

초위성체 DNA를 이용한 제주마 집단의 품종특성 및 개체식별 체계설정

조병욱^{1,2*} · 정지혜¹ · 김상욱¹ · 김희수³ · 이학교⁴ · 조길재⁵ · 송기덕⁶

¹부산대학교 생명자원과학대학 생명자원과학부, ²부산대학교 말과학연구소, ³부산대학교 자연과학대학 생명과학부, ⁴한경대학교 유전정보연구소, ⁵경북대학교 수의과대학, ⁶미국립보건원

Received October 10, 2007 / Accepted October 18, 2007

Establishment of Genetic Characteristics and Individual Identification System Using Microsatellite Loci in Jeju Native Horse. Byung Wook Cho^{1,2*}, Ji Hye Jung¹, Sang Wook Kim¹, Heui Soo Kim³, Hak Kyo Lee⁴, Gil Jae Cho⁵ and Ki Duk Song⁶. ¹College of Natural Resources & Life Science, Pusan National University, Miryang 627-706, Korea, ²Horse Science Research Center, Pusan National University, Miryang 627-706, Korea, ³College of Natural Science, Pusan National University, Busan 609-735, Korea, ⁴Genomic Information Center, Hankyong University, ⁵College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, 702-701, Korea, ⁶NICHD/National Institutes of Health, 9000 Rockvill Pike, Bethesda, MD 20892, USA - This study was conducted to establish the individual identification system and to estimate the genetic characteristic of Jeju native horse (JNH) using 13 microsatellite markers located on different horse autosomes. The markers were genotyped on 191 animals from five horse breeds including Jeju native horse (JNH). In total, 138 alleles were detected from the genotypes of 13 microsatellite markers. The average heterozygosities ranged from 0.317 to 0.902 and the polymorphic information content (PIC) ranged from 0.498 to 0.799 in JNH. We found that there were significant differences in allele frequencies in JNH when compared with other horse breeds. In ATH4 marker, there were specific allele frequency pattern that some of allele only found in JNH, Mongolian horse (MONG) and Jeju racing horse (JRH). The calculated cumulative power of discrimination (CPD) was 99.9% when nine microsatellite loci were used for analysis in the individual identification system. Also, the matching probability that two unrelated animals would show the same genotypes, was estimated to be 0.60×10^{-10} . Therefore, in the nine markers used in this study can be used for individual identification in the Jeju native horse population.

Key words – Individual identification, genetic characteristic, polymorphic information content, Jeju native horse

서 론

가축을 개량하기 위한 수단으로 오래전부터 가축의 개체 단위 능력 감정 및 혈통 확인에 필요한 여러 형태의 개체 식별 체계가 도입되어 왔다. 특히 개체가 확인된 상태에서 이들의 능력을 평가하여 선발된 개체로부터 후대 생산에 필요한 종축의 선발을 위해서는 정확한 개체 확인이 필수 불가결한 전제가 되어 왔으며, 철저한 혈통관리를 요하는 말의 경우에는 개별 표식에 필요한 문신을 몸체에 각인하거나 귀표에 일정한 고유의 숫자를 기입하여 식별하는 제도가 발전하여 최근에는 전자 칩을 통해 개체가 가질 수 있는 고유의 정보를 가능한 한 오류 없이 연계할 수 있는 수단에 이르기까지 다양한 시스템의 접근이 시도되고 있다[12]. 이 과정에서 귀표의 탈락이나 의도적인 위·변조 가능성으로 인해 개체 진위 여부를 검증할 수 있는 수단으로 혈액형 분석 기법이 개체 이표 식별 체계와 병행하여 오랫동안 활용되어 왔으나

분석 상 번거로움 및 개체 식별력의 저하 등으로 인해 최근에는 DNA 수준에서 유전자 감식방법이 인간의 법의학적 검증 기법으로 공식 활용되면서 가축의 개체 식별 및 친자 확인을 위한 검증 수단으로 광범위한 활용이 추진되고 있다[4]. 일반적으로 말의 경우 일란성 쌍태를 제외하면 말의 개체마다 모두 고유한 유전자형을 갖게 되는데 이러한 유전적 다양성은 오랜 시간 축적된 돌연변이(mutation)로 인해 발생된 결과이다[4]. 이러한 개체마다 유전적 다양성에 근거하여 동물 개체가 가지고 있는 초위성체 DNA(microsatellite)의 유전자다형 형태를 분석하는 일련의 유전자 감식 방법이 개체 식별 및 유전적 특성을 확인하기 위한 강력한 수단으로 제공되고 있다[1,5,6]. 개체 식별 검사의 경우 서로 다른 두 개체에서 검사한 유전자형이 우연히 같은 유전자형을 나타낼 가능성이 최소화되는 검사 체계를 확립해야 한다. 이와 같은 개체 식별 검사(individual identification test)에서 식별력은 일련의 출현 유전자형 빈도를 통해 계산된 개체 식별력(power of discrimination : PD)을 산출하여 평가하게 된다.

