

제주마 Transferrin Gene Exon 13, 15 및 16의 다형현상

김남영* · 이성수** · 양영훈*

제주대학교 동물자원과학과*, 농촌진흥청 제주농업시험장**

Polymorphisms of the Exons 13, 15 and 16 of Transferrin Gene in Cheju Horses

N. Y. Kim*, S. S. Lee** and Y. H. Yang*

Department of Animal Biotechnology, Cheju National University*,

National Jeju Agricultural Experiment Station, R. D. A**

ABSTRACT

This study was conducted to determine the polymorphism of transferrin exons 13, 15 and 16 by Single-Strand Conformation Polymorphism(SSCP) analysis and to compare their genotypes of Cheju horse Group I (Cheju Institute), Cheju horse Group II (farms), and Thoroughbred (KRA). SSCP of transferrin exon 13, 15, and 16 showed two (A, B), three (A, B, C) and three (A, B, C) codominant alleles, respectively. The Group I and Thoroughbred showed the similar frequencies of allele A and B in transferrin exon 13, but only allele A was observed in Group II. In transferrin exons 15 and 16, the frequencies of each allele were different in each Groups. The multiple allele frequencies in exons 15 and 16 suggested that the genotyping of this locus could be used to identify an individual and to test the parentage of offspring. The probability for parentage exclusion were 0.46 and 0.374 for exons 15 and 16 for Cheju horse Group I. Among the 13 combined genotypes of exons 13, 15 and 16, the genotype AA-AB-AB (0.372) is the most common in Cheju horse Group I, but genotype AA-AA-AA is common in the Cheju horse Group II (0.366) and Thoroughbred (0.767). The present study showed two new SNP, which was at the cDNA position 1626 (A/G) in B allele of the exon 13 and 2075 (C/T) in C allele of the exon 16 resulting in amino acid change (Threonine → Methionine). Result showed that polymorphism of exons 13, 15 and 16 in Cheju horses was as high as in Thoroughbred and there was a differences of transferrin allele frequencies in Cheju horses.

(Key words : SSCP, Transferrin, SNP, Cheju Horse)

I. 서 론

제주마는 국내 유일의 재래마로 1985년에 천연기념물로 지정되어 현재까지 보존되고 있다. 과거 제주마에 대한 연구는 체형(Lee, 1961; Choung et al, 1991; Yang et al., 1991; Yang et

al., 1996)과 혈액 단백질 다형성(Oh et al. 1992, Oh et al. 1995, Kim et al. 1995, and Shin et al., 1999) 등이 주류를 이루었으며, 최근에 Kim 등(1999)에 의해 mtDNA D-loop을 분석하여 제주마와 타품종의 혈연관계에 대해 보고하였다. 그러나 제주마에 대한 유전학

본 연구는 2001년도 제주대학교 발전기금으로 수행되었음.

Corresponding author : N. Y. Kim, Department of Animal Biotechnology, Cheju National University, Jeju 690-756. Korea. Phone : 064-754-3338. Fax : 064-725-2403 e-mail : rat1121@hanmail.net

적 연구가 부족하여 유전적 특성을 확인하기 어려운 실정이다. 따라서, 최근에 발전하고 있는 분자유전학적 연구를 통해 제주마의 유전적 특성을 파악하는 것이 시급하다.

Transferrin은 포유류 혈청에 존재하는 철 운반 당단백질로 세포의 증식과 감염저항에 중요한 역할을 한다(Lehninger, 1982; Alberts. B et al., 1989). Transferrin의 구조와 철결합부위에 대한 연구가 수행 됐었고(Baily et al., 1988; Anderson et al., 1989, Baker et al., 1987), 사람, 마우스, 닭의 Transferrin은 17개의 exon을 갖으며 구조가 유사한 것으로 확인되었다(Schaeffer et al., 1987; Shirsat et al., 1992; Ghareeb et al., 1998). 말의 혈청 transferrin 단백질은 13가지 형태가 확인되었고, 이런 다형성을 이용하여 개체식별과 친자감별에 이용되고 있다(Bowling, 1996). 말의 transferrin cDNA sequence는 706개의 아미노산을 구성하는 2305bp로 되어있으며(Carpenter et al., 1993), 내부적으로 중복된 구조를 가지고 있다. 말의 transferrin sequence는 돼지, 사람, 토끼와 각각 73.7%, 73.4%, 72.8%의 상동성을 갖고(Carpenter et al. 1993), 염색체 16q23 부위에 위치하고 있다(Lear et al. 1999).

