개의 친자감정을 위한 Microsatellite DNA 다형성 분석

조길재*·조병욱**·김선구**·이길왕**·김영규***

한국마사회 혈액형검사실*, 밀양대학교 동물자원학과**, 펫챠일드(주) 유전자연구소***

Analysis of Microsatellite DNA Polymorphism for Parentage Testing in Dog Breeds

G. J. Cho*, B. W. Cho**, S. K. Kim**, K. W. Lee** and Y. K. Kim***

Equine Blood Typing Laboratory, Korea Racing Association*, Department of Animal Science, Miryang National University**, Genetic Institute, Pet child Co., Ltd***

ABSTRACT

This study was carried out to investigate a usefulness of the microsatellite DNA markers for individual identification and parentage verification in three dog breeds. A total of 59 random dog (31 Chiwawa, 20 Poongsan, 8 Labrador Retriever) samples were genotyped by using 14 markers (Chiwawa dog), 16 markers (Poongsan dog), and 12 markers (Labrador Retriever dog) among the 17 international standard markers (PEZ1, 3, 5, 6, 8, 10, 11, 12, 13, 15, 16, 17, 20, 21, FHC2010, FHC2054 and FHC2079), respectively. The number of alleles per locus varied from 4 to 14 with a mean value of 6.07 in Chiwawa dog, 2 to 9 with a mean of 4.75 in Poongsan dog, and 3 to 5 with a mean of 4.00 in Labrador Retriever dog. Observed heterozygosity was ranged 0.419～0.968 (mean 0.755), 0.300～0.950 (mean 0.597) and 0.125～0.750 (mean 0.604), and expected heterozygosity was ranged 0.432～0.883 (mean 0.711), 0.262～0.817 (mean 0.559) and 0.425～0.808 (mean 0.660) in these three dog breeds. PIC value was ranged 0.397～0.856 (mean 0.659), 0.222～0.772 (mean 0.503) and 0.354～0.717 (mean 0.563) in these three dog breeds. Of the 17 markers, PEZ1, PEZ3, PEZ6, PEZ10, PEZ12 loci, PEZ1, PEZ6, PEZ13 loci, and PEZ8, PEZ12 loci have relatively high PIC value (＞0.7) in Chiwawa dog, Poongsan dog and Labrador Retriever dog, respectively. The exclusion probability was ranged 0.240～0.741, 0.111～0.616, and 0.198～0.529, and the combination of microsatellite loci was 0.9999, 0.9991, and 0.9968 in Chiwawa dog, Poongsan dog and Labrador Retriever dog, respectively. These results can give basic information for developing parentage verification and individual identification system in these three dog breeds.

(**Key words** : Allele, Dog, Microsatellite DNA, Parentage verification)

Ⅰ. 서 론

사람과 가장 친숙한 반려동물로서 알려진 개는 약 400여종 이상의 품종이 지구상에 분포되어 있고 국내에는 150여종 이상이 사육되고 있는 것으로 알려져 있다.

개를 포함한 대부분의 동물은 평생동안 변하지 않고 부모로부터 반반씩 물려받는 멘델의 유전양식에 따라 사람의 ABO식과 유사한 적혈구항원형과 혈액단백질형을 검사하는 혈액형

Corresponding author : G. J. Cho, Equine Bloodtyping Laboratory, Korea Racing Association 685, Juam-dong, Gwacheon, Gyeonggi-do, Korea 427-711. Tel : 02-509-1933 E-mail : chogj@mail.kra.co.kr

감정을 주로 동물의 품종이나 개체식별 및 친자여부의 확인을 위해서 국제적으로 이용하고 있으나 현재는 유전자지문 기법이나 microsatellite DNA형을 이용하여 친자감정은 물론 품종간의 유전적 특징 및 계통분류에도 활용하고 있는 실정이다. DNA 표지인자의 종류는 반복수의 차이에 의해 나타나는 VNTR(variable number of tandem repeat) 형태로 minisatellite와 microsatellite 부위에 의한 표지인자들이 포함된다.

