

Microsatellite DNA형 분석을 이용한 더러브렛 말의 친자감정

조길재

한국마사회 유전자검사실

Parentage Testing for Thoroughbred Horse by Microsatellite DNA Typing

G. J. Cho

Laboratory of Equine Genetics, Korea Racing Association

ABSTRACT

The objective of present study was to ascertain parentage of Thoroughbred(TB) horses in Korea. A total of 2,029 TB horse samples including 993 foal samples for parentage testing were genotyped for nine international minimum standard markers(AHT4, 5, ASB2, HMS3, 6, 7, HTG4, 10, and VHL20). 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 7.33 in TB. Expected heterozygosity was ranged from 0.544 to 0.837(mean 0.709) and the total exclusion probability of 9 microsatellites loci was 0.9978. Of the 9 markers, ASB2, HMS7 and HTG10 loci have relatively high PIC value(>0.7). All of the 993 foals were qualified by compatibility according to Mendelian fashion in the present DNA typing for parentage testing. These results suggest that the present DNA typing has high potential for parentage verification of TB horses.

(Key words : Microsatellite, Parentage verification, Thoroughbred horse)

I 서 론

더러브렛 말은 영국에서 경주말을 목적으로 개량된 경종마 품종중 하나로서 철저하게 개량된 완전한 품종의 뜻을 지니고 있다. 더러브렛은 1700년 초에 영국의 재래 씨암말과 동양종의 씨수말을 배합시켜 만들었으며 1793년 사람의 족보와도 같은 혈통서(Stud book)가 영국에서 처음으로 발간된 이래(Bailey, 1998) 현재는 세계 여러나라에서 발간되어지고 있으며 우리나라도 1998년 한국혈통서 제1권이 발간된 바 있다. 혈통서에 등재되기 위해서는 축산법 및 더러브렛 등록규정에 근거하여 유전자 감정 혹은 혈액형 감정과 모색유전의 법칙에 의해서 친자관계가 확인되어야만 한다

(Bowling, 1996a).

더러브렛 말의 혈통등록을 위한 친자감정기법은 국제혈통서위원회(International Stud Book Committee: ISBC)의 엄격한 조건을 준수하여야 한다(Miura, 1994). 그래서 혈통서 등록기관으로부터 지정받은 각국의 친자감정기관은 국제동물유전학회(International Society of Animal Genetics: ISAG)에 가입하여 ISBC와 ISAG가 공동으로 결정한 더러브렛 최소표준검사항목을 검사해야 하고 ISBC와 ISAG가 공동 주최하는 말(더러브렛 포함) 국제비교동정시험에 참가해야 하는 의무를 준수하여야만 한다. 한국의 더러브렛 감정기관인 한국마사회 유전자검사실도 이러한 국제기준에 준하여 국내산 더러브렛 망아지의 친자감정을 실시하고 있다

Corresponding author : Cho Gil Jae, 685 Juamdong, Gwachon, Gyonggi-do, Korea, Tel : 02-509-1933, E-mail : chogj@mail.kra.co.kr

(조 등, 2000).

기존의 혈액형 감정으로 대부분의 친자관계를 확인하고 있으나 어떤 경우에는 이러한 다형현상만으로는 명확한 결론을 내릴 수 없는 경우가 있다. 그래서 더욱더 정확하고 간편한 방법으로 검사할 수 있는 유전적 marker system을 찾기 위하여 1990년 ISAG 더러브렛 분과위원회의 요청에 의해 DNA 다형좌위를 말의 친자판정에 적용, 유용성 여부를 알아보고자 각국의 친자감정기관이 더러브렛 DNA marker의 검색을 연구한 결과 1996년 말에 약 130여 개가 보고된 바 있다(Natsuno, 1998). 그 후 1997년과 1999년 말 비교동정시험을 통해 2000년 국제동물유전학회 더러브렛 분과위원회에서 9개(AHT4, AHT5, ASB2, HMS3, HMS6, HMS7, HTG4, HTG10, VHL20)의 microsatellite DNA 다형좌위를 국제최소표준 검사항목으로 지정하여 친자판정에 활용토록 권장하고 있다(Hasegawa 등, 2001; Kakoi 등, 2000).