제주마에 대한 연구는 대부분 형태학 및 혈액 단백질 다형성에 대해 집중되어 분자유전학적 연구는 찾아보기 어려웠다. 따라서 본 연구는 제주마 transferrin exon 13, 15, 16의 다형성을 분석하여 제주마 transferrin의 특성을 구명하고자 수행하였다.

II. 재료 및 방법

1. 공시재료

본 연구에 사용된 공시재료는 제주도 축산진흥원 사육 보유종인 제주마 137두(Group I), 능가 사육 제주마 30두(Group II), 한국마사회 제주육성마목장에 사육중인 더러브렛 43두를 선정하여 각 공시축으로부터 혈액시료를 채취하였다.

2. 실험방법

(1) Genomic DNA의 분리 및 정제

혈액(10ml)로부터 genomic DNA의 추출 및 정제는 Miller 등(1988)의 방법을 일부 보완하여 실시한 후 수집된 DNA는 TE buffer에 용해하였다.

(2) Transferrin exon 13, 15, 16 primer의 설계 및 합성

각 Transferrin exon 13 (138bp), exon 15 (286bp), exon 16 (212bp)을 증폭하기 위해 아래의 primer를 이용하였다.

Exon 13

Forward 5'-TTT CCG TGA AGG CTG TGC CC-3'

Reverse 5'-CTG AAA GCC CCT GTG TAA CC-3'

Exon 15

Forward 5'-CAG TGA GAG AGC CTT GAC CA-3'

Reverse 5'-CAC CCG AGA AGA GAA GGT AG-3'

Exon 16

Forward 5'-GTC CTC ATG CAC TTT CTG TC-3'

Reverse 5'-GAG CAC TGT CTC AGG TTA GC-3'

Exon 13 primer는 Brandon 등 (1999)이 이용한 것이고, Exon 15, 16은 GenBank (M69020)에 등록된 Transferrin cDNA sequence(Capenter et al. 1993)를 이용하여 설계 후 합성하였다.

(3) Transferrin exon 13, 15, 16의 PCR 증폭

각 exon의 PCR 증폭은 PTC-100(MJ Research, USA)을 이용하였으며 반응 조건은 다음과 같이 실시하였다. 반응액은 0.2ml tube에 template DNA 50ng, primer 각 5pmol, dNTP 각 250μM, MgCl₂ 1.5mM, KCl 40mM, Tris-HCl 10mM 그리고 Taq DNA polymerase 0.75 unit을 첨가하여 PCR 반응액을 총 20μl로 조정하였다. PCR cycle은 94℃에서 2분간 pre-denaturation을 실시하고, 92℃에서 15초, annealing 온도는 exon 13과 16은 54℃에서 15초, exon 15는 58℃에서 15초를 실시했고, 72℃에서 extension은 30초를 실시하여 총 30 cycle 실시 후 72℃에서 5분간 반응 후 종료하였다.

