

## 모색 발현 유전자의 DNA Marker를 이용한 쇠고기 품종 판별

정 의 룡\* · 정 구 용<sup>1</sup>

상지대학교 생명자원과학대학 생명공학과

<sup>1</sup>상지대학교 생명자원과학대학 동물자원학과

## Identification of Beef Breed using DNA Marker of Coat Color Genes

Eui-Ryong Chung\* and Ku-Young Chung<sup>1</sup>

Dept. of Biotechnology, College of Life Science and Natural Resources, Sangji University

<sup>1</sup>Dept. of Animal Science and Technology, College of Life Science and Natural Resources, Sangji University

### Abstract

In Korean beef market, one of the major problems is mislabeling or fraudulent distribution of Holstein dairy meat or imported beef as domestic Hanwoo meat. Therefore, there has been a great need for a development of technology to identify beef breeds in meat and meat products. This study was carried out to develop the accurate and reliable method for the identification of beef breed using PCR-RFLP marker of MC1R, MGF and TYRP1 genes affecting coat colors in cattle. A single base substitution (G→T transition) at the codon for amino acid position 104 of MC1R gene was identified between Hanwoo and Holstein and Angus breeds. The change at this position creates *Msp I* restriction site in Holstein and Angus, but not in Hanwoo. When the DNA amplified products (537 bp) was digested with *Msp I*, Hanwoo meat showed a single band of 537 bp, while two fragments of 329 bp and 208 bp were observed in Holstein meat and Angus breed, respectively. Thus, breed-specific RFLP marker in the MC1R gene can be used to distinguish between Hanwoo meat and Holstein and Angus meats. In the RFLP genotype of MGF gene, the frequency of r/r type was 75% in Hanwoo, whereas the frequency of R/R was 80% in Hereford breed. Holstein and Angus breeds showed 100% for R/r type. Therefore, Hanwoo meat showed significant difference in the MGF genotype frequencies compared with those of Holstein meat and imported beef cattle breeds. However, TYRP1 gene showed the same genotype in all breeds examined. Thus, this TYRP1 gene can not be used as a molecular marker for breed identification. As a consequence, we suggest that RFLP markers of the MC1R and MGF coat color genes could be used as DNA marker for identification of Hanwoo meat from Holstein and imported meats.

**Key words :** coat color genes, PCR-RFLP, DNA marker, beef breed identification

### 서 론

소의 모색은 품종의 외형적 특징을 나타내는 대표적인 유전형질로서 과거부터 품종을 식별하는 수단으로 이용되어온 전통적인 표지인자이다. 소의 품종 구별이 모색이나 비문, 반점 등 외모 형태학적 특징에 의존하여 왔기 때문에 표현형으로 구별되는 소 품종이라 할지라도 일단 도축하여 쇠고기 형

태로 전환되면 정확한 품종 식별은 불가능하다. 특히, 우리나라 한우육의 경우, 쇠고기 유통과정에서 수입육과 높은 가격 차이로 저가의 수입 쇠고기와 국내산 젓소고기가 고가의 한우육으로 둔갑되어 판매되는 현상이 매우 심각한 실정이다. 따라서, 쇠고기 시장 완전개방 및 국내산 육우라는 이름으로 시판되고 있는 젓소 고기 유통체계에서 쇠고기 부정 유통을 방지하고 순수 한우육을 보호 육성할 수 있는 제도적 장치가 시급히 마련되어야 하며 이를 위해서는 한우고기를 다른 품종의 쇠고기와 명확히 구별할 수 있는 과학적이고 객관적인 한우육 판별 기술 개발이 선행되어야 한다.

\* Corresponding author : Eui-Ryong Chung, Department of Biotechnology, Sangji University, Wonju 220-702, Korea. Tel: 82-33-730-0541, Fax: 82-33-730-0503, E-mail: erchung@mail.sangji.ac.kr

그동안 식육 자원의 축종 판별 기술로서 면역효소측정법(Jones and Patterson, 1985; Patterson et al., 1984)과 등전점 전기영동법(King and Kurth, 1982) 등이 주로 사용되어 왔으나 이들 면역학적 및 전기영동 방법은 축종 간에 단백질 조성 및 구조의 차이에 따른 종 특이적 단백질(species-specific protein) 검출로 축종(species) 식별이 가능했으나 혈연관계가 매우 가까운 종간이나 동종 내 품종(breed)간의 판별은 불가능하다(Calvo et al., 2001; Elbehj and Thomsen, 1991).

