

Major DNA Marker Mining of Hanwoo Chromosome 6 by Bootstrap Method

Jea-Young Lee¹⁾ and Yong-Won Lee²⁾

ABSTRACT

Permutation test has been applied for the QTL(quantitative trait loci) analysis and we selected a major locus. K-means clustering analysis, for the major DNA Marker mining of ILSTS035 microsatellite loci in Hanwoo chromosome 6, has been described. Finally, bootstrap testing method has been adapted to calculate confidence intervals and for finding major DNA Markers.

Keywords : QTL, Permutation test, K-means clustering, Bootstrap method

1. 서론

21세기는 생명공학의 시대를 맞이하여, 생명공학의 핵심이 될 지놈(genome) 연구가 활발히 진행되고 있다. 지놈 연구란 한 생명체가 생명을 지닌 개체로서 기능을 하도록 하는 정보가 담겨 있는 유전정보의 총 집합체인 지놈을 구성하고 있는 DNA의 서열을 밝히는 프로젝트를 말하는 것이다. 이 지놈 프로젝트로써 21세기 생명체로서 활동하는 개체에 대한 근본정보를 모두 밝히게 될 예정이다. 선진국에서는 이미 인간지놈 프로젝트(Human Genome Project) 뿐만 아니라 경제성이 높은 동물의 지놈 프로젝트도 추진되고 있어, 우리나라에서도 선진국에 종속되지 않는 고유한 재래유전 자원을 이용한 지놈 프로젝트의 필요성이 끊임없이 제기되어져 왔으며, 우리나라 재래가축 유전자원 중 가장 경쟁력이 확보되고 경제성이 높은 것으로 확인된 한우를 대상으로 유전자지도 작성(gene mapping)이 시도되고 있다(Kim 등, 2000). 한우를 비롯한 축우의 유전자지도 작성에서는 주로 microsatellite를 이용하고 있다. microsatellite란 생물체에 존재하는 단순염기서열(simple repetitive sequence)들의 수많은 반복단위 수의 변이에 따른 DNA다형성을 나타내는 것으로 1~6개의 nucleotide가 순차적 반복염기(tandem repeat sequence)로 구성되어 있는 것으로 보고되었으며(Rassman 등, 1991), 이들 microsatellite들은 주변의 특이 염기서열로부터 프라이머(primer)를 이용한 PCR 방법은 사용이 용이하고 증폭된 산물들은 단순염기서열 반복단위의 수를 변이시킴

-
- 1) Professor, Department of Statistics, Yeungnam University, 214-1 Daedong, Kyungsan, Kyungbuk, 712-746, South Korea
E-mail : jlee@yu.ac.kr
 - 2) Graduate, Department of Statistics, Yeungnam University, 214-1 Daedong, Kyungsan, Kyungbuk, 712-746, South Korea

로서 높은 다형성을 나타내게 된다. 그리고 이들이 나타내는 Marker들은 개체에서 특이적인 다형성과 공우성(codominance)을 나타내게 되어 동일종의 혈연관계가 가까운 가계나 계통 간에도 높은 수준의 이형 접합성을 보인다. 그러므로 가계 내 연관분석에 매우 효과적으로 이용할 수 있어 동물의 유전자지도 작성에 유용한 도구로 사용할 수 있는 것으로 밝혀져(Bishop 등, 1994; Georges 등, 1995), 개체식별 및 친자감별 등에 microsatellite가 유용한 도구로 사용되어졌다(Mannen 등, 1993).

