

소 모색관련 MC1R 유전자의 SNP와 관련한 3'-tailed primer를 이용한 한우육의 판별

김태중 · 박성도 · 이재일

전남대학교 수의과대학

Identification of Hanwoo Using 3'-tailed Primer Associated with Single Nucleotide Polymorphism(SNP) in Melanocortin 1 Receptor(MC1R) gene

T. J. Kim, S. D. Park and J. I. Lee

College of Veterinary Medicine, Chonnam National University

ABSTRACT

To improve the methods used for the identification of Hanwoo, we performed a PCR using 3'-tailed primer associated with single nucleotide polymorphism(SNP) in Melanocortin 1 receptor(MC1R) gene. MC1R plays an important role in melanin synthesis and the SNP within MC1R was used as a target for PCR-RFLP studies previously.

A forward 3'-tailed primer, which matches with the template DNA of Hanwoo but not with others(black-haired; Holstein and Black angus) at the site of 594th base sequence, and one reverse primer were designed for this study. When use this primer set, a size of 343bp was amplified by PCR only in Hanwoo, not in Holstein and Black angus. This result suggests that the PCR using our 3'-tailed primer would be very accurate, easy, reproducible and economic method to discriminate between Hanwoo meat and other black-haired ones.

(Key words : MC1R gene, Coat color, Tailed-primer, Hanwoo)

I 서 론

2001년도 소 도축실적을 보면 한우가 78%, Holstein 20%, 육우 0.01% 등 이었다. 즉, 국내 산 쇠고기의 대부분은 한우육과 젓소육인데 소비자들이 한우육을 더 선호하므로 젓소육이 한우육으로 둔갑하여 판매되고 있다. 이러한 부정 유통을 차단하기 위해서는 한우육과 젓소육의 감별이 필요하며, 이를 위해 여러 가지 감별법이 연구되어져 왔다.

이중 PCR을 이용하는 DNA 다형 분석기법으로서 RAPD(random amplified polymorphic DNA)는 각종 동물의 유전분석 및 종 또는 품종 식별에 폭 넓게 응용되어 왔으며(Bailey와 Lear, 1994; Gwakisa등, 1994; Appa Rao등, 1996; Smith 등, 1996) 국내에서도 RAPD를 이용한 한우육 판별법을 보고하였으나(민 등, 1995), 결과의 재현성이나 정확성이 낮아 실용화에는 문제점이 많은 것으로 지적되었다. 또 이러한 RAPD marker의 재현성을 개선하고자 홍 등(1998)은 RAPD primer

Corresponding author : Dr. J. I. Lee, College of Veterinary Medicine, Chonnam National University, 300 Yongbong-dong, Buk-ku, Gwang-ju, 500-757, Korea. phone : 062-530-2854, E-mail : jaeil@chonnam.ac.kr

의 염기서열을 일부 신장시킨 SCAR(Sequence characterized amplified regions) primer의 제작을 통하여 한우육 판별을 시도한 바 있으나 역시 정확한 구분이 어려워 최근에는 소 모색관련 유전자인 Melanocortin 1 receptor(MC1R)를 이용한 여러 감별법이 연구되고 있다.

MC1R은 멜라닌의 확산 및 합성을 자극하는 호르몬 수용체로서 적색에 관여하는 phaeomelanin과 갈색 또는 흑색에 관여하는 eumelanin의 색소 합성 조절에 중요한 역할을 담당한다(Cone 등, 1996; Vage 등, 1999). 포유동물의 모색은 이 두 가지 색소의 분포에 따라 결정되는데 소의 MC1R gene 연구에서는 흑색을 나타내는 dominant allele인 E^D , 동형접합체일 때 적색을 나타내는 frameshift mutation인 e , 여러 가지 모색을 나타내는 E^+ 의 세 가지 allele이 보고되었다(Klungland 등, 1995). 정 등(2000)은 MC1R의 PCR-RFLP(restriction fragment length polymorphism) marker를 이용한 한우육 판별법을 보고하였는데, PCR로 증폭된 MC1R gene을 *Bse*118 I, *Msp* I 및 *Aci* I 세 가지의 제한 효소 처리하여 한우육과 젓소육에서 각각 다른 DNA band pattern을 확인하였다. 이 방법은 이전의 RAPD나 SCAR 방법에 비하여 정확하고 안정적인 분석 결과를 얻을 수 있지만 PCR 후 다시 enzyme 처리과정을 거쳐야 하는 번거로움이 있었다. 김 등(2000)은 제한효소 *Bsr*FI과 *Msp*AI를 사용하는 PCR-RFLP를 이용하여 한우육과 타 품종간의 구분을 실시하였는데, 2.5% 또는 4% metaphore agarose gel을 사용하여 번거로움이 있고 작은 size의 band는 보이지 않은 단점이 있었다.

