

소의 친자감정을 위한 Microsatellite markers의 유전적 다양성 분석

조길재* · 양영진 · 이길왕¹

한국마사회 유전자검사실

¹밀양대학교 동물자원학과

(제재승인: 2004년 4월 17일)

Analysis of genetic diversity for cattle parentage testing using microsatellite markers

Gil-jae Cho*, Young-jin Yang, and Kil-wang Lee¹

Laboratory of Equine Genetics, Korea Racing Association, Gwachon 427-711, Korea

¹Department of Animal Science, Miryang National University, Miryang 627-702, Korea

(Accepted: April 17, 2004)

Abstract : The objective of present study was to ascertain genetic diversity for cattle parentage testing. A total of 59 random cattle samples(29 Korean native cattle and 30 dairy cows) were genotyped by using 11 microsatellite loci(BM1824, BM2113, ETH10, ETH225, EH3, INRA23, SPS115, TGLA122, TGLA227, TGLA53, and TGLA126). This method consisted of multiplexing PCR procedure and showed reasonable amplification of all PCR products. Genotyping was performed with an ABI 310 genetic analyzer. The number of alleles per locus varied from 5 to 11 with a mean value of 6.73 in the Korean native cattle(KNC), 4 to 9 with a mean of 5.91 in dairy cows(DC). Expected heterozygosity was ranged 0.534~0.855(mean 0.732), 0.370~0.866(mean 0.692) in the KNC and DC, respectively. PIC value was ranged 0.485~0.821(mean 0.684), 0.336~0.834(mean 0.640) in the KNC and DC, respectively. Of the 11 markers, 7 markers(ETH10, EH3, INRA23, SPS115, TGLA122, TGLA227, TGLA53) and 3 markers(INRA23, TGLA227, TGLA53) have relatively high PIC value (>0.7) in the KNC and DC, respectively. The total exclusion probability of 11 microsatellite loci was 0.9997 and 0.9991 in the KNC and DC, respectively. These results present basic information for developing a system for parentage verification and individual identification in the KNC and DC.

Key words : Allele, Korean native cattle, microsatellite DNA, parentage verification

서 론

우리나라에서 사육되고 있는 한우(Korean cattle, *Bos taurus Coreanae*)는 오랜 세월동안 우리나라의 기후와 풍토에 적응하여 온 재래가축중 대표적인 품종으로서 고유의 유전자가 축적되어 생물 다양성 차원에서 높은 가치를 지니고 있으며 특히, 농가 소득원으로서 우리 민족의 역사와 함께 생활하여 온 동물중 하나이다 [1, 3].

1985년 영국의 Jeffreys 등 [15]에 의해 human genome의 myoglobin gene에서 고변이 유전자 좌위를 제한효소

처리와 Southern hybridization에 의해 다양성이 있는 것으로 알려지면서 사람을 포함한 대부분의 동물에서 DNA 수준에서의 개체식별 및 친자확인이 가능하게 되었다 [4, 10, 11, 12]. 대부분의 국가에서는 각국의 고유한 유전자원의 혈통을 보존하고자 국가적인 차원에서 품종별로 등록을 실시하고 있다. 가축의 등록시 요구되는 가장 과학적인 방법으로서 모색유전의 법칙과 개체식별 및 친자감정 기법이 있다. 가축의 개체식별이나 친자감정에 주로 이용하는 방법은 기존에는 혈액형을 이용하였으나 최근에는 DNA typing을 많이 이용하고 있는 실정

*Corresponding author: Gil-jae Cho

Laboratory of Equine Genetics, Korea Racing Association, Gwachon 427-711, Korea
[Tel: +82-2-509-1933, Fax: +82-2-509-2672, E-mail: chogj@kra.co.kr]

이다 [7].

