이를 규명하기 위하여 RFLP(restriction fragment length polymorphism), DNA sequencing 등이 이용되고 있다(Sigurdadottir 등, 1991).

사람의 백혈구 항원 유전자(HLA)의 DNA sequence을 이용할 수 있게 되고(Marsh와 Bodmer, 1991) PCR 기술이 개발됨에 따라(Saiki 등, 1988) sequence-based HLA typing 방법이 개발되게 되었으며 보다 쉽게 HLA class II의 다형현상을 검출할 수 있게 되었다. 이 방법들은 single-stranded oligonucleotide를 이용하거나(Erlich 등, 1991) 제한효소를 이용하여(PCR-RFLP, Bekker와 Eastal, 1990) HCA class II gene의 다형을 분석하는 방법이다. 이 중 PCR-RFLP 방법은 DPB1, DQAQ, DQB1, DQB2, DRB1, DRB3 및 DRB4의  $\beta$ -

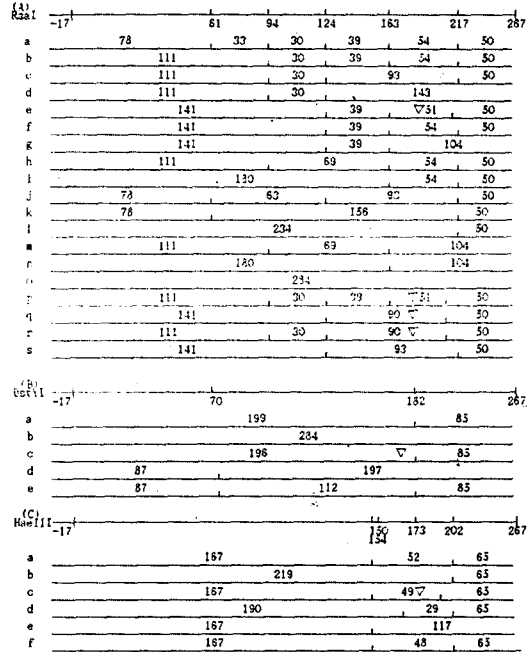


Fig. 1. Restriction enzyme sites defining 19 Rsa I patterns(A), five BstY I patterns(B) and six Hae III patterns(C) of the second-round PCR product of BoLA-DRB3 exon2(Eijk 등, 1992).

domain을 분석하는데 매우 유용한 방법이었다. 소에서도 BoLA-DRB 3 allele의 염기배열이 보고되면서 PCR-RFLP를 이용하여 이를 분석하여 3가지의

Table 5. Primers sequences of 31 microsatellite of ISAG DNA comparison test, 1995

