Journal of the Korean
Data & Information Science Society
2006, Vol. 17, No. 4, pp. 1041 ~1051

DNA Marker Traceability Techniques for Hanwoo Industry[1)]

Jea-Young Lee[2)]·Jung-Hwan Bae[3)]
Yoon-Seok Lee[4)]·Jung-Sou Yeo[5)]

Abstract

The effectiveness of genetic markers on Hanwoo traceability systems was applied and evaluated from Korean 33 Hanwoo elite sire families. Five microsatellite markers were selected finally, which were located on chromosomes different chromosomes with the end sequencing of 100 HW-YUBAC that were recorded in the NCBI by Yeungnam University. Eleven major microsatellite markers were selected from allele amplified, their frequencies, H(Heterozygosity) and PIC(Polymorphism information content) with Hardy-Weinberg equilibrium. Next, in order to evaluate the power of the markers selected on the individual animal identification with experimental condition, the match probability(MP) and the relatedness coefficient(R) were computed.

Keywords : Hetrozygosity, Match probability, Microsatellite, Multiplex PCR, Relatedness, Traceability

1. 서 론

축산시장의 개방화가 가속화되면서 수입 쇠고기 및 생육의 수입이 자유화됨에 따라 한우를 이들과 차별하기위한 품종 혹은 개체를 정확하게 식별할 수 있는 기법이 절실

1) 본 연구는 농촌진흥청 바이오그린21사업(과제번호: 20050301-034-426-006-01-00)의 지원에 의해 이루어진 것임.

2) Professor, Department of statistics, Yeungnam University, Kyungsan, Korea
3) Graduate, Department of Animal Resources and Biotechnology, Yeungnam University, Kyungsan, Korea
4) Graduate, Department of Animal Resources and Biotechnology, Yeungnam University, Kyungsan, Korea
5) Corresponding Author : Professor, Department of Animal Resources and Biotechnology, Yeungnam University, Kyungsan, Korea.
E-mail : jsyeo@yu.ac.kr

히 요구되고 있다. 따라서 둔갑육판매 방지와 쇠고기 안정성을 위해서 한우의 생산·도축·가공·유통과정의 각 단계별 정보를 기록·관리, 문제발생시 이동경로를 따라 추적 또는 소급하여 신속한 원인규명 및 조치를 가능하게 하는 생산이력체계를 산·학·연·관 협동으로 구축이 절실히 필요할 것이다(Lim, et al., 2005). 기존 개체의 동일성 검사에 사용된 방법으로 혈액형 및 생화학적인 지표의 다형성 분석방법을 사용하였다. 그러나 소에 있어서 혈액형검사는 정확한 부계혈통을 결정하지 못하는 단점이 있다(GLowatzki-Mullis, et al., 1995). 이로 인해 DNA다형성에 기초한 다양한 유전적 분석방법들이 개발되었으며 이를 이용하여 개체간의 동일성 검사가 이루어지고 있다(Peelman, et al. 1998). 분석방법들 중 DNA 마커(marker)의 사용은 개체의 동일성 검사에서 유용한 도구로 보여 지고 있다. 결과적으로 DNA 마커는 쇠고기 동일성 검사에 사용될 수 있다. 그러나 일반적으로 개체의 동일성 검사는 관리단계이외의 개체 수집과정에서 평가되지는 않고 집단구조와의 관계에서 평가되어진다.

이 논문의 목적은 한우를 중심으로 쇠고기 이력체계에서 개체식별에 유용한 DNA 마커중에 microsatellite 마커를 사용함에 있다. 마커의 정보인 이형접합체(Heterozygote; H)와 다양성 정보량 (Polymorphism Information content; PIC)을 알아내고, 그 DNA 마커의 정보를 이용하여 여러 가지 DNA 마커의 조합들의 검정력을 MP(Match Probability)와 R(Relatedness)계수를 통해 알아보고, 현실 데이터에서 선택된 조합에 적용한 결과분석을 고려하여 최종적으로 개체식별에 유용한 DNA 마커(최대 5개)의 조합을 찾는 것이다.