현재 가장 보편적인 분석방법으로는 초위성체 DNA(MS : microsatellite genotype)의 개체별 유전자형을 활용한 유전

*Corresponding author

Tel : +82-55-350-5515, Fax : +82-55-350-5519

E-mail : bwcho@pusan.ac.kr

자 감식 기법이 채택되고 있다[11]. 그러나 이 방법 역시 고가의 정교한 자동화된 분석 장비로부터 생산된 아날로그형 정보와 다시 이들 정보를 디지털 정보로 전환하여 최종 DNA profile을 형성하는 과정에서 해석상의 오류를 발생시키는 여러 요인이 잠재하고 있어 체계화되고 공인된 여러 실험실간의 교차 검증 시스템의 운용이 매우 중요하며 이해 당사자 간의 시시비비를 가릴 정도의 검정력 및 신뢰성을 얻기 위해서는 제주마 집단의 유전적 특성 및 개체식별을 가장 잘 표현할 수 있는 최적의 유전자 표지(MS)를 검증하고 이들을 다수 확보하여 이를 분석할 필요가 있다. 따라서 본 연구는 제주마 집단과 외래 품종 간 유전적 차별성을 분석하고 이에 근거한 제주마 집단에서 개체의 식별에 가장 적절한 유전자 표지(MS)를 설정하고 혈통 확인을 위한 동일성 검증 및 친자 감별을 위해 분석되는 유전자 표지에 따른 오류 확률을 통계적으로 해석 하여 보다 효율적인 개체 식별 체계 검증을 통한 유전자 감식 시스템을 이용한 제주마 경마 시스템의 적용 모델을 제시하고자 실시하였다.

재료 및 방법

공시재료 및 표지유전자

공시재료는 후보 유전자 표지(MS)의 말 품종별 발현 특성의 분석을 위해 제주도 축산진흥원에 보유중인 제주마 41두, 현재 국내 경주마로 사용 중인 품종으로 한국마사회 유전자 검사실로 의뢰된 더러브렛 44두, 더러브렛종과 제주마 교잡종 56두, 몽고수입마 39두, 그리고 퀴터호스종 11두 등 모두 191두를 대상으로 하였다(Table 1). 유전자 감정을 위한 좌위는 ISAG(국제동물유전학회)에서 말의 유전적 다양성 연구를 위해 개체 식별 및 친자 감정 등에 활용하도록 권장하는 국제최소 표준 9종을 포함한 총 13종의 microsatellite를 사용하였다[2,3].

Microsatellite 유전자형 분석

말 혈액 시료에서 genomic DNA의 분리와 정제는 Miller 등의 방법[7]을 준용하여 수행하였다.

PCR 반응은 형광 염색된 microsatellites의 색상과 대립

Table 1. Breed number of individuals and origin of breed used in this study

Breed	No	Origin
Jeju Native Horse (JNH))	41	Korea
American Quarter (QUA)	11	America
Jeju Racing Horse (JRH)	56	Korea
Mongolian Horse (MONG)	39	Mongo
Thoroughbred (THO)	44	England
Total	191	