Microsatellite	Chromosome	Primer sequences (5'-3')	Multiplex
ETH 10 (210-226 bp)	5	P1 : GTT CAG GAC TGG CCC TGC TAA CA P2 : CCT CCA GCC CAC TTT CTC TTC TC	1
ETH 225 (140-156 bp)	9	P1 : GAT CAC CTT GCC ACT ATT TCC T P2 : ACA TGA CAG CCA GCT GCT ACT	1
ETH3 (117-129 bp)	19	P1 : GAA CCT GCC TCT CCT GCA TTG G P2 : ACT CTG CCT GTG GCC AAG TAG G	1
INRA005 (119-223 bp)	12	P1 : TTC AGG CAT ACC CTA CAC CAC ATG P2 : AAA TAT TAG CCA ACT GAA AAC TGG G	2
INRA023 (197-223 bp)	3	P1 : GAG TAG AGC TAC AAG ATA AAC TTC P2 : TAA CTA CAG GGT GTT AGA TGA ACT C	2
INRA063 (176-186 bp)	18	P1 : ATT TGC ACA AGC TAA TGC TAA CC P2 : AAA CCA CAG AAA TGC TTG GAA G	2
HEL 13 (198)	11	P1 : TAA GGA CTT GAG ATA AGG AG P2 : CCA TCT ACC TCC ATC TTA AC	3
HEL 5 (161)	21	P1 : GCA GGA TCA CTT GTT AGG GA P2 : AGA CGT TAG TGT ACA TTA AC	3
HEL 1 (110)	15	P1 : CAA CAG CTA TTT AAC AAG GA P2 : AGG CTA CAG TCC ATG GGA TT	3
BM1818 (270-258 bp)	23	P1 : AGC TGG GAA TAT AAC CAA AGG P2 : AGT GCT TTC AAG GTC CAT GC	4
BM1824 (178-190 bp)	1	P1 : GAG CAA GGT GTT TTT CCA ATC P2 : CAT TCT CCA ACT GCT CAT GC	4
BM2113 (125-143 bp)	2	P1 : GCT GCC TTC TAC CAA ATA CCC P2 : CTT CCT GAG AGA AGC AAC ACC	4
CSSMO22 (233-203 bp)	5	P1 : TCT CTC TAA TGG AGT TGG TTT TTG P2 : ATA TCC CAC TGA GGA TAA GAA TTC	5
CSSMO16 (185-155 bp)	(U16)	P1 : GAT GCA GTC TCC ACT TGA TTC AAA P2 : AGA GCC ACT TGT TAC ACC CCA AAG	5
CSSMO14 (147-133 bp)	4	P1 : AAA TGA CCT CTC AAT GGA AGC TTG P2 : AAT TCT GGC ACT TAA TAG GAT TCA	5
SPS115 (262-240 bp)	15	P1 : AAA GTG ACA CAA CAG CTT CTC CAG P2 : AAC GAG TGT CCT AGT TTG GCT GTG	6
CSSMO36 (185-163 bp)	14	P1 : GGA TAA CTC AAC CAC ACG TCT CTG P2 : AAG AAG TAC TGG TTG CCA ATC GTG	6
SPS113 (156-133 bp)	10	P1 : CCT CCA CAC AGG CTT CTC TGA CTT P2 : CCT AAC TTG CTT GAG TTA TTG CCC	6
CSSMO42 (222-165 bp)	2	P1 : GGG AAG GTC CTA ACT ATG GTT GAG P2 : ACC CTC ACT TCT AAC TGC ATT GGA	7
CSSMO47 (171-141 bp)	8	P1 : TCT CTG TCT CTA TCA CTA TAT GGC P2 : CTG GGC ACC TGA AAC TAT CAT CAT	7

TGLA48 (5 pmol /  $\mu$ L, each primer)

Forward : 5'-Tet-AAA TGT TTT ATC TTG ACT ACT AAG C-3'

Reverse : 5'-ACA TGA CTC TGC CAT AGA GCA T-3'

TGLA263 (5 pmol /  $\mu$ L, each primer)

Table 5. 계속

Microsatellite	Chromosome	Primer Sequences (5'-3')	Multiplex
		Forward : 5'-Tet-CAA GTG CTG GAT ACT ATC TGA GCA-3' Reverse : 5'-TTA AAG CAT CCT CAC CTA TAT ATG C-3'	
TGLA53	(5 pmol / $\mu$ L, each primer)	Forward : 5'-Tet-GCT TTC AGA AAT AGT TTG CAT TCA-3' Reverse : 5'-ATC TTC ACA TGA TAT TAC AGC AGA-3'	
MGTG7	(5 pmol / $\mu$ L, each primer)	Forward : 5'-Tet-TTC ATT GCA GCA CTA TTT ACA ATA G-3' Reverse : 5'-TAA GTT CCC TGT ATC ATT TTT TGA A-3'	
TGLA57	(5 pmol / $\mu$ L, each primer)	Forward : 5'-Fam-GCT TTT TAA TCC TCA GCT TGC TG-3' Reverse : 5'-CTT TCT CTT TAA ATT CTA TAT GGT-3'	
TGLA73	(5 pmol / $\mu$ L, each primer)	Forward : 5'-Fam-GAG AAT CAC CTA GAG AGG CA-3' Reverse : 5'-CTT TCT CTT TAA ATT CTA TAT GGT-3'	
MGTG4B	(5 pmol / $\mu$ L, each primer)	Forward : 5'-Fam-GAG CAG CTT CTT TCT TTC TCA TCT T-3' Reverse : 5'-GCT CTT GGA AGC TTA TTG TAT AAA G-3'	
AGLA293	(5 pmol / $\mu$ L, each primer)	Forward : 5'-Fam-GAA ACT CAA CCC AAG ACA ACT CAA G-3' Reverse : 5'-ATG ACT TTA TTC TCC ACC TAG CAG A-3'	
TGLA227	(5 pmol / $\mu$ L, each primer)	Forward : 5'-CGA ATT CCA AAT CTG TTA ATT TGC T-3' Reverse : 5'-Hex-ACA GAC AGA AAC TCA ATG AAA GCA-3'	
TGLA126	(5 pmol / $\mu$ L, each primer)	Forward : 5'-CTA ATT TAG AAT GAG AGA GGC TTC T-3' Reverse : 5'-Hex-TTG GTC TCT ATT CTC TGA ATA TTC C-3'	
TGLA122	(5 pmol / $\mu$ L, each primer)	Forward : 5'-CCC TCC TCC AGG TAA ATC AGC -3' Reverse : 5'-Hex-AAT CAC ATG GCA AAT AAG TAC ATA C-3'	