1985년 영국의 Jeffreys 등이 인간 유전체의 myoglobin 유전자에서 고변이 유전자 좌위를 제한효소처리와 Southern hybridization을 통해 다형성이 있는 것으로 알려지면서 사람을 포함한 대부분의 동물에서 DNA 수준에서의 연구가 가능하게 되었다. 단백질의 다형은 유전자상에 코드되어 있지만 유전자내에서 단백질의 정보를 담당하고 있지 않는 인터론부위나 유전자이외의 비코드 영역에는 반복배열의 반복수가 다른 다형이 존재하는 것이 알려진 이래 현재 이용되고 있는 대표적인 DNA typing은 microsatellite DNA typing 또는 short tandem repeats(STRs)이다. Microsatellite DNA는 non-code 부위에 다형성이 풍부하고 검출이 간편하여 소(Glowatzki-Mullis 등, 1995; Han 등, 2000), 말(Tozaki 등, 2001; 조, 2002; Cho 등, 2002), 돼지(Kim과 Choi, 2002) 등의 다양한 동물에서 분자유전학적 특징 연구에 응용하고 있다. 진핵세포의 DNA는 한 개 혹은 여러 개의 nucleotide가 일정한 규칙에 의해서 반복적으로 배열된 형태의 satellite DNA가 존재하는데 이들 satellite DNA중 2～4개의 nucleotide가 반복적으로 배열된 형태를 초위성체(microsatellite)라고 하며 이들 초위성체가 각 개체간에 아주 높은 빈도의 유전적 다형성을 가지고 있는 것으로 알려져 있다(Jeffreys 등, 1985; Litt와 Luty, 1989).

최근 애완동물산업의 괄목할만한 성장으로 국내에는 우리 고유의 재래종 개를 포함하여 각종의 애완개가 200만두 이상 사육되고 있는 것으로 알려져 있고 이로인해 우수 혈통을 가진 개의 구입이나 분실로 인한 분쟁 등 종래에 비해서 개의 개체식별이나 친자확인의 중요성이 대두되고 있다. 미국을 비롯한 선진국에서는 다른 동물과 마찬가지로 개의 혈통보존 및 개량을 목적으로 친자확인을 위한 microsatellite DNA형 감정을 실시하거나 연구중에 있으나 국내에서는 이제 시작단계로서 상당히 미진한 실정이다. 이와같은 배경하에서 본 연구는 국내에서 사육중인 개를 대상으로 microsatellite DNA형에 의한 친자감정을 위한 기초자료를 제공하고 활용코자 연구한 결과를 보고하는 바이다.

Ⅱ. 재료 및 방법

1. 공시재료

국내에서 사육중인 치와와 31두, 풍산개 20두, 래브라도 리트리버 8두를 대상으로 하였다. 재료는 개의 경정맥으로부터 Heparin 튜브(Becton Dickinson, USA)에 채혈한 혈액에서 Tozaki 등 (2001)의 방법에 준하여 DNA를 분리하였다.

2. Marker 선정 및 PCR

DNA형 분석을 위한 microsatellite 좌위는 Table 1에서 보는 바와 같이 Stock Marks (Applied Biosystems, USA) 17개(PEZ1, PEZ3, PEZ5, PEZ6, PEZ8, PEZ10, PEZ11, PEZ12, PEZ13, PEZ15, PEZ16, PEZ17, PEZ20, PEZ21, FHC2010, FHC2054, FHC2079)의 좌위를 선정하여 manufacturer의 방법에 따라 DNA를 증폭하였다. Multiplex-PCR은 GeneAmp PCR system 9600(Perkin-Elmer, USA)을 이용하여 수행하였으며 PCR 과정은 먼저 95℃에서 12분간 가열하여 변성을 유도하고 95℃에서 30초간 denaturation, 58℃에서 30초간의 annealing 그리고 72℃에서 1분간의 extension의 3단계로 총 20회 반복과 다시 95℃에서 30초간 denaturation, 56℃에서 30초간의 annealing 그리고 72℃에서 1분간의 extension의 3단계로 총 15회 반복하였다. 그리고 72℃에서 30분간 extension을 실시