가축의 혈통등록을 위한 개체식별이나 친자감정과 관련된 과학적인 기법을 연구·개발하여 정립하고자 모인 대표적인 국제 학회로서는 국제동물유전학회(International Society for Animal Genetics: ISAG)가 운영되고 있다. 이 학회는 각국의 감정기술을 향상시키고 표준화시키기 위해 격년제로 소를 비롯하여 다양한 품종별로 국제비교동정시험(International Comparison Test) 및 workshop을 실시하고 있다. 특히 최근에는 분자생물학의 눈부신 발전으로 DNA 분석기술이 개발됨에 따라 DNA 수준에서의 유전자형 분석작업이 활발히 진행되고 있는 실정이다 [2].

단백질의 다형은 유전자 상에 코드되어 있지만 유전자내에서 단백질의 정보를 담당하고 있지 않는 intron 부위나 유전자이외의 비코드 영역에는 반복배열의 반복수가 다른 다형이 존재하는 것이 알려진 이래 현재 이용되고 있는 대표적인 DNA typing은 microsatellite DNA typing 혹은 short tandem repeats(STRs)이다. Microsatellite DNA typing은 중합효소연쇄반응(Polymerase Chain Reaction) 기술을 이용하여 혈액을 포함하여 구강상피세포나 모근으로부터 얻은 적은 양의 DNA로도 분석이 가능하게 되어 사람을 비롯하여 다양한 동물에서 분자 유전학적 특징 연구에 응용하고 있다 [5].

소의 친자감정을 위한 microsatellite DNA typing에 관해서는 여러 학자들 [1, 3, 12, 14]에 의해 많이 보고되었으나 표준화된 marker를 대상으로 보고된 결과는 거의 없는 실정이다. 이런 배경하에 현재 국가에서 추진코자 하는 동물육의 원산지 표시 등 소의 혈통등록에 관한 기초자료를 확보하고자 한우와 젖소를 대상으로 microsatellite DNA typing에 관한 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

공시재료

국내에서 사육중인 한우 29두와 젖소 30두 등 모두 59두를 대상으로 하였다. 재료는 소의 경정맥으로부터 Heparin 뉴브(Becton Dickinson, USA)를 이용하여 채혈한 혈액에서 DNA를 추출 정제하여 공시재료로 이용하였다.

Genomic DNA의 추출

Genomic DNA의 추출은 Wizard 키트를 이용하였다. 전혈 3 ml와 cell lysis solution 9 ml를 첨가하여 상온에서 10분 동안 shaking시킨 후 3,000 rpm에서 10분 동안 원심분리시켜 백혈구를 제외한 혈액을 제거한 후 nuclei

lysis solution 3 ml와 protein precipitation solution 1 ml을 혼합하여 3,000 rpm에서 10분 동안 다시 원심분리하였다. 그 후 isopropanol 3 ml를 혼합한 후 3,000 rpm에서 1분간 원심분리하여 isopropanol을 제거한 다음 70% EtOH 3 ml를 혼합하여 30분 동안 shaking 시킨 후 3,000 rpm에서 1분간 원심분리하는 과정을 2-3회 반복한 다음 70% EtOH를 제거하고 완전히 건조시킨 후 DNA rehydration solution 250 µl를 넣어 65°C에서 60분간 incubation 시킨 후 4°C cold chamber에서 overnight 반응시켜 DNA를 추출하였다.

DNA Marker 선정 및 PCR

DNA형 분석을 위한 좌우는 StockMarks[®] kit(Applied Biosystems, USA)을 사용하여 제조사의 protocol에 따라 DNA를 증폭하였으며 사용된 marker는 모두 dinucleotide repeats로서 Table 1에 나타내었다. Multiplex-PCR은 GeneAmp PCR system 9600(Applied Biosystems, USA)을 이용하여 행하였으며, PCR 조건은 먼저 95°C에서 10분간 가열하여 변성을 유도하고 94°C에서 45초간 denaturation, 61°C에서 45초간의 annealing 그리고 72°C에서 1분간의 extension의 3단계로 31회 반복하였으며 72°C에서 60분간 final extension과 25°C에서 2시간 동안 final step을 실시하였다. PCR 후 DNA는 2.5% agarose gel에 전기영동하여 증폭산물을 확인하였다.

