

## Bootstrap Analysis of ILSTS035 Microsatellite Locus in Hanwoo Chromosome 6

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

### Abstract

We selected, in previous research, a major DNA Marker 235bp of ILSTS035 microsatellite locus in progeny test Hanwoo chromosome 6. We apply a major DNA Marker 235bp to performance valuation Hanwoo chromosome 6. We use bootstrap BCa method and calculate confidence interval. A major DNA Marker 235bp is verified that it does not have environmental effect but affects primely economic trait factor.

**Keyword** : Bootstrap BCa Method, Performance valuation Hanwoo, QTL, Progeny test Hanwoo,

### 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 Human Genome Project 뿐만 아니라 경제성이 높은 동물의 Genome Project도 추진되고 있어, 우리나라에서도 선진국에 종속되지 않는 고유한 재래유전 자원을 이용한 genome project의 필요성이 끊임없이 제기되어져 왔으며, 우리나라 재래가축 유전 자원중 가장 경쟁력이 확보되고 경제성이 높은 것으로 확인된 한우를 대상으로 유전자지도 작성(gene mapping)이 시도되고 있다(Kim 등, 2000). 한우를 비롯한 축우의 유전자지도

---

1) First Author : Professor, Department of Mathematics and Statistics, Yeungnam University, 214-1 Daedong Kyungsan, Kyungbuk, 712-749, South Korea  
E-mail : jlee@yu.ac.kr

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

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

작성에서는 주로 microsatellite를 이용하고 있다. microsatellite란 생물체에 존재하는 단순염기서열(simple repetitive sequence)들의 수많은 반복단위 수의 변이에 따른 DNA다형성을 나타내는 것으로 1~6개의 nucleotide가 반복 염기서열로 구성되어 있는 것으로 보고 되었으며(Rassman 등, 1991), 이들 microsatellite들은 주변의 특이 염기서열로부터 고안된 primer를 이용한 PCR이 용이하고 증폭된 산물들은 단순염기서열 반복단위의 수를 변이시킴으로서 높은 다형성을 나타내게 된다. 그리고, 소에서 일당증체량, 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. 따라서, 우리나라에서도 재래가축 유전자원 중 가장 경쟁력이 확보되고 경제성이 높은 한우에 대하여 QTL 분석을 통하여 경쟁력을 높일 필요가 있다. 그래서, 농림부 기획과제로 수행중인 환경적인 요인의 영향을 배제시킨 후 사육하여 유전적인 요인의 영향을 많이 받는 후대검정우(progeny test Hanwoo)를 대상으로 6번 염색체의 microsatellite loci에 대하여 QTL 분석을 실시한 결과 ILSTS035 microsatellite locus를 선별하였고, 선별된 ILSTS035 microsatellite locus에서 우수 DNA Marker 235bp를 선별하였다(Lee 등, 2003, submitted). 선별된 DNA Marker 235bp를 환경적인 요인의 영향을 많이 받는 출품우(Performance valuation Hanwoo)에 적용하여, DNA Marker 235bp가 환경적인 영향을 받지 않는 출품우에서도 양질의 영향을 주는지 알아보하고자 하였다.

따라서 본 연구는 ILSTS035 microsatellite locus의 DNA Marker들에 대하여 출품우의 경제형질별 표준화 평균을 구해 그 특성을 파악하고(2장), 부스트랩 방법을 이용하여 신뢰구간을 구하여(3장), DNA Marker 235bp에 대하여 우수형질 입증을 시도하였다.

## 2. DNA Marker별 경제 형질별 표준화 평균

후대검정우에서 선별된 6번 염색체 ILSTS035 microsatellite locus의 DNA Marker 들을 출품우에 적용하여 우수 유전자를 선별한다. 연구에 활용된 자료는 농림부 기획과제로 수행중인 출품우 455두 이다. 출품우에 대한 변수의 개수는 13개이다. 13개의 변수 중 각 DNA marker의 유무에 대하여 나누어진 변수 9개는 DM210, ..., DM266으로 정의되고, 한우 특성에 관한 변수가 4개이다. 한우 특성에 관한 변수에는 근내지방도, 일당증체량, 등지방 두께, 및 등심 단면적이 있다. 변수들 간의 단위가 달라서 평균 비교시 문제가 발생할 가능성이 있기 때문에 처음 변수들을 표준화 시켰다. 그리고, 등지방 두께는 값이 적을수록 좋은 것이 되므로, 군집 분석 전에 역 등지방이란 새로운 변수를 만든다. 역 등지방을 계산하는 방식은  $(1/\text{등지방 두께}) \times 10$ 으로 하였다.

