

## PCR 기법을 이용한 한국재래산양 $\beta$ -casein 유전자의 특성

김지애 · 류승희 · 유성란 · 이준현 · 서길웅 · 김선균<sup>1</sup> · 상병찬

### Characteristics of $\beta$ -casein Gene using the PCR Technique in Korean Native Goat

Ji-Ae Kim · Seung-Heui Ryoo · Sung-Lan Yu · Jun-Heon Lee · Gil-Woong Seo  
Sun-Kyun Kim<sup>1</sup> · Byung-Chan Sang

#### ABSTRACT

This study was performed to provide the basic data for preservation and improvement of genetic resources according to finding genetic construction obtained from analysis of genetic characteristics of  $\beta$ -casein gene in Korean Native goat and Saanen using the PCR-RFLP. This study confirmed the amplified products of 481bp fragments obtained from the amplification of  $\beta$ -casein loci by PCR. The  $\beta$ -casein AB genotype showed 481, 284 and 197bp, and  $\beta$ -casein BB genotype showed 284 and 197bp fragments in Korean Native goat and Saanen. The frequencies of  $\beta$ -casein genotype in Korean Native goat were 6.25 and 93.75% for AA and AB and the frequencies of  $\beta$ -casein genotype in Saanen were 57.14 and 42.86% for AA and AB types. The frequencies of  $\beta$ -casein A and B alleles were 0.031 and 0.969 in Korean Native goat and the frequencies of  $\beta$ -casein A and B alleles are 0.286 and 0.714 in Saanen, respectively. The nucleotide sequence of  $\beta$ -casein gene of Korean Native goat was 97.71% higher homology with 11 nucleotide sequences difference of that of goat reported in GeneBank (M90556). Therefore, this study of molecular genetic characteristics by the analysis of genetic polymorphism and sequencing for  $\beta$ -casein gene should be used as basic and applying data

---

충남대학교 농업생명과학대학 동물자원학부(Division of Animal Science and Resources, College of Agriculture and Life Sciences, Chungnam National University, Daejeon, 305-764, Korea)

<sup>1</sup> 우송정보대학 동물과학과(Department of Animal Science, Woosong Information College)

for preservation and improvement of genetic resources in Korean Native goat breeding.

**Key words** : Korean Native goat,  $\beta$ -casein, Genotypes, Alleles

## 서 론

한국재산양은 우리나라의 대표적인 재래가축의 하나로서 그 유전자원의 보존 및 개량과 활용은 우리나라 축산업에 귀중한 유전자원이 될 수 있을 것으로 사료된다. 최근 재산양은 그 수요가 매년 증가하여 앞으로 전망이 매우 밝은 유망 축종의 하나로 판단되어 한국재산양의 유전자원의 보존 효율적인 개량이 시급히 요청되고 있다.

최근 분자생물학의 획기적인 발전은 가축의 개체식별, 친자감별, 혈통등록, 가계의 근친도 추정, 집단의 유전적 구조분석, 유전자지도 작성 및 유전질병의 진단과 예방을 연구하는데 있어서 genomic DNA의 다형성 분석은 유용한 수단이 되고 있다.

이러한 분자유전학적 수준에서 연구되고 있는 DNA 다형성 분석은 가축의 혈액이나 조직 등 세포핵내의 DNA를 추출하여 중합효소 연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR) 기법을 이용하여 특정 DNA를 증폭한 후 제한효소로 증폭된 DNA를 절단하고 그 단편 크기의 변이성을 검사하는 방법으로 PCR-RFLP 법이 이용되고 있다.

유단백질은 케이신과 유청단백질로 분류되며 케이신에는  $\alpha$ 1-casein,  $\alpha$ 2-casein,  $\kappa$ -casein 및  $\beta$ -casein으로 분류되며,  $\beta$ -casein은 우유단백질의 25 ~ 35 %를 차지하고 있는 유즙내 아주 중요한 단백질이다. 지금까지 우유단백질의 유전적 다형성과 주요경제형질들간의 연관성에 관한 연구는 많은 학자들에 의해 보고되었다(Aleandri 등, 1990; Bech 등, 1990; Bovenhuis 등, 1992; Eenennaam