미국을 비롯한 선진외국에서는 2001년부터 더러브렛 말의 친자감정에 종전의 혈액형 감정 대신 유전자 감정을 도입하여 시행하고 있으며, 한국마사회 유전자검사실도 국제기준에 준한 친자감정을 위해서 2003년부터 국내에서 사육중인 모든 번식마와 혈통등록 대상마(국내 생산 망아지)를 대상으로 유전자 감정을 실시

하고 있다. 이런 배경하에 본 연구는 국내산 말의 혈통등록을 위한 친자판정의 효율을 높이기 위한 기초자료를 확보하고자 더러브렛 말을 대상으로 microsatellite DNA형을 분석한 결과를 보고하고자 한다.

II 재료 및 방법

1. 공시재료

2003년 국내에서 생산되어 한국마사회 유전자검사실로 의뢰된 더러브렛 망아지 993두, 씨암말 993두, 씨수말 43두 등 모두 2,029두를 대상으로 하였다. 재료는 말의 경정맥으로부터 Heparin 튜브(Becton Dickinson, USA)에 채혈한 혈액에서 Tozaki 등(2001)의 방법에 준하여 DNA를 분리하였다.

2. DNA Marker 선정 및 PCR 조건

유전자 감정을 위한 좌위는 국제최소표준 marker로서 Bozzini 등(1997)의 방법을 약간 수정하여 DNA를 증폭하였으며 사용된 marker는 모두 dinucleotide repeats로서 primer의 염기 서열은 Table 1에 나타내었다. PCR은 총 15 μ l 량으로 조정하여 GeneAmp PCR system 9600(Perkin-Elmer, USA)을 이용하여 multiplex-

Table 1. Characteristics of 9 microsatellite markers used in this study

Marker	Fluorescent dye	Primer sequences(5'→)	Allele size range(bp)
VHL20	(FAM)-CAAGTCCTCTTACTTGAAGACTAG,	AACTCAGGGAGAATCTTCCTCAG	89 - 107
HTG4	(FAM)-CTATCTCAGTCTTGATTGCAGGAC,	CTCCCTCCCTCCCTCTGTCTCTC	127 - 141
AHT4	(FAM)-AACCGCCTGAGCAAGGAAGT,	GCTCCAGAGAGTTTACCCT	138 - 170
HMS7	(FAM)-CAGGAAACTCATGTTGATACCATC,	TGTTGTTGAAACATACCTTGACTGT	167 - 189
AHT5	(JOE)-ACGGACACATCCCTGCCTGC,	GCAGGCTAAGGGGGCTCAGC	128 - 152
HMS6	(JOE)-GAAGCTGCCAGTATTCAACCATTG,	CTCCATCTTGTAAGTGTAACCTCA	153 - 171
ASB2	(JOE)-CCACTAAGTGTCTGTTTCAGAAGG,	CACAAGTGTCTCTGATAGG	222 - 256
HTG10	(TAMRA)-CAATTCCTCCGCCCCACCCCGGCA,	TTTTTATTCTGATCTGTCACATTT	89 - 117
HMS3	(TAMRA)-CCAATCTTTGTACATAACAAGA,	CCATCCTCACTTTTCACTTTGTT	150 - 174

PCR을 행하였다. PCR 조건은 먼저 95℃ 서 10분간 가열하여 변성을 유도하고 95℃ 서 30초간 denaturation, 60℃ 서 1분간의 annealing 그리고 72℃ 서 1분간의 extension의 3단계로 30회 반복하였으며 72℃ 서 60분간 extension을 실시하였다. PCR 후 증폭산물은 2.5% agarose gel에 전기영동하여 증폭산물을 확인하였다.

3. Microsatellite DNA typing 분석

Microsatellite DNA typing은 PCR 산물 1μl, GeneScan® 400HD[ROX] size standard 0.4μl, deionized formamide 12μl을 혼합하여 95℃ 서 3분간 denaturation 시킨 후 ice 위에서 3분간 침지한 다음 ABI Prism 310 Genetic Analyzer (Perkin-Elmer, USA)에 loading하여 전기영동하고 검출된 각 유전자좌의 대립유전자는 GeneScan Ver.2.1(Perkin-Elmer)으로 분석한 다음 Genotyper Ver.2.5(Perkin-Elmer)를 이용하여 각 marker별 대립유전자의 크기(base pair)를 결정한 후 친자관계 여부를 판정하였다.