유전자의 크기별 분포 등을 고려하여 주로 multiplex PCR을 수행하였고, 일부의 microsatellites는 단일 marker로서 PCR을 수행하였다. GeneAmp 9700 (Applied Biosystems)에서 각 반응액의 총량을 10 µl PCR reaction으로 하고 약 50 ng template DNA, 20 ng each primer, 1.25 mM each of dNTP, 0.5 U, Taq DNA polymerases (Promega)과 1 µl 10X PCR buffer mM(100 mM Tris-HCl, pH 8.3, 500 mM KCl, 0.01% gelatin, 0.25% nonidet P40 and 20 mM MgCl₂)을 이용하여 95°C에서 5분간 첫 반응을 시작하여, 94°C에서 30초, microsatellites marker에 따라 53~55°C에서 1분간, 72°C에서 1분으로 35회 반복반응을 실시하고 마지막으로 신장 반응은 72°C에서 10분간 실시하여 종료하였다. PCR 수행 후 증폭산물들을 deionized formamide, loading buffer 및 Genescan 350-TAMRA internal size standard와 잘 혼합하여, 5% polyacrylamide genaturing gel 제조한 후 ABI PRISM 377 DNA sequencer (Applied Biosystems)를 사용하였다. Genescan analysis software (version 3.1)을 이용하여 각 PCR 단편들의 크기를 3차원 최소사승법(Third order least squares method)으로 분석하였고, Genotyper analysis software(version 2.0)을 이용하여 microsatellites loci별 대립유전자들의 정확한 크기를 결정하였다.

통계분석

대립 유전자의 크기가 MS marker에 따른 입력영역, 관측된 이형질성(*H_o*:Observed heterozygosity) 및 대립 유전자 빈도는 MS toolkit s/w [10]를 이용하였으며 분석된 MS 좌위별 집단에 대한 다형성 정보량 (Polymorphic Information Content ; PIC)는 [8,9]의 방법을 통해 산출하였다.

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n P_i^2 - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n P_i^2 P_j^2$$

여기서 n은 대립 유전자 수이며 P_i는 i번째 대립 유전자 빈도 P_j를 j번째 대립 유전자 빈도이다. 분석에 사용된 유전자 표지(MS)에 대한 개체 식별력은(Power of Discriminate : PD) 임의로 선택된 2개체가 동일한 유전자형을 나타내지 않을 확률로 계산되었으며 다른 2개체가 서로 동일한 유전자형을 가질 확률인 짝확률(Matching probability : W)과의 관계는 다음과 같다.

$$PD = 1 - W$$

$$PD = 1 - \sum_{i=1}^k X_i^2$$

여기서 k는 집단에 출현되는 유전자형(genotype) 개수이며 X_i는 특정 유전자좌에서 i번째 유전자형의 출현빈도를 나타낸다. 또한 분석에 사용된 대상 유전자좌에 대한 누적 개체 식별력(CPD)는 다음과 같이 추정하였다.

$$CPD = 1 - \prod_{i=1}^M (1 - PD)$$

여기서 M은 분석에 이용된 marker의 개수를 표시한다.

결과 및 고찰

13종 marker를 통해 품종 특이성에 근거한 개체 확인 유용성 평가를 위해 서로 다른 유전적 특성을 가지고 있는 5품종에서 유전자 표지별 이형접합도를 계산하였다. 개별적 유전자 좌위에 있어서 대립유전자 수는 HMS6 좌위에서 7개로 가장 적었으며 ASB17에서는 가장 많은 16종의 대립유전자가 발견되었다. 전체 개체들의 유전적 다양성을 나타내는 유전자 좌위별 이형접합도는 0.88-0.68로 나타났으며 매우 다양한 수준의 수치가 산출되어 친자확인 또는 개체 확인을 위해서는 다양성(이형접합도)이 높으며 적절한 대립 유전자의 발현빈도를 보이는 좌위의 선택이 필요하다. 특히 제주마 집단에서 고도의 정확성이 높은 개체 식별 시스템 설정을 위해서는 제주마 집단에서 이들 유전자 표지의 타 품종과의 차별적인 대립 유전자 발현 특성을 확인해야 한다. Table 2에서 보면 분석된 제주마의 좌위들의 출현 대립 유전자수는 최소 4종에서 최고 10종까지 나타나고 있다. 전체 말집단(5품종)에서 발현된 유전자표지(MS)별 대립유전자수와 제주마 집단에서 발현된 대립유전자수는 다소 상이한 것으로 나타났으며 이는 품종별 유전적 특성이 이들 표지인자 발현특성에 반영된 결과이다. 결국 제주마 집단의 유전적 특성을 반영한 개체 식별 시스템 설정을 위해서는 출현된 대립유전자의 종류 및 분석이 가능한 적절한 유효 대립유전자 수(7-8개)를 가진 좌위를 선택할 필요가 있다. 따라서 0.6이상의 이형접합도를 가진

Table 2. Characterization of 13 microsatellite loci analyzed in five horse breeds