Table 1. The international marker of microsatellite DNA in dog

Marker	Primer sequences (5' → 3')	Allele size range(bp)
PEZ1	(FAM)-GGCTGTCACTTTTCCCTTTC CACCACAATCTCTCTCATAAATAC	92-136
PEZ3	(NED)-CACTTCTCATACCCAGACTC CAATATGTCAACTATACTTC	95-154
PEZ5	(JOE)-GCTATCTTGTTTCCCACAGC TCACTGTATACAACATTGTC	97-121
PEZ6	(NED)-ATGAGCACTGGGTGTTATAC ACACAATTGCATTGTCAAAC	164-214
PEZ8	(NED)-TATCGACTTTATCACTGTGG ATGGAGCCTCATGTCTCATC	222-260
PEZ10	(NED)-CTTCATTGAAGTATCTATCC CCTGCCTTTGTAAATGTAAG	230-335
PEZ11	(JOE)-ATTCTCTGCCTCTCCCTTTG TGTGGATAATCTCTTCTGTC	122-180
PEZ12	(JOE)-GTAGATTAGATCTCAGGCAG TAGGTCCTGGTAGGGTGTGG	250-320
PEZ13	(FAM)-AGTCTGGTGATTTAATTCGG GTCTAGTCCCCAGTCTAGTTCACTGCCC	160-330
PEZ15	(JOE)-CTGGGGCTTAACTCCAAGTTC CAGTACAGAGTCTGCTTATC	180-264
PEZ16	(JOE)-GCTCTTTGTAAAATGACCTG GTGGGAATCGTCCTAAAACCC	265-337
PEZ17	(NED)-CTAAGGGACTGAACTTCTCC GTGGAACCTGCTTAAGATTC	188-230
PEZ20	JOE Unknown	174-201
PEZ21	FAM Unknown	70-120
FH2010	(FAM)-AAATGGAACAGTTGAGCATGC CCCCTTACAGCTTCATTTTCC	210-260
FH2054	(FAM)-GCCTTATTCATTGCAGTTAGGG ATGCTGAGTTTTGAACTTTCCC	140-183
FH2079	(NED)-CAGCCGAGCACATGGTTT ATTGATTCTGATATGCCCAGC	263-299

하였다. 증폭된 DNA는 2.5% agarose gel에 전기영동하여 증폭산물을 확인하였다.

3. Microsatellite DNA형 분석

증폭된 DNA는 유전자형 자동분석기(Perkin-Elmer ABI Prism 310 Genetic Analyzer, USA)에 의해 전기영동하고 검출된 각 유전자좌의 대립유전자는 GeneScan Ver.2.1(Perkin-Elmer)으로 분석한 후 Genotyper Ver.2.5(Perkin-Elmer)을 이용하여 각 marker별 대립유전자의 base 크기를 결정하였다.

4. 통계분석

Microsatellite DNA형 좌위의 대립유전자 출현빈도를 추정하고 이를 토대로 이형접합성(Het), 다형정보량(PIC) 그리고 부권부정율(PE)

을 Cervus Ver.2.0 program(Marshall 등, 1998)을 이용하여 산출하였다.

Ⅲ. 결 과

1. 치와와의 microsatellite DNA형의 유전자 빈도와 유전 변이성

14개 marker를 이용하여 치와와 31두에 대한 microsatellite DNA형의 유전자 빈도와 유전 변이성을 조사한 결과는 Table 2에서 보는 바와 같이 관찰된 대립유전자의 수는 4～14개로 나타났다. 좌위별 유전자 빈도는 PEZ1 좌위는 114bp (0.3065), PEZ3 좌위는 139bp (0.2258), PEZ5 좌위는 101bp (0.7419), PEZ6 좌위는 184bp (0.3065), PEZ8 좌위는 237bp (0.4194), PEZ10 좌위는 288bp, 300bp (0.2097), PEZ11 좌위는 138bp (0.4516), PEZ12 좌위는 273bp (0.2742), PEZ15 좌위는 216bp (0.4516), PEZ17 좌위는 206bp (0.3871), PEZ21 좌위는 96bp (0.3065), FHC2010 좌위는 228bp (0.5645), FHC2054 좌위는 165bp (0.3226), FHC2079 좌위는 274bp (0.6935) 대립유전자가 가장 높은 빈도로 관찰되었다. Expected heterozygosity와 PIC는 각각 0.432～0.883 (평균 0.711), 0.397～0.856 (평균 0.659)였으며 14개 marker를 조합