제한효소를 이용하여 모두 30개의 대립형질을 구분할 수 있었다(Eijk 등, 1992, Fig. 1). 이는 질병 저항성과 밀접한 관련이 있는 유전자로서 이용될 수도 있으며, 매우 큰 다형현상으로 친자확인에도 큰 효용성을 지닌다. 또한 집단간의 집단유전학적인 도구로도 접근이 가능하다.

PCR-RFLP는 BoLA gene의 다형을 분석하는데 매우 적합하고 세밀한 방법이라 할 수 있다. 이 방법은 다른 방법과는 달리 방사선 동위원소를 쓰지 않아도 되고 적절한 장비만 갖춘다면 다수의 시료를 분석할 수 있다는 장점을 가지고 있다.

#### 4. Microsatellite typing

Microsatellite는 DNA에 존재하는 작은 반복 구조물(수십 ~ 수백 base pair)로서 전체 DNA에 분포하고 있으며(50,000~60,000 bp 마다) 많은 유전적 다형 현상을 보이는 작은 단위(2~5 base pair)로 linkage analysis, physical gene mapping(Luty 등, 1990), 질병진단 및 개체 식별(Edwards 등, 1992)에 매우 유용한 수단으로 이용되고 있다.

Microsatellite는 PCR에 의하여 재현성 있게 증폭되어 DNA 수준에서의 정확한 유전자 분석이 가능하며(Edwards 등, 1989) 유전적 다형의 보고(寶

庫)라고 할 수 있어 현재까지 소에서는 약 400여개의 microsatellite가 보고되어 있으며 그 수는 급속히 늘어갈 것으로 예상되고 있다.

Microsatellite typing은 여러가지 장점을 가지고 있다. 첫째, 매우 많은 다형을 지니고 있어 유전적 변이가 크고 둘째, 쉽게 증폭 및 분석이 가능하여 재현성이 높으며 셋째, 독립적으로 유전되고 chromosome location을 알 수 있고 넷째, 다수의 시료를 분석하기 위한 자동화가 용이하다는 것이다(Fregau, C. J. 와 R. M. Fourney, 1993).

Microsatellite typing이 실제적으로 이용되기 시작하면서 국제적으로 그 분석 결과에 대한 상호비교가 필요하게 되어 국제동물유전학회(ISAG)에서는 1993년 처음으로 3가지의 microsatellite에 대한 국제비교시험을 시행하여 몇가지 문제점을 도출해 내어 해결하였다. 이어 1995년 도출된 문제점들을 해결할 수 있는 방법으로 31가지의 Microsatellite에 대하여 비교시험을 실시하고 있는 중이다(Table 5).

## 결 론

이상에서 이미 실용화되고 있거나 빠른 시일내에 적용될 수 있는 유전적 다형의 이용에 대하여 간략히 서술하였다. 국내에서도 이러한 연구가 많이 이루어졌으나 실용화 되고 있는 축산 기술은 그리 많지 못한 실정이고, 연구 개발된 기술들을 실무에 적용시키기 위한 조직적이고 체계적인 노력이 부족한 실정이다. 기술을 연구 개발하는 것이 궁극적으로 실용화를 목적으로 한다면 이에 보다 많은 노력을 기울여야 할 것이다.