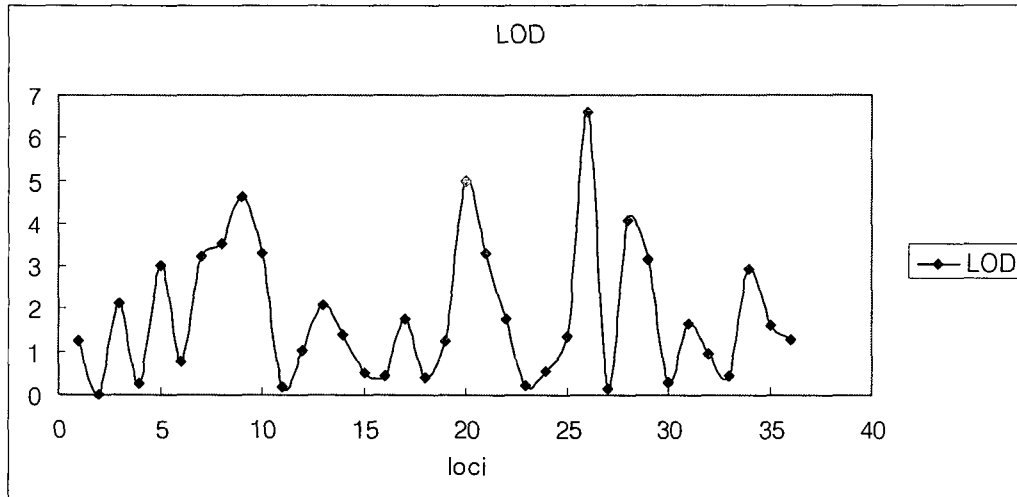
특히, 소에서는 Bishop 등(1994)이 468개의 microsatellite primer를 사용하여 170여 개의 유전자 좌위(loci)로 평균 15cM 간격의 유전자 연관 지도를 작성하였으며, Taylor 등(1998)은 Cri-Map 프로그램을 이용하여 bovine 염색체 1번 (BTA1)에서 26개의 microsatellite 좌위들의 유전자지도를 작성하여 각각의 유전자 좌위간의 유전적 거리가 평균적으로 2cM 이하인 암, 수를 선별, 그들 평균(sex-average)이 163.6cM (Female 159.5cM, Male 165.3cM)으로 나타났다. 또한 소에서 일당증 체량, 근내지방도, 등지방 두께 및 산자수 등의 중요한 경제 형질에 관여하는 유전자 연관 표식인자가 몇 번 염색체의 어느 위치에 존재하는가를 밝히기 위한 QTL(Quantitative Trait Loci)에 대한 연구가 진행되고 있다. Hirano 등(1998), Taylor 등(1998)과 Stone 등(1999)은 근내지방(marbling)과 고기연도(meat tenderness)에 관련되는 유전자가 27번 염색체에 있음을 보고하였고, Stone 등(1999)은 bovine 염색체 6번에 생시 및 1세령 체중에 연관된 유전자가 존재함을 그리고 Casas 등(1999 a,b)은 bovine 염색체 6번에 위치한 7개의 microsatellite loci(INRA133, BM1329, BMS2508, BMS382, BM306, BMS483 및 BM415)가 생시 체중과 증체에 연관되어 있음을 보고하였다.

본 연구는 한우의 주요 경제형질인 육질과 육량에 연관된 유전자들이 다수 위치하는 6번 염색체의 microsatellite loci를 대상으로 우선 육질에 연관된 loci의 QTL 분석을 하여 선별된 loci값의 유의성을 검정하고(2장), 그 이후 K-means 평균 군집화 기법에 의해 우수 DNA를 Mining하려고 시도하고(3장), 붓스트랩을 이용하여 신뢰구간을 구하고(4장), 이들 loci들이 가지는 DNA Marker를 이용한 한우의 형질의 능력 개량을 위하여 본 연구를 시행하였다.

2. QTL (quantitative trait loci) 모델링과 순열검정

한우에서 경제형질연관 DNA Marker를 이용한 육질형질의 능력 개량을 위해 QTL 분석의 활용은 한우의 육질능력 개량에서 보다 신속하고, 정확한 육질 연관 DNA Marker의 활용을 가능하게 할 수 있다. 따라서 한우가 국제경쟁력을 가지기 위해서는 육질에 연관된 한우의 고유한 유전자를 찾고, 이를 위한 linkage map을 기초로 한 한우 집단에 적합한 새로운 QTL 분석 모형 및 프로그램의 개발이 반드시 필요하다. 이러한 측면에서 볼 때 Kim 등(2000)이 보고 한 한우의 6번 염색체의 유전자 지도 작성을 이용한 일당증체량 연관 QTL의 분석에서 적용되어진 QTL 분석 모형은 반형매 가계를 이용한 linkage mapping과 QTL 분석의 가능성을 충분히 제시하고 있어 본 연구의 수행에 적극 활용하였다. 본 연구는 한우의 6번 염색체의 유전자 지도 작성을 이용한 근내지방 연관(bovine 경우) QTL의 LOD값 <그림 1>을 계산하여 경제형질의 기록이 있는 한우농가 개체들의 QTL 검정하였다(김 등, 2003). LOD값은 LOD (logarithm of the odds ratio, 1984; J. Chotai)

공식에 적용해서 얻어진다. 실제로 LOD 값은 관측값으로부터 우수 유전형질의 추정에 이용되어 왔으며, “LOD 값>3.0”이면 통계적으로 유의한 유전형질로 여긴다(J. Ott 1999). LOD의 구체적 설명은 J. Chotai(1984), J. Ott(1999)등에 따른다.