2. 실험 재료 및 방법

2.1 실험 재료

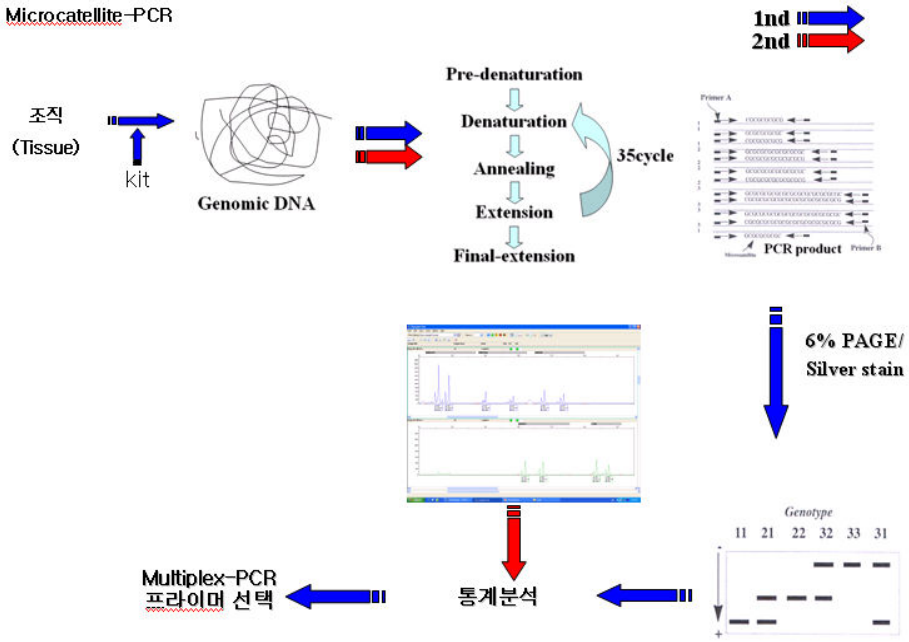
본 연구에 공시된 한우는 농협 중앙회 가축개량 사업소로부터 한우 집단의 혈연정보가 정확히 기재된 국가 후대검정우 26-29차 36가계 305두와 그 중 조부와 부가 서로 각각 다른 33두 개체를 이용하여 실시하였다. 마커인 microsatellite DNA primer의 염기서열에 대한 정보는 USDA-MARC에서 밝혀진 전체 염색체중 농림부과제를 통하여 이미 한우에서 밝혀진 염색체 2, 6, 17, 27번의 microsatellite DNAs (Yeo, et al, 2005)와 한우 BAC library에서 확인된 microsatellite DNAs를 기초로 하였으며, 이는 255쌍의 microsatellite DNA primer를 합성하여 실험에 사용하였다.

2.2 혈액 채취 및 genomic DNA 추출

0.5M EDTA가 처리된 주사기로 채취되어진 혈액을 0.2% NaCl 용액으로 용혈시킨 후, 2,000 rpm에서 10분간 원심분리로 백혈구층을 분리하고0.16M NaCl/1mM EDTA와 0.5% N-lauroylsarcosine용액, 그리고 Proteinase K(10㎎/㎖, Promega Co., U.S.A)를 처리하여 DNA를 용출시켰다. 용출된 DNA는 동일량의 dephenol용액과 dephenol : chloroform : isoamylalcohol (25:24:1)을 사용해서 단백질을 제거시킨 후, OD 측정값 1.5 ~ 1.8의 농도를 가지는 DNA를 추출하여 TE(10mM Tris-HCl pH 8.0, 1mM EDTA)에 녹여 사용하였다.