Locus	Chromosome location	Size range (bp)	No. of alleles	Ht
ATH4	24	100-160	10(8) ^a	0.817
ATH5	6	130-148	8(5)	0.811
ASB2	15	221-259	14(9)	0.851
HMS3	9	133-171	10(6)	0.810
HMS6	4	157-169	7(5)	0.753
HMS7	1	171-185	8(5)	0.776
HTG4	9	128-142	8(4)	0.689
HTG10	21	90-112	12(7)	0.82
VHL20	30	84-104	10(4)	0.814
TKY321	3	208-232	13(9)	0.882
CA425	2	232-250	11(4)	0.71
ASB17	2	91-121	16(10)	0.844
LEX33	1	198-216	11(5)	0.87

a : number of alleles that is found in Jeju Native Horse (JNH) population

Ht : Expected total heterozygosity.

분석대상 13종의 유전자 표지들이 개체 식별에 활용될 수 있는 후보 유전자 표지로서의 가능성이 제시될 수 있다.

개체 식별을 위한 최적의 유전자표지의 설정을 위해서 분석 대상 집단에서 나타난 이형접합도 뿐만 아니라 각 좌위별 대립 유전자 출현빈도가 극단으로 치우치지 않고 고른 분포를 보이는 것이 가장 바람직하다. 그러나 대부분의 유전자표지의 대립유전자 발현 특성은 유전집단(품종)에 따라 매우 다양하게 나타나고 있다. 특히 국내외적으로 친자 확인을 위한 유전자표지로서의 사용이 권장되고 있는 몇몇 marker는 특정 품종 집단에서 활용이 용이한 것으로 나타나고 있다. 따라서 국제적으로 통용되는 유전자 표지의 일부분은 표준 유전자 양상의 비교를 위해 제주마에서 활용이 필요하지만 개체 식별이 높은 유전자표지의 추가 발굴 및 이들의 활용이 매우 중요한 것으로 생각된다.

Table 3에서는 분석 대상이 5품종에 대한 관련 유전자 표지들에 대한 marker로서 유용성을 판단하기 위해 이형접합도 및 다형성 정보량(PIC)을 제시하였다. ATH5 좌위와 HMS7의 경우 다른 도입 4품종에서 비교적 다양성이 높은 것으로 추정되었지만 제주마 집단에서는 매우 낮은 다양성을 보였다. 즉 LEX33 좌위의 대립 유전자들이 발현 빈도가 극단적인 양상을 보이고 있으며 출현된 대립 유전자의 경우도 매우 제한적인 것으로 나타났다. 이러한 양상은 CA425에서도 유사한 경향을 보이고 있으며 품종별로 유전자 표지 좌위들에 대한 대립 유전자들의 발현 특성이 상이한 것을 알 수 있었다. 따라서 개체 식별 체계에 활용될 수 있는 유전자 표지는 품종 특이 발현 양상의 분석에 근거를 고려하여 선정하는 것이 바람직 할 것으로 생각된다.

2000년 국제 동물유전학회 말 분과위원회에서 9개의 microsatellite DNA marker를 국제최소검사항목으로 지정한 microsatellite 좌위들 중 3종에 대한 대립 유전자 출현 양상을 각 품종별로 비교하였다(Fig. 1). 즉 분석대상 유전자표지별 집단 간 대립유전자 발현양상을 비교해보면 특이한 집단별 품종 특이성을 발견할 수 있었다. ATH5 좌위에 대한 품종별 대립유전자 발현 특성을 보면 전체 8종의 대립유전자가 나타났다. 외래종 말의 대표적 품종인 THO에서는 158 대립 유전자의 발현 빈도가 0.42로 매우 높은 출현 양상을 보였으며 몽고마종에서는 0.44, 미국원산의 QUA종에서는 비교품종에서 가장 높은 대립 유전자 출현 양상인 0.55, 제주교잡마에서는 0.17로 분석되었다. 반면에 제주마 집단에서는 0.085의 출현 빈도를 보였다. 그러나 제주마 집단에서 가장 높은 출현빈도를 보이고 있는 152 대립유전자의 경우 제주교잡마(제주마과 더러브렛교잡) 종에서는 0.09, MONG에서는 0.06, QUA에서는 0.05를 보였으며 대표적 외래품종말인 THO에서는 나타나지 않는 것으로 분석되었다. 또한 집단 내 대립유전자 발현이 극단적 발현 양상을 보이는 몇몇 유전자표지(MS)가 존재하였다. CA425의 경우 분석대상 품종모두에서 11종의 발현 대립

