

웅성 특이적 SRY 및 ZFY 유전자를 이용한 쇠고기 성(性) 판별

신성철 · 정구용 · 정의룡*

상지대학교 생명자원과학대학 동물생명자원학부

Sex Identification of Bovine Meat Using Male Specific SRY and ZFY Genes

Sung-Chul Shin, Ku-Young Chung, and Eui-Ryong Chung*

*Division of Animal Science and Resources, College of Life Science and Natural Resources,
Sangji University, Wonju 220-702, Korea*

ABSTRACT

The objective of this study was to develop a rapid and reliable method for the sex determination of beef using the PCR (polymerase chain reaction) technique. We have used two bovine sex determining genes, SRY and ZFY, on the Y-chromosome to identify the sex of Hanwoo and Holstein beef. We attempted to amplify 1,348 bp and 979 bp fragments from male and female genomic DNA corresponding to the SRY and ZFY genes, respectively, using male specific primers. The amplified PCR products were separated by electrophoresis in a 1.5% agarose gel to detect a male specific DNA band. When DNA from male beef was amplified with primers specific for the SRY gene, a DNA band of 1,348 bp was present in all of the male samples, but absent from all of the female samples. Also, when DNA from male beef was amplified with primers specific for the ZFY gene, a DNA band of 979 bp was observed in all of the male samples, but absent from all female samples. In conclusion, the bovine SRY and ZFY genes are typically found only in male beef. For the practical application of this method for the sexing of commercial beef at the processing and marketing stages after slaughter, a total of 350 beef samples collected randomly from local markets were analyzed for sex determination. The proportions of male and female samples were 252 (72%) and 98 (28%), respectively. Therefore, the SRY and ZFY genes, which are specific for the Y-chromosome, may be useful sex-diagnostic DNA markers to distinguish male meat from female meat.

Key words : sex identification, male specific genes, SRY, ZFY, beef

서 론

국민소득 증대와 식생활 개선으로 쇠고기 수요가 양적으로 급증할 뿐 만 아니라 최근에는 well-being 열풍과 더불어 질적으로 우수한 고품질 쇠고기를 선호하는 경향을 보이고 있다. 식육의 품질에 영향을 미치는 여러 요인들 가운데 가축의 성별도 품질 결정의 주요 요인의 하나로 평가 할 수 있다. 즉, 식육동물의 성에 따라 성호르몬 분비 등 생리적 차이로 육질에 차이가 있고 일반적으로 암컷의 육질은 수컷의 육질 보다 월등히 우수한 것으로 알려져 있다. 2005년도 한우 도체 육질 분석 결과 1등급 이상 고급육 출현율은 암컷이 66.5%로 육질이 매우 우수한

반면 비거세 수컷은 4.4%로 현저하게 육질이 저조하였다(축산물등급판정소, 2005). 성별에 따른 한우육의 육량과 육질 분석 성적에서도 수컷은 암컷보다 육량 등급은 우수하나 근내지방도 등의 육질 등급은 암컷에 매우 낮은 것으로 조사되었다(Kim *et al.*, 2002; Park *et al.*, 2002; Lee *et al.*, 2005). 이처럼 성별에 따른 육질의 차이는 성별로 서로 다른 내분비계통과 대사작용의 차이에 비롯된 것으로 특히 성 호르몬 차이가 가장 큰 영향을 미칠 것으로 추정된다. 성별 차이는 근내지방도 뿐만 아니라 고기의 연도(tenderness)에도 많은 영향을 미친다. 일반적으로 암소육의 연도가 상대적으로 더 연하고 eating quality에 더 좋은 것으로 알려져 있다. 현재 우리나라 육질 등급은 주로 근내 지방도에 의존하고 있지만 향후 소비자의 선호도 및 기호성에 따라 외국의 경우와 같이 연도가 육질 등급에 영향을 미칠 가능성이 높다.