2.3 DNA 분석과정

DNA분석과정은 <그림 1>과 같이 이루어진다. 이는 샘플 조직(Tissue)으로부터 kit를 사용하여 Genomic DNA를 추출한 다음 각각의 DNA를 PCR(Polymerase Chain Reactiob)을 한 후 6% PAGE gel을 이용하여 genotyping을 한다. 이차적으로 이렇게 실험한 것을 통계분석 하여 H, PIC값을 추정하였고, H값을 이용하여 Multiplex-PCR 마커조합을 만든다. 이렇게 만든 조합을 이용하여 가장 안정적이고 실험에 최적의 조건을 가진 조합을 택하고, 선택된 Multiplex-PCR 마커조합을 이용하여 PCR과 함께 자동염기서열장치를 이용하여 분석하는 과정을 나타내었다. 그리고 PCR을 반응을 위한 mixture는 20ng/㎕ genomic DNA, 5 pmol forward primer와 5 pmol reverse primer, 0.2mM dNTPs, 1~1.5mM MgCl2, 10×PCR buffer, 1 unit Taq polymerase를 혼합하여 total volume 30㎕를 제조하였다. PCR 반응은 94℃에서 30초간 denaturation, 50~60℃에서 30초간 annealing, 72℃에서 1분간 extension 과정을 thermal cycler (Biometra, T-Gradient, Germany)에서 35회 반복 수행한 뒤, 72℃에서 10분간 1회 수행하였다. PCR product는 1% agarose gel에서 전기영동을 하여 반응의 유무를 확인하고, 6% denaturing polyacrylamide gel(40% acrylamide solution, urea, 5X TBE buffer)을 사용 SQ3 sequencer (Hoefer Pharmacia Biotech Inc.,USA)에서 전기영동을 하였다. ABI PRISM 3130XL Genetic analyzer(Applied Biosystems, Foster City, CA)를 이용하여 분석하였고, ABI PRISM GeneMapper v4.0 software(Applied Biosystems, Foster City, CA)를 이용하여 결과를 도출하였다(Yoon et al, 2005).

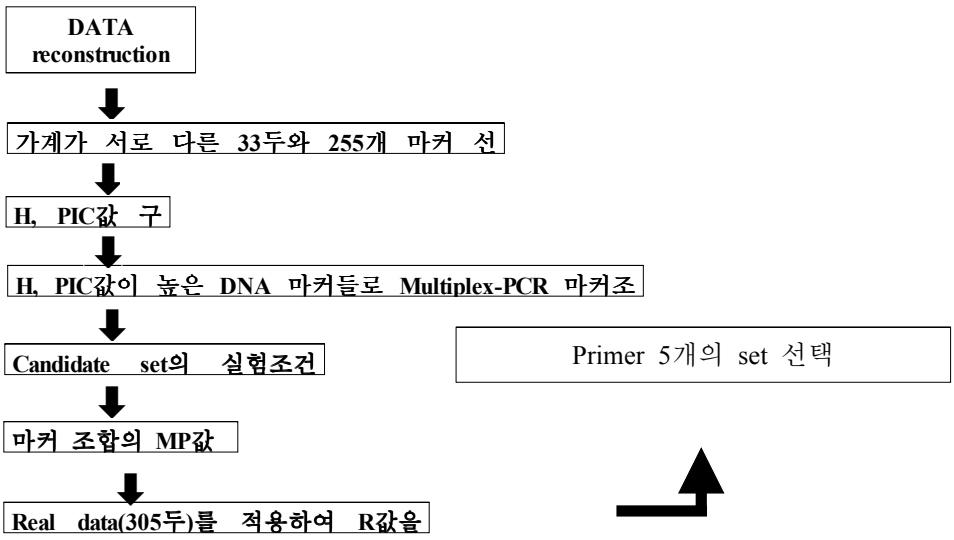


<그림 1> Multiplex-PCR 분석과정

2.4 통계적 분석 과정

본 연구에 대한 통계적 분석과정은 다음 <그림 2>의 과정으로 이루어진다.

간략히 묘사하자면, 각 마커의 이형접합체(Heterozygote; H)와 다양성 정보량(Polymorphism Information content; PIC)을 알아낸다. 각각의 마커 조합을 통하여 multiplex-PCR 마커 조합을 제작 후, 조합의 제작은 multiplex-PCR 실험조건에 충족하는 실험을 통하여 실험에 가능한 조합의 MP(Match Probability)와 R(Relatedness) 계수을 이용하여 최적의 multiplex-PCR 마커조합을 선정하는 것이다.



<그림 2> DNA 마커 자료의 통계 분석 과정

3. 하디-와인버그 평형(Hardy-Weinberg Equilibrium) 검정

하디-와인버그 평형(Hardy-Weinberg Equilibrium)이란 외적인 요인이 작용하지 않는다면, 유전자와 유전자형 빈도 모두가 변하지 않고 평형을 이루게 된다는 것으로 이것을 만족하는 집단은 대립유전형질의 독립성이 성립하게 된다. 따라서 유전자 내에서의 독립성 검정은 χ^2통계량을 이용한 적합도 검정으로 각 유전자형 범주에 대한 실제 관측빈도와 기대빈도를 이용 하여 다음과 같은 식으로 구할 수 있다.

