

## A Major DNA Marker of BM4311 Microsatellite Locus in Hanwoo Chromosome 6 using the Bootstrap BCa Method

Jea-Young Lee<sup>1)</sup> · Mun-Jung Kim<sup>2)</sup> · Young-Won Lee<sup>3)</sup>

### Abstract

DNA marker 95bp and 100bp are selected as major DNA markers of the BM4311 microsatellite locus in progeny test Hanwoo chromosome 6 linkage map. This document is tried to know whether DNA marker 95bp and 100bp are also major DNA markers in Hanwoo performance valuation in chromosome 6 linkage map. The bootstrap BCa method will be used to calculate confidence interval for DNA markers.

**Keywords** : Bootstrap(BCa) method, Performance valuation Hanwoo(출품우), Progeny test Hanwoo(후대검정우), QTL

### 1. 서론

생명공학의 중요성이 점차적으로 높아지고 있는 시대를 맞이하여, 그 핵심이 될 지놈(genome) 연구가 활발히 진행되고 있으며 얼마전 인간의 지놈 지도도 완성되었다. 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. 선진국에서는 경제성이 높은 동물의 Genome Project가 추진되고 있어, 우리나라에서도 재래가축 유전자원 중 가장 경제성이 높아 경쟁력이 있는 것으로 확인된 한우를 대상으로 유전자지도 작성(gene mapping)이 시도되고 있다(Kim 등, 2000). 한우를 비롯한 축우의 유전자지도 작성에서는 주로 microsatellite를 이용하고

---

1) First Author : 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

3) Graduate, Department of Statistics, Yeungnam University, 214-1 Daedong, Kyungsan, Kyungbuk, 712-746, South Korea

있다. microsatellite는 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).

그리하여 지난 몇 년 동안 형질과 DNA marker와의 관계를 알아보기 위해서 많은 연구를 해오고 있다. 이는 경제적으로 중요한 형질에 대해서 중요한 DNA marker를 찾아냄으로써 부가가치를 높일 수 있기 때문이다. 소에 있어서는 소의 육질과 육량을 높일 수 있는 DNA marker를 찾아 사육에 있어 생산성을 높여 많은 농가에 경제적인 이익을 높일 수 있게 된다. 하지만 DNA marker를 찾는 과정은 많은 시간을 필요로 하는 작업이다. 만일 Chromosome에 따라 유전자 배열을 완벽하게 알아낸다면 형질에 대해서 매우 유용한 정보를 얻을 수가 있게 될 것이다. QTL(Quantitative Trait Loci)을 찾기 위해 가장 많이 쓰이는 방법인 LOD(Log of the odds) scores이나 우도비 통계값을 이용하였다(Jurg, 1999). 또한 이러한 방법으로 얻어진 QTL에 있어 가장 많은 영향력을 가진 DNA marker를 찾기 위해 표준화 평균 분석과 K-means 군집분석을 통해 유의한 DNA marker를 찾았다(Lee 등, 2002).

본 논문에서는 후대검정우(Progeny test Hanwoo)에서 우수 DNA marker로 선별된 유전자가 출품우(Performance test Hanwoo)에서도 우수한 DNA marker로 선별되는지 알아보기 위해 시도하였다. 여기에서 후대검정우란 환경적인 영향을 최소화시켜 유전적인 요인을 많이 받으며 사육된 한우이며 출품우는 사육되는 환경이 다른 조건 속에서 환경적 영향을 많이 받으며 사육된 한우이다. 후대검정우 Chromosome 6에서 QTL 분석을 실시한 결과, LOD 값이 가장 높았던 BM4311 mrcrosatellite locus를 선택하였다. 선택된 BM4311 mrcrosatellite locus에서는 DNA marker 95bp와 DNA marker 100bp가 경제형질에 좋은 영향을 미치는 우수 DNA marker로 선별이 되었다(Kim 등, 2003). 그러므로 환경적 영향을 많이 받으며 자란 출품우 Chromosome 6의 BM4311에서 있어서도 DNA marker 95bp와 DNA marker 100bp가 경제형질에 좋은 영향을 미치는 DNA marker인지를 경제형질별 표준화 평균과 Bootstrap BCa 방법을 통해 알아보았다.