등, 1991; Groenen 등, 1994; Hines 등, 1981; Medrano 등, 1990; Pedersen 등, 1991; Zikakis 등, 1974).  $\beta$ -casein의 유전적 변이체에 대한 연구 결과를 살펴보면, 여러 유우 품종에서 유단백질의 유전적 다형성을 발견하여  $\beta$ -casein A, B, C, D 및 E 변이체가 발견되었으며, 산성조건의 전기영동에 의해서 A1, A2, A3 으로 나누어진다.  $\beta$ -casein D 변이체는 드물게 나타나는데, 이는 Inida Deshis 종에서 발견되었으며(Aschaffenburg 등, 1968),  $\beta$ -casein E는 Italy Piedmont 종에서 발견되었다(Voglino 등, 1972).

Bovine의  $\beta$ -casein 경우  $\beta$ -casein중 A<sup>2</sup> 변이체가 제일 처음으로 발견되었으며, A<sup>2</sup> 변이체를 기준으로 변이체 A<sup>1</sup>, B 그리고 C는 67번 위치에서 proline 대신 histidine, 변이체 B는 122번 위치에서 serine 대신 arginine으로 대체되면서 A<sup>2</sup>와 구분되고, 변이체 C는 37번 위치에서 glutamic acid가 lysine으로 대체되었으며, 106번 위치에서 glutamine 대신 histidine의 대체는 A<sup>3</sup> 변이체를 나타내는 것으로 이는 아주 드물게 나타난다. A<sup>2</sup>의 18번 위치에서 lysine대신 serine의 대체는 변이체 D를, 36번 위치에서 glutamic acid에 대한 lysine의 대체는 변이체 E를 나타낸다.

산양의  $\beta$ -casein의 경우는 Italian Garganica 종에서는 어떤  $\beta$ -casein 밴드도 볼 수 없었으나(Dall'olio 등, 1989), PCR을 이용한 B변이체의 검색으로  $\beta$ -casein B형은 우유중 유단백질 함량과 밀접한 관계가 있는 것으로 보고(Pinder 등, 1991; Damiani 등, 1992) 되었다. 한편 다른 종의 연구

결과를 살펴보면 인유에서  $\beta$ -casein의 2 가지형을 보고하였고(Voglino 등, 1975), 여러 다른 여성 집단(Turin, Sardinian, Kikuyu)에서 모은 모유에서 분리한 casein 표본은  $\alpha$ - and  $\beta$ - system에서 다형성을 보여줬다(Voglino와 Ponzzone, 1972; Ponzzone 등, 1975; Ponzzone과 Voglino, 1976). 높은 유생산성은  $\beta$ -casein 변이체 A와 보통 관련이 있고(Babukov 등, 1982; Ng-Kwai-Hang 등, 1991, 1986; Lin 등, 1986), 유지방과 가장 높은 관련성을 갖는 것은  $\beta$ -casein B(Babukov, 1978; McLeau 등, 1984; Ng-Kwai-Hang 등, 1986)라고 보고된 바 있다.

한편 Bolla 등(1990)과 Lopez-Galvez 등(1993)은 산양 유단백질의 유전적 다형이 몇몇 유성분 함량에 유의적으로 영향하고 있어 이들 형질을 개량하는데 유단백질의 유전적 표지를 선발 보조 수단으로의 이용이 가능함을 시사하였고 상 등(1998)은 재래산양의 유단백질의 유전적 다형과 유성분간의 연관성에 대해 보고한 바 있다.

따라서 본 연구는 우리 나라에서 오래 전부터 사육되어 오던 민족 고유의 재래가축인 한국재래산양의 유전적 능력개량에 분자유전학적 기법의 접목을 위해 주요 유단백질인  $\beta$ -casein 유전자의 유전자형 및 유전자빈도를 추정하여 집단의 유전적 구조를 분석하고, 이 유전자의 염기서열 분석에 의한 분자유전학적 특성을 구명하여 한국재래산양의 효율적인 유전자원의 보존 및 개량을 위한 기초자료를 얻고자 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 공시 재료

한국재래산양의 유단백질의 유전적 다형성을 구

명하기 위해 본 연구에 이용된 공시축은 충남 당진군 대호지면에서 사육중인 재래산양 55두와 유산양(Saanen)은 7두를 공시재료로 이용하였다. Genomic DNA 추출을 위한 혈액의 채취는 재래산양의 경정맥으로부터 혈액 10ml을 진공 채혈관(vacuumtainer with lithium heparin)에 채취하여 실험에 이용하였다.