최근 분자유전학 및 유전자 분석기술의 발달로 DNA 분자 수준에서 염기 서열 차이에 따른 축종 판별은 물론 동종 내 품종 판별의 가능성이 제기되었다. 국내에서도 지난 수년간 PCR-RAPD 기법을 이용하여 한우육 판별에 관한 연구가 여러 연구자들(Cho and Han 1994; Chung et al., 1995; Lee et al., 1994; Min et al., 1995)에 의해 수행되었으나 RAPD 기법은 PCR 증폭조건에 매우 민감하고 결과의 재현성 및 정확성이 낮기 때문에(Macpherson et al., 1993; Meunier and Grimont, 1993; Yu and Pauls, 1992) 실용화 되지 못했다.

한편, 동물의 모색 표현형 변이는 주 유전자(major gene) 또는 소수의 몇몇 유전자들에 의해 지배되고(Haering et al., 1991) 모색 발현에 영향을 미치는 유전자들의 다형성(polymorphism)이 품종의 특징을 나타내는 모색에 따라 많은 차이가 있다는 사실이 보고됨에 따라(Joerg et al., 1996; Klungland et al., 1995; Klungland et al., 2000) 품종 특이적으로 발현되는 모색 유전자를 품종 판별을 위한 DNA 분자 표지(molecular marker)로 이용 가능성에 관심이 고조되었다. 최근에 Chung 등(2000, 2001)은 포유동물 모색 관련 유전자의 하나인 melanocortin receptor 1(MC1R) 유전자의 DNA marker를 이용하여 한우를 모색이 다른 국내 Holstein 종 젖소와 구별 가능한 기술을 개발(특허등록: 제 0367123호)하고 산업적으로 실용화하여 실제 한우육 판별에 활용하고 있다. 그러나, 아직까지 한우고기를 젖소고기 이외의 수입육과 완전하게 판별할 수 있는 DNA 검사 기술이 개발되지 않아 이에 대한 지속적인 연구가 요구되고 있다. 본 연구는 소의 모색 발현에 직접 관여하는 MC1R, MGF(mast cell growth factor) 및 TYRP1(tyrosinase-related protein 1) 3종류의 모색유전자에 대

해 PCR-RFLP 기법을 이용하여 DNA marker를 분석하고 한우육 및 쇠고기 품종 판별에 이용 가능성을 알아보기 위해 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 공시재료

본 연구에 사용한 공시재료는 강원도 횡성 도축장에서 도축된 한우 120두와 Holstein 종 젖소 110두로부터 각각 정육 시료를 채취하였다. 또한, 축산연구소 한우시험장에서 과거 혈통 보존되었던 수입 육우 품종으로서 Angus, Hereford 및 Charolais 3품종 각 20두의 혈액시료로부터 분리한 DNA를 공시재료로 이용하였다.

### 실험방법

#### 1) Genomic DNA의 추출

근육조직(약 10 g)과 혈액(5 mL)으로부터 genomic DNA의 추출 및 정제는 Miller 등(1988)의 saturated salting out 방법을 일부 변경하여 실시하였다. 분리한 DNA는 TE buffer(10 mM Tris-HCl pH 7.4, 1 mM EDTA)에 용해하였다. DNA 농도는 spectrophotometer를 이용하여 260 nm의 UV 상에서 측정하였다.

#### 2) 모색 유전자 Primer의 설계 및 합성

MC1R, MGF 및 TYRP1 모색 유전자의 특정 염기 서열 부위를 증폭하기 위한 각 primer 쌍의 염기 서열은 Table 1과 같다. 즉, MC1R 유전자는 MSHR 유전자 염기 서열(GenBank accession no. U39469)의 101에서 637번째 염기 서열 부위에 대응하는 E-locus의 537bp 단편을 증폭하였다. MGF 유전자는 8번째 intron의 cDNA 영역(GenBank accession no. AF274537)의 875 bp 단편을 증폭하였고 TYRP1 유전자는 human 염기서열(GenBank accession no. AF001295)의 7번째 exon 영역의 141bp 크기의 단편을 증폭하였다.

