

유전자 marker의 육종학적 활용

강정하

국립수산물과학원 어류육종연구센터

1. 서론

수산 증양식 기술의 발전은 연어, 송어, 넙치, 참돔, 보리새우 등 다수의 수산생물의 양적생산을 가능하게 했다. 양적생산기술에 의한 대량생산이 가능하게 됨에 따라 이제는 내병성, 고성장, 육질 등에 대한 질적인 개량 즉 경제형질에 대한 개량을 추구하고 있다. 소, 돼지, 닭 등에서는 육종이 성행하여 예로부터 다수의 품종이 개발되었으나, 비교적 최근에 대량생산이 가능하게 된 양식어에서의 품종개량에 대한 성공 예는 드물다. 그 이유는 수산생물의 경우 양식에 의한 대량생산이 가능하게 된 역사가 짧고 지금까지는 안정적인 양적생산의 확보에 전력을 다하였기 때문이다. 대량생산이 안정적으로 된 현재 소비자들은 양식어류를 안전하고 보다 맛있게 식탁에서 만날 수 있기를 바라면서 양식어의 질적인 개량을 요구하고 있다.

질적 개량은 육종(품종개량)에 의해 달성되고 육종은 “유전형질”의 이해에 의해 가능하다. 분자 수준에서의 genome 연구는 유전정보에 대한 많은 성과를 가져오고 있다. 그 중에서도 “QTL 해석”이라 불리는 방법은 표현형을 지배하는 혹은 표현형과 관계하는 미지의 유전자(위치)를 DNA marker를 사용하여 탐색할 수 있다는 점에서 획기적이라 할 수 있다. QTL 해석에서 최종적으로는 positional cloning에 의해 원인 유전자를 찾아내는

것이지만, 표현형과 연관하는 DNA marker를 발견하면 그 DNA marker를 육종에 활용하는 것이 가능하다.

이 방법은 종래의 표현형에만 의존했던 육종에서는 상상하지 못할 정도로 육종 효율이 높일 수 있으며, 현대 과학에서는 이를 MAS (marker assisted selection)라고 하는 새로운 육종법으로 부른다.

유전정보의 이용이란 측면에서 2가지 방법이 있다. 하나는 적극적으로 유전자 재조합을 이용하여 형질전환 생물체를 생산시킴으로서 유용물질을 인위적으로 생산하게 하는 hard path가 있고, 또 하나는 유전정보를 이용하면서 형질전환기술이 아닌 생물체의 유전능력을 최대한 활용하는 soft path가 있는데 유전자 marker에 의한 MAS 육종법은 여기에 해당된다. 즉 생물체의 유전자 정보를 친어 선발시 이용하여 유전자형에 의한 선발이 이루어질 수 있으므로 표현형에 대한 정보로 친어를 선발했던 기존의 선발육종의 효율을 향상시킬 수 있다. MAS는 육종방법에 있어서는 기존의 통계를 기본으로 하는 선발육종과 다르지 않고 다만 경제 형질에 관여하는 유전자 정보에 의해 보다 정확하게 유전적으로 우수한 개체를 선발할 수 있는 수단이 될 수 있다.

2. 유전자 marker 선발육종 배경

앞에서 서술한 바와 같이 양식어의 안정된 양

적 생산이 가능하게 되어 양식어가 대중화된 현재, 소비자들은 “안전하고 맛있는 물고기”를 원하고 있다. 또한 양식어 생산자도 이러한 소비자의 요구에 합당한 품종을 원하고 있다. 질병 및 온도 변화에 적응력이 강한 물고기는 어병 발생을 감소시킬 수 있어 약재 및 항생제 등을 사용하지 않는 양식을 가능하게 하기 때문에 안전한 식품으로서 소비자의 요구에 합당할 것이다. 또한 육질이 좋은 물고기는 소비자의 욕구를 충족시켜 줄 것이고 성장이 좋은 물고기는 생산 비용을 절감시켜 결과적으로 시장가격에 반영되기 때문에 소비자를 만족시킬 수 있다.