또한 정 등(2001)은 MC1R의 PCR-SSCP(single-strand conformation polymorphism) 기법을 이용한 한우육 판별법을 보고하였는데, 이 방법은 DNA의 물리적 성질을 이용한 다형검출 방법으로서 한우와 Holstein 간에 확실한 차이를 보이는 품종 특이적인 SSCP 유전자형을 확인하였다. 이는 RFLP와는 달리 제한 효소가 필요없이 간편하게 돌연변이로 유발된 유전자의 다형성을 직접 검출할 수 있으나, 실험에 사용되는 polyacrylamide gel의 제조와 silver staining의 방

법이 agarose gel의 제조와 ethidium bromide 염색에 비해서 시간이 많이 걸리고, 불편하며 비용과 실험장비면에서도 경제적이지 못하고 특히 재현성이 떨어지는 단점이 있었다. 또한 포유동물에서 MC1R 돌연변이가 모색변이를 일으킨다는 사실이 규명됨에 따라 PCR-RFLP 분석방법을 이용하여 각 축종에서의 모색 표현형 변이와 MC1R 유전자형간의 관계를 연구, 보고하였다(Joerg 등, 1996; 김 등, 2000; 정 등, 2000; 이 등, 2000). 특히 정 등(2000)은 GenBank(S71017)에 등록된 소 염기 서열을 기초로 하여 한우, Holstein 및 Black angus종의 MC1R gene 염기서열을 분석한 결과 104번 아미노산을 결정하는 codon에서 Holstein과 Black angus종은 GGT(Gly)의 염기서열로 이루어져 있으나, 한우는 GTG로 두 번째 G 염기 하나가 결여된 single nucleotide polymorphism(SNP)가 있음을 확인하였다.

SNP는 하나의 염기가 deletion, insertion 또는 substitution되어 나타나는 것으로 human genome에서 가장 많은 변이의 원인으로(Wang 등, 1998) 질병이나 약물의 개발을 위해 많은 연구가 이루어지고 있다(Nebert, 1999; McCarthy와 Hilfiker, 2000). 우리는 이런 연구 보고들을 기초로 SNP를 한우육과 젓소육의 감별법을 위한 primer 제작에 응용할 수 있을 것으로 보고 Guanine이 deletion되어 있는 한우의 sequence를 바탕으로 3'에 한우의 sequence에는 상보적이나 흑모종인 Holstein과 Black angus의 sequence에는 결합되지 않는 2 mers의 tail을 달아 한우에서는 DNA 증폭이 이루어지고 Holstein과 Black angus에서는 이루어지지 않도록 primer를 제작하였다. 즉 총 길이 19 mers 중에서 5'쪽의 17 mers는 공통적으로 binding할 수 있으나 한우가 아닌 sample에서는 2 mers가 3'쪽에서 binding하지 않도록 한 것이다.

pfu 같은 DNA polymerase 같은 경우 3'→5' exonuclease 작용이 있어 3' 쪽에 상보적이지 않은 염기의 primer가 있을 경우, proofreading의 기능이 있어 이 tail을 잘라버리고 DNA 증폭시킬 수 있으므로 3'→5' exonuclease 작용이 없는 일반적인 *Taq* DNA polymerase를 사용한다. 이 primer를 이용하여 PCR을 하게 되면 한우에서는