Table 2. Gene frequencies, heterozygosity, PIC value and PE of microsatellite markers in Chiwawa dog

Marker	Allele (Gene frequency)	No. of alleles	OHet	EHet	PIC	PE*
PEZ1	110**(0.1774) 114 (0.3065) 118 (0.1774) 122 (0.0323) 126 (0.2258) 130 (0.0806)	6	0.968	0.797	0.752	0.578
PEZ3	118 (0.0323) 121 (0.2097) 124 (0.1452) 127 (0.0484) 130 (0.1452) 133 (0.0645) 136 (0.1290) 139 (0.2258)	8	0.774	0.852	0.818	0.677
PEZ5	101 (0.7419) 105 (0.0645) 109 (0.0645) 113 (0.1290)	4	0.419	0.432	0.397	0.240
PEZ6	172 (0.1613) 176 (0.0645) 180 (0.1774) 184 (0.3065) 188 (0.2581) 212 (0.0323)	6	0.903	0.790	0.742	0.565
PEZ8	229 (0.3226) 233 (0.1613) 237 (0.4194) 241 (0.0645) 245 (0.0323)	5	0.645	0.700	0.635	0.435
PEZ10	272 (0.0806) 276 (0.0484) 280 (0.1452) 284 (0.0161) 288 (0.2097) 292 (0.0484) 296 (0.0484) 300 (0.2097) 304 (0.0323) 308 (0.0645) 316 (0.0484) 320 (0.0161) 324 (0.0161) 328 (0.0161)	14	0.871	0.883	0.856	0.741
PEZ11	122 (0.0161) 130 (0.0484) 134 (0.3710) 138 (0.4516) 142 (0.0968) 146 (0.0161)	6	0.774	0.657	0.582	0.383
PEZ12	261 (0.1129) 265 (0.0161) 269 (0.1290) 273 (0.2742) 277 (0.1935) 281 (0.2258) 297 (0.0484)	7	0.774	0.818	0.776	0.613
PEZ15	204 (0.0161) 208 (0.0806) 216 (0.4516) 220 (0.3548) 224 (0.0323) 236 (0.0161) 248 (0.0484)	7	0.710	0.671	0.601	0.407
PEZ17	202 (0.2097) 206 (0.3871) 210 (0.1613) 214 (0.2097) 222 (0.0323)	5	0.839	0.747	0.692	0.500
PEZ21	84 (0.2419) 88 (0.2419) 92 (0.2097) 96 (0.3065)	4	0.968	0.757	0.698	0.498
FHC2010	224 (0.0645) 228 (0.5645) 232 (0.1290) 236 (0.2419)	4	0.581	0.612	0.549	0.354
FHC2054	145 (0.0484) 149 (0.2258) 153 (0.3065) 165 (0.3226) 169 (0.0968)	5	0.839	0.751	0.694	0.501
FHC2079	266 (0.1290) 270 (0.1613) 274 (0.6935) 290 (0.0161)	4	0.516	0.484	0.434	0.260

* OHet: Observed heterozygosity, EHet: Expected heterozygosity, PIC: Polymorphic information contents, PE: Exclusion probability, ** Allele size(bp).

시 부권부정율은 0.9999로 나타나 다른 품종보다도 높았으며 PEZ1, PEZ3, PEZ6, PEZ10, PEZ12의 marker는 PIC 0.7이상으로 나타나 치와와의 개체식별이나 친자감정시 이용하면 좋을 것으로 사료된다.

2. 풍산개의 microsatellite DNA형의 유전자 빈도와 유전 변이성

Table 3은 16개 marker를 이용하여 풍산개 20두에 대한 microsatellite DNA형의 유전자 빈도와 유전 변이성을 조사한 결과로서 관찰된 대립유전자의 수는 2～9개로 나타났으며 특히 PEZ10 좌위에서 다른 품종과는 달리 5개만이 관찰되었다. 좌위별 유전자 빈도는 PEZ1 좌위는 114bp (0.4000), PEZ5 좌위는 105bp (0.7750), PEZ6 좌위는 176bp (0.3000), PEZ8 좌위는 237bp (0.7500), PEZ10 좌위는 296bp (0.5500), PEZ11 좌위는 130bp (0.7000), PEZ12 좌위는 277bp (0.5000), PEZ13 좌위는 278bp (0.3500), PEZ15 좌위는 208bp (0.8250), PEZ16 좌위는 292bp (0.7000), PEZ17 좌위는 198bp (0.4500), PEZ20 좌위는 174bp (0.4500), PEZ21 좌위는 96bp (0.6500), FHC2010 좌위는 228bp (0.8250), FHC2054 좌위는 173bp (0.4250), FHC2079 좌위는 274bp (0.8500) 대립유전자가