전통적인 육종에 이용한 도구는 물고기가 표현하여 육안으로 관찰하는 표현형 기록이었으며, 이러한 표현형 기록에 근거하여 통계적 기술에 의해 유전능력을 평가하였다. 그러나 이러한 표현형 기록에 근거한 유전 능력평가의 이론적 배경에는 특정형질에 관여하는 유전자는 수없이 많은 유전자가 관여하며, 관여하는 개개의 유전자는 동일한 효과를 가지고 있다는 이론에 근거한 것이다. 따라서 전통적인 육종의 유전능력평가는 실제 표현형에 작용하는 유전자 집단의 black box에 대한 정보를 알지 못한 채 표현형 정보에만 근거하여 유전능력을 평가하는 것이다. 최근에 급속도로 발전한 DNA 기술에 의하여 주요 경제형질에 작용하는 주요 유전자에 대한 정보를 밝혀내게 되었다. DNA 기술에 의한 여러 유전자 marker들이 실제 표현형에 관여하는 유전자일 수도 있지만 주로 그 marker와 연관되어 있는 QTL이 관여한다고 할 수 있다. QTL분석을 위한 유전자 지도가 작성되고 지도상의 QTL를 확인하기 위해 기준가계 집단에서 형질과의 연관성을 조사하게 된다.

이러한 방법으로 유전자 marker를 지표로 하여

원하는 유전형질을 선택함으로써 유전적 다양성을 유지하면서 목적으로 하는 유전자만을 고정할 수 있기 때문에 품종의 실용화를 기대할 수 있다. 전통적인 표현형 기록에 DNA marker의 정보를 추가하여 유전능력평가의 정확도를 높여서 유전적 개량의 효율성을 높이는 것이 바로 DNA marker를 이용한 선발육종(MAS)이다.

3. 유전자 marker 선발육종 개요

DNA marker를 분리하고 축적함과 동시에 연관 분석에 의한 가계해석을 통하여 유용 유전형질과 연관된 DNA marker를 탐색한다. 유용 유전형질과 연관된 DNA marker를 찾는다면 유전형질을 표현형이 아닌 유전자 marker를 이용한 유전자형으로 구별할 수 있기 때문에 그 개체는 그 형질을 갖고 있는지 판별할 수 있다.

3.1 DNA marker와 유전자 지도

유전형질이 genome상의 어디에 있는지를 알아내는 전략은 퍼즐을 연상하면 이해가 쉽다. 퍼즐의 한 조각은 DNA 단편에 해당하고 유전자 marker는 퍼즐의 한 조각의 특징을 보여주는 표지에 해당 된다(그림 1 참고). 퍼즐 조각에는 고정장을 결정하는 특징 혹은 내병성에 관한 특징 등 수산육종에서 유용 유전형질이 숨어있다. 그러나 유용 유전형질을 결정하는 단백질 혹은 유전자를 퍼즐의 조각처럼 나누지 않고 직접적으로 그 기능을 찾는 것은 거의 불가능하다. Genome을 퍼즐 조각과 같이 세분화하여 분석하여도 그 조각에는 각각의 특징이 있기 때문에 조각이 맞춰져 그림이 완성된다.

DNA marker를 사용한 유전자 지도를 작성하는

것은 퍼즐의 조각을 끼워 맞추는 것과 같은 이미지를 연상할 수 있다. 이렇게 하여 작성된 유전자 marker간 유전자 지도 즉 frame-work 지도(가상의 염색체 지도)는 유용형질과 연관되는 유전자 marker를 효율적으로 찾아 줄 수 있는 도구가 된다. 왜냐하면 하나의 염색체에는 복수의 유전자 marker가 표시되어 있기 때문에 만약 각각의 다른 염색체를 대표하는 유전자 marker를 사용하여 조사할 때 그 중에 어떤 한 개의 유전자 marker가 유용형질과 연관되어 있다면 집중적으로 그 marker와 같은 염색체상의 다른 marker를 조사함으로써 유용형질과 가장 강력하게 연관된 유전자 marker를 찾을 수 있다.