Microsatellite DNA형 분석

증폭된 DNA는 유전자형 자동분석기(ABI Prism 310 Genetic Analyzer, USA)에 의해 전기영동하고 검출된 각 유전자좌의 대립유전자는 GeneScan Ver.2.1(Applied Biosystems, USA)으로 분석한 후 Genotyper Ver.2.5 (Applied Biosystems, USA)를 이용하여 각 marker별 대

Table 1. Characteristics of 11 microsatellite markers used in this study

Marker	Fluorescent dye	Expected allele size range(bp)
BM1824	NED	170 - 218
BM2113	FAM	116 - 146
ETH10	FAM	198 - 234
ETH225	NED	136 - 165
EH3	NED	90 - 135
INRA23	JOE	193 - 235
SPS115	FAM	235 - 265
TGLA122	JOE	134 - 193
TGLA227	FAM	64 - 115
TGLA53	FAM	147 - 197
TGLA126	JOE	104 - 131

대립유전자의 크기(bp)를 결정하였다.

통계분석

Microsatellite DNA형 좌위의 대립유전자 출현빈도를 추정하고 이를 토대로 이형접합성(Het), 다형정보량(PIC) 그리고 부권부정율(PE)을 Cervus Ver.2.0 program을 이용하여 산출하였다 [16].

결 과

한우의 microsatellite DNA형의 유전자 빈도와 유전 변이성

한우 29두에 대한 microsatellite DNA형의 유전자 빈도와 유전 변이성을 조사한 결과는 Fig. 1과 Table 2에서 보는 바와 같이 관찰된 대립유전자의 수는 5~11개(평균 6.73개)로 나타났다. Marker별 대립유전자의 빈도는 BM1824 좌위는 180 bp(0.5690), BM2113 좌위는 136 bp(0.4483), ETH10 좌위는 216 bp(0.3276), ETH225 좌위는 138 bp(0.6552), EH3 좌위는 116 bp(0.3267), INRA23 좌위는 204 bp(0.3276), SPS115 좌위는 243 bp

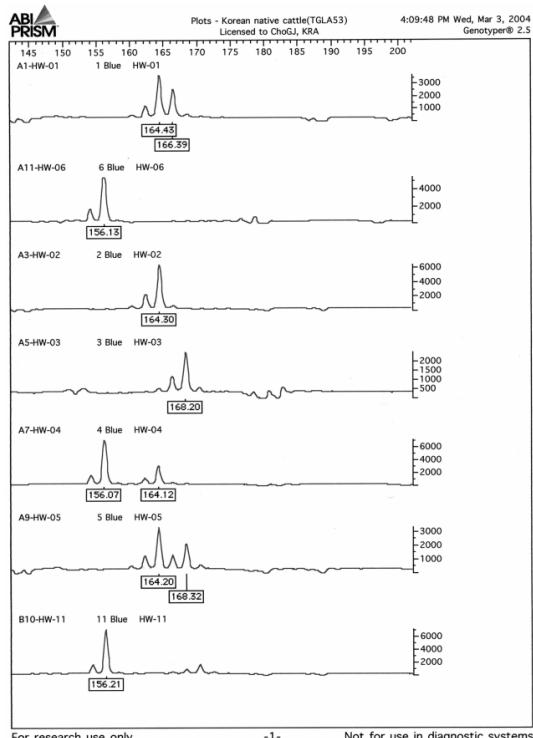


Fig. 1. Electropherogram of TGLA53 microsatellite marker in the Korean native cattle using the ABI PRISM 310 Genetic Analyzer.

(0.3448), TGLA122 좌위는 141 bp와 149 bp(0.2241), TGLA227 좌위는 82 bp(0.3103), TGLA53 좌위는 156 bp(0.2931), TGLA126 좌위는 117 bp(0.6207) 대립유전자가 가장 높은 빈도로 관찰되었다. Expected heterozygosity (H_E)와 PIC는 각각 0.534~0.855(평균 0.732), 0.485~0.821(평균 0.684)였으며 11개 marker를 조합시 부권부정율은 0.9997로 나타났으며 7개 marker(ETH10, EH3, INRA23, SPS115, TGLA122, TGLA227, TGLA53)에서 PIC 0.70 이상으로 관찰되었다.