<그림 1> 6번 염색체의 근내지방 연관 QTL의 LOD값 그래프

하지만, “LOD 값>3.0”을 판정기준에 대한 문제점이 발생하여 LOD Score 값의 통계적 유의성을 검정해주기 위해 순열검정을 실시하였다(Churchill 와 Doerge, 1994). 본 논문에서는 각 locus 별로 10,000번의 simulation을 실시 한 후 p-value를 계산하였다.

예를 들어 BM3026의 근내지방에 대한 순열검정의 단계에 대하여 살펴보면(1994, Phillip G.),

단계 1 : 근내지방에 대하여 Anova 분석과 사후검정을 통하여 평균이 높은 그룹과 높지 않은 그룹으로 이분화 한다.

단계 2 : 나누어진 그룹 중 평균이 높은 그룹에 속해있는 DNA Marker를 파악한 후, 분석하고자 하는 그룹의 검정통계량을 선별한다.

단계 3 : 선별된 검정통계량을 계산한다.

단계 4 : 배열을 바꾸어가며(permute) 검정통계량을 재계산한다. 이 과정을 시행횟수(10,000번) 만큼 반복한다.

단계 5 : 최초로 선별된 이분화된 그룹의 통계량과 비교하여 p-value를 계산한다.

그 결과는 <표 1>과 같다.

< 표 1 > Chromosom 6번의 우수 Loci에 대한 순열검정 결과

형질	loci	LOD Score	P-value	Ratio of QTL variation (%)
	BM3026	3.50199907	P<0.01	9.37
	BMS690	4.602844364	P<0.01	12.53
	ILSTS035	4.991694330	P<0.01	16.54
근내지방	BM4311	6.594214985	P<0.01	16.38
	BMS511	4.079206916	P<0.01	11.03
	AFR227	3.150859863	0.07235	19.47
	BMC4203	2.915809464	P<0.01	7.88

<표 1>에서 보면 AFR227은 LOD값은 3이상으로 높게 나타났지만, P-value가 0.07235로 나오는 것을 알 수 있다. 전체적으로 볼 때 ILSTS035와 BM4311의 loci가 근내지방 경제형질에서 우수한 값으로 나타났다. 우선 본 논문에서는 ILSTS035에 대해서 우수 DNA를 선별하고자 한다.

3. K-평균 군집화 기법을 이용한 우수 DNA Mining

본 실험은 농림기획과제로 수행중인 한우고유의 우수 유전인자의 관찰을 위해 실험중인 후대검정한우 165두를 사용하였다. 이중 한우 6번 염색체중 선별된 ILSTS035 microsatellite loci의 DNA Marker를 분석하였다. 변수의 개수는 13개이다. 13개의 변수 중 각 DNA Marker의 유무에 대하여 나누어진 변수가 9개 DM210, ..., DM266으로 정의되고 이들은 각각 염기서열로부터 primer를 이용한 PCR 방법에서 얻어진 정량적(metric)자료이며, 한우 특성에 관한 변수가 5개이다. 한우 특성에 관한 변수에는 근내지방, 일당증체, 등지방, 등심 및 도체중이 있다. 이런 한우의 특성에 관한 변수들에 대하여 군집을 나누어서 어떤 DNA Marker가 어느 군집에 많이 속해 있는지를 발견하고자 하였다. 변수들 간의 단위가 달라서 군집 형성시 문제가 발생할 가능성이 있기 때문에 처음 변수들을 표준화 시켰다. 그리고 등지방은 값이 적을수록 좋은 것이 되므로, 군집 분석 전에 역 등지방이란 새로운 변수를 만든다. 역 등지방을 계산하는 방식은 $(1/\text{등지방}) \times 10$ 으로 하였다.

한우의 특성에 관한 4개의 변수들의 특성을 DNA Marker와의 모형구축을 위해 비계층적 군집 방법인 K-평균 군집분석을 시도하였다. K-평균 군집화의 알고리즘은 총 5개의 단계로 이루어진다.

- 단계 0 : 사전적 군집수 3개 지정,
- 단계 1 : 각 군집에 임의로 군집중심 정함,
- 단계 2 : 모든 개체 각각 가장 가까운 군집중심에 배속,
- 단계 3 : 각 군집 중심 산출,
- 단계 4 : 단계 2,3 변화 없을 때까지 반복한다.