표준화된 데이터에 대한 각 DNA marker의 경제형질별 표준화 평균을 통해 그 특징을 분석하고자 하였다. <표 1>에서 근내지방도의 평균이 높게 나타난 DNA marker는 235bp, 266bp이고, 일당증체량의 평균이 높게 나타난 DNA marker는 230bp, 235bp이며, (역)등지방의 평균이 높게 나타난 DNA marker는 240bp, 245bp이며, 등심 단면적의 평균이 높게 나타난 DNA marker는 235bp이었다. 후대검정우에서 우수 DNA marker로 선별된 DNA marker 235bp가 출품우에서도 근내지방도, 일당증

체량, 등심 단면적에 우수한 DNA marker로 나타났다.

< 표 1 > ILSTS035 내 DNA marker들 경제형질별 평균 ( ) : 두수

	DNA marker 210bp (28)	DNA marker 215bp (171)	DNA marker 230bp (57)	DNA marker 235bp (142)	DNA marker 240bp (79)	DNA marker 245bp (145)	DNA marker 255bp (161)	DNA marker 260bp (186)	DNA marker 266bp (22)
근내 지방	-0.4673	0.0847	-0.0452	0.1626	-0.8783	-0.1584	-0.096	-0.0024	0.2409
일당 증체	-0.0592	-0.036	0.1029	0.0994	-0.024	-0.2266	0.0643	-0.028	-0.3676
역등 지방	-0.2140	-0.1031	-0.027	-0.1068	0.1665	0.2498	-0.011	0.0951	-0.3222
등심	-0.2113	-0.0379	-0.2214	0.2226	-0.067	-0.0549	-0.0179	-0.0091	-0.1083

다음 장에서, 부스트랩(bootstrap) 검정방법 (Visscher et al., 1996)을 이용하여 DNA marker에 대한 신뢰구간을 통해 우수 유전자 탐색을 실시하였다.

### 3. DNA marker들에 대한 Bootstrap Method 적용

DNA Marker들에 대하여 Bootstrap 방법을 이용하여 신뢰구간을 계산하여 실질적인 영향력에 대하여 알아보고자 하였다. 여기에서 시행하는 Bootstrap 방법은 BCa(Bias-Corrected accelerate)방법으로, 각 DNA Marker별로 B=1000번 실시하였다.

우선 그 알고리즘은 다음 단계를 가진다.

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

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

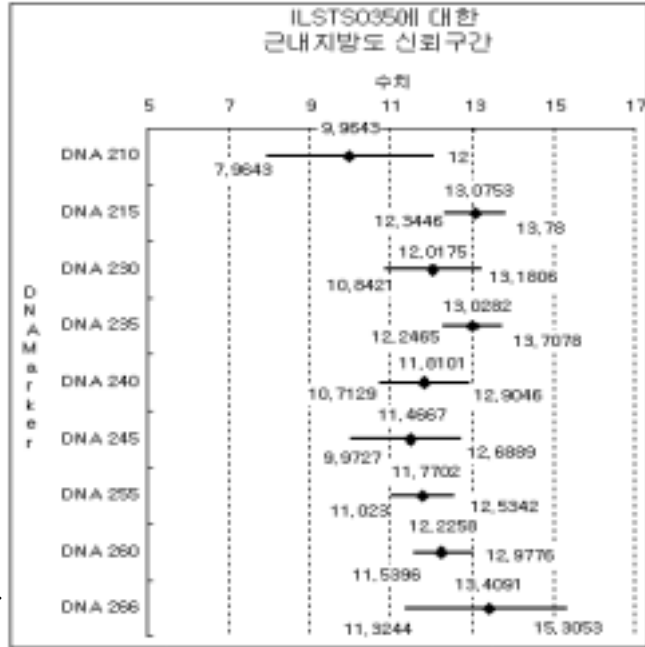
단계 3 : 단계 2의 B=1000번의 생성추정값들에 대한 평균(  $\widehat{\theta}_{(1)}, \widehat{\theta}_{(2)}, \dots, \widehat{\theta}_{(1000)}$  )의

$(1-\alpha) \times 100\%$  신뢰구간은  $(\widehat{\theta}_{lo}, \widehat{\theta}_{up}) = (\widehat{\theta}^{*(\alpha)}, \widehat{\theta}^{*(1-\alpha)})$ 로 구해진다.