국내 쇠고기 시장에서 고품질 쇠고기의 건전하고 올바른 유통체계를 확립하기 위해서는 값싼 수입 쇠고기와 젓

*Corresponding author : Eui-Ryong Chung, Division of Animal Science and Resources, College of Life Science and Natural Resources, Sangji University, Wonju 220-702, Korea. Tel : 82-33-730-0541, Fax :82-33-730-0503, E-mail: erchung@sangji.ac.kr

소고기가 고가의 한우육으로 그리고 수소 고기가 암소 고기로 둔갑 판매되는 부정육 유통 방지 및 단속을 위한 한우육 등 쇠고기 품종 판별 기술 개발과 쇠고기의 성을 과학적으로 감별할 수 있는 쇠고기 성 판별기술 개발이 요구된다. 그동안 포유동물의 성 감별에 관한 연구는 자축의 성비(sex ratio)가 가축의 생산성 및 경제성에 큰 영향을 미치므로 주로 출생 전 태아 또는 배아를 대상으로 다양한 성 판별 기술이 보고된 바 있다. 최근에는 분자유전학적 기술의 발달에 따라 Y 염색체 특이적 probe를 이용한 FISH(fluorescent in situ hybridization) 기법을 통해 염색체 상에서 판별하거나(Bondioli *et al.*, 1989; Kobayashi *et al.*, 1998) 보다 간편하고 신속 정확한 방법으로 PCR (polymerase chain reaction) 기법으로 Y 염색체 특이적 유전자를 이용하여 수정란의 성을 판별하는 기술이 여러 연구자들에 의해 보고되었다(Aasen and Medrano, 1990; Itagaki *et al.*, 1993; Kudo *et al.*, 1993; Hwang *et al.*, 1995; Park *et al.*, 2001; Cho *et al.*, 2005). 그러나 쇠고기의 성 판별에 관해서는 간편하면서도 효율적인 유전자 성 판별 기술이 구체적으로 마련되어 있지 않다. 최근 수입쇠고기 및 젓소고기가 한우육으로 둔갑되어 부정 유통되는 사례가 빈발하고 원산지 허위표시 등으로 소비자들의 육류 품질에 대한 불신감이 증폭하고 있어 생산, 도축, 가공, 유통과정의 각 단계별 이력을 추적 관리할 수 있는 쇠고기 생산이력 추적시스템(traceability)의 도입과 함께 도축 후 가공유통단계에서 쇠고기의 정확한 성별을 감별하여 소비자에게 정보를 제공하는 것은 고품질 고급육을 선호하는 소비자들의 다양한 욕구를 충족할 수 있고 쇠고기 품질인증, 거래의 공정성, 유통의 투명성 및 소비자 신뢰확보 측면에서 중요하다고 할 수 있다. 따라서 본 연구는 포유동물의 Y 염색체 상에 존재하는 SRY 또는 ZFY의 옹성 특이적 성 결정 유전자의 특정 염기서열을 포함하는 primer를 이용한 DNA분석 기법을 이용하여 쇠고기 성판별 기술을 개발하고, 이 성감별 기술을 도축 후 가공 유통판매 단계에 실제 적용하여 쇠고기 성 감별 기술의 활용 시스템을 구축하기 위하여 수행하였다.

재료 및 방법

공시재료

쇠고기 성 감별을 위한 공시동물은 도축장(횡성)에 반입

되는 한우와 홀스타인종 젓소를 암수별로 구별하여 도축 후 품종 및 성별 각 10두씩으로부터 약 1-2 g의 정육을 채취하여 공시 재료로 사용하였다. 그리고 도축 후 가공 및 유통판매 단계에서 쇠고기 성 감별을 위한 시료는 시중에 유통 판매되고 있는 포장육으로서 한우육 판별을 위한 DNA 검사 목적으로 제공받았던 등심과 갈비 시료 가운데 암수 성 감별을 위하여 무작위로 350개체에 대한 시료를 선별하여 이용하였다.

실험방법

1) 근육조직으로부터 Genomic DNA 분리 정제

근육조직으로부터 genomic DNA의 추출 및 정제는 Miller 등(1988)의 saturated salting out 방법을 일부 변경하여 실시하였다. 분리한 DNA는 TE buffer(10 mM Tris-HCl pH 7.4, 1 mM EDTA)에 용해하였다. DNA 농도는 spectrophotometer를 이용하여 260 nm의 UV 상에서 측정하였다.