각 개체 x_i ($i=1, \dots, n$)와 군집중심 m_t ($t=1, \dots, k$)간의 거리는 유클리드 방식과 표준화된 유클리드 방식으로 계산되어진다. 즉, 자료행렬 X 와 표본 공분산행렬 S 는 다음과 같이 표시된다.

$$X = \begin{bmatrix} x_{11} & x_{12} & \cdots & x_{1n} \\ x_{21} & x_{22} & \cdots & x_{2n} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ x_{p1} & x_{p2} & \cdots & x_{pn} \end{bmatrix} = [x_1 \ x_2 \ \cdots \ x_n]$$

$$S = \begin{bmatrix} s_1^2 & s_{12} & \cdots & s_{1p} \\ s_{21} & s_2^2 & \cdots & s_{2p} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ s_{p1} & s_{p2} & \cdots & s_p^2 \end{bmatrix}$$

이때, 유클리드 방식은 변수의 척도

$$d(x_i, m_i) = \left[\sum_{h=1}^p (x_{hi} - m_{hi})^2 \right]^{1/2} \quad (h=1, \dots, p)$$

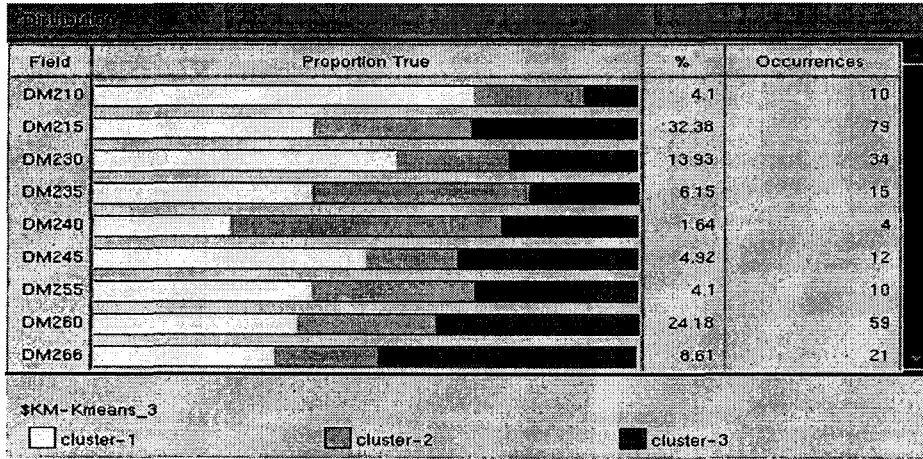
에 의존하고, 표준화된 유클리드 방식은 변수의 척도에 무관하게 군집을 이루게 된다.

$$d(x_i, m_i) = \left[\sum_{h=1}^p \left(\frac{x_{hi} - m_{hi}}{s_h} \right)^2 \right]^{1/2} \quad (h=1, \dots, p)$$

이런 단계를 거쳐 여기서는 클레멘타인의 K-Means node를 이용한 군집화를 시도한 결과 3개의 군집이 잠정 결정되어, 그 상세 분석을 하고자 한다. 클레멘타인의 군집화 결과를 다음 <표 2>로 나타내어 군집의 특성을 파악한 후 각 군집별 특성을 정의하였다. 즉, 군집1은 (역)등지방에 양호한 영향을 주는 DNA Marker군이고, 군집2는 근내지방에 양호한 영향을 주는 DNA Marker군이며, 군집3은 일당증체, 등심, 도체중에 양호한 영향을 주는 DNA Marker군이다.

< 표 2 > K-Means 군집화 결과 () : 두수

	군집 1(58)	군집 2 (36)	군집 3 (43)
근내지방	-0.673177	1.341518	-0.215128
일당증체	-0.711536	0.08525	0.888374
(역)등지방	0.333065	-0.11327	-0.354413
등심	-0.564381	0.169661	0.619216
도체중	-0.791399	0.172412	0.923122



< 그림 2 > 각 DNA Marker에 대한 군집들의 비율

다음으로 <그림 2>는 각 DNA Marker에 대한 군집별 비율을 나타낸다. DNA Marker 210, 215, 230, 245는 군집1(역 등지방에 양호한 영향을 주는 군집)의 성향이 강하며, DNA Marker 235, 240은 군집 2(근내지방에 양호한 영향을 주는 군집)의 성향이 강하며, DNA Marker 260, 266은 군집 3(일당증체, 등심, 도체중에 양호한 영향을 주는 군집)의 성향이 강하다. 한편 DNA Marker 240을 가진 인자는 총 4두에 불과해 근내지방에 양호한 유전자로 보이지만 유전자의 개수가 적어 실제로 판단이 어려운 경우였다.

한편, 표준화된 데이터에 대한 각 DNA Marker의 경제형질별 표준화 평균을 통해 그 특징을 분석하고자 하였다. <표 3>에서 근내지방의 평균이 높게 나타난 DNA Marker는 235였고, (역)등지방의 평균이 높게 나타난 DNA Marker는 210, 215, 235였으며, 일당증체, 등심, 도체중의 평균이 높게 나타난 DNA Marker는 240, 255, 260, 266이었다.