343bp의 band가 확인되나, Holstein과 Black angus에서는 band가 확인되지 않을 것으로 기대되었다. 따라서 단 한 번의 PCR로도 한우와 Holstein, Black angus의 감별이 가능하게 된다. 이에 본 실험에서는 3'-tailed primer로 실제 한우육과 Holstein 및 Black angus육에서 원하는 결과를 얻을 수 있는지 알아보았다. 한편 MC1R 유전자좌에서 황갈색 모색유전자와 다른 모색의 유전자 allele이 heterotype으로 되어 있는 품종인 Hereford(백색 및 황갈색 혼합) 및 먹우(검은색 및 황갈색 혼합)에서는 3'-tailed primer를 이용한 PCR 결과가 어떻게 나타나는지도 함께 알아보았다.

II 재료 및 방법

1. 공시재료

본 연구에 사용된 공시재료는 광주지역 도축장에서 도축검사를 받고 품종이 확인된 소들 중에서 흰색과 검은색 혼합의 Holstein 20마리, 체모가 완전히 검은 Black angus 5마리, 완전한 황갈색의 한우 20마리, 그리고 비교군으로 흰색과 황갈색의 혼합종인 수입산 Hereford 5마리와 검은색과 황갈색의 혼합 잡종우(일명 먹우) 1마리로부터 근육을 채취하여 실험에 사용하였다.

2. DNA 분리

근육으로 부터의 DNA 분리 및 정제는 Miller (1988) 등의 phenol/chloroform 추출방법의 일부를 변형해 실시하였고 이를 TE buffer(10 mM Tris-Cl, 1 mM EDTA, pH 7.4) 적당량을 넣어 재부유시켜 50 μ g/ml 농도로 준비하였다. 분리된 DNA는 1% agarose gel을 사용하여 확인하였다.

3. Primer

MC1R 유전자의 GenBank(AF445642)에 등록된 Bos taurus melanocortin 1 receptor(MC1R) mRNA를 지정하는 cDNA 영역의 E-locus가 포함된 594번째 염기서열의 Guanine 결실부위를 포함하는 577에서 919번째 염기서열 부위의 343 bp

단편을 증폭하였다. Forward primer는 5'-GCC GCT GCT GGA GGC CGT G-3' (PF2mer)로, reverse primer는 5'-GGC CAG CAT GTG GAC GTA GA-3'(20 mers)로 사용하였는데, 이는 GeneRunner™ software을 사용하여 염기배열을 설계한 뒤, 합성(Bionics, Korea)하여 사용하였다.

4. PCR에 의한 MC1R의 증폭 및 전기영동

PCR 반응을 위해 반응액은 template DNA 2 μ l, 각 50 pM primer 1 μ l, MgCl₂ free 10 \times PCR buffer 5 μ l, 25 mM MgCl₂ 5 μ l, 2.5 mM deoxy-nucleoside triphosphate(dNTP) 5 μ l, 5 U Taq DNA polymerase(Promega, USA) 1 μ l를 첨가하고 멸균증류수를 첨가하여 총 50 μ l로 조정하였다. PCR 수행은 95 $^{\circ}$ C에서 5분간 predenaturation한 후 95 $^{\circ}$ C/30초, 58 $^{\circ}$ C/30초, 그리고 72 $^{\circ}$ C/30초씩 3단계로 PCR을 30 cycles 수행한 후 마지막으로 72 $^{\circ}$ C에서 5분간 extension을 실시하였다. 증폭된 PCR 산물은 1% agarose gel에서 343 bp의 band 유무를 확인하였다.

III 결과

Forward primer인 PF2mer 및 reverse primer를 사용하여 MC1R gene 중 577에서 919번째 염기서열 부위의 343 bp 단편을 증폭하였다. PCR 결과, Fig. 1에서 보는 것처럼 한우에서는 343 bp

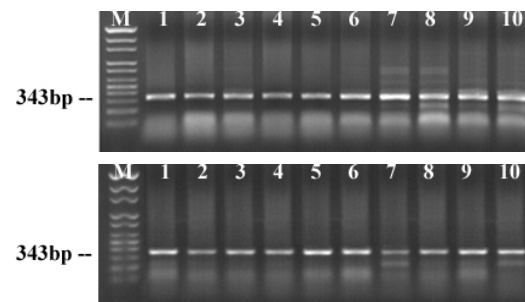


Fig. 1. PCR amplified product(343bp) with 3'-tailed primer(PF2mer) by 1% agarose gel electrophoresis. M: 100bp DNA ladder, upper and lower: lane 1-10: Hanwoo.