$$\chi^2 = \sum \frac{(\text{관측빈도} - \text{기대빈도})^2}{\text{기대빈도}}$$

이 실험에 사용된 자료는 국가 후대 검정우 26-29차 36가계 305두중 부와 조부가 다른 33두와 chromosomes에서 얻어진 255개의 DNA 마커를 사용하였다. 그 결과는 표 1에서 채택된 DNA 마커는 2, 6, 17, 27번과 미규명 염색체에서 나온 H, PIC값이

높은 마커를 선택한 것이다. 이 마커(BMS1866, TGLA44, BMS2519, ILSTS035, BMS1242, HUJ223, BMS941, BMS1675, BM3507 HW-YU2-CA-95, HW-YU2-CA03)들은 하디-와인버그 평형검정을 만족하는 것으로 이들 마커를 실험 분석에 이용하였다.

<표 1> DNA 마커의 하디-와인버그 평형 검정

DNA 마커	χ^2	유의확률 값
BMS1866	15.632	0.057
TGLA44	29.157	0.110
BMS2519	19.032	0.583
ILSTS035	15.511	0.796
BMS1242	9.622	0.842
HUJ223	29.180	0.109
BMS941	34.768	0.527
BMS1675	25.380	0.607
BM3507	23.706	0.070
HW-YU2-CA-95	16.609	0.083
HW-YU2-CA-03	16.164	0.371

4. DNA 마커의 정보력의 측도

DNA 마커의 정보력이란 개체식별의 측면에서 보았을 때 다양성의 측도라고 할 수 있다. 다양한 종류의 대립유전자들을 가지고 있는 DNA 마커가 개체식별에 유용하다고 할 수 있다. 이 정보력의 측도로 이형접합체(H)와 다양성 정보량(PIC)을 사용한다. H, PIC값은 DNA 마커가 얼마나 많은 대립유전자가 균일하게 퍼져있는가를 나타내는 척도라고 할 수 있고, 1에 가까울수록 개체식별에 유용한 DNA 마커라고 할 수 있다 (Arana et al, 2002; Ott, 1999).

4.1 이형접합체(Heterozygosity ; H) 측도

Locus의 이형접합체는 모집단의 데이터 셋에 있는 이형접합 개체의 비율을 나타내며, 다음과 같이 정의된다.

$$H = (1 - \sum_{i=1}^{n} p_i^2) \quad (1)$$

단, n = locus의 allele의 수

p_i = locus i번째 allele의 추정된 도수 비율

단, 유전자 locus 안에서 대립유전자들 간에 하디-와인버그 평형을 유지해야한다. 이형접합체(H)값은 모집단에서 alleles이 동일한 도수 비율을 유지할 때 최대값을 가진다.

4.2 다양성 정보량(Polymorphism Information Content ; PIC) 측도

PIC(Polymorphism Information Content)는 부모로부터 자손에 전달되는 대립유전자를 구별해 낼 수 있는 확률을 주어진 부, 모, 자손의 유전자형을 가지고 측정하게 되며 다음과 같이 정의한다.

$$PIC = (1 - \sum_{i=1}^{n} p_i^2 - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^{n} 2 p_i^2 p_j^2) \qquad \text{(Weiss, 1993)} \qquad (2)$$

where n = locus의 allele의 수

p_i = locus i번째 allele의 추정된 도수 비율

이때, allele의 수가 크면, 다양성 정보량(PIC)값도 이형접합체(H)값과 점점 비슷해진다.

하디-와인 버그 평형 검정을 만족하는 10개의 DNA 마커들 중에서 DNA 마커의 정보력 H값과 PIC값을 구해 각 염색체별 H값이 높은 마커 순으로 정렬하였다. 그 결과는 다음 <표 2>와 같다.