## 참고문헌

- Aasen E and Medrano JF. 1990. Amplification of the ZFY and ZFX genes for sex identification in human, cattle, sheep and goats. *Bio/Technology* 8, 1279-1280.
- Allen PM, Babbitt BP and Unanue ER. 1987. T-cell recognition of lysozyme : the biochemical basis of presentation. *Immunol. Rev.* 98:171-87.
- Amorena B and Stone WH. 1978. Serologically defined(SD) locus in cattle. *Science* 201: 159-60.
- Bekker JW and Eastel S. 1990. HLA-DP typing by amplified fragment length polymorphisms(AFLPs). *Immunogenetics* 32:56-9.
- Edwards A, Gibbs RA, Nguyen PN, Ansorge W and Caskey CT. 1989. Automated DNA sequencing methods for detection and analysis of mutation : Application of the Lesch-Nyhan syndrom. In "Transactions of the Association Physicians." Vol C II, pp. 185-194, 1989.
- Eijk MJT, Stewart-Haynes JA and Lewin HA. 1992. Extensive polymorphism of BoLA-DRB3 gene distinguished by PCR-RFLP. *Anim. Genet.* 23:483-496.
- Erlich H, Bugawan T, Begovich AB, Scharf S, Griffith R, Saikl R, Higuchi R and Walsh PS. 1991. HLA-DR, DQ and DP typing using PCR amplification and immobilized probes. *Eur. J. of Immunogenet.* 18:33-55.
- Fregau CJ and Fourney RM. 1993. DNA typing with fluorescently tagged short tandem repeats : A sensitive and accurate approach to human identification. *Biotechnology* 15:100-119.
- Fries R, Hediger R and Klein J. 1988. Tentative chromosomal localization of the bovine major histocompatibility complex by *In Situ* hybridization. *Anim. Genet.* 17:287-94.
- ISAG. 1994. The results of comparison test.
- Luty JA, Guo Z, Willard HF, Ledbetter DH, Ledbetter S and Litt M. 1990. Five polymorphic microsatellite VNTRs on the human X chromosome. *Am. J. Hum. Genet.* 46:776-783.
- Marsh SGE and Bodmer JG. 1991. HLA class II nucleotide sequences, 1991. *Immunogenetics* 33:321-34.



- Nagahase H and Kanemaki M. 1993. Bovine Leukocyte Adhesion Deficiency in Holstein Cattle. *Can. J. Vet. Res.* 57:255-261.
- Osta R, Garcia E and Zarazaga I. 1995. A MspI polymorphism at the bovine  $\alpha$ -lactoglobulin gene. *Anim. Genet.* 26:204.
- Osta R, Marcos S and Rodellar C. 1995. A Mnl I polymorphism at the bovine  $\alpha$ -s2-casein gene. *Anim. Genet.* 26:213.
- Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, Scharf SJ, Higuchi R, Horn GT, Mullis KB and Erlich HA. 1988. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 239:487-91.
- Schwenger B, Schober S and Simon D. 1993. DUMPS cattle carry a point mutation in the uridine monophosphate synthase gene. *Genomics* 16:241-244.
- Shanks RD and Robinson JL. 1989. Embryonic mortality attributed to uridine monophosphate synthase in Holstein cattle; Inheritance and body measurements. *J. Anim. Sci.* 64:695-700.
- Sigurdardottir S, Borsch C, Gustafsson K and Andersson L. 1991. Cloning and sequencing of 14 DRB alleles of the bovine major histocompatibility complex using the polymerase chain reaction. *Anim. Genet.* 22:199-209.
- Stone RT and Muggli-Cockett NE. 1990. partial nucleotide sequence of a novel major histocompatibility complex class II  $\beta$ -chain gene, BoLA-DIB. *Anim. Genet.* 21:353-60.
- Stormont C. 1978. The early story of cattle blood groups. *Immunogenet. Lett.* 6:1-15.