< 표 3 > ILSTS035 내 DNA Marker들 경제형질별 평균 () : 두수

형질	DNA Marker 210 (10)	DNA Marker 215 (79)	DNA Marker 230 (34)	DNA Marker 235 (15)	DNA Marker 240 (4)	DNA Marker 245 (12)	DNA Marker 255 (10)	DNA Marker 260 (59)	DNA Marker 266 (21)
근내지방	-0.4286	0.0804	-0.1459	0.5838	0.1355	-0.1981	-0.134	0.0147	-0.0356
일당증체	-0.5216	0.0741	-0.2309	-0.1715	0.2109	-0.364	0.2196	0.0384	0.182
역등지방	0.8808	0.1168	0.0597	0.2417	0.0689	-0.407	-0.0365	-0.2142	0.0967
등심	0.0483	0.0668	-0.1997	0.1683	0.1968	-0.5815	-0.196	0.1646	0.4375
도체중	-0.5999	0.0594	-0.2924	-0.0201	0.3722	-0.4761	-0.1376	0.1091	0.1997

< 표 4 > 표준화된 데이터 평균값에 따른 DNA Marker와 Mining된 DNA Marker

	데이터의 평균결과 < 표 3 >	K-means Mining < 그림 2 >
< 군집 1 > 역 등지방에 영향을 주는 군집	DNA Marker210, DNA Marker215, DNA Marker235	DNA Marker210, DNA Marker215, DNA Marker230, DNA Marker245
< 군집 2 > 근내지방에 영향을 주는 군집	DNA Marker235	DNA Marker235, DNA Marker240
< 군집 3 > 일당중체, 등심, 도체중에 영향을 주는 군집	DNA Marker240, DNA Marker255, DNA Marker260, DNA Marker266	DNA Marker260, DNA Marker266

<표 2>, <표 3>, <그림 2>로부터 한우의 주요형질인 육질과 육량에 관련한 결과들을 <표 4>로 요약할 수 있다. (역)등지방에 우수 유전인자로 DNA Marker 210, 215로 나타났으며, 근내지방에 우수 유전인자로 DNA Marker 235로 나타났으며, 일당중체, 등심, 도체중에 우수한 인자로 DNA Marker 260, 266이 한우의 주요 경제형질로 결론지을 수 있겠다.

DNA maker 210번인 경우 (역)등지방에 영향을 주는 군집에 속하지만, 10두에 불과해 실제 결론으로 삼기 어려운 점으로 나타났고, DNA maker 235번인 경우 근내지방에 영향을 주는 군집에 속하지만, 15두에 불과해 실제 결론으로 내리기 어려운 점으로 나타났다. 따라서 붓스트랩 (bootstrap) 검정방법 (Visscher et al., 1996)을 이용하여 DNA Marker에 대한 신뢰구간을 통해 우수 유전자 탐색을 실시하였다.

4. 붓스트랩 방법을 통한 우수 유전자 탐색

DNA Marker들에 대하여 붓스트랩 방법을 이용하여 신뢰구간을 계산하여 실질적으로 영향력이 있는지를 알아보려고 하였다. 여기에서 시행하는 붓스트랩 방법은 BCa(Bias-Corrected accelerate) 방법으로, 각 DNA Marker별로 B=1000번 실시하였다.

우선 그 알고리즘은 다음 단계를 가진다.

단계 1 : 각 DNA Marker내에 형질별(근내지방 등) 표본을 파악한 후, 평균의 추정값을 계산한다.

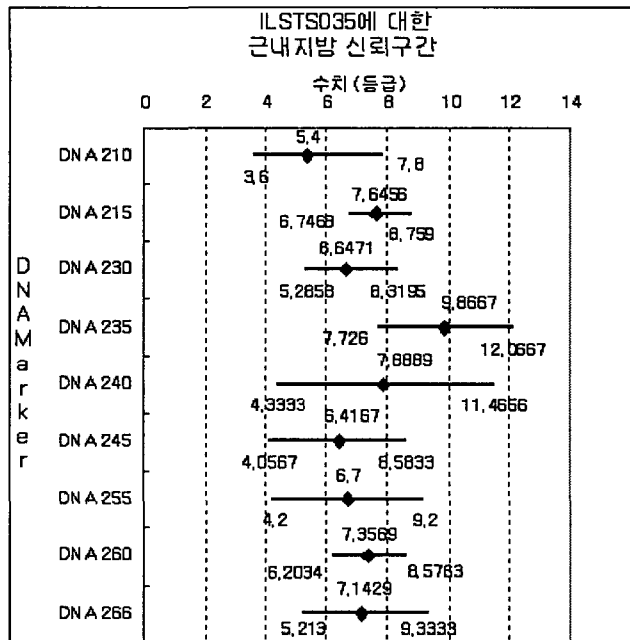
단계 2 : 각 DNA Marker별로 B=1000번의 복원 붓스트랩 표본의 생성하여, 각각의 평균을 추정한다.