4. 통계분석

Microsatellite DNA marker의 대립유전자 출현빈

도를 추정하고 이를 토대로 heterozygosity(Het), polymorphic information contents(PIC) 그리고 exclusion probability(PE)를 Cervus Ver.2.0 program (Marshall 등, 1998)을 이용하여 산출하였다.

III 결 과

1. Microsatellite DNA 다형분석

ABI Prism 310 Genetic Analyzer(Perkin-Elmer, USA)를 이용하여 microsatellite marker AHT4에 대한 대립유전자의 양상은 Fig. 1에 나타내었고, 더러브렛 말 2,029두를 대상으로 9개의 microsatellite DNA marker에 대해서 각 marker별로 대립유전자의 크기와 출현빈도가 가장 높은 순으로 나타낸 결과는 Table 2에서 보는 바와 같다. 대립유전자의 크기는 AHT4(142~158), AHT5(130~ ~ ~ 171), HMS6(157~ ~ ~ 31), HTG4(128~ ~ ~ 3)으로 관찰되었으며 출현빈도는 AHT4 J/O(17.94%), AHT5 K/K(69.00%), ASB2 Q/R(9.51%), HMS3 I/I(29.13%), HMS6 M/P(32.43%), HMS7 M/O(14.83%), HTG4 K/M(43.37%), HTG10 I/M(10.94%), VHL20 I/M(15.97%)의 대립유전자가 가장 높은 빈도를 나타내었다.

Table 2. Allele size range and frequencies of the highest allele in each microsatellite DNA marker on 2,029 Thoroughbred horses

Loci	Allele size range(bp)	Allele No.(%) of horse					
AHT4	142 ~ 158	J/O*	364(17.94)	H/O	348(17.15)	K/O	319(15.72)
AHT5	130 ~ 144	K/K	477(69.00)	K/M	404(23.51)	J/K	338(19.91)
ASB2	223 ~ 257	Q/R	193(9.51)	K/Q	154(7.59)	Q/Q	119(5.86)
HMS3	153 ~ 171	I/I	591(29.13)	I/P	368(18.14)	I/M	285(14.05)
HMS6	157 ~ 167	M/P	658(32.43)	P/P	557(27.45)	M/M	240(11.83)
HMS7	171 ~ 181	M/O	301(14.83)	N/O	241(11.88)	M/N	225(11.09)
HTG4	128 ~ 138	K/M	880(43.37)	K/K	589(29.03)	M/M	348(17.15)
HTG10	88 ~ 110	I/M	222(10.94)	I/I	203(10.00)	I/R	151(7.44)
VHL20	86 ~ 98	I/M	324(15.97)	L/M	318(15.67)	M/N	244(12.03)

*Alphabetical allele codes for all loci are identical to the assignment on 2000 ISAG horse comparison test.