2) 옹성 특이적 유전자의 Primer 설계 및 합성

쇠고기의 성감별을 위한 SRY 및 ZFY 옹성 특이적 유전자의 PCR 증폭을 위한 primer의 염기서열은 Table 1과 같다. 즉, 인간과 소의 Y 염색체 물리적 지도 및 DNA 염기서열 정보를 기초로 SRY 옹성 특이적 primer를 제작하여 bovine SRY 유전자 영역에서 1,384 bp 크기의 DNA 단편을 증폭하였고, ZFY 옹성 특이적 primer는 bovine ZFY 유전자 영역 내 979 bp 크기의 DNA 단편을 증폭하였다(Fig. 1).

3) 옹성 특이적 유전자의 PCR 증폭

SRY 유전자의 PCR 증폭을 위한 반응액 조성은 genomic DNA 50 ng, sense 및 anti-sense primer 각 0.1 μ M, dNTP 각 250 μ M, 10 \times PCR buffer 2 μ L 그리고 Taq DNA polymerase 1 unit을 첨가하여 최종 부피를 20 μ L로 조정하였다. 또한 ZFY 유전자의 PCR 반응액 조성은 genomic DNA 50ng, sense primer 0.4 μ M, anti-sense primer 0.2 μ M, dNTP 각 250 μ M, 10 \times PCR buffer 2 μ L, 그리고 Taq DNA polymerase 1 unit을 첨가하여 최종 부피를 20 μ L로 조정하였다. PCR 증폭 조건은 SRY과 ZFY 유전자 모두 최초 94 $^{\circ}$ C에서 5분간 예비가열 한 후, 94 $^{\circ}$ C에서 20초, 58 $^{\circ}$ C에서 30초 그리고 72 $^{\circ}$ C에서 1분간의 cycle을 총 35회

Table 1. Primer sequences for PCR amplification of male-specific genes in bovine Y-chromosome

Male specific gene	Primer sequence (5' to 3')	Annealing ($^{\circ}$ C)	Fragment size (bp)
SRY	SRY-sense 26404: ACAGAGACTACTAGCCATACAC	58	1,348
	SRY-antisense 26414: CAATTTTCTACTTTAGCCTAAT		
ZFY	ZFY-sense 8761: GGTGAGGGCACATGAGTTC	58	979
	ZFY-antisense 8764: TCTGCAGGTGTTGTGTAA		

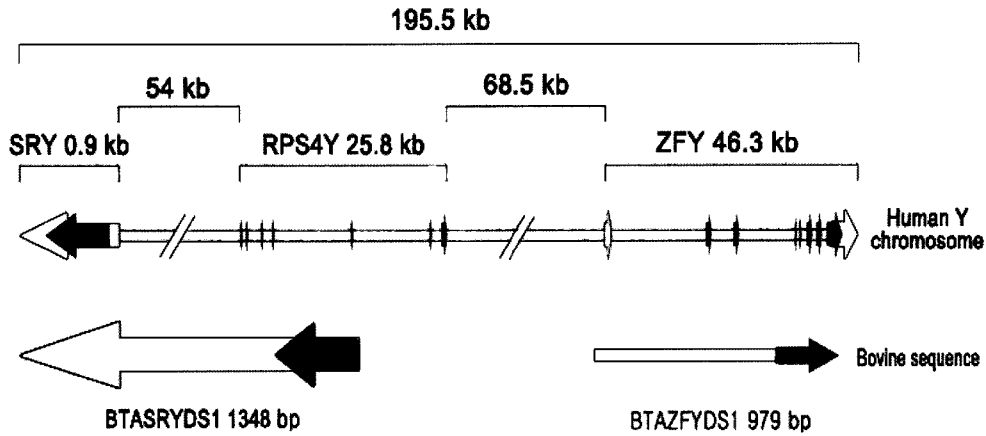


Fig. 1. Physical maps of human Y-chromosome partial DNA sequence (GenBank accession no. NT-011896) and two PCR amplicons (BTASRYDS1 and BTAZFYDS1). Coding sequence, untranslated regions and intron are represented by black arrows, white arrows and thin rectangles respectively. The diagonal lines on the human intergenic region indicate places in the physical map that are not to scale. Dashed lines indicate homology of the human Y-chromosome with bovine DNA amplification products (Clawson *et al.*, 2004).