(4) SSCP(Single Stranded Conformation Polymorphism) 분석

SSCP는 Orita 등 (1989)의 방법을 일부 보완하여 실시하였다. Loading mixture는 PCR product 8 μ l와 loading dye(91% N,N-dimethyl formamide, 5% glycerol, 20 mM Na2EDTA, 0.05% bromophenol blue, 0.05% w/v xylene cyanol. FF) 15 μ l를 혼합하여 93 $^{\circ}$ C에서 10분간 denaturing 후 4 $^{\circ}$ C에서 10분간 cooling하여 non-denaturing gel (10% w/v acrylamide : bis-acrylamide 37.5:1)에 loading하였다. 전기영동은 V20-set (SCIE-PLAS, Warwickshire, UK)을 이용하여 0.5 \times TBE buffer에서 exon 13과 16은 100V 전압에서 12시간, exon 15는 16시간동안 14 $^{\circ}$ C 온도를 유지하며 실시하였다. 전기영동 후 silver staining으로 DNA band를 발현시켜 개체별 유전자형을 판정하였다.

(5) Sequencing

각 유전자형에 따른 PCR product는 1.5% agarose gel에서 분리한 후 CONCERTTM Gel Extraction Systems (GIBCO, LIFE TECHNOLOGY)을 이용하여 추출하였다. 추출된 PCR product는 TOPO TA cloning kits (Invitrogen, CA, US)을 이용하여 pCR2.1-TOPO vecto에 cloning 하였다. PCR cycle sequencing은 SILVER SEQUENCETM DNA Sequencing System(Promega, Madison, WI)을 이용하여 실시하였다.

(6) 통계분석

Hardy-Weinberg 검정을 위해 chi-square value 를 분석하였다(Weaver et al., 1991; Gardner et al., 1991).

$$\chi^2 = \sum [(O - E)^2 / E],$$

O : 유전자형의 관찰치

E : 유전자형의 기대치

친자부정확률을 계산하기 위해 Jamieson 등 (1997)의 방법을 이용하였다.

$$p = 1 + \sum_{i=1}^n [p_i^2(2-p_i)]^2 - 2 \left[\sum_{i=1}^n p_i^2(2-p_i) \right]^2 + 4 \left(\sum_{i=1}^n p_i^3 \right)^2 - 4 \sum_{i=1}^n p_i^6$$

n : allele의 개수

pi : i 번째 allele의 빈도

III. 결 과

Transferrin exon 13은 2개의 allele(A, B)이 확인되었다(Fig. 1). AA 유전자형은 A1, A2 두 개의 band로 분리되었고, AB 유전자형은 A1, A2, B band로 분리되었으며, BB 유전자형은 찾을 수 없었다. A와 B allele의 빈도는 Group I에서는 0.993과 0.007, Thoroughbred horse에서는 0.977과 0.023으로 나타났으나, Group II에서는 B allele을 확인할 수 없었다(Table 1). A allele의 빈도는 Group I과 Thoroughbred horses에서 B allele 보다 높게 나타났다.

Transferrin exon 15에서는 세 개의 allele(A, B, C)이 확인되었고, 가능한 모든 조합 형태가 확인되었다(Fig. 1). SSCP 조건하에서 A1, B1, C1 band가 유사한 이동성을 보이므로 hetero 유전자형인 AB, AC, BC는 3개의 band로 확인되었다. 각 A, B, C allele의 빈도는 Group I에서는 0.398, 0.463, 0.139로 나타났고, Group II에서는 0.60, 0.283, 0.117로 나타났으며 Thoroughbred horses에서는 0.884, 0.023, 0.093으로 나타났다(Table 1). Thoroughbred horses에서 allele A의 빈도는 다른 그룹보다 높게 나타났다. Group I과 Group II에서는 모든 조합형이 확인되었으나, Thoroughbred horses에서는 단지 AA, AB, AC 유전자형만이 확인되었다. 그룹 내에서 높은 빈도를 보인 유전자형은 Group I은 AB(0.445), Group II는 AA(0.367)와 AB(0.333) 그리고 Thoroughbred horses에서는 AA(0.767)로 나타났다.

Transferrin exon 16에서는 exon 15와 같이 세 개(A, B, C)의 allele과 모든 조합형태의 유전자형이 확인되었다(Fig. 1). AA 유전자형은 한 개의 band를 보이고, BB와 CC 는 두 개의 band

Fig. 1. SSCP pattern of equine transferrin exon 13, 15, and 16.