의 band가 관찰되었지만 Holstein(Fig. 2), Black angus(Fig. 3 lane 6-10) 에서는 band가 관찰되지 않았다. 이 결과를 볼 때, 3'-tailed primer를 사용할 경우, 제한효소의 처리를 필요로 하는 PCR-RFLP 보다 훨씬 빠른 시간내에 품종간의 판별이 이루어진다는 점이 주목할 만하다. 비교군으로 사용된 수입산 Hereford종 역시 황갈색의 모색을 띄고 있어서 한우와 마찬가지로 PCR 산물이 생성되었다(Fig. 3 lane 1-5). 육질 향상을 목적으로 인위적인 교잡을 통해 만들어진 먹우(검은색과 황갈색 혼합)도 역시 Hereford와 마찬가지로 PCR 산물을 생성하였다(Fig. 3 Lane 11).

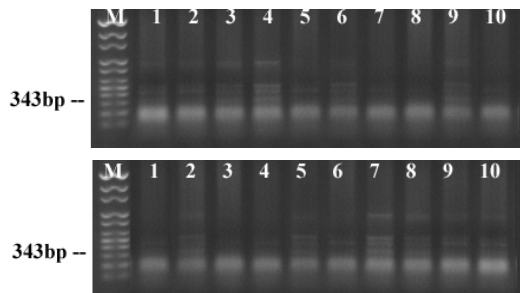


Fig. 2. PCR amplified product with 3'-tailed primer(PF2mer) by 1% agarose gel electrophoresis. There was no PCR products in Holstein. M: 100bp DNA ladder, upper and lower: lane 1-10: Holstein.

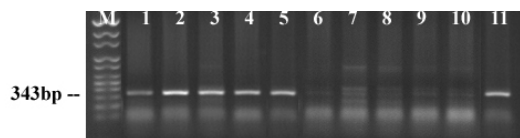


Fig. 3. PCR amplified product(343bp) with 3'-tailed primer(PF2mer) by 1% agarose gel electrophoresis. M: 100bp DNA ladder, lane 1-5: Hereford(White and brown), lane 6-10: Black angus, lane 11: Mukwoo(Black and brown).

IV 고 찰

국내산 쇠고기 중 가장 많이 유통되고 있는 것은 한우육과 젓소육이다. 식육을 판매할 때에는 국내산 쇠고기 중 한우육인지 젓소육인지에 대해 정확히 명시할 것을 의무로 하고 있지

만 우리나라 소비자들의 한우육 선호 경향 때문에 젓소육으로 명시하지 않거나 한우육으로 바꿔 명시하는 부정 유통이 이루어지고 있다. 이로 인해 한우육과 젓소육의 판별법에 대한 필요성이 재고되어 많은 연구가 이루어지고 있다. 특히 최근에는 소의 모색유전자인 MC1R gene의 SNP를 이용한 판별법이 연구되고 있다. 그 대표적인 것이 제한효소를 이용한 PCR-RFLP법(정 등, 2000)인데 이는 재현성과 정확성은 뛰어나지만, PCR 후에 다시 제한효소를 처리해야 하고 metaphore agarose gel을 준비해야 하는 번거로움이 있다. 또 PCR-SSCP법을 이용한 판별법(정 등, 2001)은 RFLP와는 달리 제한효소처리과정은 필요없지만 전기영동에 사용되는 polyacrylamide gel이나 silver staining이 agarose gel이나 ethidium bromide staining에 비해서 제조과정이 복잡하고, 시간이 오래 걸리며, 많은 비용과 장비가 필요하다. 그래서 본 연구에서는 일반적인 PCR만으로도 간단하면서 편리하고 정확하게 한우육과 Holstein 및 Black angus육을 판별할 수 있도록 MC1R의 SNP를 대상으로 3'-tailed primer을 제작해 보았다.