Table 1. Primer sequences for PCR amplification of MC1R, MGF and TYRP1 coat color genes

Coat color gene	Locus	Amplified region	Fragment size (bp)	Primers (5' to 3')
MC1R	<i>Extension(E)</i>	Exon 1	537	F-AGTGCCCTGGAGGTGTCCATCC R-AGATGCAGGTGTACGA CCGGG
MGF	<i>Roan(R)</i>	Intron 8	875	F- TGTA AACGACGGCCAGTA R- TCTCCACTTACCTGTGAAATAGCCACAATTACTTCTTG
TYRP1	<i>Brown-locus Protein(b)</i>	Exon 7	141	F- ATCCACTGGAAAATGCCCTATTGGC R- ACTCACTTGGCCATTGAATTC

3) PCR 기법에 의한 모색 유전자 증폭

3종류 모색 유전자의 PCR 증폭은 GeneAmp PCR System 9600(Perkin-Elmer Cetus, USA)의 유전자 증폭기를 이용하여 다음과 같은 반응조건하에서 실시하였다. PCR 반응액은 template DNA 50~80 ng, primer 각 0.5  $\mu$ M, dNTP 각 200  $\mu$ M, 10 X PCR buffer 5  $\mu$ L 그리고 Taq DNA polymerase 1 unit를 첨가하여 PCR 반응액을 총 20  $\mu$ L로 조종하였다. PCR cycle은 최초 94 $^{\circ}$ C에서 5분간 예비가열한 후 94 $^{\circ}$ C에서 1분, annealing 온도는 63 $^{\circ}$ C(MC1R) 또는 58 $^{\circ}$ C(MGF 및 TYRP1)에서 1분 그리고 72 $^{\circ}$ C에서 1분간의 cycle을 총 35회 반복한 다음 마지막으로 72 $^{\circ}$ C에서 5분간 가열하고 DNA 증폭과정을 완료했다.

4) PCR-RFLP marker 분석

PCR 종료 후 모색유전자들의 RFLP 분석을 위해 MC1R 유전자의 증폭산물은 Msp I 또는 Hpa II 그리고 MGF 유전자 및 TYRP1 유전자 증폭산물은 HaeIII 제한효소로 각각 절단하고 2% agarose gel 또는 12% polyacrylamide gel로 전기영동하여 분리한 다음 ethidium bromide 또는 silver 염색법(Bassam et al., 1991)으로 DNA band를 검출하고 각 시료별 DNA marker type을 판정하였다.

결과 및 고찰

소의 모색발현에 관여하는 MC1R, MGF, TYRP1 및 c-kit 등의 유전자는 품종 및 개체의 다양한 모색발현을 지배하는 유전자들로서 모색 표현형 변이에 영향을 미치는 것으로 잘 알려져 있다(Klungland et al., 2000). MC1R은 Extension(E) 좌위에 의해 멜라닌의 확산 및 합성을 자극하는 호르몬 수용체로서 pheomelanin(적색)과 eumelanin(갈색 또는 흑색)의 색소 합성 조절에 중요한 역할을 담당한다(Klungland et al., 1995). 또한, MGF는 solid color와 백색이 혼합된 조모색(roan)과 solid-colored 모색 및 색소가 결여되어 백색을 나타내는 모색을 결정하여 MGF 유전자 돌연변이는 조모색과 관련되어 있다(Seitz et al., 1999). 한편, 갈색(brown) 유전자 좌위에 의해 지정되는 TYRP1는 멜라닌 합성경로 과정에서 eumelanin과 관련된 모색 발현에 영향을 미치며 소의 모색을 dilution시키는 후보유전자로 알려져 있다(Berryere et al., 2003).