## 2. 실험 방법

### (1) Genomic DNA의 추출

Genomic DNA는 혈액으로부터 분리된 leukocyte pellets를 이용하여 Maniatis 등(1982)과 Gibco BRL manual methods에 의해 분리하였다.

### (2) Primer 선정

$\beta$ -casein 유전자좌의 증폭을 위해 사용된 primer는 Pappalardo 등(1990)에 의해 보고된 exon 2와 intron5을 증폭시킬 수 있는 forward primer로 5'-GAT GAA ACC TGC ACT CCT-3'과 reverse primer로는 5'-CTT CTT GTT GGT CTG TTG CT-3'을 이용하였다.

### (3) 유전자좌의 증폭

$\beta$ -casein 유전자좌의 증폭은 GeneAmp PCR System 2400(Perkin Elmer Co., USA)을 이용하여 증폭하였으며, 반응 혼합액의 양은 genomic DNA를 포함하여 sample당 25 $\mu$ l로 적정하였다. 반응 혼합액의 조성은 10mM Tris-Cl(pH 8.3), 50mM KCl, 15mM MgCl<sub>2</sub>, 0.001% gelatin으로 구성된 10 $\times$ PCR buffer와 dNTP mixture(TaKaRa Co., Japan), 10pmol primer, 50ng/ $\mu$ l genomic DNA, 5unit Taq DNA polymerase(TaKaRa Co., Japan)을 혼합하였다.  $\beta$ -casein 유전자좌의 증폭을 위해 DNA 변성은 94 $^{\circ}$ C에서 1분, primer 결합은 54 $^{\circ}$ C에

서 1분, 그리고 DNA 신장은 72°C에서 1분으로 설정하여 35cycles을 실시하였다.

#### (4) 제한효소의 처리

PCR 반응에 의해 증폭되어진 유전자좌의 다형성을 확인하기 위해 사용한 제한효소와 혼합액은 PCR 증폭산물 10 $\mu$ l에 0.1 $\mu$ l(10000U/ml)의 *Mse I* 과 2.0 $\mu$ l의 incubation buffer 및 7.9 $\mu$ l의 dH<sub>2</sub>O로 이루어진 혼합액(10 $\mu$ l)을 가하여 65°C에서 5시간 동안 처리하였다.

#### (5) 전기영동 및 다형성의 판독

PCR 반응으로 증폭한 유전자좌 증폭산물은 1% agarose gel(Hoefer Scientific Instruments, USA)에서 20V로 약 40분간 전기영동하여 결과를 보았고, EtBr(ethidium bromide)로 염색하여 UV 상에서 polaroid film(polaroid 667, UK)에 노출시켜 PCR 증폭산물을 확인하였다. 증폭산물을 제한효소로 처리한 후 얻어진 단편들의 다형성을 확인하기 위해서 9% polyacrylamide gel에서 150V로 약 1시간 30분 동안 전기영동하였다. 전기영동이 끝난 gel은 EtBr(ethidium bromide)로 염색하여 UV 상에서 polaroid film(polaroid 667, UK)에 노출시켜 다형성을 확인하였다.

#### (6) 유전자빈도의 추정

본 실험에 의해 확인된  $\beta$ -casein 유전자좌위에 있어서 유전자빈도의 산출은 Pirchner(1983)의 simple gene counting법에 따라 다음과 같이 추정하였다.