젖소의 microsatellite DNA형의 유전자 빈도와 유전 변이성

30두의 젖소에 대한 microsatellite DNA형의 유전자 빈도와 유전 변이성을 조사한 결과는 Table 3에서 보는 바와 같이 관찰된 대립유전자의 수는 4~9개(평균 5.91)로 나타났다. 좌위별 대립유전자의 빈도는 BM1824 좌위는 188 bp(0.4167), BM2113 좌위는 132 bp(0.5167), ETH10 좌위는 216 bp(0.5333), ETH225 좌위는 142 bp(0.4333), EH3 좌위는 114 bp(0.5000), INRA23 좌위는 208 bp(0.3500), SPS115 좌위는 243 bp(0.7833), TGLA122 좌위는 141 bp(0.4000), TGLA227 좌위는 92 bp(0.2333), TGLA53 좌위는 156 bp(0.4167), TGLA126 좌위는 117 bp와 119 bp(0.3833) 대립유전자가 가장 높은 빈도로 관찰되었다. Expected heterozygosity(H_E)와 PIC는 각각 0.370~0.866(평균 0.692), 0.336~0.834(평균 0.640)으로 나타났고 3개 marker(INRA23, TGLA227, TGLA53)에서 PIC 0.70 이상으로 관찰되었고 11개 marker를 조합시 PE는 0.9991로 관찰되어 한우보다는 낮게 관찰되었다.

고 찰

가축의 혈통등록 및 확인이나 능력검정시에 필수적으로 요구되는 친자감정이나 개체식별의 원리는 대립유전자를 부모로부터 반반씩 물려 받는다는 멘델의 유전양식에 따르고 있다. 이러한 방법은 주로 혈액형(적혈구항원형과 혈액단백질형)감정을 이용하였으나 최근에는 분자생물학의 발전에 힘입어 말을 비롯하여 대부분의 동물에서 유전자형 감정을 이용하고 있는 실정이다 [8]. 가축의 친자확인에 사용할 수 있는 microsatellite DNA typing kit은 소를 비롯하여 개 [13], 말 [9]을 대상으로 Applied Biosystems사에서 제작하여 판매되고 있다. 이를 kit은 한꺼번에 PCR이 가능한 multiplex PCR 방식으로서 사용이 간편하고 시간이 절약됨으로 많은 실험실에서 이용하고 있다.

국제동물유전학회 소 분과위원회에서는 소의 친자감정을 위한 국제최소검사항목을 말의 경우와 마찬가지로

Table 2. Gene frequencies, heterozygosity, PIC value and PE of 11 microsatellite markers in the Korean native cattle

Marker	No. of alleles	Allele (gene frequency)					OHet	EHet	PIC	PE*
BM 1824	5	178** (0.0345)	180(0.5690)	182(0.2414)	184(0.0172)	188(0.1379)	0.517	0.608	0.544	0.350
BM 2113	5	124(0.0690)	130(0.0345)	132(0.2241)	134(0.2241)	136(0.4483)	0.690	0.705	0.644	0.447
ETH 10	6	206(0.0172)	214(0.2586)	216(0.3276)	218(0.1207)	220(0.0517)	0.655	0.771	0.718	0.533
		222(0.2241)								
ETH 225	5	136(0.0345)	138(0.6552)	140(0.0862)	142(0.0345)	144(0.1897)	0.345	0.534	0.485	0.307
EH 3	6	114(0.2414)	116(0.3267)	118(0.0172)	122(0.2759)	124(0.0517)	0.793	0.761	0.705	0.516
		126(0.0862)								
INRA 23	7	196(0.0862)	198(0.0517)	200(0.0345)	204(0.3276)	206(0.2586)	0.759	0.777	0.727	0.547
		208(0.0172)		212(0.2241)						
SPS 115	6	243(0.3448)	245(0.0172)	247(0.0862)	249(0.1552)	251(0.2414)	0.655	0.780	0.731	0.552
		255(0.1552)								
TGLA122	10	133(0.1379)	139(0.1034)	141(0.2241)	143(0.1552)	145(0.0345)	0.655	0.855	0.821	0.682
		149(0.2241)		151(0.0517)	159(0.0345)	163(0.0172)	165(0.0172)			
TGLA227	8	76(0.1379)	82(0.3103)	84(0.1379)	92(0.0862)	94(0.1552)	0.517	0.837	0.802	0.657
		96(0.0517)		98(0.0862)	106(0.0345)					
TGLA53	11	150(0.0345)	156(0.2931)	160(0.0690)	164(0.1724)	166(0.0862)	0.414	0.851	0.818	0.682
		168(0.0862)		170(0.0172)	174(0.0517)	176(0.1552)	178(0.0172)			
TGLA126	5	117(0.6207)	119(0.1379)	123(0.0690)	125(0.1552)	127(0.0172)	0.655	0.577	0.528	0.345
Mean	6.73						0.605	0.732	0.684	0.9997***