반복한 다음 마지막으로 72°C에서 5분간 가열하고 PCR 반응을 종료하였다. PCR 종료 후 각 PCR 증폭산물의 DNA band 검출을 위해 1.5%의 agarose gel을 이용하여 전기영동 한 다음 gel은 ethidium bromide 용액으로 염색하여 UV 상에 발현된 양성 특이적 DNA band 존재 여부에 따라 쇠고기의 성을 판정하였다.

결과 및 고찰

포유동물의 Y-염색체 DNA 영역에는 SRY(sex-determining region Y) 및 ZFY(zinc finger Y-linked gene)의 양성 특이적 성 결정 유전자가 각각 존재하는 것으로 알려져 있다 (Miller and Koopman, 1990). SRY 유전자는 Y-염색체의 양성 특이적 영역에 위치하며 정소분화에 관련된 전사인자를 지정하는 유전자로 밝혀졌다 (Graves, 2002). 소 SRY 유전자는 Y-염색체 상의 양성 특이적 영역에 위치하고 있기 때문에 SRY 유전자는 오직 양성 개체에서만 발현된다 (Liu *et al.*, 2002). 그리고 ZFY 유전자는 전사 활성인자를 지정하는 유전자로 추정되며 (Tucker *et al.*, 2003) Y 염색체 상의 단완(short arm)에 위치하고 있는 것으로 알려졌다 (Xiao *et al.*, 1998). 포유동물의 Y 염색체 상에 존재하는 SRY 및 ZFY의 양성 특이적 유전자를 이용하여 쇠고기의 성 판별을 위해 한우와 홀스타인종을 암수로 구분하고 도축 후 쇠고기 시료를 대상으로 이들 두 유전자 영역에 특정 염기서열을 포함하는 primer를 이용하여 PCR 증폭을 실시한 후 성별에 따라 검출된 DNA band 전기영동상은 Fig. 2와 3에 각각 제시한 바와 같다.

SRY 유전자는 Fig. 2에서 보는 바와 같이 한우 및 젖소 양성개체의 쇠고기는 모두 1,348 bp 크기의 양성 특이적 단일 DNA band 검출이 확인되었으나 자성 개체의

쇠고기에서는 예상한 바와 같이 양성 특이적 DNA band 가 전혀 검출되지 않았다. 포유류의 Y 염색체 상에서 발견되는 SRY 유전자는 양성 발생에 지배적인 역할을 수행하고 (Nagai, 2001; Angelo and Moreira, 2002) 양성에만 특이적으로 발현됨으로 SRY 양성 특이적 유전자의 성별에 따른 발현 유무는 쇠고기의 성 판별에 매우 유용한 유전자 표지로 실제적 활용이 가능하다. Kageyama 등 (1992)은 인간과 소, 면양, 산양, 사슴, 돼지, 토끼 및 생쥐 등의 동물 중에서 Y-염색체 특이적 DNA 영역인 SRY 유전자를 PCR로 증폭하고 conserved motif 영역에 존재하는 214 bp DNA 단편을 이용하여 종간 염기서열 차이를 비교 분석함과 동시에 SRY를 양성 특이적 성 결정 유전자로 보고하였다. 또한, 최근에 Cho 등 (2005)은 돼지 SRY 유전자를 이용하여 돼지 초기 수정란의 성 감별기법을 발표한 바 있다.

SRY 유전자와 함께 포유동물의 Y-염색체 상에 존재하는 또 다른 양성 특이적 유전자인 ZFY 유전자에서도 Fig. 3

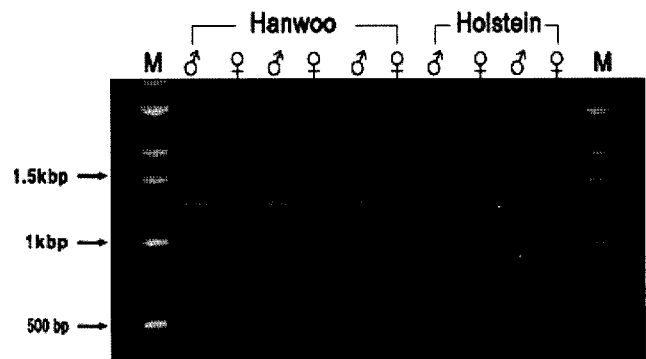


Fig. 2. Agarose gel electrophoresis of PCR products of SRY gene from Hanwoo and Holstein beef. M: 1 kb DNA size marker.