$$PA = (2AA + AB) / 2N$$

$$PB = 1 - PA$$

여기서,

PA = A 유전자빈도

PB = B 유전자빈도

AA = AA 유전자형 빈도수

AB = AB 유전자형 빈도수

N = 총관측치수

#### (7) 염기서열의 분석

$\beta$ -casein 유전자의 발현조절부위의 염기서열은 ABI PRISM™ 377 DNA Sequencer(Perkin Elmer Co.)를 이용하여 direct automated sequencing에 의해 분석하였다. 그리고 5% denaturing polyacrylamide gel을 이용하였으며 젤의 조성은 dH<sub>2</sub>O, 40% acrylamide stock solution(acrylamide : bis-acrylamide = 19 : 1), 10 $\times$ TBE(tris base, boric acid, Na<sub>2</sub>EDTA · 2H<sub>2</sub>O), TEMED, 10% ammonium persulfate 등을 혼합하여 만들었다. Sequencing reaction의 조성은 50ng/ $\mu$ l template, 3.2pmol primer, 8 $\mu$ l terminator ready reaction mix(Bigdye terminator, Perkin Elmer), 그리고 20 $\mu$ l의 증류수로 구성하였다. Sequencing reaction products을 얻기 위한 PCR 온도 조건은 96°C에서 10초, 50°C에서 5초, 60°C에서 4분으로 25회 반복 되게 하였으며 얻어진 sequencing reaction products는 80 $\mu$ l distilled water, 10 $\mu$ l의 3M NaOAc(pH 4.6), 250 $\mu$ l의 95% ethanol, 그리고 70% ethanol로 정제하였다. 전기영동 후 PCR products sequence의 분석은 DNA sequencing analysis software (Perkin Elmer Co.) 프로그램을 이용하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 유전자 좌위의 증폭 및 확인

재래산양 혈액으로부터 추출한 DNA를

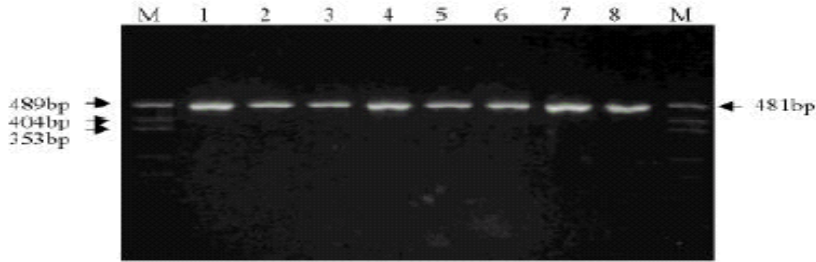


Fig. 1. Electrophoregram of PCR products with  $\beta$ -casein specific primer by agarose gel(1%) electrophoresis in Korean Native goat, M: pUC18 Msp I (Sigma, USA), lane 1~8: PCR products with  $\beta$ -casein specific primer(about 481bp)

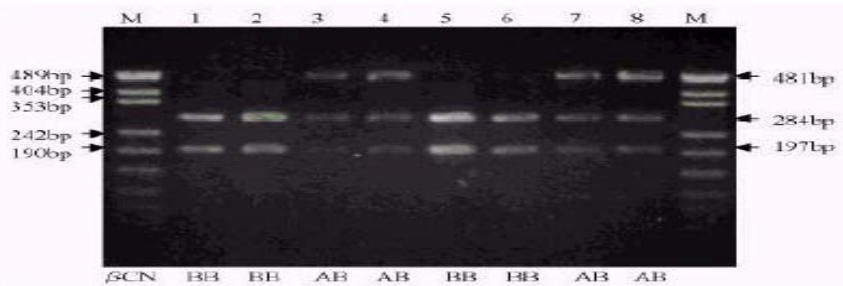


Fig. 2. Electrophoregram of  $\beta$ -casein gene digested with *Bal* I by agarose gel (3%) electrophoresis in Korean Native goat. M: pUC18 Msp I (Sigma, USA), lane 1 and 2, 5 and 6 :  $\beta$ -casein DNA digested with *Bal* I in Korean Native goat (BB types), lane 3 and 4, 7 and 8 :  $\beta$ -casein DNA digested with *Bal* I in Korean Native goat (AB types).

Pappalardo 등(1996)에 의해 보고된 primer로 GeneAmp PCR system 2400(Perkin Elmer, USA)을 이용하였으며, 유전자좌위의 증폭을 위한 PCR 온도조건은 94°C/1분, 59°C/1분, 92°C/1분을 1 cycle로 총 35 cycle을 수행하여 얻어진  $\beta$ -casein 유전자좌위의 증폭산물을 1% agarose gel에 전기영동한 결과는 Fig.1에 나타난 바와 같다.

Fig. 1에서 보는 바와 같이 M은 pUC18 Msp I size marker이며, lane 1~8은 증폭된  $\beta$ -casein 유전자좌위의 단편을 나타낸 것으로서 모두 481bp의 양호한 증폭양상을 나타내었다. 이와 같은 결과는 Pappalardo 등(1996)이  $\beta$ -casein 유전자좌위를 증폭한 결과 481bp의 단편을 보였다고 보고한 결과와 일치하였다.