## 2. BM4311의 우수 DNA Marker 선별

후대검정우 Chromosome 6의 BM4311에서는 DNA Marker 95bp와 DNA Marker 100bp이 우수 DNA Marker로 선별이 되었다. 하지만, 후대검정우는 환경적 영향을 최소화시켜 유전적인 영향만을 살펴볼 수 있도록 제한을 주었다. 그래서 후대검정우에서 선별된 유전자가 여러 다양한 환경에서 사육된 있는 출품우에서도 우수한 DNA Marker로 선별되는지를 검정해 보았다.

연구에 활용된 자료는 농림기획과제로 수행중인 한우의 경제형질 우수 유전자 선별을 위해 실험되고 있는 것이며 유전적 요인보다 개인 농가에서 다양한 환경적 요인을 더 많이 받으며 사육된 출품우 445두다. 여기에서 변수의 개수는 10개이며 10개의 변수 중 각 DNA marker의 유무에 대하여 나누어진 변수가 6개 DNA marker 95bp, ……;DNA marker 110bp로 정의되고, 한우 특성에 관한 변수가 4개이다. 한우 특성에 관한 변수에는 근내지방도, 일당증체량, 등지방 두께, 등심 단면적이 있다.

< 표 1 >은 출품우 455두를 대상으로 경제형질별 표준화 평균을 구해보았다. 단 등지방 두께에 있어서는 수치가 낮을수록 좋은 것이 되므로 다른 경제 형질과 동일한 시각으로 보기 위해서 역등지방이라는 새로운 변수로 변환을 시켰다. 역등지방의 변환식은 (1/등지방)×10 이다.

근내지방도에 있어서는 DNA Marker 100bp의 평균이 가장 높고 일당증체량과 등심 단면적에 있어서는 DNA Marker 95bp의 평균이 가장 높은 것으로 나타났으며 역등지방에 있어서는 다른 DNA Marker에 비해서 DNA Marker 103bp의 평균이 높은 것으로 나타났다. 근내지방도와 일당증체량 그리고 등심 단면적에 있어서는 후대검정우의 표준화 평균과 같은 결과를 가진다(Kim 등, 2003).

< 표 1 > BM4311 내 DNA marker들의 경제형질별 표준화 평균 (두수)

	DNA marker 95 bp (82)	DNA marker 100 bp (252)	DNA marker 103 bp (307)	DNA marker 105 bp (104)	DNA marker 107 bp (155)	DNA marker 110 bp (3)
근내 지방도	-0.1716	0.1347	0.0061	-0.0982	-0.0421	-1.5567
일당 증체량	0.1951	0.0601	-0.0754	0.0705	-0.0799	-0.4454
역 등지방	-0.0616	-0.0405	0.0699	-0.0236	0.0116	-0.6101
등심 단면적	0.1926	0.0184	-0.0173	-0.0004	-0.0576	-1.1813

단순히 평균이 높은 것으로 보았을 때는 위와 같은 결론을 가질 수가 있으나 보다 세밀한 검정을 위하여 Bootstrap BCa 방법을 이용하여 각 DNA marker에 대해서 평균과 신뢰구간을 구해서 확인해 보았다.

Bootstrap BCa 방법은 Efron에 의해 제안된 것으로 주어진 자료  $x_1, x_2, x_3, \dots, x_n$ 로부터 원래 자료와 같은 크기의 Bootstrap 표본  $x^* = (x_1^*, x_2^*, x_3^*, \dots, x_n^*)$ 을 복원 랜덤 추출을 하는 방법으로 원 데이터로부터 새로운 Sample을 만드는 방법 중 하나이다. 특히 Bootstrap BCa(Bias Corrected and accelerated)방법을 택하도록 하겠다.

BCa방법은 Bootstrap의 다른 방법보다 복잡하긴 하지만 좀더 나은 결과를 보여준다(Efron, 1993). 여기선 각 DNA marker별로 B=1000번의 복원 Bootstrap 표본 생성을 실시하였다.

BCa방법을 적용는 알고리즘을 간략히 다음과 같이 정리 할 수 있다.