Table 1. Genotype and allele frequencies of Transferrin exon 13, 15, and 16 in Cheju horses and Thoroughbred

Breeds	No. of horses	Exon 13				χ^2 *	p*
		Genotype		Allele			
		AA	AB	A	B		
Cheju	Group I	135 (98.5)	2 (1.5)	272 (99.3)	2 (0.7)	33.37	<0.001
	Group II	30 (100)	-	60 (100)	-		
Thoroughbred	43	41 (95.3)	2 (4.6)	84 (97.7)	2 (2.3)	9.88	<0.005

Breeds	No. of horses	Exon 15									χ^2 *	p*
		Genotype						Allele				
		AA	BB	CC	AB	AC	BC	A	B	C		
Cheju	Group I	18 (13.1)	22 (16.1)	2 (1.5)	61 (44.5)	12 (8.7)	22 (16.1)	109 (39.8)	127 (46.3)	38 (13.9)	5.38	>0.1
	Group II	11 (36.7)	3 (10.0)	1 (3.3)	10 (33.3)	4 (13.3)	1 (3.3)	36 (60.0)	17 (28.3)	7 (11.7)		
Thoroughbred	43	33 (76.7)	-	-	2 (4.7)	8 (18.6)	-	76 (88.4)	2 (2.3)	8 (9.3)	10.4 1	<0.025

Breeds	No. of horses	Exon 16									χ^2 *	p*
		Genotype					Allele					
		AA	BB	AB	AC	BC	A	B	C			
Cheju	Group I	32 (23.4)	17 (12.4)	73 (53.3)	10 (7.3)	5 (3.6)	147 (53.6)	112 (40.9)	15 (5.5)	5.39	>0.1	
	Group II	14 (46.7)	3 (10.0)	13 (43.3)	-	-	41 (68.3)	19 (31.7)	-			0.11
Thoroughbred	43	43 (100)	-	-	-	-	86 (100)	-	-	-	-	-

Percentages are in parentheses. Group I : Horses from Cheju Institute
 * : Chi-square value and probability for H-W equilibrium test.

Group II : Horses from farms

Table 2. Genotype frequencies of transferrin gene by combination of exons 13, 15 and 16

Allele exon13-exon15-exon16	Cheju horse group I		Cheju horse group II		Thoroughbred	
	No. of individual	Frequency	No. of individual	Frequency	No. of individual	Frequency
AA-AA-AA	18	0.131	11	0.366	33	0.767
AA-AB-AB	51	0.372	10	0.333	-	-
AA-AB-AC	9	0.066	-	-	-	-
AA-AC-AA	12	0.088	2	0.066	8	0.186
AA-AC-AB	-	-	2	0.066	-	-
AA-BB-BB	16	0.117	3	0.1	-	-
AA-BB-BC	5	0.036	-	-	-	-
AA-BC-AB	21	0.153	1	0.033	-	-
AA-BC-AC	1	0.007	-	-	-	-
AA-CC-AA	2	0.015	1	0.033	-	-
AB-AB-AA	-	-	-	-	2	0.046
AB-AB-AB	1	0.007	-	-	-	-
AB-BB-BB	1	0.007	-	-	-	-
Total	137	1	30	1	43	1

로 분리되었으며, AB와 AC 유전자형은 3개의 band로 분리되었다. 반면에 BC 유전자형은 B1, B2, C1, C2 4개의 band로 분리되었다. CC유전자형은 본 공시축에서는 확인되지 않았으나, 몇몇 Mongolian horses에서는 검출되었다(data not shown). Exon 16에서 각 allele의 빈도와 빈도가 높은 유전자형은 exon 15에서와 같이 그룹간에 차이를 확인할 수 있었다(Table 1).