## 2. 증폭산물의 제한효소처리 및 확인

$\beta$ -casein 유전자좌의 다형성을 분석하기 위하여 PCR 반응에 의해 증폭되어진 481bp의 단편을 제한효소 *Bal I*으로 절단한 후 그 다형성을 확인하기 위해 3% agarose gel에 전기영동한 결과는 Fig. 2에 나타낸 바와 같다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 M은 pUC18 MSP I(Sigma USA)이며, 본 실험에서  $\beta$ -casein 유전자좌는 절단되지 않은 상태의 481bp A유전자단편과 197bp와 284bp의 두 단편을 나타내는 B유전자 좌위의 단편을 보였으며 Pappalardo 등(1996)이 보고한 결과와 일치하였다. 한편 한국재산양 및 유산양에서 모두  $\beta$ -casein 유전자형이 AB형 및 BB형만의 유전자형만을 보였는데 이는  $\beta$ -casein A유전자빈도가 아주 낮고 샘플의 크기가 작아서 AA 유전자형은 출현되지 않은 것으로 판단된다.  $\beta$ -casein의 유전자형을 개체별로 살펴보면 lane 3, 4, 7 및 8은  $\beta$ -casein AB형으로 *Bal I* 처리시 절단되지 않은 상태의 481bp의 A유전자단편과 197bp 및 284bp의 두 단편을 나타내는 B유전자 단편을 보였으며, lane 1, 2, 5 및 6은 197bp와 284bp의 B유전자 단편을 갖는 BB형을 나타내었다.

## 3. 유전자형 및 유전자빈도 분포

$\beta$ -casein 유전자좌의 유전자형 및 유전자빈도의 분포는 Table 1에 나타낸 바와 같다.

Pappalardo 등(1996)은 산양에서  $\beta$ -casein의 유전자형은 AA, AB 및 BB 이 있다고 보고하였으나 본 연구의 재산양에 있어서는  $\beta$ -casein AB 및 BB 형만 출현되고 AA 형은 출현되지 않았는데 이는 A유전자빈도가 아주 낮고 sample의 수가 적었기 때문인 것으로 사료된다.  $\beta$ -casein의 유전자형 분포에 있어서는 한국재산양에서 AB형이 6.25%이었고, BB형이 93.75%로 BB유전자형이 아

주 높게 나타났다.

Table 1. Distribution of  $\beta$ -casein genotypes and gene frequencies in Korean Native goat and Saanen

Breeds	Genotype frequencies			Gene frequencies	
	Genotypes	No. of Ind.	%	Alleles	Fre.
Korean Native Goat	AB	7	6.25	A	0.031
	BB	105	93.75	B	0.969
Saanen	AB	4	57.14	A	0.286
	BB	3	42.86	B	0.714

그리고 유산양인 Saanen종의 경우는  $\beta$ -casein 유전자형의 분포가 AB형은 57.14%이었고, BB형은 42.86%로 AB형이 BB형보다 다소 높은 분포를 보였다.

$\beta$ -casein 유전자의 유전자빈도에 있어서는 한국재산양에서  $\beta$ -casein A와 B 유전자빈도가 각각 0.286 및 0.714로 B 유전자빈도가 A유전자 빈도에 비하여 다소 높게 나타났다. 이는 Pappalardo 등(1996)이 Alpine, Malta 및 Southern Italy 산양집단에서  $\beta$ -casein A 유전자 빈도는 각각 0.550, 0.326 및 0.379로 보고한 결과와 비교하였을 때 한국재산양의 경우  $\beta$ -casein A 유전자빈도가 아주 낮은 빈도를 보여, 유산양인 Saanen종과 Alpine 종과는 차이를 보였지만 Malta 및 Southern Italy 산양집단에서의 보고와 유사한 유전자 빈도의 결과를 보였다. 이상의 결과에서 한국재산양은  $\beta$ -casein A 유전자 빈도가 유산양인 Saanen종 및 다른 염소 품종보다는 아주 낮은 빈도를 보이는 것으로 사료된다.