<표 2> DNA 마커 대립유전자의 도수확률과 H, PIC 값

DNA 마커		Alleles amplified										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	H	PIC
BMS1866	μ	0.185	0.148	0.111	0.185	0.222	0.130	0.019			0.8308	0.8080
	σ	0.053	0.048	0.043	0.053	0.057	0.046	0.018				
TGLA44	μ	0.097	0.129	0.210	0.210	0.161	0.177	0.016			0.8282	0.8047
	σ	0.037	0.042	0.052	0.052	0.047	0.048	0.016				
BMS2519	μ	0.226	0.016	0.081	0.177	0.242	0.161	0.081	0.016		0.8195	0.7947
	σ	0.053	0.016	0.034	0.048	0.054	0.047	0.034	0.016			
ILSTS035	μ	0.059	0.324	0.147	0.088	0.088	0.206	0.088			0.8043	0.7824
	σ	0.0410	0.081	0.0616	0.049	0.049	0.070	0.049				
BMS1242	μ	0.206	0.029	0.206	0.235	0.118	0.206				0.8027	0.7856
	σ	0.0704	0.029	0.070	0.073	0.056	0.070					
HUJ223	μ	0.076	0.106	0.258	0.015	0.106	0.227	0.076	0.121	0.015	0.8328	0.8125
	σ	0.0339	0.039	0.0560	0.015	0.039	0.053	0.033	0.041	0.015		
BMS941	μ	0.016	0.032	0.177	0.29	0.113	0.065	0.161	0.081	0.065	0.8296	0.8095
	σ	0.016	0.022	0.048	0.058	0.040	0.031	0.047	0.034	0.031		
BMS1675	μ	0.061	0.039	0.212	0.121	0.076	0.076	0.015	0.045		0.7677	0.7401
	σ	0.029	0.061	0.051	0.041	0.032	0.032	0.015	0.025			
BM3507	μ	0.081	0.097	0.339	0.048	0.242	0.194				0.7706	0.7506
	σ	0.034	0.037	0.060	0.027	0.054	0.050					
HW-YU2-CA-95	μ	0.207	0.138	0.069	0.293	0.293					0.7615	0.7480
	σ	0.053	0.045	0.033	0.060	0.060						
HW-YU2-CA-03	μ	0.183	0.183	0.017	0.333	0.233	0.050				0.7651	0.7285
	σ	0.050	0.050	0.016	0.061	0.055	0.028					

이는 HUJ223는 H값이 0.8328, PIC값이 0.8125으로 H값이 높고 다양한 종류의 대립유전자를 가지고 있으므로 개체식별에 가장 유용하다고 할 수 있다.

4.3 Multiplex-PCR 실험조건

Multiplex-PCR은 각각의 마커를 이용한 PCR을 동시에 여러개의 마커를 이용하여 한번의 PCR수행으로 동시에 확인하는 것이다. 이 마커 조합을 구성하는 위해서 몇 가지의 특징이 잇다. 첫 번째는 각 마커마다의 고유한 크기가 존재한다. 이러한 이유로 여러개의 마커들 간의 고유한 영역을 침범하지 않는 범위 내 에서 마커 조합을 구성하여야 한다. 두 번째는 증폭온도가 서로 동일하여야 한다. 이는 한번의 PCR을 통하여 실험을 수행하기에 증폭온도가 서로 동일하여야만 한다. 세 번째는 마커들 간의 size나 증폭온도가 비슷하더라도 여러 개의 마커를 증폭시키게 되면 간섭현상(dimer)이 일어날 수 있다. 이는 마커들 간에 서로 고유한 peak가 생성되지 못하고 방해한다. 이를 방지하기 위해서는 마커의 primer를 고려하여 primer design을 하여야 한다. 네 번째는 연관불균형(Linkage disequilibrium)을 이용하는 것으로 서로 다른 염색체에 존재하는 마커를 이용하는 것이다. 이는 같은 염색체 상에 존재하는 마커를 이용하게 되는 것은 후대에 같이 전달되는 것으로 이는 적절하지 못하다. 마지막으로 H, PIC값이 0.7이상 되는 마커와 대립유전자가 6개 이상되는 마커를 선정하였다.

본 실험에서 사용한 염색체는 Bovine이 가지고 있는 총 30쌍의 염색체중 4쌍의 염색체를 이용하였다. 이는 농림부과제를 통하여 한우에서 이미 밝혀진 4쌍의 염색체를 이용하였다(Yeo, et al. 2005). 그리고 농림기술센터에서 주관하는 과제에 의한 한우 BAC library에서 확인된 염색체가 미규명인 microsatellite DNAs를 이용하였다.