Table 3. Gene frequencies, heterozygosity, PIC value and PE of microsatellite markers in Poongsan dog

Marker	Allele (Gene frequency)	No. of alleles	OHet	EHet	PIC	PE*
PEZ1	106**(0.0500) 110 (0.1250) 114 (0.4000) 118 (0.1250) 122 (0.0750) 126 (0.2250)	6	0.850	0.769	0.716	0.539
PEZ5	97 (0.2000) 105 (0.7750) 109 (0.0250)	3	0.400	0.368	0.310	0.164
PEZ6	172 (0.2250) 176 (0.3000) 180 (0.2000) 184 (0.0250) 188 (0.1000) 192 (0.1500)	6	0.950	0.806	0.753	0.580
PEZ8	229 (0.2250) 233 (0.0250) 237 (0.7500)	3	0.500	0.396	0.329	0.174
PEZ10	236 (0.0250) 276 (0.2250) 296 (0.5500) 300 (0.0250) 304 (0.1750)	5	0.600	0.631	0.562	0.365
PEZ11	126 (0.1500) 130 (0.7000) 134 (0.0500) 138 (0.0250) 142 (0.0250) 150 (0.0500)	6	0.500	0.494	0.453	0.287
PEZ12	265 (0.0500) 273 (0.2750) 277 (0.5000) 313 (0.1750)	4	0.650	0.658	0.582	0.379
PEZ13	170 (0.2000) 186 (0.0250) 218 (0.1250) 222 (0.1250) 270 (0.0250) 274 (0.0500) 278 (0.3500) 282 (0.0750) 286 (0.0250)	9	0.850	0.817	0.772	0.616
PEZ15	196 (0.0250) 204 (0.0250) 208 (0.8250) 216 (0.0500) 252 (0.0500) 296 (0.0250)	6	0.300	0.321	0.303	0.180
PEZ16	276 (0.0500) 292 (0.7000) 300 (0.0250) 304 (0.1500) 312 (0.0750)	5	0.400	0.491	0.448	0.280
PEZ17	198 (0.4500) 202 (0.1250) 206 (0.0750) 210 (0.1750) 214 (0.0500) 222 (0.1250)	6	0.850	0.746	0.696	0.519
PEZ20	174 (0.4500) 178 (0.2750) 182 (0.2500) 186 (0.0250)	4	0.700	0.676	0.593	0.381
PEZ21	88 (0.3000) 92 (0.0500) 96 (0.6500)	3	0.650	0.497	0.406	0.225
FHC2010	228 (0.8250) 232 (0.1500) 236 (0.0250)	3	0.350	0.304	0.265	0.140
FHC2054	149 (0.0250) 153 (0.1500) 161 (0.3000) 169 (0.1000) 173 (0.4250)	5	0.700	0.714	0.645	0.448
FHC2079	270 (0.1500) 274 (0.8500)	2	0.300	0.262	0.222	0.111

* OHet: Observed heterozygosity, EHet: Expected heterozygosity, PIC: Polymorphic information contents, PE: Exclusion probability, ** Allele size(bp).

Table 4. Gene frequencies, heterozygosity, PIC value and PE of microsatellite markers in Labrador Retriever dog