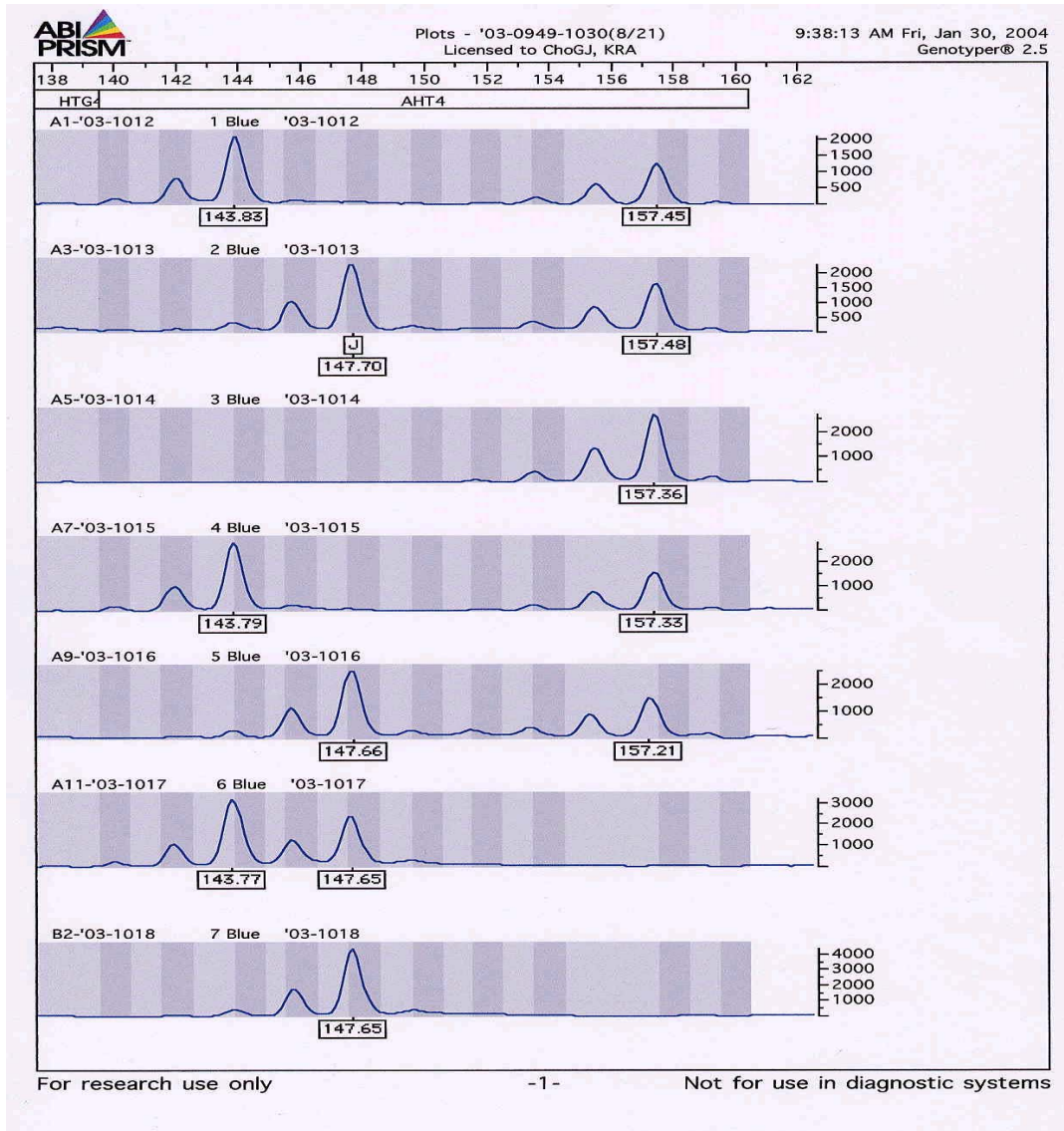


Fig. 1. Electropherogram of AHT4 microsatellite marker in the Thoroughbred horse using the ABI PRISM 310 Genetic Analyzer.

2. Microsatellite DNA 다형의 유전자 빈도 관찰되었다.

Microsatellite DNA 다형의 유전자 빈도를 조사한 결과는 Table 3에서 보는 바와 같이 관찰된 대립유전자의 수는 5~ 1개로서 AHT4 O(0.3943), AHT5 K(0.4916), ASB2 Q(0.2348), HMS3 I(0.5328), HMS6 P(0.5106), HMS7 O(0.2905), HTG4 K(0.5355), HTG10 I(0.2859), VHL20 M(0.3199)의 대립유전자가 높은 빈도로

3. Heterozygosity, PIC, PE 분석

Microsatellite DNA형의 유전자 빈도에 기초하여 heterozygosity, PIC, 그리고 PE를 분석한 결과는 Table 4에서 보는 바와 같다. Expected heterozygosity와 PIC는 각각 0.544~ 837(평균 0.709), 0.446~ 816(평균 0.662)으로 나타났고

Table 3. Gene frequencies of microsatellite DNA polymorphism in Thoroughbred horse

Marker	Allele (gene frequency)							
AHT4	G(0.0002)	H(0.2008)	I (0.0002)	J (0.2178)	K(0.1861)	N(0.0005)	O(0.3943)	
AHT5	J (0.1602)	K(0.4916)	L (0.0002)	M(0.2063)	N(0.1094)	O(0.0320)	Q(0.0002)	
ASB2	B(0.0355)	K(0.1530)	L (0.0002)	M(0.1259)	N(0.1419)	O(0.0981)	P (0.0170)	
	Q(0.2348)	R (0.1932)	S (0.0002)					
HMS3	I (0.5328)	M(0.1451)	N (0.0350)	O(0.1097)	P(0.1688)	Q(0.0005)	R(0.0081)	
HMS6	K(0.1067)	L (0.0362)	M(0.3351)	O(0.0113)	P(0.5106)			
HMS7	J (0.0941)	K(0.0012)	L (0.1582)	M(0.2440)	N(0.2119)	O(0.2905)		
HTG4	K(0.5355)	L (0.0010)	M(0.4098)	N(0.0202)	O(0.0005)	P (0.0330)		
HTG10	H(0.0002)	I (0.2859)	J (0.0007)	K(0.1313)	L(0.1427)	M(0.1821)	N(0.0015)	
	O(0.1069)	P (0.0002)	R (0.1442)	S (0.0042)				
VHL20	I (0.2597)	J (0.0012)	K(0.0010)	L (0.2319)	M(0.3199)	N(0.1821)	O(0.0042)	