- Step 1 : 각 DNA marker내에 경제형질별 표본을 파악한 후, 그 표본의 평균을 계산한다.
- Step 2 : 각 DNA marker의 경제형질별로 표본 데이터 수만큼 B=1000번의 복원추출을 한 후, 1000개의 표본들에 대한 각각의 평균값을 계산한다.

Step 3 : Step 2에서 구한 1000개의 표본 평균들에 대해서 크기 순으로 다음과 같이 나열을 한다.

$$(\hat{\theta}_{(1)}, \hat{\theta}_{(2)}, \dots, \hat{\theta}_{(1000)})$$

Step 4 : 평균값들의  $(1-2\alpha)100\%$  BCa 신뢰구간은

$$(\hat{\theta}_{lo}, \hat{\theta}_{up}) = (\hat{\theta}_{(\alpha_1)}^*, \hat{\theta}_{(1-\alpha_2)}^*) \text{로 나타낸다.}$$

$$\text{단, } \alpha_1 = \Phi\left(\hat{z}_0 + \frac{\hat{z}_0 + z_{(\alpha)}}{1 - \alpha(\hat{z}_0 + z_{(\alpha)})}\right),$$

$$\alpha_2 = \Phi\left(\hat{z}_0 + \frac{\hat{z}_0 + z_{(1-\alpha)}}{1 - \alpha(\hat{z}_0 + z_{(1-\alpha)})}\right)$$

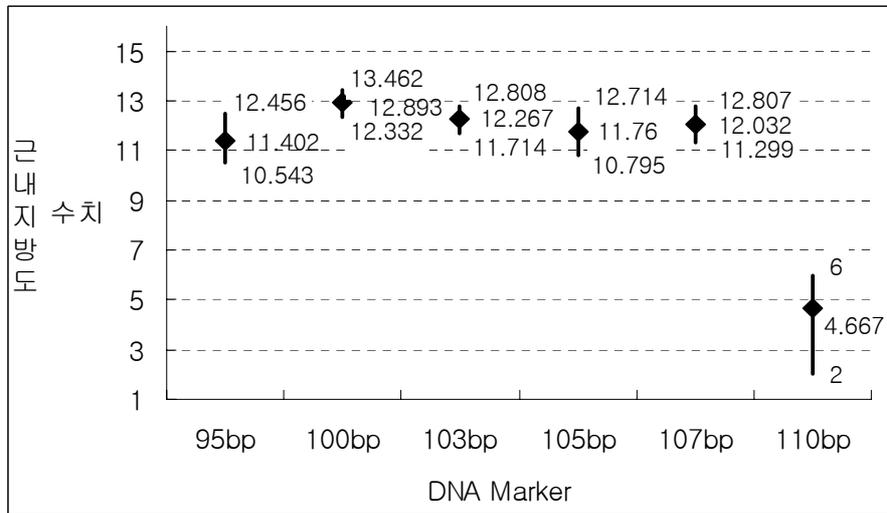
$\Phi(\cdot)$  : 표준 누적 정규 분포함수

$z_\alpha$  : 표준 정규 분포의  $(100\alpha)\%$ 의 값

$$\hat{z}_0 = \Phi^{-1}\left(\frac{\#\{\hat{\theta}^{*(b)} < \hat{\theta}\}}{B}\right)$$