*OHet: Observed heterozygosity, EHET: Expected heterozygosity, PIC: Polymorphic information contents, PE: Exclusion probability

**Allele size(bp)

***Total exclusion probability

Table 3. Gene frequencies, heterozygosity, PIC value and PE of 11 microsatellite markers in dairy cows

Marker	No. of alleles	Allele (gene frequency)					OHet	EHET	PIC	PE*
BM 1824	5	178** (0.2333)	180(0.2333)	182(0.1000)	188(0.4167)	190(0.0167)	0.667	0.722	0.662	0.466
BM 2113	5	122(0.1333)	124(0.0833)	132(0.5167)	134(0.1333)	136(0.1333)	0.767	0.684	0.638	0.454
ETH 10	6	210(0.0667)	212(0.0333)	214(0.2000)	216(0.5333)	218(0.0833)	0.767	0.667	0.620	0.438
		222(0.0833)								
ETH 225	5	134(0.1000)	140(0.0333)	142(0.4333)	144(0.3500)	146(0.0833)	0.700	0.683	0.614	0.417
EH 3	5	114(0.5000)	116(0.0333)	122(0.0833)	124(0.2333)	126(0.1500)	0.733	0.676	0.619	0.426
INRA 23	6	198(0.0167)	200(0.1333)	204(0.2333)	206(0.1333)	208(0.3500)	0.833	0.782	0.735	0.558
		212(0.1333)								
SPS 115	4	243(0.7833)	247(0.1333)	249(0.0167)	251(0.0667)		0.367	0.370	0.336	0.193
TGLA122	6	141(0.4000)	143(0.0500)	147(0.2333)	149(0.2833)	151(0.0167)	0.333	0.714	0.649	0.447
		161(0.0167)								
TGLA227	9	82(0.1500)	84(0.1500)	88(0.0333)	90(0.1000)	92(0.2333)	0.767	0.866	0.834	0.702
		94(0.0500)		98(0.1667)	100(0.0333)	104(0.0833)				
TGLA53	7	154(0.0833)	156(0.4167)	158(0.2167)	160(0.0333)	162(0.0667)	0.467	0.751	0.704	0.525
		164(0.1667)		166(0.0167)						
TGLA126	6	115(0.0333)	117(0.3833)	119(0.3833)	121(0.0500)	123(0.1333)	0.833	0.696	0.628	0.431
		125(0.0167)								
Mean	5.91						0.657	0.692	0.640	0.9991***

*OHet: Observed heterozygosity, EHET: Expected heterozygosity, PIC: Polymorphic information contents, PE: Exclusion probability