만약 유전자 지도가 없다면 사용할 수 있는 유전자 marker 전부를 사용하여 조사할 수밖에 없고 유용형질과 가장 연관된 marker를 얻기 위해서는 전 genome을 대상으로 해야 하기 때문에 엄청난 수

의 marker를 사용해야 하며 원하는 유전자를 찾아 낼 확률 또한 희박하다고 할 수 있다.

3.2 기준가계에서의 연관분석

유전자 marker가 genome의 어떤 영역에서의 male 부모에서의 유전자 (좌)와 female 부모에서의 유전자(좌)를 표시할 수 있다. 이는 만약 이 유전자 marker 자신 혹은 그 DNA marker 근처에 예를 들어 내병성을 결정하는 유전자(좌)가 있어 male 혹은 female 부모의 어느 한쪽의 염색체에 내병성의 유전자가 존재한다고 하면 그 내병성 물고기와 감수성 물고기를 교배시키면 그 자손에는 내병성 물고기 유래와 감수성 물고기 유래의 유전자의 조합에 의해 4 type의 유전자형으로 분류되는 자손이 생산되고 이들 중 내병성 친어 유래의 내병성 유전자(좌)를 갖는 개체만 내병성을

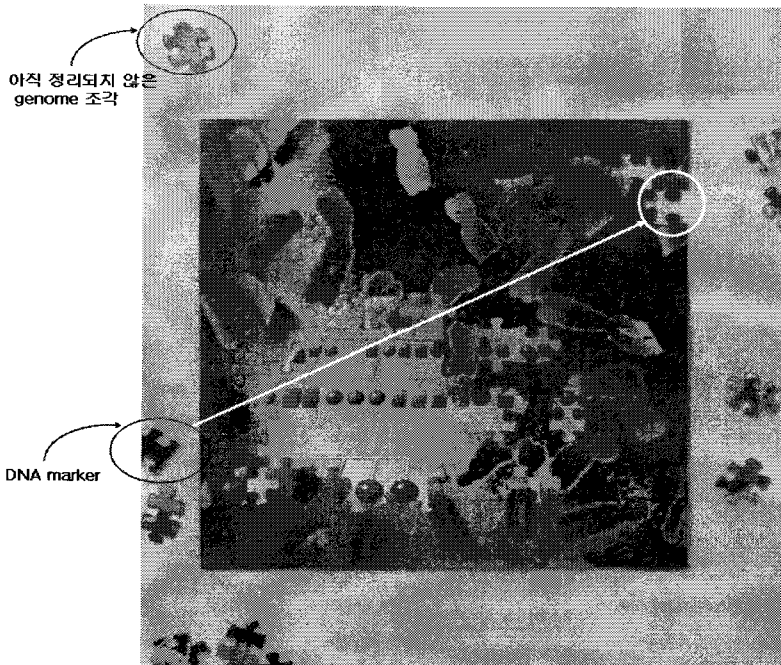


그림 1. 조각 맞추기 퍼즐을 연상하게 하는 유전자 지도 및 유전체 해석.

나타낸다(그림 2). 하나 하나의 DNA marker에는 고유의 전기영동 패턴을 가지고 있기 때문에 그 DNA marker의 전기영동 패턴(genotype)과 내병성의 유전성이 양친과 자손에서 일치하는 것을 기준가계에서 찾아내야 한다.

전기영동 패턴과 내병성과의 대응관계가 확인된다면 그 DNA marker는 내병성 형질과 연관되어 있다고 할 수 있다. 그러나 DNA marker와 특정형질과의 연관분석은 쉬운 일이 아니다. 실제에는 목적 형질과 DNA marker가 다른 염색체에 있는 경우도 많고 그 경우에는 전혀 연관되어 있지 않다. 연관되어 있다는 것은 최소한 같은 염색체에 목적형질과 유전자 marker가 있어야 하며 이 경우에는 양자의 거리가 떨어져 있을수록 감수분열시 cross-over에 의한 조환빈도(recombined rate)가 높게 된다. 이러한 결과를 이용하여 목적형질과 가까이 있는 DNA marker를 찾아 최종적으로는 강력하게 연관된 DNA marker를 찾아낸다. 이 과정에서 발생할 수 있는 오류를 최소화하고

효율적으로 목적 유전자(좌)를 찾기 위해서는 유전자 marker들의 관계를 나타내는 유전자 지도가 필요하다. 유전자 지도가 없으면 모래 백사장에서 바늘을 찾는 것과 같이 수많은 유전자 marker를 무작위로 기준가계에 대입해야 하므로 불가능하다.