5. 실험조건을 고려한 DNA 마커의 검정력 평가

위 4.3절과 같은 실험조건을 고려하여 표 2를 이용하여 48개의 multiplex-PCR 마커 조합을 제작하여 실험을 진행하였다. Multiplex-PCR을 수행하기 위하여 Size와 Tm 값, 그리고 경제적인 상황을 고려하여 마커 조합을 생성하였다. 특히 ABI PRISM 3130XL Genetic analyzer(Applied Biosystems, Foster City, CA)를 사용하기 위해서는 Fluorescent-dye를 마커의 첫염기서열에 붙여서 사용한다. 가장 보편적인 Fluorescent-dye는 'FAM-'과 'HEX-'이다. 이는 비용적인 부분과 특허에 상관없는 형광물질로서 실험을 수행함에 있어 확실한 방법으로 많이 사용된다.

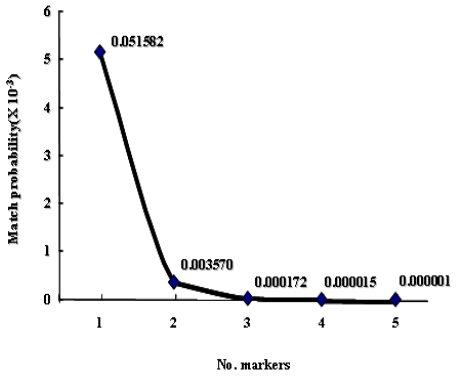
5.1 MP(Match probability)

MP(Match Probability)는 독립인 두 동물 사이에 동일한 대립유전자를 가질 확률값으로, 유전자형의 도수들은 독립성이 보장되어야 함을 전제조건으로 하며, 다음과 같이 정의 된다(Weir, 1996).

$$MP = \prod_{k=1}^{m} \left(\sum_{i=1}^{n_k} (p_{k_i}^2)^2 + \sum_{i=1}^{n_k} \sum_{j=i+1}^{n_k} (2 p_{k_i} p_{k_j})^2 \right) \quad (3)$$

where m = loci의 수
n_k = locus k의 allele의 수
p_{k_i} = locus k의 i allele의 추정된 도수 비율
p_{k_j} = locus k의 j allele의 추정된 도수 비율

국가 후대 검정우 26-29차 36가계 305두 중 조부가 다른 33두를 사용하여, 개체 식별에 유용한 DNA 마커 11개를 표 2에서 선택하였다. 이 마커들을 사용하여 5개를 한 조합으로 하는 48개의 후보 조합을 가지고 실험을 수행하였다. 이중 Size를 충족하고 간섭효과가 일어나지 않는 조합에 대하여 마커 검정력을 평가하였다. MP값을 구해본 결과는 <그림 3>과 같다.



마커	DNA 마커 조합	MP
1	BMS1866	0.051582
2	BMS1866 BMS1242	0.003570
3	BMS1866 BMS1242 HUJ223	0.000172
4	BMS1866 BMS1242 HUJ223 BM3507	0.000015
5	BMS1866 BMS1242 HUJ223 BM3507 HW-YU2-CA03	0.000001

<그림 3> 독립인 두 동물 사이에 동일한 allele을 가질 확률 값(MP) (확률 값 X10-2)과 마커조합

한 개의 DNA 마커(BMS1866)를 사용하였을 때 독립인 두 동물 사이에 동일한 alleles을 가질 확률(MP)은 100분의 5로 나타났고, 두 개의 DNA 마커(BMS1866, BMS1242)를 사용하였을 때는 1000분의 3, 다섯 개의 DNA 마커(BMS1866, BMS1242, HUJ223, BM3507, HW-YU2-CA03)를 사용하였을 때는 백만 분의 1로 나타났다.

5.2 R(Relatedness) 계수

R 계수는 관련 동물들 사이의 닮음의 정도를 측정하는 도구로 사용되어 왔으며, MP가 독립성이 유지된 모집단에서 적용 될 수 있는 이론적인 값인 반면 R계수는 개별 혹은 지연적인 동물들 사이에 관련된 경험적인 확률(empirical probability)을 나타낸다. (Queller and Goodnigth, 1989)

$$R(i,j) = \frac{v(i,j)}{w(i)}$$

$$v(i,j) = \sum_{k=1}^{2} \sum_{p=1}^{2} \sum_{l=1}^{r} \sum_{m=1}^{s_r} \begin{cases} 0 & \text{if } x_k \neq y_p \neq m \\ [\,1 - f(m,l)\,] & \text{if } x_k = y_p = m \end{cases}$$