단계 3 : 단계 2의 B=1000번의 생성추정값들에 대한 평균($\widehat{\theta}_{(1)}, \widehat{\theta}_{(2)}, \dots, \widehat{\theta}_{(1000)}$)의 평균 $\bar{\theta}$ 의 $(1-\alpha) \times 100\%$ 신뢰구간은 $(\widehat{\theta}_{lo}, \widehat{\theta}_{up}) = (\bar{\theta}^{*(\alpha)}, \bar{\theta}^{*(1-\alpha)})$ 로 구해진다.

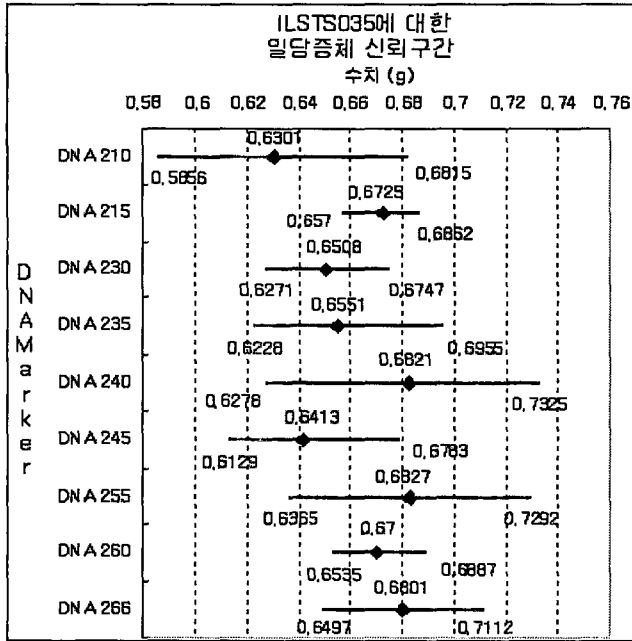
$$\text{단, } \alpha_1 = \Phi\left(\frac{\widehat{Z}_0 + Z^{(\alpha/2)}}{1 - \widehat{\alpha}(\widehat{Z}_0 + Z^{(\alpha/2)})}\right), \quad \alpha_2 = \Phi\left(\frac{\widehat{Z}_0 + Z^{(1-\alpha/2)}}{1 - \widehat{\alpha}(\widehat{Z}_0 + Z^{(1-\alpha/2)})}\right),$$

$\Phi(\cdot)$ 는 표준정규누적분포이다 (1993, Efron B.)

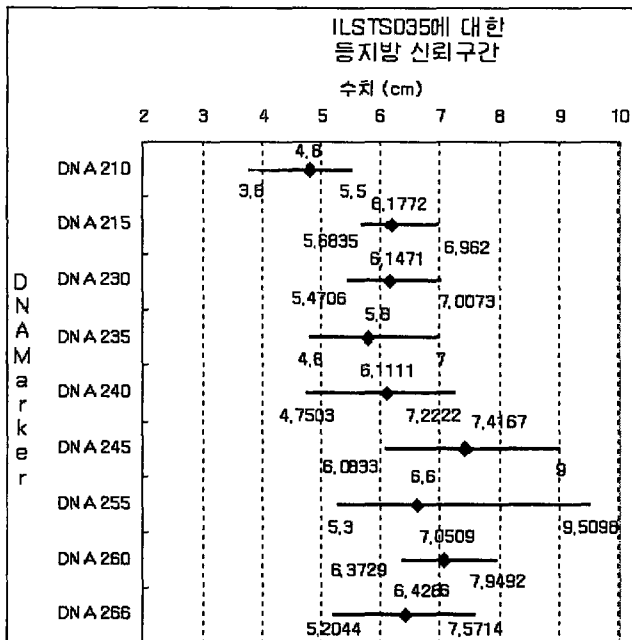
다음 <그림 3~7>은 이들 DNA Marker들의 붓스트랩 BCa방법을 통한 결과이다.