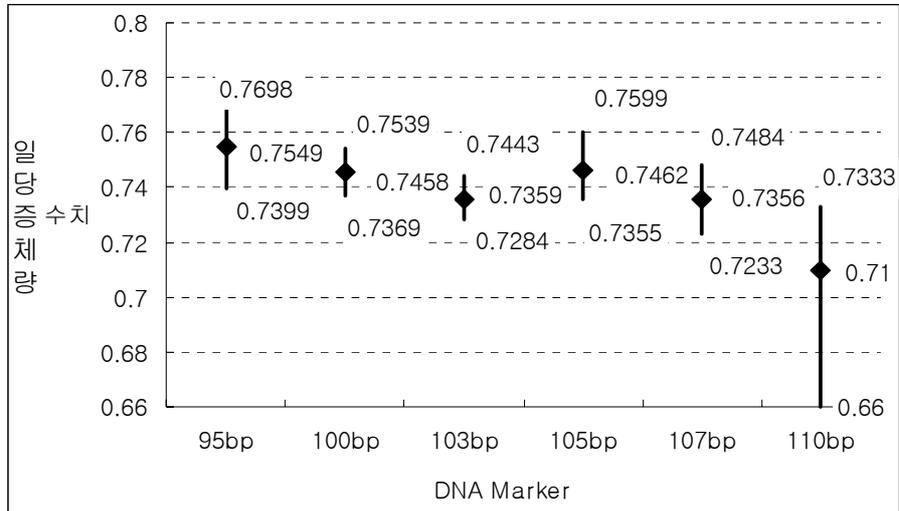
$$\alpha = 0.025$$

< 그림 1 > ~ < 그림 4 >는 각 경제형질별 Bootstrap BCa 방법을 통해 얻은 95% 신뢰구간이다.



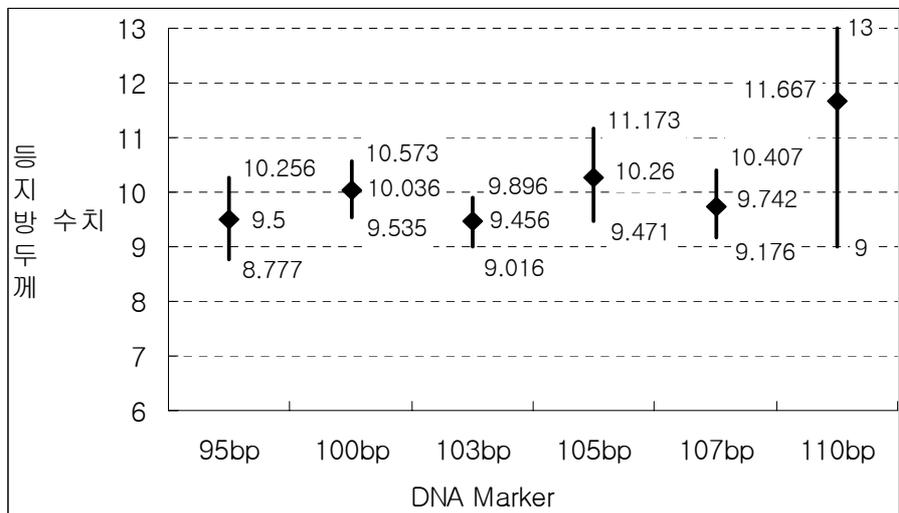
< 그림 1 > 근내지방도에 대한 DNA별 Bootstrap 신뢰구간

< 그림 1 >은 근내지방도에 대한 신뢰구간으로 DNA marker 100bp의 평균이 12.893으로 가장 높고 신뢰구간이 (12.332, 13.462)로 짧아 좋은 영향을 주는 DNA로 판별되어진다.



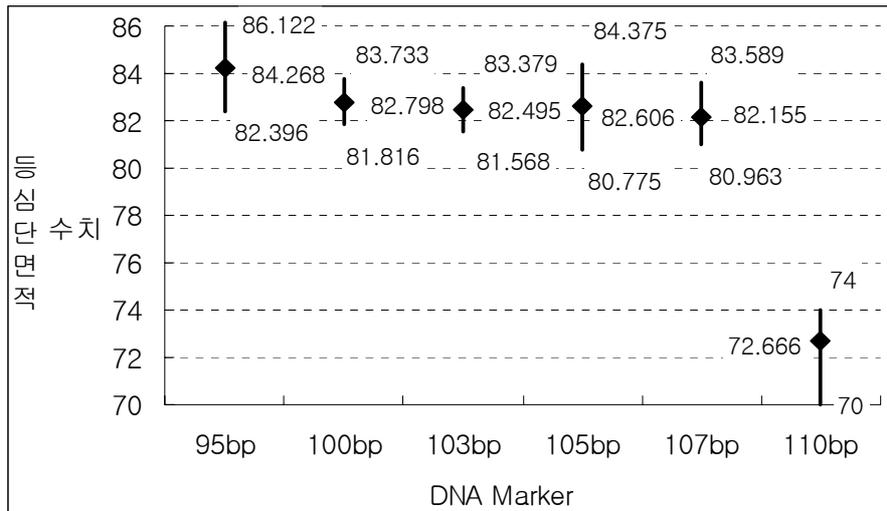
< 그림 2 > 일당증체량에 대한 DNA별 Bootstrap 신뢰구간

< 그림 2 >는 일당증체량에 대한 신뢰구간으로 DNA marker 95bp의 평균이 0.7549로 높기는 하나 신뢰구간이 (0.7399, 0.7698)로 다른 DNA marker들에 비해 짧지는 않은 것으로 판별되었다. 하지만 다른 DNA marker들에 비해서는 좋은 DNA marker로 판별되어진다.