Transferrin exon 13, 15, 16의 개체별 조합형은 13가지로 확인되었고(Table 2), 그룹간에 빈도차가 있었다. 가장 빈도가 높은 조합형은 Group I은 AA-AB-AB (0.372), Group II는 AA-AA-AA (0.366) 그리고 Thoroughbred horses는 AA-AA-AA (0.767)로 나타났다.

Transferrin exon 13에서는 총 3개 부위의 SNP를 확인 할 수 있었다(Fig. 2). Brandon 등 (1999)은 cDNA sequence 1582bp, 1604bp 위치에 SNP를 보고하였으나, 본 실험에서는 1582bp, 1626bp 위치에서만 SNP가 확인되었다. 1626bp 위치의 새로운 SNP는 adenine이 guanine으로 치환되었으나 amino acid sequence는 치환되지 않았다.

Brandon 등 (1999)은 exon 15에 17개 부위의

SNP를 보고하였으나 본 실험에서는 15개의 SNP만이 확인되었다(Fig. 2). exon 15의 A allele은 AF103835(Genbank access number)와 같았고, B allele은 14개의 SNP가 확인되었으며, C allele은 15개의 SNP가 확인되었다. C allele은 cDNA sequence 1750bp, 1846bp에서 B allele과 차이를 보였다.

Exon 16은 총 4개 부위에서 SNP가 확인되었다. Exon 16의 A allele은 AF103856 (Genbank access number)과 같았고, B allele은 cDNA sequence 1979bp(C/T) 위치에 SNP가 확인되었고, C allele은 1945bp(C/G), 2011bp(C/G) and 2075bp(C/T)에 SNP가 확인되었다. 2075bp 위치의 SNP는 본 실험에서 새로이 관찰되었으며, amino acid가 치환되었다(threonine/methionine).

IV. 고 찰

SSCP 분석방법은 sequence 상의 point mutation을 쉽게 검출할 수 있는 방법으로 RFLP나 PCR-direct sequencing 보다 경제적이며, 다수의 sample을 처리할 수 있다. 본 연구는 SSCP를 통해 Transferrin gene exon 13, 15,

```

Exon 13 1578
AF103819 CTGCAATCTG TGTATTGGCT CCGCAAGTGG TCCAGGAAGG GAGTGTGAAC
AF103826 -----A-----
AF103832 -----G-----
TF13AA -----G-----
TF13AB-A -----G-----
B -----G-----G-

Exon 15 1736 1766 1806 1826
AF103835 GACGTAACCC TGACGATTGG... TGAAGAGTGA AAACITTTAAG CTGCTATGTC... TAGGAAGTCT... TCAAAAGCTG
AF103839 --T-----
AF103845 -----A-----G-----C-----C-----G-----TG-G-----
AF103848 -----G-----C-----C-----G-----TG-G-----
AF103868 -----G-----C-----C-----G-----TG-G-----
TF15AA -----G-----
TF15BB -----G-----C-----C-----G-----TG-G-----
TF15CC -----A-----G-----C-----C-----G-----TG-G-----
TF15AB-A -----G-----C-----C-----G-----TG-G-----
B -----G-----C-----C-----G-----TG-G-----
TF15AC-A -----A-----G-----C-----C-----G-----TG-G-----
C -----A-----G-----C-----C-----G-----TG-G-----
TF15BC-B -----G-----C-----C-----G-----TG-G-----
C -----A-----G-----C-----C-----G-----TG-G-----

1836 1896
AF103835 CTACCTAGCC CG... TTGCCAGGAG TTACACAACC
AF103839 -----
AF103845 -A----- GA... -C-G-A-----G-----
AF103848 -A----- AA... -C-G-A-----G-----
AF103868 -A----- GA... -C-G-A-----TG-----
TF15AA -----
TF15BB -A----- AA... -C-G-A-----G-----
TF15CC -A----- GA... -C-G-A-----G-----
TF15AB-A -----
B -A----- AA... -C-G-A-----G-----
TF15AC-A -----
C -A----- GA... -C-G-A-----G-----
TF15BC-B -A----- AA... -C-G-A-----G-----
C -A----- GA... -C-G-A-----G-----

Exon 16 1941 1971 2011 2071
AF103856 AAGTCACTGC... CCACTCAGCC... CAATGTTTGG... CTCACGGC
AF103864 -----T-----
AF103866 ---G-----G-----
TF16AA -----
TF16BB -----T-----
TF16CC ---G-----G-----T---
TF16AB-A -----
B -----T-----
TF16AC-A -----
C ---G-----G-----T---
TF16BC-B -----T-----
C ---G-----G-----T---