Table 3. Estimates of heterozygosity(H) and polymorphic information content(PIC) in five horse breeds

Locus	JNH		QUA		JRH		MONG		THO	
	H	PIC	H	PIC	H	PIC	H	PIC	H	PIC
ATH4	0.756	0.799	0.636	0.601	0.821	0.823	0.769	0.732	0.682	0.656
ATH5	0.659	0.634	0.881	0.613	0.768	0.787	0.615	0.778	0.773	0.640
ASB2	0.683	0.658	0.727	0.732	0.821	0.798	0.744	0.799	0.818	0.836
HMS3	0.829	0.742	0.727	0.742	0.804	0.781	0.667	0.791	0.546	0.558
HMS6	0.732	0.610	0.636	0.512	0.839	0.759	0.846	0.752	0.591	0.557
HMS7	0.561	0.498	0.923	0.745	0.875	0.722	0.744	0.755	0.727	0.753
HTG4	0.732	0.609	0.727	0.604	0.625	0.571	0.564	0.583	0.500	0.492
HTG10	0.683	0.649	0.455	0.490	0.768	0.845	0.564	0.834	0.636	0.680
VHL20	0.463	0.514	0.455	0.475	0.875	0.798	0.513	0.784	0.659	0.741
TKY321	0.878	0.750	0.727	0.765	0.911	0.820	0.795	0.812	0.886	0.781
CA425	0.585	0.606	0.915	0.650	0.696	0.624	0.487	0.721	0.636	0.622
ASB17	0.902	0.797	0.909	0.646	0.768	0.732	0.718	0.883	0.750	0.762
LEX33	0.317	0.548	0.818	0.626	0.875	0.842	0.410	0.686	0.773	0.741

JNH : Jeju Native Horse, QUA : American Quarter, JRH : Jeju Racing Horse
 Mong : Mongolian Horse, Tho : Thoroughbred
 Ho : Observed heterozygosity.

유전자중 244 대립유전자의 발현빈도가 0.40 이상을 보이는 것으로 나타났다. ATH5의 경우를 보면 전체품종집단을 기준으로 보면 8종의 대립유전자가 발현된 것으로 분석되었는데 제주마 집단에서는 5종만이 출현됨을 확인하였으며 이중 134 대립유전자의 경우 발현빈도가 50%를 나타낸 반면 QUA 집단에서는 발현되지 않았으며 THO에서는 0.01, JRH에서는 0.11, MONG에서는 0.18로 나타났다. 다른 4품종집단에서 발현이 확인된 136대립유전자의 경우 제주마 집단에서는 전혀 발현되지 않는 것으로 분석되었다. 이러한 결과를 통해보면 품종발현 특이성이 존재하는 유전자표지들을 활용할 경우 제주마나 기타 외래종 품종집단에 대한 개체별 품종식별의 가능성이 존재함을 알 수 있었다.

또 다른 품종특이성 유전자표지 HTG4의 경우 매우 특이한 대립유전자 발현양상을 알 수 있다. 전체 8종의 대립유전자 중 제주마 집단에서는 단 4종류만이 발현되었다. 또한 132좌위의 경우 분석대상 5품종집단에서 가장 높은 대립유전자 발현양상을 보였으며(JNH: 0.41, QUA: 0.46, JRH: 0.58, MONG: 0.58, THO: 0.34) 136대립유전자 좌위는 JNH와 THO 품종집단에서는 발현이 확인되지 않은 반면에 QUA에서 매우 높은 0.23을 보였으며 다른 두 품종집단에서는 매우 낮은 발현빈도를 보였다.

분석에 사용된 13종중 5종이상이 품종별 대립유전자 발현양상이 품종에 따라 매우 상이하며 일부 대립유전자들은 극단적인 발현특성을 보였으며 이는 유전적 구조 및 조성이 매우 다르다는 것을 반증하는 결과라고 생각된다. 분석 대상 좌위의 출현빈도는 분석에 공시된 품종별로 매우 상이한 출현 양상을 보인다[13]이 보고한 결과와 대체적으로 유사한 경향치를 보이고 있다. 따라서 개체 식별을 위해서는 특정

품종에 대한 대립 유전자의 발현 빈도를 고려한 microsatellite 좌위의 선정이 매우 중요할 것으로 보인다. 이러한 품종 다양성을 나타내는 유전자표지(MS)를 사용할 경우 개체식별을 위한 분자마커로써 중요한 수단을 제공함은 물론 집단 내 개체별 품종식별을 가능하게 하는 보다 정확한 분자표지로써의 가능성을 제공할 수 있다는 점에서 매우 중요한 계기를 제공할 수 있을 것으로 생각한다.