본 연구는 이처럼 축우의 모색 발현을 지배하는 MC1R, MGF 및 TYRP1 유전자를 이용한 한우육 및 쇠고기 품종 판별기술을 개발하고자 PCR-RFLP 기법으로 이들 3종류 모색 유전자의 DNA marker 유전자형을 분석하였다. 모색 발현에 관여하는 유전자 가운데 특히, MC1R 유전자는 소를 중심으로 한 말, 면양, 돼지 등 여러 동물 종을 대상으로 MC1R 유

전자의 돌연변이 검출과 이에 따른 모색 변이에 관한 연구가 집중적으로 이루어졌다. 본 연구에서는 한우 및 젃소 그리고 3품종의 수입육우를 대상으로 MC1R 유전자의 RFLP marker 분석을 위해 GenBank(U39469)에 등록된 bovine melanocyte stimulating hormone receptor 유전자 영역의 E-좌위를 primer로 증폭한 후 PCR 증폭산물을 Msp I 또는 Hpa II 제한효소(C/CGG)로 절단하고 RFLP marker를 전기영동법으로 검출하였다(Fig. 1). MC1R 유전자의 104번째 아미노산을 지정하는 codon에서 Holstein 및 Angus종은 GGT의 염기서열로 이루어져 있으나 한우는 GTG로 두 번째 G 염기가 T 염기로 치환됨으로써 아미노산도 Gly→Val으로 전환되어져 있음이 밝혀졌다(Chung et al., 2000). Fig. 1에서 보는 바와 같이 GGT 염기를 갖고 있는 Holstein 젃소와 Angus 육우는 특정 제한효소 인지 부위가 존재하여 537 bp 증폭산물이 절단되어 329 bp와 208 bp 두 개의 band가 검출되었으나, 한우에서는 G 염기가 T 염기로 치환됨으로써 제한효소 인식부위가 소실되어 537bp의 단일 band로 검출되었다. 따라서, 이처럼 MC1R 모색유전자의 품종 간 특정 염기서열의 차이가 곧 특정 제한효소의 염기서열상의 인지부위 차이를 가져와 한우와 Holstein 젃소 및 Angus 육우품종간의 RFLP 양상에 확실한 차이가 인정되었고 한우 품종에 특이적인 MC1R 유전자의 RFLP marker를 이용한 한우육 판별이 가능하였다. Klungland 등(1995)은 축우에서 MC1R 유전자의 유전자형을 99번과 104번 아미노산 영역의 단일 염기의 결실 또는 치환에 따라 두 종류의 제한효소를 이용하여 E<sup>D</sup>, E<sup>+</sup> 및 e 3종류의 대립유전자에 의해 지배되는 E<sup>D</sup>/E<sup>D</sup>, E<sup>D</sup>/E<sup>+</sup>, E<sup>D</sup>/e, E<sup>+</sup>/E<sup>+</sup>, E<sup>+</sup>/e 및 e/e 6종류로 분류 보고하고 있다. 그러나, 단순히 한우를 Holstein종 젃소와 Angus 육우 품종과 구별하기 위해서는 MC1R 유전자의 104번 아미노산 영역의 염기변이를 보다 신속 간편하게 인지하는 1종류의 제한효소에 의하여 검출되는 E/E와 e/e 2종류의 RFLP marker 유전자형으로도 가능하였다. 본 실험에서 조사한 한우 개체는 모두 537bp의 단일 band를 갖는 e/e 형이었

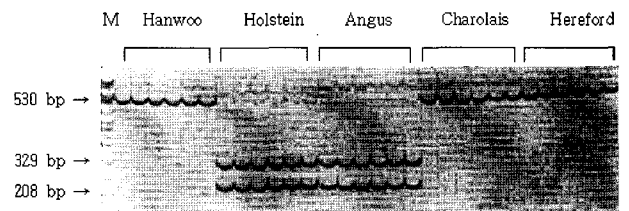


Fig. 1. PCR-RFLP type of MC1R gene in 12% polyacrylamide gel following digestion with Msp I restriction enzyme of 537 bp PCR product. The e/e genotypes show one fragment of 537, while genotypes with E/E show two fragments of 329 and 208bp. M: molecular size marker.