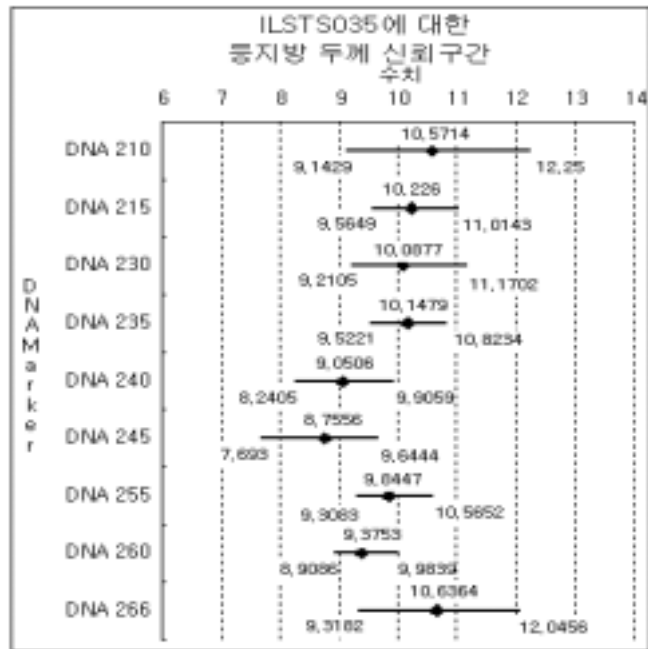
$$\text{단, } \alpha_1 = \Phi\left(\widehat{Z}_0 + \frac{\widehat{Z}_0 + Z^{(\alpha/2)}}{1 - \widehat{\alpha}(\widehat{Z}_0 + Z^{(\alpha/2)})}\right), \quad \alpha_2 = \Phi\left(\widehat{Z}_0 + \frac{\widehat{Z}_0 + Z^{(1-\alpha/2)}}{1 - \widehat{\alpha}(\widehat{Z}_0 + Z^{(1-\alpha/2)})}\right),$$

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

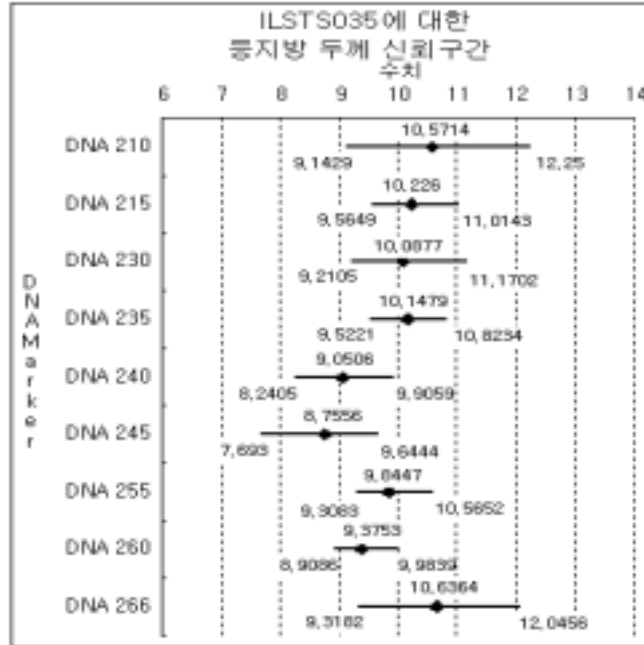
다음 <그림 1~4>은 경제형질별 DNA Marker들의 부스트랩 BCa방법을 통한 95% 신뢰구간이다