제주마 집단에서 비교적 유전 표지의 출현빈도 양상이 극단적으로 치우치지 않으며 개체 식별에 용이한 수준의 대립 유전자를 발현시키는 9종의 유전 표지를 대상으로 개별 유전 표지의 개체 식별력 및 누적 개체 식별력을 제시하였다(Table 4). 이러한 개체 식별력의 추정 통계량은 혈연관계가 없는 서로 다른 개체가 동일한 유전자형을 나타내지 않은 확률을 나타내고 있으며 이는 서로 다른 개체가 동일한 유전자형을 나타낼 확률 추정치와 비교하였다. 5종의 좌위를 사용할 경우 서로 다른 개체가 동일한 유전자형을 나타낼 확률 추정치는 0.53×10^{-5} 이었으며 8종일 경우 0.40×10^{-8} , 분석에 제시된 총 9종의 좌위를 동일성 검정을 위한 개체 식별 시스템에 활용할 경우 0.44×10^{-9} 의 정확률 값이 추정되었다. 이는 말의 집단내 개체별 유전다형에 의한 유전 표지(microsatellite)를 활용한 정확률 값을 각각 0.72×10^{-6} (5종), 0.75×10^{-11} (8종) 및 0.50×10^{-13} (11종)으로 보고한 결과[11]와 비교해 보면 다소 식별력이 낮은 것을 볼 수가 있다. 이는 출현되는 대립 유전자수가 분석 대상 집단마다 상이함에 따라 나타날 수 있으며 가능한 유효 대립유전자가 다양하게 발현되는 유전 표지를 선정할 경우 개체 식별력이 증가될 수 있을 것으로 생각된다. 번식에 사용되는 암말의 수가 제한되어 비교적 유전적 다양성이 낮은 것으로 평가되고 있는 제주마 집단에서 9종의