고 Holstein종 젖소와 Angus종은 모두 329와 208 bp 두 개의 band를 소유하는 E/E 형으로 확인되었다. 그러나, Hereford와 Charolais 종은 한우와 동일한 RFLP 형으로서 한우와 이들 육우품종 간에 구별은 불가능하였다. 따라서, 품종 모색 특이적인 MC1R 유전자의 RFLP 유전자형은 한우육을 국내산 젖소 고기와 Angus 수입육을 감별하는데 유용한 DNA marker로 이용할 수 있을 것이다. 본 연구의 이 같은 결과는 정 등(2000, 2001)이 앞서 보고한 결과와 일치하였다. 외국의 연구 보고에 있어서도 Joerg 등(1996)은 MC1R 유전자 변이를 이용하여 흑색 반점을 지닌 일반 Holstein으로부터 적색 Holstein을 구별할 수 있음을 제안하였고, Kriegesmann 등(2001)은 Brown Swiss 및 Saler 두 품종에 각각 특이적으로 나타나는 MC1R 대립유전자를 검출하고 이들 품종 특이적 marker를 이용하여 품종 판별이 가능하다고 보고하였으며 Maudet와 Taberlet(2002)는 MC1R 유전자의 다형성을 분석하여 Cheese 등 유제품으로부터 원료유로서 Holstein 종 우유의 사용 여부를 확인할 수 있다고 발표하여 MC1R 유전자는 쇠고기 육류 및 우유 제품 등의 소 품종 판별에 매우 유용하고 효과적인 DNA 표지인자라고 할 수 있다.

한편, MGF 유전자의 RFLP 분석을 위해 MGF cDNA의 8번째 intron 염기 서열 부위를 포함하는 875 bp 증폭산물을 *Hae* III 제한효소로 절단하여 검출한 소 품종별 RFLP 양상은 Fig. 2와 같다. MGF 유전자의 175번째 염기서열(AF274537)에서 G 또는 A 염기치환 유무에 따른 단일 염기치환으로 R 대립유전자는 G→A로 치환되어 제한효소 인지부위의 소실로 835와 40bp 두 개의 band가 검출되었고, r 대립유전자는 A→G로 치환되어 제한효소의 인지 부위의 수에 따라 620, 215 및 40 bp 크기의 3개 절편이 생성되었다. 그리고 R/r hetero형은 R과 r 대립유전자의 양쪽 DNA band를 모두 공유하고 있는 835, 620, 215 및 40 bp의 4개의 단편이 검출되었다. 따라서, MGF 유전자에서 단일 염기치환에 따라 R과 r 두 개의 대립유전자에 의해 지배되는 RR, Rr 및 rr 3종류 유전자형의 판정이 가능하였다.

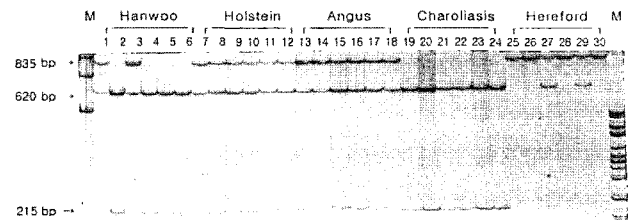


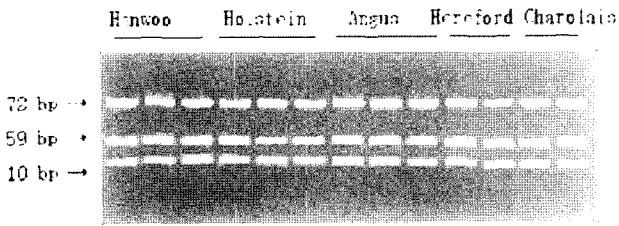
Fig. 2. PCR-RFLP type of MGF gene in 12% PAGE gel following digestion with *Hae* III restriction enzyme of 875 bp PCR product. The RR genotype shows one fragment of 835 bp and rr genotype shows two fragments of 620 and 215 bp. The Rr genotype gives all three fragments of RR and rr types.