Marker	Allele (Gene frequency)	No. of alleles	OHet	EHet	PIC	PE*
PEZ1	114**(0.2500) 118 (0.0625) 122 (0.6250) 130 (0.0625)	4	0.500	0.575	0.483	0.297
PEZ5	101 (0.0625) 105 (0.3750) 109 (0.5625)	3	0.625	0.575	0.447	0.252
PEZ8	229 (0.0625) 233 (0.2500) 237 (0.3125) 241 (0.2500) 249 (0.1250)	5	0.750	0.808	0.717	0.529
PEZ10	236 (0.5000) 288 (0.1875) 292 (0.0625) 296 (0.2500)	4	0.625	0.692	0.592	0.391
PEZ11	126 (0.1875) 134 (0.4375) 142 (0.3125) 146 (0.0625)	4	0.750	0.717	0.612	0.406
PEZ12	265 (0.1250) 269 (0.3750) 277 (0.1875) 281 (0.0625) 285 (0.2500)	5	0.750	0.792	0.701	0.513
PEZ17	198 (0.5625) 202 (0.3125) 206 (0.0625) 218 (0.0625)	4	0.625	0.617	0.510	0.315
PEZ20	174 (0.1875) 178 (0.4375) 182 (0.1250) 186 (0.0625) 190 (0.1875)	5	0.750	0.767	0.679	0.491
PEZ21	88 (0.3125) 96 (0.5000) 100 (0.1875)	3	0.250	0.658	0.544	0.333
FHC2010	228 (0.1875) 232 (0.1875) 236 (0.6250)	3	0.750	0.575	0.482	0.289
FHC2054	145 (0.1250) 149 (0.5000) 153 (0.1875) 165 (0.0625) 169 (0.1250)	5	0.750	0.725	0.641	0.454
FHC2079	270 (0.1875) 274 (0.0625) 278 (0.7500)	3	0.125	0.425	0.354	0.198

* OHet: Observed heterozygosity, EHet: Expected heterozygosity, PIC: Polymorphic information contents, PE: Exclusion probability, ** Allele size(bp).

가장 높은 빈도로 관찰되었다. Expected heterozygosity와 PIC는 각각 0.262～0.817 (평균 0.559), 0.222～0.772 (평균 0.503)으로 나타났고 PIC 0.7이상은 PEZ1, PEZ6, PEZ13 marker 뿐이었으며 16개 marker를 조합시 부권부정율은 0.9991로 관찰되었다.

3. 래브라도 리트리버의 microsatellite DNA 형의 유전자 빈도와 유전 변이성

12개 marker를 이용하여 래브라도 리트리버 8두에 대한 microsatellite DNA형의 유전자 빈도와 유전 변이성을 조사한 결과는 Table 4에서 보는 바와 같이 관찰된 대립유전자의 수는 3～5개로서 좌위별 유전자 빈도는 PEZ1 좌위는 122bp (0.6250), PEZ5 좌위는 109bp (0.5625), PEZ8 좌위는 237bp (0.3125), PEZ10 좌위는 236bp (0.5000), PEZ11 좌위는 134bp (0.4375), PEZ12 좌위는 269bp (0.3750), PEZ17 좌위는 198bp (0.5625), PEZ20 좌위는 178bp (0.4375), PEZ21 좌위는 96bp (0.5000), FHC2010 좌위는 236bp (0.6250), FHC2054 좌위는 149bp (0.5000), FHC2079 좌위는 278bp (0.7500) 대립유전자가 가장 높은 빈도로 관찰되었다. Expected heterozygosity와 PIC는 각각 0.425～0.808 (평균 0.660), 0.354～0.717 (평균 0.563)으로 나타났고 PEZ8, PEZ12의 marker는 PIC 0.7이상으로 관찰되었으며 12개 marker를 조합시 부권부정율은 0.9968로서 다른 품종보다도 낮게 나타났다.

Ⅳ. 고 찰

국내에서 사육중인 재래개는 진돗개(천연기념물 53호)를 비롯하여 풍산개(북한 천연기념물 128호), 삽살개(천연기념물 368호), 그리고 제주개 등이 있다(하 등, 1998). 이러한 국내

토종개의 고유한 유전자원을 보호 육성하고 하나의 품종으로 확립하기 위해서는 무엇보다도 정확한 혈통 관리가 이루어져야 한다. 또한 최근들어 국내에서도 애완동물의 사육두수가 증가하고 있는 추세로서 특히 애완견에 대한 사람들의 관심도가 증가하면서 순종에 대한 정확한 혈통관리가 요구되어지고 있다.