3.3. 양적형질 유전자좌위(QTL) 확인

양적형질 유전자좌위의 효과와 위치를 추정하기 위한 실험집단은 집단내 유전자 marker와 양적형질 유전자좌위 사이의 연관 불균형(linkage disequilibrium) 상태를 최대화 할 수 있는 교배체계가 요구된다. 연관불균형은 양적형질 유전자좌위에 변이가 발생하여 유전적 차이가 있는 품종간 또는 계통간 교배를 통하여 효율적으로 얻을 수 있다. QTL 분석에 이용되는 집단의 교배 형태는 일반적으로 역교배(backcross)와 F1간 교배(inter-cross) 모형이 이용된다. 국립수산과학원에서는 넙치 유전자지도 작성을 위한 R&D 과제를 수행 중에 있으며 약 200여개의 microsatellite DNA marker에 대한 위치와 거리가 추정된 넙치 연관유전자 지도가 작성되어(그림 3) 분자육종의 기반을 확립했다. 그림 3에서의 유전자 지도상 어느 유전자에 어떤 경제적 형질에 영향을 미치는가 하는 것을 확인하는 단계가 QTL 분석이다. 이를 위해서는 기원이 다르고 생산성이 다른 두개의 계통간의 F1 자손생산과 역교배 또한 F2간의 교배에 의한 3세대(조부모, 부모, 자손) 생산과정이 필요하다. 이들 3세대 유전정보는 유전자형 분리를 단순화 함으로서 표현형 발현을 양극화시켜 형질과 유전자 marker의 연관분석을 용이하게 해 준다. 국립수산과학원 어류육종연구센터에서는 이미 확립된 친자검증 기법을 이용하여 성숙 수컷에서 정자를 얻어 이들의 어미와 교배하는 역교배 모형에 의

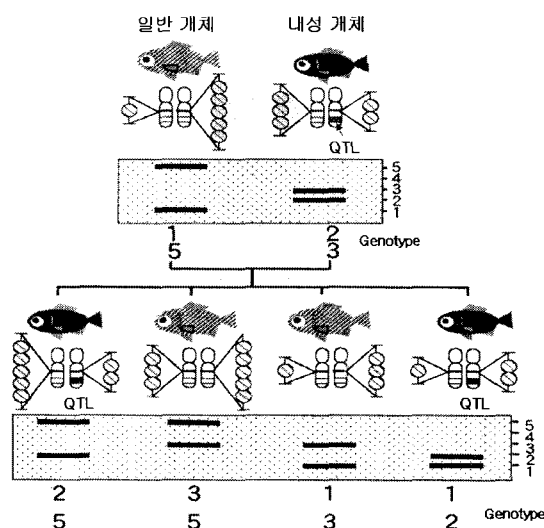


그림 2. 유전자 marker의 genotype과 QTL과의 연관성 모식도.