이와 같은 RFLP type을 기초로 한우와 Holstein종 젖소 그리고 Angus, Hereford 및 Charolais 수입육우 3 품종에 대한 MGF 유전자 좌위의 유전자형 출현빈도를 분석한 결과 Table 2에 제시한 바와 같이 한우는 r/r과 R/r 2종류의 유전자형이 확인되었으며 이 가운데 r/r형이 전체의 75%를 차지하는 매우 높은 출현율을 보인 반면 R/r형은 25%로 출현빈도가 낮은 경향을 나타냈다. 한편, Hereford 종에서는 한우에서 검출되지 않은 R/R 유전자형의 출현빈도가 80%로 매우 높은 출현율을 보였으며 R/r형은 20%로 낮은 출현율을 나타냈다. 또한, Charolais 종은 r/r 유전자형이 100%의 출현빈도를 나타냈으며 흑색 반점의 모색을 지닌 Holstein 종과 전신 흑모 단일색인 Angus 종은 R/r 1종류의 유전자형 출현빈도가 100%임을 확인하였다. 따라서, 한우의 MGF 유전자형 출현빈도는 Holstein종 젖소와 수입육우 3품종의 모색 발현을 지배하는 MGF 유전자형 출현 양상과 확실한 차이가 인정되었다. 따라서, MGF 모색 유전자의 경우 품종 특이적인 marker가 검출되지 않아 100%의 정확한 판별능력을 갖지 못하나 한우의 특정 유전자형 출현빈도가 Holstein종 젖소, Angus 및 Hereford 수입종과 뚜렷한 차이를 보여 MC1R 모색 유전자와 함께 한우육의 일차적인 검색이나 예측 그리고 판별 신뢰도 향상을

Table 2. Genotype frequencies of MGF gene among cattle breeds

Breed	No. of samples	MGF genotype			Allele	
		RR	Rr	rr	R	r
Hanwoo	120		30(0.25) <sup>1)</sup>	90(0.75)	0.125	0.875
Holstein	110		110(1.00)		0.500	0.500
Angus	20		20(1.00)		0.500	0.500
Hereford	20	16(0.80)	4(0.20)		0.900	0.100
Charolais	20			20(1.00)		1.000
Total	290	16(0.06)	164(0.57)	110(0.37)	0.405	0.595

<sup>1)</sup> Numbers in parentheses represent percentage.



**Fig. 3. PCR-RFLP type of TYRP1 gene in agarose gel following digestion with *Hae III* restriction enzyme of 141 bp PCR product.**

위한 보조 수단으로 활용할 수 있을 것으로 기대된다. 한편, TYRP1 유전자의 RFLP 분석은 GeneBank(AF001295)에 등록된 7번째 exon 부위의 141 bp 단편을 증폭하고 *Hae III* 제한 효소로 절단하여 획득한 RFLP 유전자형을 검출한 결과 Fig. 3에서 보는 바와 같이 모든 품종에서 동일한 RFLP marker type이 검출되어 TYRP1 모색 유전자를 이용한 쇠고기 품종 구별은 불가능한 것으로 확인되었다.

이상의 연구 결과를 종합해 볼 때 MC1R, MGF 및 TYRP1 3종류의 모색 발현 유전자 가운데 MC1R 유전자의 PCR-RFLP marker는 순수한 한우고기를 국내산 육우로 시판되고 있는 젖소고기와 Angus 수입육과 완벽한 판별이 가능하였고 MGF 모색유전자의 RFLP marker도 한우고기 구별에 보조적 표지로 이용 가능성이 인정되어 쇠고기 유통단계에서 젖소고기 및 수입육이 한우 고기로 둔갑 판매되는 부정유통을 단속하고 방지할 수 있는 DNA 표지인자로 활용할 수 있다. 이와 같이 소 품종 특이적인 DNA marker를 이용한 한우고기 유전자 감식기법의 개발과 산업 현장에 관련기술의 도입은 한우 쇠고기에 대한 품질인증과 소비자의 신뢰를 확보하여 한우고기 소비확대를 가져오고 나아가 한우 사육농가의 경영 안정화와 우리나라 한우산업의 경쟁력 제고에 기여할 수 있을 것으로 판단된다. 그러나, 비록 일부 모색 발현 유전자 등 표지유전자(marker gene)가 한우육과 Holstein종 젖소 육을 구별하는데 완벽한 기술이라고 할지라도 다양한 수입육 품종 가운데 Angus 종 이외의 다른 육우 품종과는 구별이 불가능하기 때문에 수입쇠고기 시장 완전 개방에 따른 고질적인 한우고기 부정 유통과 둔갑 판매를 완전하게 차단하고 방지하기 위해서는 향후 한우 쇠고기와 수입육간에 완전 감별이 가능한 DNA marker 개발에 연구가 지속적으로 추진되어야 할 필요가 있다.