$$W(i) = \sum_{k=1}^{2} \sum_{l=1}^{r} \sum_{m=1}^{s_r} \begin{cases} 0 & \text{if } x_k \neq m \\ [1 - f(m,l)] & \text{if } x_k = m \end{cases} \quad (4)$$

r = 마커의 수
s_r = 마커 r 의 alleles의 수
m = 마커 r의 각각의 alleles
x_k = i 번째 동물에서 나타나는 allele, k번째 위치, l 번째 locus
y_p = j 번째 동물에서 나타나는 allele , p 번째 위치, l 번째 locus
$f(m,l)$ = l 번째 locus에 마커 m의 allele 도수 비율

위의 R 계수는 독립성조건을 만족에 관련 없는 경험적 확률의 의미를 나타내므로 MP보다 더욱 현실적인 자료에 근접한 확률 값으로 볼 수 있다.

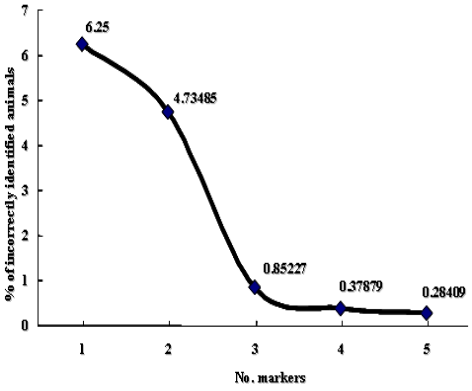
5.3 동물 오분류 확률(Percentage of animal incorrectly identified)

R의 값이 0.85보다 크게 나타나면 더 많은 마커의 사용이 고려되어야 한다 (Cunningham et al.1999). 이에 동물 오분류 확률은 다음과 같은 공식으로 나타난다.

$$\text{동물 오분류 확률} = \sum \frac{I_{A(R)}}{\text{전체 비교의 수}} \quad (5)$$

$$I_A = \begin{cases} 1 & R \in A \\ 0 & R \notin A \end{cases} \qquad A = \{R \mid R > 0.85\}$$

MP는 모집단이 표 2 와 같은 alleles의 프로필과 frequency를 가지고 있고 임의로 두 개체의 alleles를 발생시켰을 때의 확률이므로 현실 데이터와는 차이가 나는 이론적인 값이라고 할 수 있다. 따라서 국가 후대 검정우 305두에 선택된 조합을 R 값에 적용하여 동물 오분류 확률을 구해 DNA 마커 검정력 평가를 해보았다. 그 결과는 다음 <그림 4>와 같다.



사용된 마커	DNA 마커조합	동물 오분류 확률(%)
1	BMS1866	6.25
2	BMS1866 BMS1242	4.73485
3	BMS1866 BMS1242 HUJ223	0.85227
4	BMS1866 BMS1242 HUJ223 BM3507	0.37879
5	BMS1866 BMS1242 HUJ223 BM3507 HW-YU2-CA03	0.28409

<그림 4> DNA 마커조합에 의한 R 계수의 오분류 확률 값 (확률 값 X10-2)과 마커조합

한 개의 DNA 마커(BMS1866)를 사용하였을 때 개체를 불확실하게 식별할 퍼센테이지는 약 6.25%, 두개의 DNA 마커(BMS1866, BMS1242)를 사용하였을 때 개체를 불확실하게 식별할 퍼센테이지는 4.73%, 다섯 개의 DNA 마커(BMS1866, BMS1242, HUJ223, BM3507, HW-YU2-CA03)를 사용하였을 때 개체를 불확실하게 식별할 퍼센테이지는 0.28% (즉, 1000 마리중 2.8마리)로 나타났다.

앞서 제시한 multiplex-PCR 실험조건에 적합하고 MP값과 R값을 통하여 다음과 같은 마커의 조합을 선정하였다. 이 마커 조합은 BMS1866, BMS1242, HUJ223, BM3507, HW-YU2-CA03으로 5개의 마커를 이용한 것으로 선정하였다. 이 조합은 비록 실증적인 data가 1,000마리중 2.8마리의 동일한 확률를 가진 것으로 상대적으로 낮은 수치를 보인다고 사료된다.