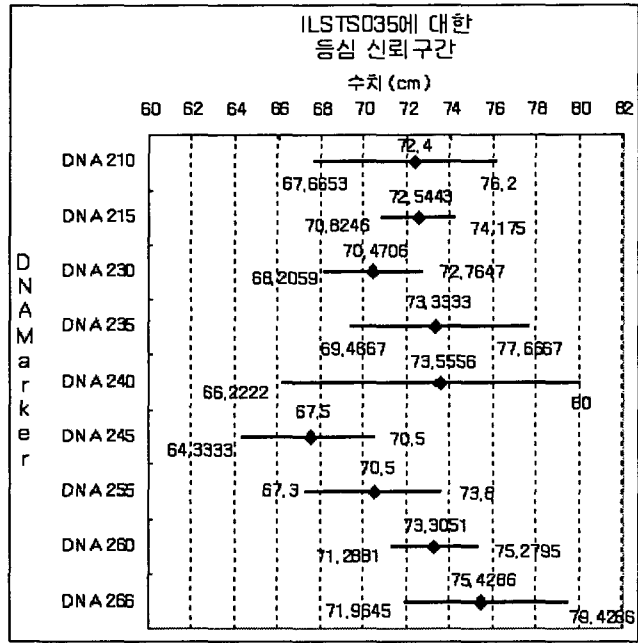
<그림 3> ILSTS035 근대지방에 대한 붓스트랩결과



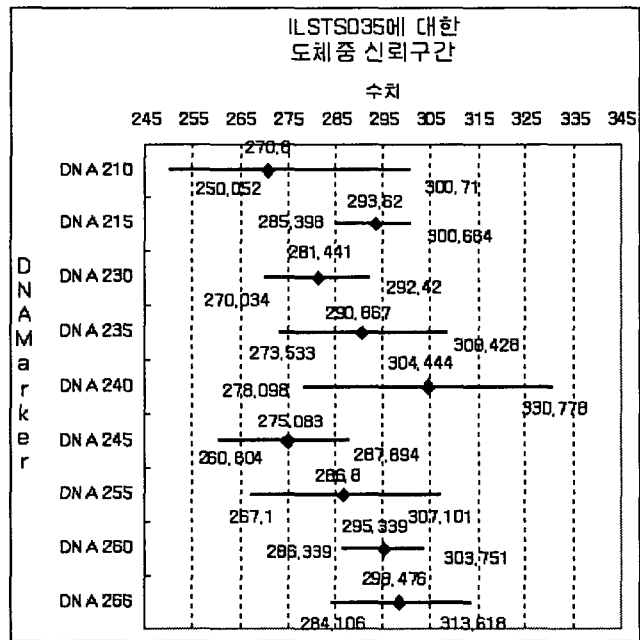
<그림 4> ILSTS035 일당증체에 대한 붓스트랩결과



<그림 5> ILSTS035 등지방에 대한 붓스트랩결과



<그림 6> ILSTS035 등심에 대한 붓스트랩결과



<그림 7> ILSTS035 도체중에 대한 붓스트랩결과

<그림 3>에서 DNA Marker 235번의 신뢰구간을 계산해 본 결과 다른 DNA Marker들에 비하여 평균값이 높게(9.8667) 나왔고, 신뢰구간 (7.726, 12.0667)이 나타나 근내지방에 양호한 영향을 주는 우수 유전자로 판단할 수 있다. <그림 4>에서 일당증체에 대한 붓스트랩 결과 특이한 우수 DNA Marker가 없다. <그림 5>에서 DNA Marker 210번의 신뢰구간을 계산해 본 결과 평균값이 다른 DNA Marker에 비해 낮게 나타남을 알 수 있으며, 신뢰구간 역시 (3.8, 5.5) 좁게 나타나 등지방에 양호한 영향을 주는 우수 유전자로 판단할 수 있다. <그림 6, 7>에서 등심, 도체중에 대한 붓스트랩 결과 특이한 우수 DNA Marker가 없다. 하지만, DNA Marker 210번은 일당증체, 도체중에서는 악영향을 주는 유전자로 나타났다. DNA Marker 260, 266번도 앞 절에서 일당증체, 등심, 도체중에 다소 우수한 유전자로 잠정 결정되었지만, 붓스트랩에서는 Marker 266번이 우수하다고 선별되었다.