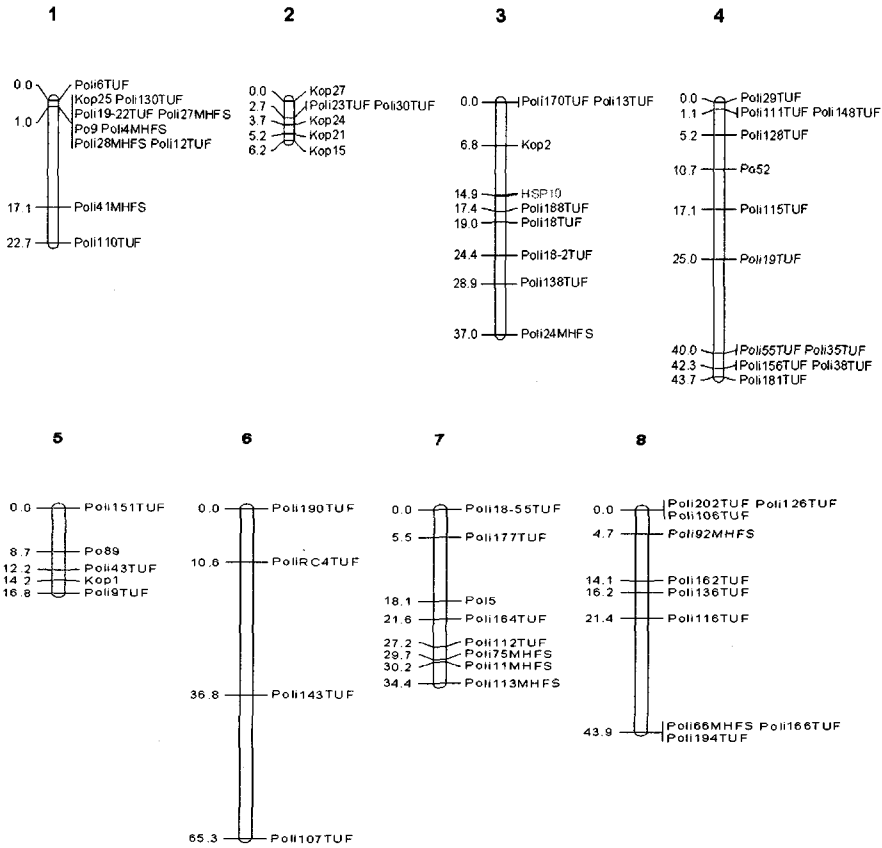


그림 3. 국립수산과학원 R&D 사업 : 넙치 연관유전자 지도의 일부.

한 BC₁ 및 BC₂ 세대를 효율적으로 생산하여 이를 분석 집단으로 사용하고 있다.

3.4 육종프로그램에서의 유전자 marker 이용

국립수산과학원에서는 우리나라 대표 양식종인 넙치를 전략품종으로 선정하여 양적통계육종학 개념을 바탕으로 하는 육종 프로그램을 단계적으로 수립함과 동시에 유전자 marker를 추적하고 다양한 분야에서의 DNA tool로서 활용하고 있으며 이들 유전자 marker를 이용한 유전자 지도를 완성하는 등 유용형질과 유전자 marker의 연관분석을 위한 준비를 하고 있다. 이는 육종관련 경제

형질 유전자 정보를 적극적으로 수용하여 육종 프로그램에 활용하는 분자유종 기틀을 마련하고자 하는 것이다. 유용 유전자 marker가 개발되면 이를 육종프로그램에 유전자 정보를 추가하여 정확한 유전능력을 평가할 수 있다. 유전자 마커를 육종에 이용하는 주요 이유는 육종 기간을 단축하고 효율적으로 선발하는데 있다. 마커를 육종에 이용하는 경우는 기본적으로는 육종을 위하여 수집된 어미집단의 유전적 다양성을 파악하는 것에서 부터 시작하여 유사 품종간 차이를 규명하는 시점까지 다양하게 이용될 수 있다. 국립수산과학원에서는 이제까지 단편적인 성과에 머물렀던 육종연구를 하나로 통합하여 조기에 산업화와 직결

될 수 있도록 부단한 노력을 하고 있으며 그 결과 얻어지는 성과는 최근 국가적 분쟁 및 보이지 않는 전쟁으로 일궈어지는 종묘산업에서의 우위를 점할 수 있는 국가적 전략분야로서 세계에서 경쟁할 수 있는 수산양식에 일조할 것이라 믿는다.

참 고 문 헌

1. 岡本信明 : 魚類의 染色體マッピング, 日水誌 62, 683-684 (1996).
2. Sakamoto T, Danzmann RG, Okamoto N, Ferguson MM, Ihssen PE (1999) Linkage analysis of QTL associated with spawning time in rainbow trout. *Aquaculture* 173, 33-43.
3. Ozaki A., Sakamoto T. and Okamoto N. (2002) The contribution of quantitative genetics to fish breeding. In "Aquatic Genomics" (ed. by N. Shimizu *et al.*), 399-409.