6. 결 론

국가 후대 검정우 26-29차 36가계 305두를 대상으로 255개의 DNA 마커를 사용하여 개체식별에 유용한 DNA 마커를 찾았고, H, PIC값을 이용하여 실험에 용이한 조합으로 마커 조합을 구성하엿다. 최적의 실험조건에 의해 찾은 마커 조합(BMS1866, BMS1242, HUJ223, BM3507, HW-YU2-CA03)을 사용하여 MP(Match Probability)는 독립인 두 동물 사이에 동일한 대립유전자를 가질 확률 값으로, 유전자형의 도수들은 독립성이 보장되어야 함을 전제조건으로 수치는 백만분의 1의 확률을 산출하였다. 하지만 R 계수는 관련 동물들 사이의 닮음의 정도를 측정하는 도구로 사용되어 왔으며, MP가 독립성이 유지된 모집단에서 적용 될 수 있는 이론적인 값인 반면 R계수는 개별 혹은 지연적인 동물들 사이에 관련된 경험적인 확률(empirical probability)을 나타낸다. 이 수치는 1000마리중 2.8마리라는 수치를 산출하였다. MP값보다 R값이 보다 더 높은 확률을 가지지만 본 연구는 현실 적용을 목적으로 하고 있기에 R값을 더 중시하였다. 비록 본연구의 결과를 보아 이 5개의 마커로 당장 현실 개체식별에 적용하기에는 다소 불충분하다고 볼 수 있다. 하지만 본 연구와 같은 방법을 통해 좀더 많은 수의 마커를 이용한 마커조합을 이용하여 multiplex-PCR를 하게 된다면 개체식별 확인에 좀더 강력한 도구가 될수 있을 것이다.

참고문헌

1. Arana, A., Soret, B., Lasa, I and Alfonso L. (2002) Meat traceability using DNA markers : application to the beef industry. *Meat Science*. 61, 367-373.
2. Cunningham, E., Meghen, C., Scott, C., Bradley, D., MacHugh, D., Loftus, R. (1999) DNA Traceability techniques for the meat industry. In F. Toldra and Troy D.(Eds.) *New developments in guaranteeing the optimal sensory quality of meat.* 1-7 Valencia(Spain).
3. GLowatzki-Mullis, M., Gaillard, C., Wigger, G. and Fries, R. (1995)

Microsatellite-based parentage control in cattle. *Anim. Genorne.* 26, 7-12.
4. Lim, H., Min, H., Moon W., Lee, J., Kim, J. Cho, I., Lee, H., Lee, Y., Lee, J., and Jeon, J. (2005) Analysis and selection of microsatellites markers for individual traceability system in Hanwoo. *J. Anim. Sci & Technol.* 47-4, 491-500.
5. Yoon, D., Kong, H., Oh, J., Lee, J., Cho, B., Kim, J., Jeon, K., Jo, C., Jeon, G. and Lee, H. (2005) Establishment of an individual identification system based on microsatellite polymorphisms in korean cattle(Hanwoo). *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 18-6, 762-766.
6. Ott. Jurg. (1999) *Analysis of human genetic linkage, 3rd ed.* The Johns Hopkins university press.
7. Peelman, L., Mortiaux, F., Zeveren, A., Dansercoer, A., Mommens, G., Coopmam, F., Bouquet, Y., Burny, A., Renaville, R and portetelle, D. (1998) Evaluation of the genetic variability of 23 bovine microsatellite markers in Four Belgian cattle breeds. *Anim. Genet.* 29, 161-167.
8. Queller, D. C., & Goodnigth, K. F. (1989) Estimating relatedness using genetic markers. *Evolution.* 43-2, 258-275
9. Weir, B. (1996) *Genetic data analysis II. Methods for discrete population genetic data. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, Inc.* Publishers.
10. Weiss, K. (1993) *Genetic variation and human disease. principles and evolutionary approaches.* Cambridge, Great Britain: Cambridge University Press.
11. Yeo, J. S., K. G. Cho, I. G. Kim, N. H. Park, Y. S. Lee., (2005) *Identification and analysis of functional quantitative trait loci and single nucleotide polymorphisms affecting economic traits in Hanwoo.* Ministry of Agriculture and Forestry. 1-289

[2006년 7월 접수, 2006년 9월 채택]