5. 결론

한우 6번 염색체 유전자 지도에서 ILSTS035 microsatellite loci에서 우수 DNA Marker Mining을 해 보았다. 그리고 한우의 특성부위에 따른 유전적 요인의 DNA Marker의 영향을 파악하였다. DNA Marker들의 실질적인 영향을 알아보기 위해 붓스트랩(bootstrap) BCa 방법을 통해 신뢰구간을 계산하였다. 그 결과, DNA Marker 235번과 266번이 우수 DNA Marker로 선별되었다. DNA Marker 210번은 등지방에만 우수 유전자로 나타났고, 다른 경제형질에서는 악성인 유전자로 나타났다. 사후 우수 DNA Marker로 선별된 235번과 266번에 대하여 환경적인 요인에 영향을 많이 받는 출품우에 적용하여 우수 DNA Marker로 선별된 235번 과 266번에 대하여 유전적인 요인의 영향을 검증해야한다.

참고문헌

- [1] Bishop, M. D., S. M. Kappes, J. W. Keele, R. T. Stone, S. L. F. Sunden, G. A. Hawkins, S. S. Toddo, R. Fries, M. D. Grosz, J. Yoo and C. W. Beattier, 1994. A genetic linkage map for cattle. *Genetics* 136:619-639.
- [2] Casas, E., S. D. Shackelford, J. W. Keele, R. T. Stone, S. M. Kappes and M. Koohmaraie, 1999a. Evidence of quantitative trait loci affecting growth and carcass composition traits in cattle segregating the muscle hypertrophy locus. *Journal of Animal Science* 77 Supplement(1) :126-127.
- [3] Casas, E., J. W. Keele, S. M. Kappes and R. T. Stone, 1999b. A quantitative trait locus for birth and yearling weight segregates on chromosome 6 in *Bos Taurus* cattle. *Plant & Animal Genome VII Conference*, San Diego, CA:P150.
- [4] Chotai, J.,(1984) On the lod score method in linkage analysis. *Ann. Hum. Genet* 48:359-378.
- [5] G.A. Churchill and R.W. Doerge, 1994. Empirical Threshold Values for Quantitative Trait Mapping, *Genetics* 138:963-971.
- [6] Georges, M., D. Nielsen, M. Mackinnon, A. Mishra, R. Okimoto, A. T. Pasquino, L. S. Sargeant, A. Sorenson, M. R. Steele, X. Zhao, J. E. Womack and I. Hoeschele, 1995.

- Mapping quantitative trait loci controlling milk production in dairy cattle by exploiting progeny testing. *Genetics* 139:907-920.
- [7] Hirano, T., N. Kobayashi, T. Nakamaru, K. Hara and Y. Sugimoto, 1998. Linkage analysis of meat quality in Wagyu. *26th International Conference on Animal Genetics*, Auckland, New Zealand:E019.
- [8] Kim, J. W., T. K. Jang, Y. A. Park and J. S. Yeo. 2000. Linkage mapping of chromosome 6 in the Korean Cattle(Hanwoo). *Asian-Aust. Anim. Sci.*13(Suppl.):235
- [9] Lander, E. and Bostein, D. 1989. Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics* 121; 185-199.
- [10] Ott, Jurg. 1999. *Analysis of human genetic linkage*, 3rd ed. The Johns Hopkins university press.
- [11] Mannen, H., S. Tsuji, F. Mukai, N. Goto and S. Ohtagaki, 1993. Genetic Similarity using DNA fingerprinting in cattle to determine relationship coefficient. *J. Hered.* 84:166-169.
- [12] Rassman, K., C. Scholotterer and D. Tautz, 1991. Isolation of simple-sequence loci for use in polymerase chain reaction base DNA fingerprinting. *Electrophoresis* 12:113-118.
- [13] Stone, R. T., E. Casas, S. M. Cappes and J. W. Keele, 1999. Status of mapping bovine QTL at the U.S. meat animal research center. *Plant-Animal Genome VII Conference*, San Diego, CA:W34.
- [14] Taylor, J. F., S. K. Davis, J. O. Sanders, J. W. Turner, R. K. Miller and S. B. Smith, 1998. Identification of QTLs for growth and carcass quality in a cross between *Bos indicus* and *Bos taurus*. *Plant-Animal Genome VII Conference*, San Diego, CA:W19.
- [15] Roslin Institute, 2000. Bovine gene map. URL=<http://ri.bbsrc.ac.uk/>
- [16] Phillip G. (1994) "Permutation Test" Springer-Verlag
- [17] Efron B., Tibshirani R. (1993) "An Introduction to bootstrap" CHAMPMAN & HALL
- [18] Peter M. Visscher, Robin Thompson and Chris S. Haley ,1996. Confidence Intervals in QTL Mapping by Bootstrapping. *Genetics* 143; 1013-1020.
- [19] 김문정, 이제영, 여정수, 이용원, 조용주. 2003. 한우의 Chromosome 6번에서 BM4311의 중요 DNA Mining. Proceedings of the Spring Conference, Cheju National Uni.