## 4. 유전자의 염기서열분석

한국재산  $\beta$ -casein 유전자의 염기서열을 분석

PCR 기법을 이용한 한국재래산양  $\beta$ -casein 유전자의 특성

```

1
Goat gatcaaac ctgcaactcc ctggaagcat ggagtettgg acatttgat
      ::::::::::: ::::::::::: ::::::::::: ::::::::::: :::::::::::
KNG gatcaaac ctgcaactcc ctggaagcat ggagtettgg acatttgat
51
Goat tatacaetat ctttggttcc ttttaaaaggg aagtaatfff acttaaataa
      ::::::::::: ::::::::::: ::::::::::: ::::::::::: :::::::::::
KNG tatacaetat ctttggttcc ttttaaaaggg aagtaatfff acttaaataa
351
Goat t-gttcattcc actatctcaa cagtactcta taggaccaca actctgggctc
      : ::::::::::: ::::::::::: ::::::::::: ::::::::::: :::::::::::
KNG tagttcattcc actatctcaa cagtactcta taggaccaca actctgggctc
401
Goat aagtgettcc tatagtattg taccatctgt accatcaatt cetaaagaaa
      ::::::::::: ::::::::::: ::::::::::: ::::::::::: :::::::::::
KNG aagtgettcc tatagtattg taccatctgt accatcaatt cetaaagaaa
451
Goat aaggaaaaga aaccaataag caacagacca acaagaagga
      ::::::::::: ::::::::::: ::::::::::: :::::::::::
KNG aaggaaaaga aaccaataag caacagacca acaagaag
101
Goat gaaaatagat tgacaagtaa taegtgttt cctcatcttc ccattcacag
      ::::::::::: ::::::::::: ::::::::::: ::::::::::: :::::::::::
KNG gaaaatagat tgacaagtaa taegtgttt cctcatcttc ccattcacag
|←151 exon 2
Goat gaategagag ccatgaaggt cctcactcctt gectgtctgg tggetctggg
      ::::::::::: ::::::::::: ::::::::::: ::::::::::: :::::::::::
KNG gaategagag ccatgaaggt cctcactcctt gectgtctgg tggetctggg
201 →|
Goat cattgcaaga gaggtaaata cagaaaaaat gttgaataa -ta-gactag
      ::::::::::: ::::::::::: ::::::::::: ::::::::::: :: ::::::
KNG cattgcaaga gaggtaaata cagaaaaaat gttgaataa ataagactag
251
Goat tactgtctgc ctatgtgtag aaa-tcaat taccaacatc ataaatgtag
      ::::::::::: ::::::::::: :: ::::::: ::::::::::: :::::::::::
KNG tactgtctgc ctatgtgtag aaaatcact taccaacatc ataaatgtag
301
Goat aaataatgca caatctcaga tt-aaaaaaa aatgctaaga aagtcattta
      ::::::::::: ::::::::::: :: :: : ::::::::::: :::::::::::
KNG aaataatgca caatctcaga ttatfffff aatgctaaga aagtcattta

```

Fig. 3. Sequence alignments of  $\beta$ -casein gene in Korean native goat and goat(M90556) reported in GeneBank. Italic type letters showed a different sequence between Korean Native goat and goat(GeneBank M90556) at sequence alignments.

한 결과와 이미 보고되어 있는 산양의 염기서열 (GeneBank accession Number M90556)을 비교한 결과는 Fig. 3에 나타난 바와 같다.

Fig. 3에 나타난 바와 같이  $\beta$ -casein의 intron 1 및 2의 일부와 exon2에 대한 염기서열을 GeneBank에 등록된 산양의 염기서열상의 차이를 비교하여 보면 분석된 총 481개의 염기서열중 intron 1의 일부와 exon2는 GeneBank에 등록된 산양과 재래산양간에는 염기서열상에 차이를 보이지 않았으나, intron 2에서는 241, 204, 274, 323, 225, 326, 327, 325, 329, 330, 352bp 위치의 총 11개의 염기서열에서 차이를 보여 GeneBank에 등록된 산양과 재래산양간에는 97.71%의 높은 염기서열의 상동성을 보였다.