지금까지 전통적으로 이용되어 온 친자확인은 적혈구항원형과 혈액단백질형 분석 방법 등에 의존하였으나 분자유전학과 DNA 분석기술의 발달로 인해 현재에는 DNA 분석에 의한 개체식별 및 친자확인이 각광을 받고 있다. 현재 이용되고 있는 DNA 분석법에는 DNA fingerprinting (DNA 지문법), restriction fragment length polymorphism (RFLP, 제한효소 절편다형) 분석법, microsatellite 분석법이 대표적으로 이용되고 있다. DNA 지문법의 경우 실험절차가 상당히 까다롭고 많은 양의 DNA 시료가 필요하며 그 해석이 불확실한 경우가 있는 등의 결점을 가지고 있으나 microsatellite 분석법은 2~4개의 염기가 수십번 반복되고 분석이 용이하여 사람, 말(조, 2002; Cho 등, 2002), 소(Han 등, 2000) 등에서 유전적 다양성 분석 및 친자확인에 많이 이용하고 있는 실정이다.

Microsatellite의 다형성은 기본적인 반복 단위의 반복수에 의해 형성되며 이것은 부모로부터 반반씩 물려받는다는 멘델의 유전법칙에 따라 유전된다. 염색체 DNA 중에 고르게 분포된 microsatellite locus가 개체간 다양한 변이를 보임으로써 개 품종간 유연관계 분석에 쓰일 뿐만 아니라 염색체 지도 작성의 주요한 marker로서 알려져 있다(하와 김, 1998). 채 등(1998)은 microsatellite 좌위 10개를 가지고 진돗개의 유전적 다양성을 연구한 결과 9개의 marker에서 0.7이상의 PIC를 가져 유전자 분석에 의한 친자감별 및 개체식별 뿐만 아니라 유전질병의 검색, 질환모델 동물의 개발, 분자육종 marker의 개발, 품종들간의 근연관계 연구 등에도 유용한 자료로 사용될 수 있을 것으로 보고한 바 있다.

Halverson과 Edwards(2000)는 17개 marker를 이용하여 75개 품종을 대상으로 microsatellite DNA형을 연구한 결과 expected heterozygosity는 0.01～0.92 (평균 0.45～0.74), 6～14개의 marker로부터 조합시 품종별 부권부정율은 99%라고 보고한 바 있고 Polli 등(2000)은 Italian pure breeds를 대상으로 microsatellite marker에 대한 부권부정율을 조사한 결과 98.50%～99.93%로 보고한 바 있다.

국내에서 사육중인 개를 대상으로 microsatellite DNA형을 분석한 결과 치와와 개를 제외한 풍산개와 래버라도 리트리버 개는 부권부정율이 낮게 관찰되어 향후 친자감정시 추가 marker에 대한 검사가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

국제동물유전학회(International Society of Animal Genetics; ISAG) 개 분과위원회에서는 29개의 microsatellite marker를 국제 panel로 정하였다. 본 연구에 사용된 marker중에는 PEZ3, PEZ8, PEZ10, PEZ11, PEZ12, FHC2054 등의 marker가 국제 panel에 포함되어 있으며 이들 marker외에도 각 품종별로 PIC가 0.7이상인 marker를 중심으로 개의 친자감정에 선택하여 이용하면 더욱더 정확한 결과를 거둘 것으로 기대된다. 또한 microsatellite marker의 대립유전자의 base 크기가 각국의 검사실마다 조금씩 상이하기 때문에 국제적으로 통용할 수 있는 명명법의 정립을 목적으로 각국의 검사실 상호간에 개 비교동정시험을 통한 표준화를 위해 노력하고 있다.

Microsatellite DNA형에 의한 개의 친자확인에 관한 국제 가이드라인은 아직 정립되지 않은 상태이나 말의 경우 9개의 국제최소검사항목 중 2개 이상의 marker에서 멘델의 유전양식에 일치하지 않을 경우 모순으로 판정하거나 추가적인 marker로 검사하도록 권장하고 부권부정율 99.95% 이상을 요구하고 있어 개의 경우도 이에 준하여 판정하면 될 것으로 사료된다.