**Allele size(bp)

***Total exclusion probability

9)] microsatellite marker(BM1824, BM2113, ETH10, ETH225, INRA23, TGLA122, TGLA126, TGLA227, SPF115)를 지정한 바 있다. 윤 [3]은 국제최소검사항목 8개에 대한 typing 결과 한우 및 젖소에서 각각 4(TGLA227)~8(TGLA122)개, 3(TGLA126)~9(TGLA122)개의 대립유전자 수를 보고하였고 Han 등 [14]은 한우에서 6(BM1824)~13(TGLA122)개를 보고한 바 있다. 또 김 등 [1]은 6개의 microsatellite marker에 대한 typing 결과 이형질성을 한우에서 0.690으로 보고한 바 있다. 본 연구에서 관찰된 대립유전자 수는 한우와 젖소에서 각각 5(TGLA126, BM1824, BM2113, ETH225)~10(TGLA122)개, 4(SPF115)~9(TGLA227)개가 나타나 윤 [3]의 결과와는 유사하였으나 Han 등 [14]의 결과 (TGLA122 13개)보다는 적게 관찰되었고 한우에서 이형질성은 0.732로 관찰되어 김 등 [1]의 결과(0.690)보다는 다소 높게 나타났다. 또한 대립유전자의 크기와 빈도에서 윤 [3]이 보고한 결과는 많은 차이가 인정되었는데 이는 국제적인 표준화가 정립되지 않은 결과로 사료된다. 말의 경우도 검사하는 실험실마다 대립유전자의 크기가 다소 차이가 있으나 대립유전자의 크기에 따라 영문 알파벳순으로 명명법이 표준화되어 있어 각국의 실험실마다 동일한 시료에 대해서는 같은 결과가 도출되고 있다 [17]. 이와 같은 오류를 최소화하기 위해서는 국제동물유전학회에서 주관하는 International comparison test와 유사한 National comparison test를 실시하여 대립유전자의 명명에 대한 표준화가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

윤 [3]은 microsatellite 6개에 대해서 체세포 복제 송아지를 대상으로 친자감정을 실시한 결과 대립형질들이 부모로부터 정확하게 유전되는 양상을 확인하여 멘델의 유전법칙에 따른다고 한 바 있으며 또한 한우는 연변우(Yanbian)와 흑모화우(Japanese Black Wagyu)와는 그 기원이 동일한 것으로 보고한 바 있다. 그러나, 앞으로 국내에서 사육중인 한우를 대상으로 정확한 계통 및 흐름을 파악하기 위해서는 더 많은 microsatellite marker와 다양한 품종의 시료를 대상으로 연구하여야 할 것으로 사료된다.

결 론

국내에서 사육중인 소(한우 29두, 젖소 30두) 59두를 대상으로 11개의 microsatellite marker에 대해 DNA typing을 실시한 결론은 다음과 같다.

대립유전자의 수는 한우와 젖소에서 각각 5~11개(평균 6.73개), 4~9개(평균 5.91)로 나타났다.

Marker별 대립유전자의 빈도는 한우와 젖소에서 각각

BM1824 좌위는 180 bp(0.5690), 188 bp(0.4167), BM2113 좌위는 136 bp(0.4483), 132 bp(0.5167), ETH10 좌위는 216 bp(0.3276), 216 bp(0.5333), ETH225 좌위는 138 bp(0.6552), 142 bp(0.4333), EH3 좌위는 116 bp(0.3267), 114 bp(0.5000), INRA23 좌위는 204 bp(0.3276), 208 bp(0.3500), SPS115 좌위는 243 bp(0.3448), 243 bp(0.7833), TGLA122 좌위는 141 bp와 149 bp(0.2241), 141 bp(0.4000), TGLA227 좌위는 82 bp(0.3103), 92 bp(0.2333) TGLA53 좌위는 156 bp(0.2931), 156 bp(0.4167), TGLA126 좌위는 117 bp(0.6207), 117 bp와 119 bp(0.3833) 대립유전자가 가장 높은 빈도로 관찰되었다.