### 요 약

본 연구는 축우의 모색발현에 관여하는 MC1R, MGF 및 TYRP1 3종류의 모색 유전자의 PCR-RFLP marker를 이용하

여 쇠고기 품종 판별기술을 개발하고자 수행하였다. MC1R 유전자의 104번째 아미노산을 지정하는 codon에 GGT 염기를 갖고 있는 Holstein 젖소와 Angus 육우는 제한효소 인지부위가 존재하여 537 bp 증폭산물이 절단되어 329와 208 bp 두 개의 band가 검출되었으나 한우에서는 GTG로 G 염기가 T 염기로 치환됨으로써 제한효소 인식부위가 소실되어 537 bp의 단일 band 만이 검출되었다. 따라서, 이처럼 MC1R 모색유전자의 품종 간 특정 염기서열의 차이가 곧 특정 제한효소의 염기 서열상의 인지 부위 차이를 가져와 한우와 Holstein 젖소 및 Angus 육우 품종간의 RFLP 유전자형 출현에 확실한 차이가 인정되어 한우 품종에 특이적인 MC1R 유전자의 RFLP marker를 이용한 한우육 판별이 가능하였다. 또한, MGF 유전자의 RFLP 유전자형 출현빈도에서 한우는 r/r형이 75%로 출현율이 매우 높은 유전자형으로 분석된 반면 Hereford 종은 R/R 형이 80%로 출현율이 매우 높았고 Holstein종과 Angus종은 R/r형이 100% 출현함으로써 한우와 Holstein 및 수입육우 품종간의 MGF 유전자형 출현빈도에 뚜렷한 차이가 인정되었다. 한편, TYRP1 유전자의 RFLP 유전자형을 분석한 결과 모든 품종에서 동일한 RFLP type이 검출되어 TYRP1 모색 유전자를 이용한 쇠고기 품종 구별은 불가능한 것으로 나타났다. 따라서, 소 모색 관련 MC1R과 MGF 두 유전자의 품종 특이적 PCR-RFLP 유전자형은 한우육과 국내산 Holstein 젖소고기 및 Angus 수입육간의 품종을 식별하는데 매우 유용한 DNA marker로 이용될 수 있음이 확인되었다.

### 참고문헌

1. Bassam, J. B., Caetano-Anolles, G., and Gresshof, P. M. (1991) Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. *Anal. Biochem.* **196**, 80-83.
2. Berryere, T. G., Schmutz, S. M., Schimpf, R. J., Cowan, C. M., and Potter, J. (2003) TYRP1 is associated with dun coat colour in Dexter cattle or how now brown cow. *Anim. Genet.* **34**, 169-175.
3. Calvo, J. H., Zaragoza, P., and Osta, R. (2001) Technical note: A quick and more sensitive method to identify pork in processed and unprocessed food by PCR amplification of a new specific DNA fragment. *J. Anim. Sci.* **79**, 2108-2112.
4. Cho, B. W. and Han J. Y. (1994) Development of RAPD marker specific for Korean cattle (Hanwoo). *Korean J. Anim. Sci.* **36**, 263-270.
5. Chung, E. R., Kim, W. T., and Han, S. K. (1995) Analysis of DNA polymorphism and genetic characteristics in