Ⅴ. 요　　약

국내에서 사육중인 치와와 31두, 풍산개 20두, 래브라도 리트리버 8두를 대상으로 micro-

satellite DNA형의 유전자 빈도에 기초하여 heterozygosity, PIC, 그리고 PE를 분석한 결과를 요약하면 다음과 같다. 치와와의 대립유전자 수는 4～14개로서 expected heterozygosity와 PIC는 각각 0.432～0.883 (평균 0.711), 0.397～0.856(평균 0.659)으로 나타났으며 PEZ1, PEZ3, PEZ6, PEZ10, PEZ12의 marker는 PIC 0.7이상으로 나타났고 14개 marker를 조합시 부권부정율은 0.9999로 관찰되었다. 풍산개의 대립유전자 수는 2～9개로서 expected heterozygosity와 PIC는 각각 0.262～0.817 (평균 0.559), 0.222～0.772 (평균 0.503)으로 나타났고 PEZ1, PEZ6, PEZ13의 marker는 PIC 0.7이상으로서 16개 marker를 조합시 부권부정율은 0.9991로 관찰되었다. 래버라도 리트리버의 대립유전자 수는 3～5개로서 expected heterozygosity와 PIC는 각각 0.425～0.808 (평균 0.660), 0.354～0.717 (평균 0.563)으로 나타났고 PEZ8, PEZ12의 marker는 PIC 0.7이상으로 관찰되었으며 12개 marker를 조합시 부권부정율은 0.9968로 관찰되었다. 이상의 결과는 microsatellite DNA형에 의한 개의 친자감정 및 개체식별에 유용한 자료로 활용할 수 있을 것으로 사료된다.

Ⅵ. 인 용 문 헌

1. Cho, G. J., Yang, Y. J., Kang, H. S. and Cho, B. W. 2002. Genetic diversity and validation of microsatellite markers for Jeju native horse parentage testing. Korean Journal of Genetics. 24(4):359-365.
2. Glowatzki-Mullis, M. L., Gaillard, C., Wigger, G. and Feies, R. 1995. Microsatellite-based parentage control in cattle. Animal Genetics. 26:7-12.
3. Halverson, J. L. and Edwards, J. W. 2000. Microsatellite polymorphism in dog breeds-the AKC Parent Club study. Proc. 27th ISAG Conference on Animal Genetics. pp. 19.
4. Han, S. K., Byun, H. D. and Chung, E. Y. 2000. Genetic diversity analysis and parentage control in Koreran native cattle using Microsatellite. Proc. 27th ISAG Conference on Animal Genetics. pp. 88.
5. Jeffreys, A. J., Wilson, V. and Thein, S. L. 1985. Hypervariable minisatellite regions in human DNA. Nature. 314:67-73.
6. Kim, K. S. and Choi, C. B. 2002. Genetic structure of Korean native pig using microsatellite markers. Korean Journal of Genetics. 24(1):1-7.
7. Litt, M. and Luty, J. A. 1989. A hypervariable microsatellite revealed by *in vitro* amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. American Journal of Human Genetics. 44:397-401.
8. Marshall, T. C., Slate, J., Kruuk, L. and Pemberton, J. M. 1998. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. Molecular Ecology. 7:639-655.
9. Polli, M., Marelli, S., Zanotti, M. and Guidobono Cavalchini, L. 2000. Polymorphism of microsatellite loci and parentage identification in some Italian dog breeds. Proc. 27th ISAG Conference on Animal Genetics. pp. 45.
10. Tozaki, T., Kakoi, H., Mashima, S., Hirota, K. I., Hasegawa, T., Ishida, N., Miura, N., Choi-Miura, N. H. and Tomita, M. 2001. Population Study and Validation of Paternity Testing for Thoroughbred Horses by 15 Microsatellite Loci. Journal of Veterinary Medicine Science. 63(11):1191-1197.
11. 조길재. 2002. 더러브렛종 말의 Microsatellite DNA 다형. 한국유전학회지. 24(2):177-182.
12. 채영진, 이병천, 이항. 1998. 유전자 감식에 의한 개에서의 친자감별. 한국임상수의학회지. 15(2): 274-278.
13. 하지홍, 이성은, 탁연빈, 김종봉. 1998. 한국 토종개 집단의 형태특징과 혈액 단백질. 한국축산학회지. 40(6):711-720.
14. 하지홍, 김경석. 1998. 한국 토종개의 기원에 관한 고찰. 한국축산학회지. 40(6):701-710.

(접수일자 : 2002. 1. 24 / 채택일자 : 2003. 3. 14)