한편 이들 품종간의 염기서열상의 차이를 비교하여 보면 GeneBank에 등록된 산양의 241, 244 및 274bp 위치에서 염기결실이 되어 있었으나 한국재래산양에서는 A(adenine)가 삽입되어 있었으며, GeneBank에 등록된 산양의 323bp에서 염기결실이 있었으나 한국재래산양에서는 T(Tiamine)가 삽입되어 있었다.

한편 GeneBank에 등록된 산양의 325, 326, 327, 328, 329 및 330bp 위치에 A염기가 한국재래산양에서는 T로 치환되어 있음을 확인할 수 있었고, GeneBank에 등록된 산양의 352bp 위치에 염기가 결실되어 있었으나, 한국재래산양에서는 염기 A가 삽입되어 있었다. 이상의 결과에서 GeneBank에 등록된  $\beta$ -casein의 염기서열과 한국재래산양간에 기능을 갖고있는 exon2 염기서열에는 차이가 없이 잘 보존되어 있었으며, intron2에서만 11개의 염기서열에서 차이를 보여 97.71%의 높은 상동성을 보였는데 이는 같은 종내의 품종으로서의 유전적 유사성이 아주 높은 것으로 사료된다.

## 적 요

본 연구는 한국 재래 산양 112두와 유산양인 Saanen종 7두의 혈액으로부터 genomic DNA를 추출하고, PCR-RFLP 방법에 의해  $\beta$ -casein 유전자의 특성을 분석하여 한국재래산양의 효율적인 유전자원의 보존 및 개량을 위한 기초 자료로 제공하고자 실시하였다. 한국재래산양의 genomic DNA로부터 PCR기법을 이용하여  $\beta$ -casein의 유전자좌를 증폭한 결과 각각 481bp 크기의 단편이 양호하게 증폭되었음을 확인하였다.  $\beta$ -casein 유전자좌의 증폭산물에 대한 *Bal* I의 제한효소를 처리한 결과,  $\beta$ -casein AB형은 481bp, 284bp 및 197bp의 단편을, 그리고 BB형은 284bp와 197bp의 단편을 한국재래산양과 유산양인 Saanen 종에서 확인 할 수 있었다. 유전자형 빈도에 있어서는 한국재래산양에서  $\beta$ -casein AB 및 BB의 빈도는 각각 6.25 및 93.75%이었고, 유산양인 Saanen 종은 각각 57.14 및 42.86%이었다. 유전자빈도에 있어서는 한국재래산양의  $\beta$ -casein A 및 B의 빈도가 각각 0.031 및 0.969이었고, Saanen 종에서는 각각 0.286 및 0.714의 빈도를 보였다. 한국재래산양의  $\beta$ -casein 유전자의 염기서열과 이미 보고되어 있는 goat의 염기서열(GeneBank accession Number M90556)간에는 총 11개의 염기서열에 차이를 나타내어 97.71%의 상동성을 보였다. 따라서 한국재래산양의  $\beta$ -casein 유전자의 다형성과 염기서열 분석에 의한 분자유전학적 특성의 규명은 한국재래산양의 유전자원의 보존 및 개량을 위한 기초 및 응용 자료로 이용될 수 있을 것으로 생각된다.