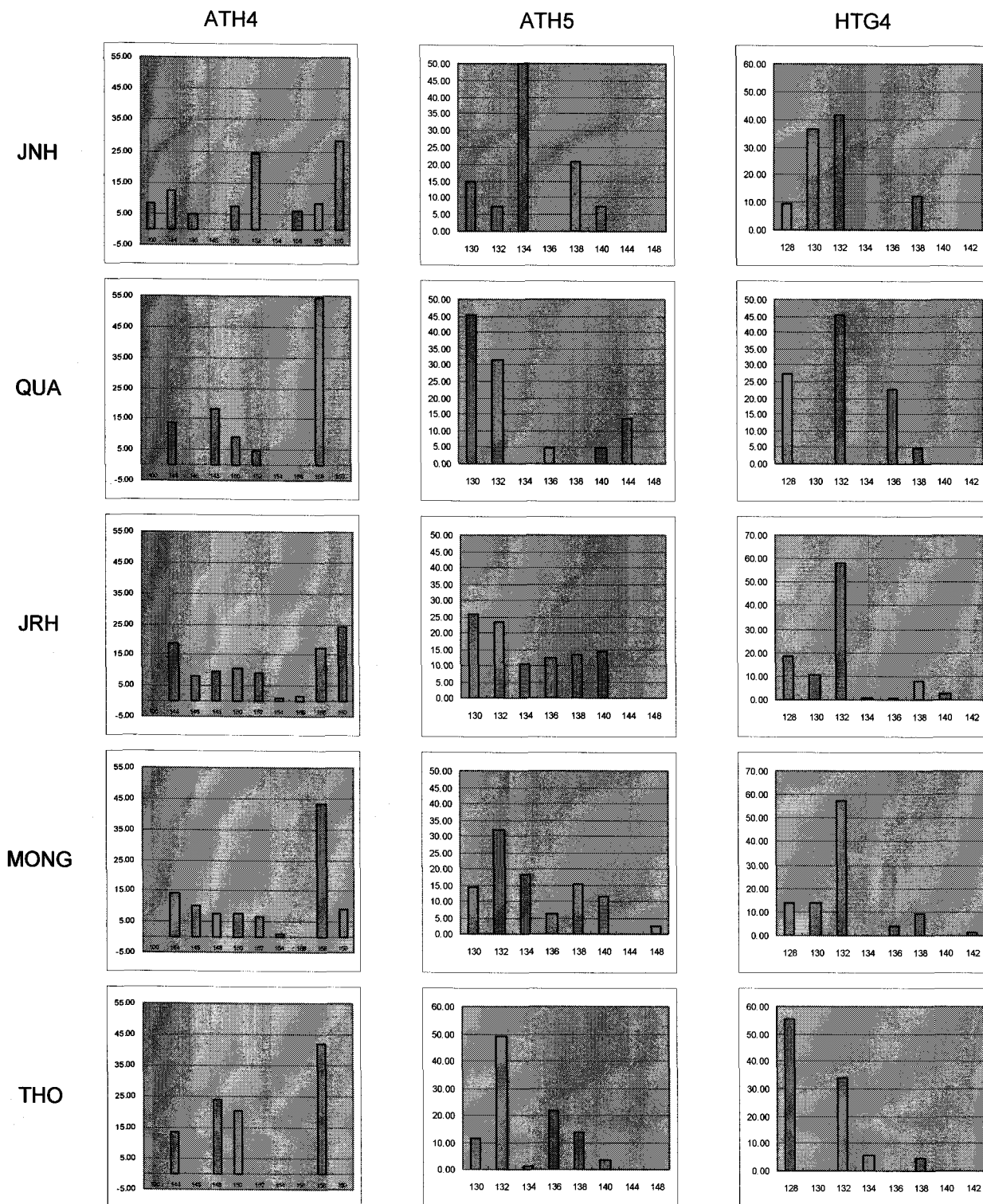


Fig. 1. Allele frequency distribution for three loci in five breeds sample.

유전 표지를 활용 할 경우 0.44×10^9 의 개체를 식별할 수 있다는 결과를 제시하고 있다[14]. 결국 더 많은 종류의 유전 표지를 분석에 활용할 경우 개체 식별력 즉 서로 다른 개체가 동일한 유전자형을 나타낼 확률 값이 적어지지만 최적의 개

체 식별 시스템의 설정을 위해서는 개체 식별력이 높은 개별 유전 표지를 최적화하여 설정하는 것이 바람직하다. 본 연구는 9종을 사용할 경우 제주마 집단을 전제로 할 때 비교적 합리적인 개체 식별 시스템이 설정될 것으로 예측된다.

Table 4. Estimation of matching probability(W) and power of discriminate(PD) using 9 different marker in Jeju Native Horse(JNH)

Loci	No. of allele	Matching probability(W)		Power of discriminate(PD)	
		IW	CW	PD(%)	CPD(%)
M ₁ (TKY321)	9	0.031	0.031	96.9	96.9
M ₂ (LEX33)	5	0.053	0.05×10 ⁻¹	94.7	99.8
M ₃ (ASB2)	9	0.049	0.24×10 ⁻²	95.1	99.9
M ₄ (ASB17)	10	0.037	0.89×10 ⁻⁴	96.3	99.9
M ₅ (HTG10)	7	0.049	0.44×10 ⁻⁵	95.1	99.9
M ₆ (ATH4)	8	0.053	0.23×10 ⁻⁶	94.7	99.9
M ₇ (VHL20)	4	0.064	0.15×10 ⁻⁷	93.6	99.9
M ₈ (ATH5)	5	0.063	0.93×10 ⁻⁹	93.7	99.9
M ₉ (HMS3)	6	0.065	0.60×10 ⁻¹⁰	93.5	99.9
M ₁₀ (HMS7)	5	0.086	0.52×10 ⁻¹¹	91.4	99.9