< 그림 3> 등지방 두께에 대한 DNA별 Bootstrap 신뢰구간

< 그림 3 >은 등지방 두께에 대한 신뢰구간으로 등지방에 있어서는 낮은 수치가 좋은 것으로 DNA marker 103bp의 평균이 9.456으로 낮으며 신뢰구간에 있어도 (9.896, 9.016)으로 다른 DNA marker들에 비해 신뢰구간이 좁은 편이긴 하나 평균에 있어서는 크게 차이가 없다. 따라서 등지방에 있어서는 좋은 DNA marker를 선별하기 어려운 것으로 판별되었다.



< 그림 4 > 등심 단면적에 대한 DNA별 Bootstrap 신뢰구간

< 그림 4 >는 등심 단면적에 대한 신뢰구간으로 DNA marker 95bp의 평균이 84.268로 가장 높기는 하나 신뢰구간의 길이가 (82.396, 86.122)으로 다소 넓긴하다. 하지만 다른 DNA marker들에 비해서는 좋은 DNA marker로 판별되어진다.

표준화 평균의 결과와 Bootstrap BCa 방법으로 얻어진 신뢰구간의 결과를 정리해 본다면 근내지방도에 있어서는 DNA marker 100이 가장 좋은 DNA marker로 선별되었으며 일당증체량과 등심 두께에 있어서는 DNA marker 95bp이 가장 좋은 DNA marker로 선별되었다. 하지만 (역)등지방에 있어서는 표준화 평균에 있어서는 DNA marker 103이 선별되었으나 BCa로 얻어진 결과에서는 좋은 DNA marker로 선별되는 것이 없는 것을 알 수가 있었다.

### 3. 결론

따라서, DNA marker 95bp와 DNA marker 100bp는 소가 사육되는 환경에 있어서는 영향을 받지 않으면서 경제 형질에 좋은 영향을 미치는 고유한 DNA marker라고 결론지을 수 있겠다. 차후 판별된 DNA marker 95bp와 DNA marker 100bp의 유무를 존재를 파악 후 DNA marker를 따로 배양시킨다면 소의 품질을 높여 한우의 경제적 가치를 높일 수 있을 것이다.

출품우에 있어서 한우 6번 염색체 BM4311 microsatellite locus의 우수 DNA marker mining을 해보았다. 후대검정우에 있어서는 DNA marker 95와 DNA marker 100이 가장 좋은 DNA marker로 판별이 되었는데(Kim 등, 2003) 출품우에 있어서도 표준화 평균비교와 Bootstrap BCa방법을 통해서 DNA marker 95bp와 DNA marker 100bp가 가장 좋은 DNA marker로 판별이 되어 후대 검정우와 출품우에 있어서도 동일한 결과를 가지는 것으로 나타났다.

### 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. Ott, Jurg. 1999. *Analysis of human genetic linkage*, 3rd ed. The Johns Hopkins university press.
3. 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
4. Kim, M.J., Lee J.Y., Yeo, J.S., Lee, Y.W. and Joe, Y.J.. 2003 A major DNA mining of BM4311 in Hanwoo. *Proceedings of the spring Conference*, Cheju National Uni. 305-311.
5. 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.
6. Lee, J., Yeo, J., Kim, J., and Lee Y. 2002. A Major DNA marker mining ILSTS035 microsatellite loci in Hanwoo chromosome 6. *J. of Korean Data & Info. Sci.* 13-2:97-104.
7. 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.
8. Efron B., Tibshirani R. (1993) "An Introdtion to bootstrap"  
CHAMPMAN & HALL