```

Fig. 2. Nucleotide sequences of transferrin exon 13, 15, and 16. The number above sequence is in accordance with cDNA sequence of transferrin gene(GenBank M69020. ref. no. 7). AF103819, AF103826 and AF103832 in exon 13, AF103835, AF103839, AF103845, AF103848 and AF103868 in exon 15 and AF103856, AF103864, AF103866 in exon 16 are GenBank access number of each exons. TF13AA, TF13AB, TF15AA, TF15BB, TF15CC, TF15AB, TF15AC, TF15BC, TF16AA, TF16BB, TF16CC, TF16AB, TF16AC, TF16BC are genotype of each exons.

16의 다형성을 확인하여 제주마 집단 유전적 특성을 확인하기 위해 수행되었다. 제주마 Geoup I, II 그리고 Thoroughbred

horses 집단간에 exon 15와 16의 유전자형 빈도에 차이가 있음을 확인하였다. 이는 Shin 등 (1999)이 Cheju horses, Cheju racing horse와

Thoroughbreds 집단에서 혈청 Transferrin 단백질에 차이가 있다고 보고한 내용과 일치한다. 또한 Transferrin exon 13, 15, 16의 13가지 유전자형 조합도 집단간에 차이를 확인할 수 있었다. 그러나 이런 유전자 빈도의 차이가 각 집단의 특이한 유전적 차이에 의한 것인지 또는 제주마와 Thoroughbred horse 집단간의 교잡에 의한 것인지는 명확하지 않다.

Carpenter 등 (1994) 과 Brandon 등 (1999)은 exon 15에 17개 부위의 SNP를 보고하였으나 본 결과에서는 15개 부위의 SNP만이 확인되었고, 염기치환은 보고된 내용과 일치하였다. 그러나 exon 13과 16에서는 새로운 SNP를 확인할 수 있었다. Exon 13에서는 1626bp 위치에 synonymous mutation이었고, exon 16에서는 2075bp 위치에 non-synonymous mutation으로 amino acid가 치환되었다.

제주마 Group I의 exon 15와 16의 친자 부정확률 추정치는 각각 0.46과 0.374로 나타났으며, SSCP로 분석된 각 allele에 따른 sequence가 확인되었고, Transferrin gene이 멘델유전하므로 SSCP에 의한 분석방법은 제주마 개체식별과 친자감별에 사용 가능하리라 예상된다.

본 연구결과 Transferrin gene에서 제주마 집단은 Thoroughbred horse 보다 높은 다형성을 확인할 수 있었으며, 제주마 집단간에 유전자형 빈도차를 확인 할 수 있었다. 제주마 Group I은 제주도 축산진흥원에서 폐쇄적으로 번식되었고, Group II는 농가에서 개방적으로 번식되어 두 집단의 번식처에 의해 유전자형의 차이를 보인 것으로 사료된다. 이런 유전적 차이가 제주마의 유전적 특성인지는 불확실하므로, 이와 관련된 연구가 계속 수행되어야 한다고 본다.

V. 요약

본 연구는 제주마집단(Group I, 제주도 축산진흥원 사육, 137두; Group II, 농가사육, 30두)과 더러브렛 품종집단(한국마사회 육성마목장, 43두)을 이용하여 SSCP를 통한 Transferrin exon 13, 15, 16의 다형현상 확인과 각 SSCP

유전자형의 염기서열을 분석하기 위하여 수행하였다.