MC1R은 pheomelanin과 eumelanin의 색소합성을 조절하는 호르몬 수용체이다(Cone 등, 1996; Vage 등 1999). 포유동물에서 MC1R gene의 돌연변이가 모색변이를 일으킨다는 사실이 규명됨에 따라 PCR-RFLP 방법을 이용하여 소(Klungland 등, 1995; Marilli 등, 2003), 말(Marklund 등, 1996), 돼지(Kijas 등, 1998) 및 면양(Vage 등, 1999) 등의 축종을 대상으로 모색변이에 관한 연구가 진행되었다. 정 등(2000)이 축우 품종간의 MC1R gene 염기서열을 분석한 결과를 보면 한우에서 단 하나의 염기가 결실되어 모색이 변하는 SNP가 확인되었다. 그래서 본 연구에서는 한우의 MC1R gene sequence 중 Guanine이 결여된 부분을 포함하는 19 mers의 길이로 primer를 제작하였는데, Holstein과 Black angus에는 3'쪽의 2 mers가 상보적이지 않아 primer와 template가 결합하지 않는 tail을 형성하게 고안되었다.

Fig. 4를 보면 한우의 경우는 3'-tailed primer가 DNA template에 정확하게 결합하여 Taq DNA polymerase가 DNA를 증폭해 나갈 수 있지

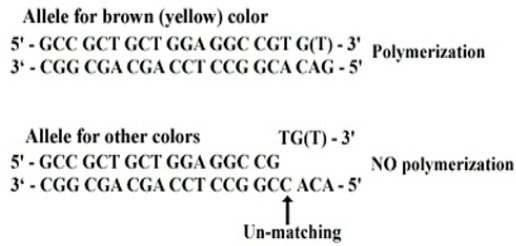


Fig. 4. Mechanism of 3'-tailed primer(s) during DNA polymerization.

만, Holstein과 Black angus의 경우에는 DNA template에 상보적이지 않아 결합되지 않은 3'-tail이 생기는 것을 확인할 수 있다. 3' → 5' exonuclease 작용이 있는 *pfu* DNA polymerase 같은 경우에는 proofreading 기능을 통해 3'-tail를 제거하고 다시 5' → 3' 으로 DNA를 증합할 수 있으므로 사용하지 못한다. 그러나 *Taq* DNA polymerase의 경우에는 3' → 5' exonuclease의 작용이 없어 3' 쪽의 tail를 제거하지 못하므로 *Taq* DNA polymerase의 증합반응이 더 이상 진행되지 못하고 멈추게 된다. 또 너무 적은 수의 염기서열을 가지고 primer를 만들 경우 우리가 원하는 부위 이외에, primer와 상보적인 염기서열을 갖는 부위에도 결합하여 불필요한 band가 생길 수 있으므로 정확한 primer-template binding을 위해 총 19 mers로 제작하였다. 이 primer를 이용하여 MC1R gene 중 557번째 염기서열부터 919번째 염기서열까지 증폭시켰으므로 343bp의 band가 한우에서 관찰될 것으로 예상하였다.

한편 Guanine이 결합된 부분을 포함하는 18 mers 및 20 mers의 primer(각각 PF1mer와 PF3mer)를 제작하였는데, Holstein 및 Black angus에는 3'쪽의 1 mer 또는 3 mers가 상보적이지 않아 primer와 template가 결합하지 않는 tail을 형성하게 고안하여 실험을 실시하였다. 그러나 그 결과는 본 실험보다 명확하지 않고 여러 개의 비특이 band가 나타나(data not shown) 본 실험의 결과에서는 제외하였다.