Table 4. Heterozygosity, PIC value and PE of microsatellite markers in Thoroughbred horse

Marker	No. of allele	OHet	EHet	PIC	PE*
AHT4	7	0.744	0.722	0.674	0.475
AHT5	7	0.672	0.677	0.634	0.442
ASB2	10	0.830	0.837	0.816	0.673
HMS3	7	0.643	0.653	0.615	0.428
HMS6	5	0.595	0.614	0.546	0.346
HMS7	6	0.780	0.777	0.741	0.561
HTG4	6	0.535	0.544	0.446	0.252
HTG10	11	0.810	0.815	0.790	0.634
VHL20	7	0.750	0.743	0.696	0.498

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

Table 5. A case of parentage testing by 9 microsatellite loci in Thoroughbred horse

Samples	Loci								
	AHT4	AHT5	ASB2	HMS3	HMS6	HMS7	HTG4	HTG10	VHL20
Sire	H/O	K/O	N/Q	I/I	P/P	L/O	K/M	K/L	I/L
Dam	K/O	K/K	K/R	M/O	K/M	J/O	K/M	K/O	I/I
Foal	H/K	K/O	N/R	I/M	M/P	O/O	K/M	K/O	I/L

ASB2, HMS7, HTG10의 marker는 PIC 0.70 이상으로 관찰되었다. 또한, PE는 0.252~ 0.673으로서 9개 marker를 조합시 0.9978로 관찰되었다.

4. Microsatellite DNA형에 의한 친자감정

2003년도 국내에서 태어나 혈통등록을 위한

친자감정을 목적으로 한국마사회 유전자검사실에 의뢰된 43가계(1가계당 평균 23.1두 출생) 993두에서 태어난 더러브렛 망아지 993두를 대상으로 9개의 microsatellite DNA marker에 대해서 DNA형을 분석하여 친자감정을 실시한 결과 전두수에서 멘델의 유전법칙에 부합되어 친자관계로 확인되었다(Table 5).

IV 고 찰

근래에 들어 국내 말 생산산업의 괄목할 만한 성장으로 인해 5,000여 두 이상의 더러브렛 말이 국내에서 사육되고 있는 것으로 알려져 있다. 더욱더 우수한 혈통과 유전형질을 가진 외국산 씨수말 및 씨암말의 도입과 경마의 국제화에 따른 말의 국제간 이동 증가, 목장내 생산마의 친자감정을 둘러싼 분쟁 등 종래에 비해서 말의 개체식별이나 친자감정의 중요성이 대두됨에 따라 신속하고 정확하며 경제적인 감정방법이 요구되어지고 있다(Bowling, 1996b). 말의 친자감정 방법이 기존의 혈액형 검사에서 유전자 검사로 변경된 이유는 혈액형 검사에 의한 친자감정의 정확성은 약 97% 내지 99.5%로서 대략 3% 내지 0.05%의 오류를 범할 수 있어 더욱더 검사결과의 효율을 높이고 검사시료의 다양화 및 검사비용의 절약을 위한 것이다. 혈액형 검사는 검사시료가 혈액에 국한되어 있고 검사를 위해서는 신속하게 검사실로 수송되어야 하며 또한 채혈시 수의사의 인건비 등 비용과 노동력이 많이 소모된다. 이러한 핸디캡을 극복할 수 있는 방법이 유전자 검사이고 또한 혈액뿐만 아니라 모근이나 심지어는 타액까지 가능하기 때문에 여러 면에서 효율적인 기법으로 알려져 있다. 그래서 미국을 비롯한 선진국에서는 혈액대신 모근을 채취하여 유전자 검사에 이용하고 있다. 우리나라도 2004년부터는 유전자 검사에 의한 친자감정기법에 모근을 도입하기 위해서 현재 연구중에 있다.