한우에서 expected heterozygosity(H_E)와 PIC는 각각 0.534~0.855(평균 0.732), 0.485~0.821(평균 0.684)였으며 11개 marker를 조합시 부권부정율은 0.9997로 나타났으며 7개 marker(ETH10, EH3, INRA23, SPS115, TGLA122, TGLA227, TGLA53)에서 PIC 0.70 이상으로 관찰되었고 젖소에서의 expected heterozygosity(H_E)와 PIC는 각각 0.370~0.866(평균 0.692), 0.336~0.834(평균 0.640)으로 나타났으며 3개 marker(INRA23, TGLA227, TGLA53)에서 PIC 0.70 이상으로 관찰되었고 11개 marker를 조합시 PE는 0.9991로 관찰되어 한우보다는 낮게 관찰되었다.

참고문헌

- 김경석, 엄지현, 최창본. Microsatellite 분석을 통한 한우의 유전적 다양성. 한국동물자원과학회지. 2001, **43**, 599-608.
- 변희대. Microsatellite를 이용한 한우의 유전적 다양성 분석 및 친자판정에 관한 연구. 건국대학교 대학원 박사학위논문. 서울, 2000.
- 윤두학. 한우의 분자유전학적 특성 구명을 위한 유전적 다양성 분석과 육질관련 표지유전자개발. 고려대학교 대학원 박사학위논문. 서울, 2002.
- Alford, R. B., Hammond, H. A., Coto, I. and Caskey, C. T. Rapid and efficient resolution of parentage by amplification of short tandem repeats. Am. J. Human Genet. 1994, **55**, 190-195.
- Bowling, A. T., Eggleston-Scott, M. L., Byrns, G., Clark, R. S., Dileanis, S. and Wictum, E. Validation of microsatellite markers for routine horse parentage testing. Anim. Genet. 1997, **28**, 247-252.
- Chae, Y. J., Lee, B. C. and Lee, H. Paternity test in dogs by DNA analysis. Korean J. Vet. Clin. Med. 1998, **15**, 274-278.
- Cho, G. J. and Cho, B. W. Validation of microsatellite markers for routine canine parentage testing in Korea. Korean J. Genet. 2003, **25**, 103-108.

8. Cho, G. J., Yang, Y. J., Kang, H. S. and Cho, B. W. Genetic diversity and validation of microsatellite markers for Jeju native horse parentage testing. Korean J. Genet. 2002, **24**, 359-365.
9. Dimsoski, P. Development of a 17-plex microsatellite polymerase chain reaction kit for genotyping horses. Croatian Medical J. 2003, **44**, 332-335.
10. Ellegren, H., Johansson, M., Sandberg, K. and Andersson, L. Cloning of highly polymorphic microsatellites in the horse. Anim. Genet. 1992, **23**, 133.
11. Fredhol, M. and Wintero, A. K. Efficient resolution of parentage in dogs by amplification of microsatellites. Anim. Genet. 1996, **27**, 19-23.
12. Glowatzki-Mullis, M. L., Gaillard, C., Wigger, G. and Feies, R. Microsatellite-based parentage control in cattle. Anim. Genet. 1995, **26**, 7-12.
13. Halverson, J. L. and Edwards, J. W. Microsatellite polymorphism in dog breeds-the AKC parent club study. Proc. 27th ISAG Conf. Anim. Genet. 2000, 19.
14. Han, S. K., Byun, H. D. and Chung, E. Y. Genetic diversity analysis and parentage control in Korean native cattle using microsatellite. Proc. 27th ISAG Conf. Anim. Genet. 2000, 88.
15. Jeffreys, A. J., Wilson, V. and Thein, S. L. Hypervariable minisatellite regions in human DNA. Nature. 1985, **314**, 67-73.
16. Marshall, T. C., Slate, J., Kruuk, L. and Pemberton, J. M. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. Mol. Ecol. 1998, **7**, 639-655.
17. Tozaki, T., Kakoi, H., Mashima, S., Hirota, K. I., Hasegawa, T., Ishida, N., Miura, N., Choi-Miura, N. H. and Tomita, M. Population study and validation of paternity testing for Thoroughbred horses by 15 microsatellite loci. J. Vet. Med. Sci. 2001, **63**, 1191-1197.