요 약

본 연구는 서로 다른 상염색체에 위치하고 있는 초위성체 유전 표지를 활용하여 제주마 집단내의 타 품종과의 차별적 유전특성분석과 제주마 집단에서 활용할 수 있는 효율적인 개체 식별 시스템 설정을 위해 수행되었다. 공시재료로서는 5 품종에서 총 191두가 사용되었으며 13종의 좌위에 대한 개체별 유전자형을 분석하였다. 이들 13종에서 출현된 총 대립 유전자수는 제주마의 경우 155종이 나타났다. 한국 제주마 집단에서 나타난 평균 이형접합도는 0.317-0.902였으며 marker 다형성 정보량은 0.498-0.799로 나타났다. 제주마 집단에서 나타난 대립 유전자 발현 특성은 다른 외래 품종 집단과 매우 상이한 결과를 나타냈다. ATH4 좌위의 경우 제주마 집단에서는 5종의 대립 유전자가 고른 분포를 나타낸 반면 QUA종의 경우와 THO종집단에서 특정 좌위의 극단적 발현 빈도를 나타냈다. 품종특이성을 나타내는 분자표지의 대립유전자 발현양상이 확인되었으며 이러한 품종특이성 발현 분자표지는 집단 내 개체에 대한 품종식별 유전자표지로 활용이 가능한 것으로 나타났다. 9종의 초위성체 유전 표지를 활용할 경우 누적 개체 식별력은 99.9%를 나타냈으며 두 마리의 서로 다른 개체가 서로 같은 유전자형을 가질 확률은 0.60×10^{-10} 으로 추정되었다. 따라서 9종의 선정된 유전 표지는 제주마 품종 집단에서 적정 신뢰도를 제공할 수 있는 개체 식별 시스템을 설정할 수 있을 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 농림 기술개발과제(ARPC) “ 제주마의 유전적 특성 파악을 통한 혈통관리 체계확립 ” 관계자들과 시료를 제

공한 제주도 축산진흥원 및 한국마사회 관계자들에게 깊은 감사를 드리는 바입니다.

참 고 문 헌

1. Cho, G. J. 2006. Genetic Relationship among the Korean Native and Alien Horses Estimated by Microsatellite Polymorphism. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* **19**, 784-788.
2. Cho, G. J. 2007. Genetic Relationship and Characteristics using Microsatellite DNA Loci in Horse Breeds. *J. Life Sci.* **17**, 699-705.
3. Cho, G. J. and B. W. Cho. 2004. Microsatellite DNA Typing using 16 Markers for Parentage Verification of the Korean Native Horse. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* **17**, 750-754.
4. Fries, R. and G. Durstewitz. 2001. Digital DNA signatures: SNPs for animal tagging. *Nat. Biotechnol.* **19**, 508.
5. Letcher, B. H. and T. L. King. 2001. Parentage and grandparentage assignment with known and unknown matings: application to Connecticut River Atlantic salmon restoration. *Can. J. Fish Aquat. Sci.* **58**, 1812-1821.
6. Machugh, D. E., R. T. Loftus, P. Cunningham and D. G. Bradley. 1998. Genetic structure of seven European cattle breeds assessed using 20 microsatellite markers. *Animal Genetics* **29**, 333-340.
7. Miller, S. A., D. D. Dykes and H. F. Polesky. 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research* **16**, 1215.
8. Nei, M. 1972. Genetics distance between populations. *Am. Nat.* **106**, 283-292.
9. Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* **89**, 583-590.
10. Park, S. 1999. The microsatellite toolkit for MS Excel 97 or 2000. Molecular population genetics laboratory, Smurfit Institute of Genetics, Trinity College, Dublin 2, Ireland.
11. SanCrostoval, M., G. Renald and Y. Amigues. 2000. Tracabilite individuelle des viandes bovine a l'aide de marqueuse genetiques. *INRA Prod. Anim.* **13**, 269-276.
12. Seo, K. S., Y. M. Cho and H. K. Lee. 2000. Development of Network System for the Application of HACCP in Livestock production Stage. *Agroinformatics J.* **1**, 1-4.
13. Tozaki, T., N. Takezaki, T. Hasegawa, N. Ishida, M. Kurosawa, M. Tomita, N. Saitou and H. Mukoyama. 2003. Microsatellite variation in Japanese and Asian horses and their phylogenetic relationship using a European horse outgroup. *J. Heredity* **94**, 374-380.
14. Yoon, D. H., H. S. Kong, J. D. Oh, J. H. Lee, B. W. Cho, J. D. Kim, K. J. Jeon, C. Y. Jo, G. J. Jeon and H. K. Lee. 2005. Establishment of an Individual Identification System Based on Microsatellite Polymorphisms in Korean Cattle (Hanwoo). *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* **18**, 762-766.