실제로 본 연구에서 Holstein, Black angus, 한우육 그리고 비교군으로 Hereford 및 먹우에 대해 PF2mer의 primer를 이용하여 PCR을 실시해 본 결과 흑색모종인 Holstein과 Black angus에서

는 band가 나타나지 않고 황갈색의 모색을 보유한 품종인 한우 및 Hereford에서만 343bp의 band가 관찰되었다. 최근 육질 향상을 목적으로 여러 교배잡종우의 육성이 이루어지고 있는데 그 한 예로 검은색과 한우의 잡종인 먹우의 경우에서도 한우와 같이 PCR band가 나타났다. 위 결과를 종합하여 보면, 본 실험에서 사용된 3'-tailed primer를 이용하여 PCR을 수행할 경우, 황갈색 모색의 MC1R 유전자 allele을 어느 한 쪽의 부모로부터 물려받은 품종이라면 표현형 모색에 상관없이 황갈색 모색 유전자 allele을 검출할 수 있는 방법으로도 이용될 수 있다는 의미가 있다.

따라서 본 연구에서 제작한 3'-tailed primer를 이용한 PCR 방법은 이전의 한우육 감별법과 다른 신속성, 정확성, 재현성, 실용성, 경제성을 갖춘 감별법이라고 할 수 있다. 특히 Holstein과 Black angus와 같은 검은 모색종의 소고기를 검출하는데 매우 효과적인 방법이라 하겠다. 그러나 본 연구에서 사용한 3'-tailed primer는 한우와 동일한 모색을 가진 수입육과 한우육의 감별에는 사용할 수 없는 단점이 있다. 수입육의 국내 소비가 계속 증가하는 추세이고 수입육이 한우육으로 부정 유통되는 사례도 많으므로 수입육과 한우육의 감별 역시 중요하다. 따라서 한우와 동일한 모색의 수입육과 한우육의 감별을 동시에 할 수 있는 방법의 연구가 더 진행되어야 하겠다.

V 요 약

이전에 연구된 한우육과 Holstein 및 Black angus육 감별법의 신속성, 편리성, 경제성 등의 단점을 보완하기 위해 소의 MC1R gene의 SNP를 이용한 새로운 감별법을 시도하였다.

본 연구에서는 소의 MC1R gene 중 594번째 염기인 Guanine이 한우에서는 결실된 점을 이용하여 한우의 sequence를 바탕으로 3'쪽에 2mers의 tail을 달아 한우에게는 상보적이거나 다른 종에서는 상보적이지 않은 3'-tailed primers를 제작하였다. 이 primer들을 이용해서 한우에

서만 MC1R 중 571번째 염기서열부터 919번째 염기서열까지의 343bp의 단편이 증폭되도록 하였다. 그 결과, Holstein, Black angus에서는 모두 band가 관찰되지 않았으나 한우에서는 343bp의 band가 확인되었다. 따라서 본 연구에서 사용한 3'-tailed primer를 이용하면 보다 정확하고 재현성 있으며 신속하고 편리하며 경제적인 한우육의 감별이 될 것으로 판단된다.