공시재료에서 SSCP에서 관찰된 band에 의한 분석결과 대립인자는 exon 13, 15 및 16에서 각각 2개(A,B), 3개(A,B,C) 및 3개(A,B,C)가 존재하는 것으로 확인되었다.

Transferrin exon 13에서 제주마와 더러브렛 집단 모두 A인자가 매우 높게 분포하고 있음이 확인되었다. exon 15에서는 그룹간의 빈도차를 확인 할 수 있었다. exon 15에서 높게 출현되고 있는 유전자형은 Group I에서 AB(0.445)형, Group II에서 AA(0.367)형, 더러브렛 품종에서는 AA(0.767) 유전자형이 가장 높은 빈도로 출현되어 제주마 집단간 또는 품종간에 빈도의 차이를 관찰할 수 있었다. exon 16에서는 Group I은 A, B, C 인자, Group II에서는 A 및 B 2종류의 인자형이 확인되었고 더러브렛 품종에서는 A인자형만 검출되었다. exon 16에서도 그룹간에 유전인자의 빈도차를 확인 할 수 있었다. 또한 exon 13, 15 및 16의 조합으로 형성된 개체의 유전자형은 전체 13종류가 출현되었고 이 조합도 그룹간 차이를 확인할 수 있었다. SSCP 유전자형에 따른 각 인자들에 대한 염기서열을 분석한 결과 exon 13과 16에서 각 1개의 새로운 SNP가 발견되었다.

본 연구결과 제주마 transferrin exon 13, 15, 16은 더러브렛 품종에서와 같이 높은 대립인자의 다형성을 보였으며, 각 Group 간 빈도차를 확인할 수 있었다.

VI. 인용 문헌

1. Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. and Watson, J. D. 1989. Molecular Biology of The Cell. 2nd ed., Garland Publishing, Inc., New York, U.S.A.
2. Anderson, B. F., Baker, H. M., Norris, G. E., Rice, D. W. and Baker, E. N. 1989. Structure of human lactoferrin: Crystal structure analysis and refinement at 2.8Å resolution. Journal of Molecular Biology. 209:711-734.
3. Baily, S., Evans, R. W., Garratt, R. C., Gorinsky, B., Hasnain, S., Horsburgh, C., Jhoti, H., Lindley, P. F., Mydin, A., Sarra, R. and Watson, J. L.