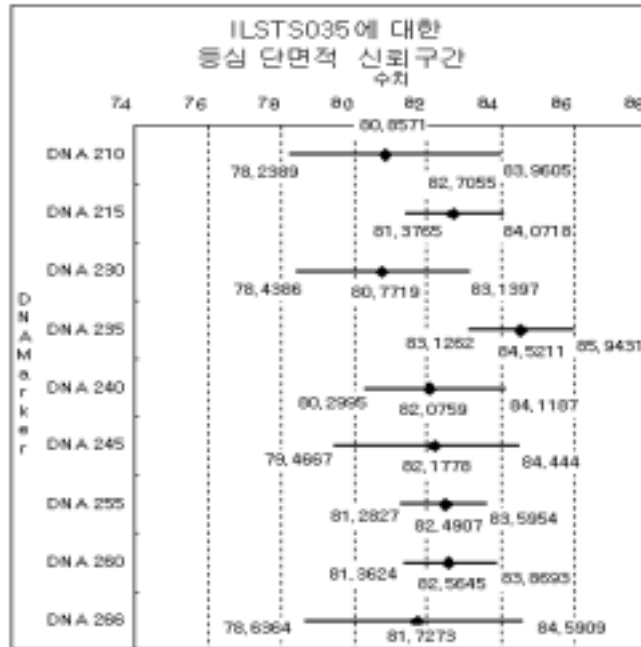
<그림 1> ILSTS035에 대한 근내지방도 bootstrap결과



<그림 2> ILSTS035에 대한 등지방 두께 bootstrap결과



<그림 3> ILSTS035에 대한 등지방 두께 bootstrap결과



<그림 4> ILSTS035에 대한 등심 단면적 bootstrap결과

<그림 1>에서 근내지방도에 대한 부스트랩 결과 DNA marker 215bp, 235bp, 266bp를 우수한 DNA Marker로 판단할 수 있다. 하지만 DNA marker 266bp는 높은 평균값에 비해 넓은 신뢰구간을 가진 것을 알 수 있다. <그림 2>에서 일당증체량에 대한 부스트랩 결과 특이한 우수 DNA Marker가 없다. <그림 3>에서 등지방 두께에 대한 부스트랩 결과 DNA marker 240bp, 245bp를 우수한 DNA Marker로 판단할 수 있다. <그림 4>에서 등심 단면적에 대한 부스트랩 결과 DNA marker 235bp를 우수한 DNA Marker로 판단할 수 있다. DNA Marker 215bp, 235bp는 근내지방도에, DNA Marker 240bp, 245bp는 등지방 두께에, DNA Marker 235bp는 등심 단면적에 우수 DNA Marker로 선별되었다. 전체적으로 볼 때 DNA Marker 235bp가 다른 DNA Marker보다 우수한 유전자로 판단 할 수 있다.

#### 4. 결론

출품우를 대상으로 한우 6번 염색체 ILSTS035 microsatellite locus의 우수 DNA marker들의 특성을 알아보았다. 그리고, 부스트랩(bootstrap) BCa 방법을 통해 신뢰구간을 계산하여 우수 DNA Marker들을 선별해 보았다. 근내지방도에 영향을 주는 DNA marker로는 DNA marker 215bp, 235bp가 선별되었고, 등지방 두께에 영향을 주는 DNA marker로는 DNA marker 240bp, 245bp가 선별되었고, 등심 단면적에 영향을 주는 DNA marker로는 DNA marker 235bp가 선별되었다. 전체적으로 DNA marker 235bp가 우수한 DNA marker로 판별되었다. 따라서, 후대검정우 6번 염색체 ILSTS035 microsatellite locus의 우수 DNA Marker로 선별된 DNA Marker 235bp가 환경적인 영향을 많이 받는 출품우에서도 우수 DNA Marker로 선별되어 DNA Marker 235bp는 환경적인 영향에 관계없이 유전적인 영향을 주고 있다는 것을 알 수 있다. 이후 우수 경제형질을 가진 한우를 생산하기 위해 염색체 6번 ILSTS035 microsatellite locus 중 DNA Marker 235bp의 유무에 의한 한우 선별이 필요하다.

#### 참고자료 및 문헌

1. 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
2. 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.
3. 이제영, 여정수, 김재우, 이용원, 김문정, 2003. 한우 6번 염색체의 Bootstrap기법을 이용한 우수 DNA 탐색 (submitted)
4. Peter M. Visscher, Robin Thompson and Chris S. Haley ,1996. Confidence Intervals in QTL Mapping by Bootstrapping. *Genetics* 143: 1013-1020.

Bootstrap Analysis of ILSTS035 Microsatellite Locus  
in Hanwoo Chromosome 6

81

5. Efron B., Tibshirani R. (1993) "An Introduction to bootstrap"  
CHAMPMAN & HALL

[ 2003년 10월 접수, 2003년 2월 채택 ]