- Holstein dairy cattle using RAPD-PCR technique. *Korean J. Anim. Sci.* **37**, 455-466.
6. Chung, E. R., Kim, W. T., Kim Y. S. and Han, S. K. (2000) Identification of Hanwoo meat using PCR-RFLP marker of MC1R gene associated with bovine coat color. *J. Anim. Sci. & Technol.* **42**, 379-390 (in Korean).
  7. Chung, E. R., Kim, W. T., Kim, Y. S., and Han, S. K. (2001) Identification of Hanwoo meat and analysis of polymorphism of bovine MC1R gene using PCR-SSCP technique. *J. Anim. Sci. & Technol.* **43**, 45-52 (in Korean).
  8. Ebbehøj, K. F. and Thomsen, P. D. (1991) Species differentiation of heated meat products by DNA hybridization. *Meat Sci.* **30**, 221-234.
  9. Hearing, V. J. and Tsukamoto, K. (1991) Enzymatic control of pigmentation in mammals. *FASEB J.* **5**, 2902-2909.
  10. Joerg, H., Fries, H. R., Meijerik, E., and Stranzinger, G. F. (1996) Red coat colour is associated with a deletion in the MSHR gene. *Mamm. Genome* **7**, 317-318.
  11. Jones, S. J. and Patterson, R. L. S. (1985) Double-antibody ELISA for detection of trace amounts of pig meat in raw meat mixture. *Meat Sci.* **15**, 1-13.
  12. King, N. L. and Kurth, L. (1982) Analysis of raw beef samples for adulterant meat species by enzyme-staining of isoelectric focusing gels. *J. Food Sci.* **47**, 1608-1612.
  13. Klungland, H., Vage, D. I., Gomez-Raya, L., Adalsteinsson, S., and Lien, S. (1995) The role of melanocyte-stimulating hormone(MSH)receptor in bovine coat colour determination. *Mamm. Genome* **6**, 636-639.
  14. Klungland, H., Olsen, H. G., Hassanane, M. S., Mahrous, K., and Vage, D. I. (2000) Coat color gene in diversity studies. *J. Anim. Breed. Genet.* **117**, 217-224.
  15. Kriegesmann, B., Dierkes, B., Leeb, T., Jansen, S., and Brenig, B. (2001) Two breed-specific bovine MC1R alleles in Brown Swiss and Saler breeds. *J. Dairy Sci.* **84**, 1768-1771.
  16. Lee, C. S., Yoo, Y. B., Na, K. J., Cho, B. D., and Choe, B. K. (1994) Breed identification of Korean native cattle by DNA polymorphic analysis. *Korean J. Anim. Sci.* **36**, 369-373.
  17. Macpherson, J. M., Eckstein, P. E., Scoles, G. J., and Gajadbar, A. A. (1993) Variability of the random amplified polymorphic DNA assay among thermal cyclers, and effects of primer and DNA concentration. *Mol. Cell Probes* **7**, 293-299.
  18. Maudet, C. and Taberlet, P. (2002) Holstein's milk detection in cheeses inferred from melanocortin receptor 1 (MC1R) gene polymorphism. *J. Dairy Sci.* **85**, 707-715.
  19. Meunier, J. R. and Grimont, P. A. D. (1993) Factors affecting reproducibility of random amplified polymorphic DNA fingerprinting. *Res. Microbiol.* **144**, 373-379.
  20. Müller, S. A., Dykes, D. D., and Polesky, H. F. (1988) A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucl. Acids Res.* **16**, 1215.
  21. Min, B. R., Han, J. Y., and Lee, M. (1995) The identification of beef breeds (Korean cattle beef, Holstein beef & imported beef) using random amplified polymorphic DNAs. *Korean J. Anim. Sci.* **37**, 651-660.
  22. Patterson, R. M., Whittaker, R. G., and Spencer, T. L. (1984) Improved species identification of raw meat by double sandwich enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Sci. Food Agric.* **35**, 1018-1023.
  23. Seitz, J. J., Schmutz, S. M., Thue, T. D., and Buchanan, F. C. (1999) A missense mutation in the bovine MGF gene is associated with the roan phenotype in Belgian Blue and Shorthorn cattle. *Mamm. Genome* **10**, 710-712.
  24. Yu, K. and Pauls, K. P. (1992) Optimization of the PCR program for RAPD analysis. *Nucl. Acids Res.* **20**, 2602-2606.

---

(2004. 8. 13. 접수 ; 2004. 12. 9. 채택)