1985년 영국의 Jeffreys 등에 의해 human genome의 myoglobin gene에서 고변이 유전자 좌위를 제한효소처리와 Southern hybridization에 의해 다형성이 있는 것으로 알려지면서 사람을 포함한 대부분의 동물에서 DNA 수준에서의 개체식별 및 친자확인이 가능하게 되었다.

단백질의 다형은 유전자 상에 코드되어 있지만 유전자내에서 단백질의 정보를 담당하고 있지 않는 intron 부위나 유전자 이외의 비코드 영역에는 반복배열의 반복수가 다른 다형

이 존재하는 것이 알려진 이래 현재 이용되고 있는 대표적인 DNA typing은 microsatellite DNA typing 혹은 short tandem repeats(STRs)이다. 말에 있어서는 1986년 개최된 더러브렛 국제혈통서위원회에서 DNA형 감정에 관해서 처음으로 거론된 이래 국제간의 긴밀한 협조하에 진행된 결과 현재는 각국의 공통 DNA marker 사용 및 검사법의 표준화가 이루어져 친자확인에 채택하고 있는 실정이다. 말의 개체식별이나 친자판정을 목적으로 한 DNA marker는 allele의 수가 많고 heterozygosity가 높으며 다형성을 보이는 염기수가 적은 것, 즉 PCR 증폭이 가능하며 정확한 염기수나 반복배열수가 용이하게 산출되는 범위의 것으로서 돌연변이율이 낮은 것이어야 하고 또한, 더러브렛 말의 혈통등록은 초봄에 집중되어 단시일내에 많은 검사를 수행해야 하므로 경제적이며 방법이 단순하고 시간이 절약되어야 한다. 그래서 각국에서는 말의 DNA 다형 marker를 지금까지 핵 DNA의 유전자 비코드부위에서의 반복배열수의 차이를 지표로 한 microsatellite DNA로서 2~ 염기의 반복되는 배열로서 heterozygosity가 높고 allele의 수가 많은 marker중에서 국제간 comparison test를 통해 검사방법을 표준화 시킨 후 2000년 국제동물 유전학회 말 분과위원회에서 9개의 microsatellite DNA marker를 국제최소검사항목으로 지정한 이래 현재 각국의 친자감정 기관에서 더러브렛 말의 개체식별이나 친자판정에 이용하고 있다(Tozaki 등, 2001).

2003년도 국내에서 사육중인 씨암말로부터 태어나 혈통등록을 필요로 하는 망아지 993두를 대상으로 친자감정을 실시한 본 연구 결과 대상 망아지 전두수에서 친자관계가 확인되었다. 이는 microsatellite DNA형을 이용하여 친자판정을 하면 더욱 정확하고 유용한 결과를 얻을 수 있다고 보고한 Kakoi 등(2000), Bowling(1996b), Binns 등(1995)의 견해와 일치하였다. 조 등(2002)은 제주말을 대상으로 국제기준 9개 marker를 포함한 16개 marker를 대상으로 microsatellite DNA형을 분석한 결과 AHT4, AHT5, ASB2, ASB17, HMS2, HMS3,

HTG10, LEX33, TKY321, VHL20 등 10개의 marker에서 PIC 0.70 이상이었고 전체 16개 marker를 조합시 PE는 0.9999 이었다고 보고한 바 있다. 국제최소검사항목 9개 marker에 대한 DNA형의 유전자 빈도에 기초하여 PIC와 PE를 분석한 결과 ASB2, HMS7, HTG10의 marker는 PIC 0.70 이상으로 관찰되어 말의 개체식별이나 친자감정을 위한 marker로서의 조건에 부합되었으나 9개 marker를 조합한 PE는 0.9978로 관찰되어 국제적으로 권장하고 있는 0.9995에는 다소 미흡한 것으로 나타나 marker의 추가가 요구되고 있어 2004년부터는 7개 marker(ASB17, ASB23, CA425, LEX3, LEX33, HMS1, TKY321)를 추가하여 검사하면 국제기준을 충족할 것으로 사료된다(Dimsoski, 2003).

Microsatellite DNA형에 의한 말의 친자확인에 관한 국제 가이드라인은 아직 정립되지 않은 상태이나 혈액형 감정처럼 국제최소표준검사항목 9개 marker중 2개 marker 이상에서 멘델의 유전법칙이 성립되지 않을 경우 모순으로 판정하도록 권고하고 있다. 앞으로 더 많은 연구를 통해 microsatellite marker에서 발생될 수 있는 null allele 및 mutation 등의 문제점과 결과 판독시 marker에 따른 특성 등을 연구하여 국내산 망아지의 친자감정 효율을 향상시켜 신뢰성 및 공정성 제고에 노력해야 할 것으로 사료된다.