VI 인용 문헌

1. Appa Rao, K. B., Bhat, K. V. and Totey, S. M. 1996. Detection of species-specific genetic markers in farm animals through random amplified polymorphic DNA(RAPD). *Genet. Anal.* 13:135-138.
2. Bailey, E. and Lear, T. L. 1994. Comparison of Thoroughbred and Arabian horses using RAPD markers. *Anim. Genet.* 25:105-108.
3. Cone, R. D., Lu, D., Koppula, S., Vage, D. I., Klungland, K., Boston, B., Chen, W., Orth, D. N., Pouton, C. and Kesterson, R. A. 1996. The Melanocortin Receptors : Agonists, Antagonists, and the Hormonal Control of Pigmentation. *Recent Prog. Horm. Res.* 51:287-317.
4. Gwakisa, P. S., Kemp, S. J. and Teal, A. J. 1994. Characterization of Zebu cattle breeds in Tanzania using random amplified polymorphic DNA markers. *Anim. Gene.* 25:89-94.
5. Joerg, H., Fries, H. R., Meijerink, E. and Stranzinger, G. F. 1996. Red coat color in Holstein cattle is associated with a deletion in the MSHR gene. *Mamm. Genome* 7:317-318.
6. Kijas, J. M., Wales, R., Tomsten, A., Chardon, P., Moller, M. and Andersson, L. 1998. Melanocortin Receptor 1(MC1R) mutations and coat color in pigs. *Genetics* 150:1177-1185.
7. 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 color determination. *Mamm. Genome* 6:636-639.
8. Marklund, L., Johansson, M., Sandberg, K. and Andersson, L. 1996. A missense mutation in the gene for melanocyte-stimulating hormone receptor (MC1R) is associated with the chesnut coat color in horses. *Mamm. genome* 7:895-899.
9. Marilli, M., Meggiolaro, D., Bonato, L., Filippini, F., Negrini, R., Ajmone Marsan, P. and Crepaldi, P. 2003. PP-17. Melanocortin Receptor 1(MC1R) G310 mutation and coat colour in an Italian cattle breed. *Pigment Cell Res.* 16:598.
10. McCarthy, J. J. and Hilfiker, R. 2000. The use of single-nucleotide polymorphism maps in pharmacogenomics. *Nat. Biotechnol.* 18:505-508.
11. Miller, 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.
12. Nebert, D. W. 1999. Pharmacogenetics and pharmacogenomics : Why is this relevant to the clinical geneticist? *Clin. Genet.* 56:247-258.
13. Smith, E. J., Jones, C. P., Bartlett, J. and Nestor, K. E. 1996. Use of randomly amplified polymorphic DNA markers for the genetic analysis of relatedness and diversity in chickens and turkeys. *Poultry Sci.* 75:579-584.
14. Vage, D. I., Klungland, H., Lu, D. and Cone, R. D. 1999. Molecular and pharmacological characterization of dominant black coat color in sheep. *Mamm. Genome.* 10:39-43.
15. Wang, D., Fan, J., Siao, D., Berno, A., Young, P., Sapolsky, R., Ghandour, G., Perkins, N., Winchester, E., Spencer, J., Kruglyak, L., Stein, L., Jsie, L., Topaloglou, T., Hubbell, E., Robinson, E., Mittmann, M., Morris, M., Shen, N., Kilburn, D., Rioux, J., Nusbaum, C., Rozen, S., Hudson, T., Lipshutz, R., Chee, M. and Lander, E. 1998. Large-scale identification, mapping, and genotyping of single-nucleotide polymorphisms in the human genome. *Science.* 280:1077-1082.
16. 김태현, 윤두학, 박응우, 이혜영, 오성중, 정일정, 탁태영, 김경남, 한재용. 2000. 소 품종별 Melanocortin Receptor 1(MC1R) 유전자의 유전자형 빈도에 관한 연구. *한국동물자원과학회지* 42:735-744.
17. 민병록, 한재용, 이무하. 1995. RAPD 기법을 이용한 쇠고기의 품종(한우육, 유우육(Holstein육), 수입우육) 구분. *Korean J. Anim. Sci.* 37:651-660.
18. 이성수, 양영훈, 강승률, 오운용, 양보석, 고서봉, 오성중, 김규일. 2000. 한우, 제주재래흑우, 흑모 화우와 갈모화우에서의 MSH Receptor(MC1R) 유전자의 유전자형 및 빈도 비교. *한국동물자원과학회지* 42:253-260.
19. 정의룡, 김우태, 김연수, 한상기. 2000. 소 모색관련 유전자 MC1R의 PCR-RFLP Marker를 이용한 한우육 판별. *한국동물자원과학회지* 42:379-390.
20. 정의룡, 김우태, 김연수, 한상기. 2001. PCR-SSCP 기법을 이용한 소 MC1R 유전자의 다형성 분석 및 한우육 감별. *한국동물자원과학회지* 43:45-52.
21. 홍영호, 정일정, 김태현, 김희발, 윤두학, 김형선, 조병욱, 한재용. 1998. 품종 특이성을 이용한 한우 판별 표지인자 개발. *한국동물유전육종학회지* 2:107-114.

(접수일자 : 2004. 8. 30. / 채택일자 : 2004. 11. 22.)