1988. Molecular structure of serum transferrin at 3.3-Å resolution. *Biochemistry*. 27:5804-5812.
4. Baker, E. N., Rumball, S. V. and Anderson, B. F. 1987. Transferrin: insights into structure and function from studies on lactoferrin. *Trends in biochemical science*. 12:350-353.
 5. Bowling, A. T. 1996. *Horse Genetics*. CAB International, Oxford Publications., P. 84-86.
 6. Brandon, R. B., Giffard, J. M. and Bell, K. 1999. Single nucleotide polymorphisms in the equine transferrin gene. *Animal Genetics*. 30:439-443.
 7. Carpenter, M. A. and Broad, T. E. 1993. The cDNA sequence of horse transferrin. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1173:230-232.
 8. Carpenter, M. A. and Broad, T. E. 1994. Polymorphism in the coding sequence of the horse transferrin gene. *Genome*. 37:157-165.
 9. Choung, C. C., Yang, Y. H., Kim, J. K. and Kang, M. S. 1991. Studies on the classification for the registration of the Cheju Native Horse. I. Body measurements by location, sex, and age. *Korean Journal of Animal Science*. 33(6):418-422.
 10. Gardner, E. J., Simmons, M. J. and Smustad, D. P. 1991. *Principles of Genetics*, 8th ed. John Wiley & Sons, Inc.
 11. Ghareeb, B. A. A., Thepot, D., Puissant, C., Cajero-Juarez, M. and Houdebine, L. M. 1998. Cloning, structural organization and tissue-specific expression of the rabbit transferrin gene. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1398:387-392.
 12. Jamieson, A. and Taylor, St. C. S. 1997. Comparisons of three probability formulae for parentage exclusion. *Animal Genetics*. 28:397-400.
 13. Kim, G. O. and Oh, M. Y. 1995. Polymorphism of Plasma Proteins by Two Dimensional Horizontal Electrophoresis in Cheju Native Horse. *Korean Journal of Animal Science*. 37(6):603-610.
 14. Kim, K. I., Yang, Y. H., Lee, S. S., Park, C., Ma, R., Bouzat, J. L. and Lewin, H. A. 1999. Phylogenetic relationships of Cheju horses to other horse breeds as determined by mtDNA D-loop sequence polymorphism. *Animal Genetics*. 30:102-108.
 15. Lear, T. L., Brandon, R., Masel, A., Bell, K. and Bailey, E. 1999. Horse alpha-1-antitrypsin, beta-lactoglobulins 1 and 2, and transferrin map to positions 24q15-q16, 28q18-qter, 28q18-qter and 16q23, respectively. *Chromosome Research*. 7:667.
 16. Lee, K. M. 1961. Biostatistic study on the type of the Cheju Horse in Quelpert. *Korean Journal of Animal Science*. 3:63-73.
 17. Lehninger, A. L. 1982. *Principles of Biochemistry*. Worth Publishers, Inc., New York, U.S.A.
 18. Miller, S. A., Dykes, D. D. and Polesky, H. F. 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*. 16(3):1215.
 19. Oh, M. Y., Ko, M. H., Kim, G. O., Kim, S. J., Chung, C. C. and Kim, K. I. 1992. Genetic variations of the blood proteins in Cheju Native Horses. *Korean Journal of Genetics*. 14(1):39-50.
 20. Oh, Y. S., Oh, M. Y., Kim, S. J., Kim, G. O., Ko, M. H. and Yang, Y. H. 1995. Phylogenetic study of Cheju and Tsushima Native Horses. *Korean Journal of Animal Science*. 38:324-329.
 21. Orita, M., Suzuki, Y., Sekiya, T. and Hayashi, K. 1989. Rapid and sensitive detection of point mutations and DNA polymorphisms using the polymerase chain reaction. *Genomics*. 5:874-879.
 22. Schaeffer, E., Lucero, M. A., Jeltsch, J. M., Py, M. C., Levin, M. J., Chambon, P., Cohen, G. N. and Zakin, M. M. 1987. Complete structure of the human transferrin gene. Comparison with the analogous chicken gene and human pseudogene. *Gene*. 56:109-116.
 23. Shin, J. A., Kim, S. H., Kim, Y. H., Chun, C. I. and Lee, K. K. 1999. Genetic Polymorphism of Serum Protein in Horses on Cheju. *Journal of Research Institute for Animal Biotechnology*. 14:149-157.
 24. Shirsat, N. V., Bittenbender, S., Kreider, E. L. and Rovera, G. 1992. Structure of the murine lactotransferrin gene is similar to the structure of other transferrin-encoding genes and shares a putative regulatory region with the murine myeloperoxidase gene. *Gene*. 110:229-233.
 25. Weaver, R. F. and Hedrick, P. W. 1991. *Basic Genetic*. Wm. C. Brown Publishers, IA 52001. U.S.A.
 26. Yang, Y. H., Chang, C. C., Lee, H. J. and Kang, T. S. 1991. Studies on the classification for the registration of the Cheju Native Horse. II. The effect of the Registration Grade on the Body Measurements of Cheju Native Horse. *Korean Journal of Animal Science*. 33(6):438-443.
 27. Yang, Y. H., Kim, J. and Cho, D. J. 1996. Estimation of the Growth Performance of Cheju Native Horse in Cheju Island. *Journal of Research Institute for Animal Biotechnology*. 11:9-28.
- (접수일자 : 2002. 7. 15 / 채택일자 : 2002. 8. 21)