V 결 론

더러브렛 말 2,029두를 대상으로 9개의 microsatellite DNA형에 대해 분석한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

각 marker별로 대립유전자의 출현빈도는 AHT4 J/O(17.94%), AHT5 K/K(69.00%), ASB2 Q/R(9.51%), HMS3 I/I(29.13%), HMS6 M/P(32.43%), HMS7 M/O(14.83%), HTG4 K/M(43.37%), HTG10 I/M(10.94%), VHL20 I/M(15.97%)의 대립유전자가 가장 높은 출현빈도를 나타내었다. 대립유전자의 수는 5~1개로서 AHT4 O(0.3943), AHT5 K(0.4916), ASB2 Q(0.2348), HMS3 I(0.5328), HMS6 P(0.5106), HMS7 O(0.2905),

HTG4 K(0.5355), HTG10 I(0.2859), VHL20 M(0.3199)의 대립유전자가 높은 빈도로 관찰되었고 ASB2, HMS7, HTG10의 marker는 PIC 0.70 이상으로서 9개 marker를 조합시 PE는 0.9978로 관찰되었다. 2003년도 국내에서 태어나 혈통등록을 위한 더러브렛 망아지 993두를 대상으로 9개의 microsatellite DNA marker에 대한 DNA형에 의한 친자감정 결과 전두수에서 멘델의 유전법칙에 부합되어 친자관계로 확인되었다.

VI 인 용 문 헌

1. Bailey, E. 1998. Odds on the FAST gene. *Genome Res.* 8:569-571.
2. Binns, M. M., Uolmes, N. G. and Holliman, A. M. 1995. The identification of polymorphic microsatellite loci in the horse and their use in thoroughbred parentage testing. *Brit. Vet. J.* 151: 9-15.
3. Bowling, A. T. 1996a. *Horse genetics.* CAB International, p. 82-96.
4. Bowling, A. T. 1996b. *UC DAVIS book of horses.* Mordecai Siegal, 1st ed. Haper Collins, p. 126.
5. Bozzini, M., Fantin, D., Ziegle, J. S., Van Haering, H., Jacobs, W., Ketcham, M., Spencer, M. and Bates, S. 1997. Automated equine paternity testing. *PE Applied Biosystems.* p. 1.
6. 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 J. Genet.* 24:359-365.
7. Dimsoski, P. 2003. Development of a 17-plex microsatellite polymerase chain reaction kit for genotyping horses. *Croat. Med. J.* 44:332-335.
8. Eggleston-Scott, M. L., Delvalle, A., Dileanis, S., Wictum, E. and Bowling, A. T. 1996. Characterization of a null allele at an equine microsatellite locus. *Anim. Genet.* 27: 89-90.
9. Eggleston-Scott, M. L., Delvalle, A., Dileanis, S., Wictum, E. and Bowling, A. T. 1997. A single base transversion in the flanking region of an equine microsatellite locus affects amplification of one allele. *Anim. Genet.* 28:438-440.
10. Hasegawa, T. and Miura, N. 2001. Advances in the equine molecular genetics in Japan. *Proc. 4th IEGMW.* p. 13.
11. Kakoi, H., Nagata, S. and Kurosawa, M. 2000. Microsatellite DNA testing for parentage verification of thoroughbreds. *Pros 27th ISAG Conf.*

- Anim. Genet. p. 90.
12. Marshall, T. C., Slate, J., Kruuk, L. and Pemberton, J. M. 1998. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Mol. Ecol.* 7:639-655.
 13. Miura, N. 1994. Blood typing service in light-breed horses. *Jpn. J. Equine Sci.* 4:187-190.
 14. Natsuno, Y. 1998. The present status of horse blood typing in Japan. *J. Anim. Genet.* 26:19-25.
 15. 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. *J. Vet. Med. Sci.* 63:1191-1197.
 16. 조길재, 김봉환. 2000. 더리브렛 말의 혈액형에 관한 연구. *대한수의학회지* 40:683-689.
(접수일자 : 2003. 12. 31. / 채택일자 : 2004. 2. 19.)