인용 문헌

1. 상병찬, 류승희, 신병홍, 이조윤, 이창수. 1998. 한국 재래산양의 유단백질의 유전적 다형과 유성 분간의 연관성. 동물유전육종학회지, 2(1):5-14.
2. Aleandri, R., G. Buttazzoni and J. C. Schneider. 1990. The effects of milk protein polymorphisms on milk components and cheese-producing ability. J. Dairy Sci. 71:241-255.
3. Aschaffenburg, R. 1968. Genetic variants of milk proteins : their breed distriburion. J. Dairy Res. 35:447-460.
4. Babukov, A. V. 1982. Intrapopulation variability of the beta-casein locus in Black Pried cattle of the USSR and its effects on realisation of productive qualities. Nau Tru Lenin Sel'skov Inst. 342:43-44.
5. Bech, A. M. and K. R. Kristiansen. 1990. Milk protein polymorphism in Danish dairy cattle and the influence of genetic variants on milk yield. J. Dairy Res. 57:53-62.
6. Bolla, P., A. Caroli, Mezzelani, R. Rizzle and G. Pagnacco. 1990. Milk protein markers and production in Sheep. Animal Genetics(Supple 1). 78-79.
7. Bovenhuis, H., A. M. Johan, A. Van and Korver. 1992. Association between milk protein polymorphisms and milk production traits. J. Dairy Sci. 75:2549-2559
8. Dall'olio, S., R. Davoli and V. Russo. 1989. Una nuova varinate 양  $\beta$ -casein caprina. Sci Tec Latt-Casearia. 40:24-28.
9. Damiani, G., F. Pilla, P. Leone and S. Caccio. 1992. Direct sequencing and bidirectional allele specific polymerase chain reaction of the bovine  $\beta$ -casein B variants. Animal genetics. 12:561-556.
10. Eenennaam, A. V. and J. F. Medrano. 1991. Milk protein polymorphisms in California dairy cattle. J. Dairy Sci. 74:1730-1741.
11. Groenen, A. M. Martien and J. Jan. 1994. Regulation of expression of milk protein genes : a review. Livestock Production Science. 38:61-78.
12. Hines, H. C., J. P. Zikakis, G. F. W. Haenlein, C. A. Kiddy and C. L. Trowbridge. 1981. Linkage relationships among loci polymorphisms in blood and milk of cattle. J. Dairy Sci. 64:71-78.
13. Lin, C. Y., A. J. McAllister, K. F. Ng-Kwai-Hang and J. F. Hayes. 1986. Effects of milk proteins loci on first lactation productions in dairy cattle. J. Dairy Sci. 69:704-712.
14. Lopez-Galvez, G., M. Ramos, P. J. Martin Alvarez and M. Juarez. 1993. Cheese yield and factors affecting in control. IDF Seminar, Cork.. 167-173.
15. Maniatis, T., E. F. Fritsch and Sambrook. 1982. Molecular cloning, a laboratory manual. Cold Spring Horbor Laboratory. Cold Spring Horbor, N. Y.
16. McLean, D. M., E. R. B. Graham, R. W. Ponzoni and H. A. McKenzie. 1984. Effects of milk protein genetic variants on milk yield and composition. J. Dairy Sci. 72:2464-2473.
17. Medrano, J. F. and E. Aguilar-Cordova. 1990. Genotyping of bovine Kappa-casein loci

- 
- following DNA sequence amplification, Bio/Tech, 8:44-46.
18. Ng-Kwai-Hang, K. F., H. G. Monardes and J. F. Hayes, 1991. Association between genetic polymorphism of milk proteins and productions traits during three lactations, J. Dairy Sci, 72:1829-1836.
  19. Ng-Kwai-Hang, K. F., J. F. Hayes, J. E. Moxley and H. G. Monardes, 1986. Relationships between milk protein polymorphism and major milk constituents in Holstein-Friesian cows, J. Dairy Sci, 69:22-26.
  20. Pappalardo, M., A. Rando, G. Cosenza, M. Capuano and L. Rammuno, 1996. A *Bal I* RFLP at the goat,  $\beta$ -casein gene, Animal Genetics, 27:123-129.
  21. Pedersen, J. 1991. Selection to increase frequency of Kappa-casein variant B in dairy cattle, J. Anim Breed and Gene, 108:110-118.
  22. Pinder, S. J., B. N. Perry, C. J. Skedmore and D. Savva, 1991. Analysis of polymorphism in the bovine casein genes by use of the polymerase chain reaction, Animal Genetics, 22:11-20.
  23. Pirchner, F. 1983. Population genetics in Animal breeding, Freeman Company, San Francisco.
  24. Ponzone, A. and G. F. Voglino, 1976. Milk casein polymorphism in man, Helv Paeddiat Acta, 31:47-52.
  25. Ponzone, A., G. F. Voglino and A. Tognolo, 1975. Milk casein polymorphism in the Kikuyu population, Am, Genet, 18:203-205.
  26. Voglino, G. F. and A. Ponzone, 1972. Polymorphism in human casein, Nature New Biol, 238:149-150.
  27. Voglino, G. F., M. Caone and A. Ponzine, 1975. A new beta-casein variant in human milk, Biomedicine, 32:342-345.
  28. Zikakis, J. P., G. F. W. Haenlein, H. C. Hines, R. E. Mather and S. Tung, 1974. Gene frequency of electrophoretically determined polymorphisms in Guernsey blood and milk, J. Dairy Sci, 57:271-282.