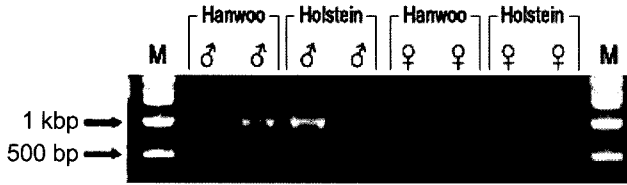


Fig. 3. Agarose gel electrophoresis of PCR products of ZFY gene from Hanwoo and Holstein beef. M: 1 kb DNA size marker.

에서 보는 바와 같이 한우 및 젃소 웅성개체의 쇠고기에서 979 bp 크기의 단편을 가진 ZFY DNA band가 모두 검출되었으나, 자성개체의 쇠고기에서는 ZFY의 DNA band가 전혀 검출되지 않은 것을 확인할 수 있었다. Aasen과 Medrano(1990)는 수컷과 암컷에 각각 해당하는 ZFY 및 ZFX 성 특이적 유전자를 PCR 기술로 증폭하고 인간, 소, 양 및 염소의 성 결정을 수행하고 이 같은 PCR 기술이 인간과 동물의 성 감별에 가장 빠르고 효과적인 방법이라고 보고한 바 있다. 최근에 Cho 등(2005)은 여러 품종의 돼지에서 Y 염색체 특이적 유전자인 SRY 유전자와 X 및 Y 염색체에서 공통으로 암호화 되어 있으면서 유전자 길이의 이형성이 보고된 ZFX-ZFY 유전자에 대한 PCR 분석을 통해 돼지의 유전자 성 판별 기술을 보고하였다. 본 연구에서도 쇠고기 성감별을 위한 두 종류의 성 결정 유전자 SRY 및 ZFY 모두 수소의 쇠고기에서 특이적인 PCR 증폭 반응을 나타냈고, 이와 반대로 암소의 쇠고기에서는 이들 웅성 특이적 유전자의 부재로 PCR 증폭이 이루어지

지 않아 DNA band가 전혀 검출되지 않았다. 따라서 SRY 과 ZFY 두개의 웅성 특이적 성 결정유전자는 도축 후 유통 판매되고 있는 쇠고기의 암수 성감별을 위한 유용한 DNA marker로 활용할 수 있을 것이다.

본 연구에서 개발한 Y 염색체상의 웅성 특이적 유전자를 이용한 쇠고기 성 판별 기술은 숫소 고기가 암소 고기로 둔갑 판매되는 성 전환의 부정육 식별 및 단속에 간편하면서도 신속 정확한 과학적인 DNA 감별기술로 이용할 수 있고 또한, SRY 및 ZFY 웅성 특이적 유전자는 모든 포유동물의 Y 염색체상에 공통으로 존재하기 때문에 이들 유전자를 이용한 DNA 분석기술은 소 품종 이외의 다른 포유동물 고기의 성 판별에도 직접 활용 가능할 것이다. 동일한 개체에서 DNA 염기서열 구조는 같기 때문에 쇠고기의 경우 부위에 상관없이 그리고 사골, 꼬리, 족, 도가니 물론 수정란을 대상으로 실시하여도 동일한 결과를 얻을 수 있다. 특히, PCR 기법은 극미량의 시료를 대상으로 특정 유전자의 DNA 증폭과 분석이 가능하기 때문에 포유류의 육류와 부산물 그리고 육가공식품의 정확한 암수 성 감별에 매우 효과적인 유전자 진단 및 검사법으로 활용할 수 있을 것이다.

한편, 이와 같이 개발된 쇠고기 성 판별기술을 도축 후 가공 유통판매 단계에서 성 감별 기술의 현장 활용 가능성 여부를 검토하고 시중에 유통 판매되고 있는 쇠고기의 실제 암수비율을 조사하고자 국내 소비자들의 선호도가 높은 등심과 갈비를 대상으로 총 350시료를 무작위 추출하여 쇠고기의 성을 판정한 결과 숫소가 252시료(72%) 그

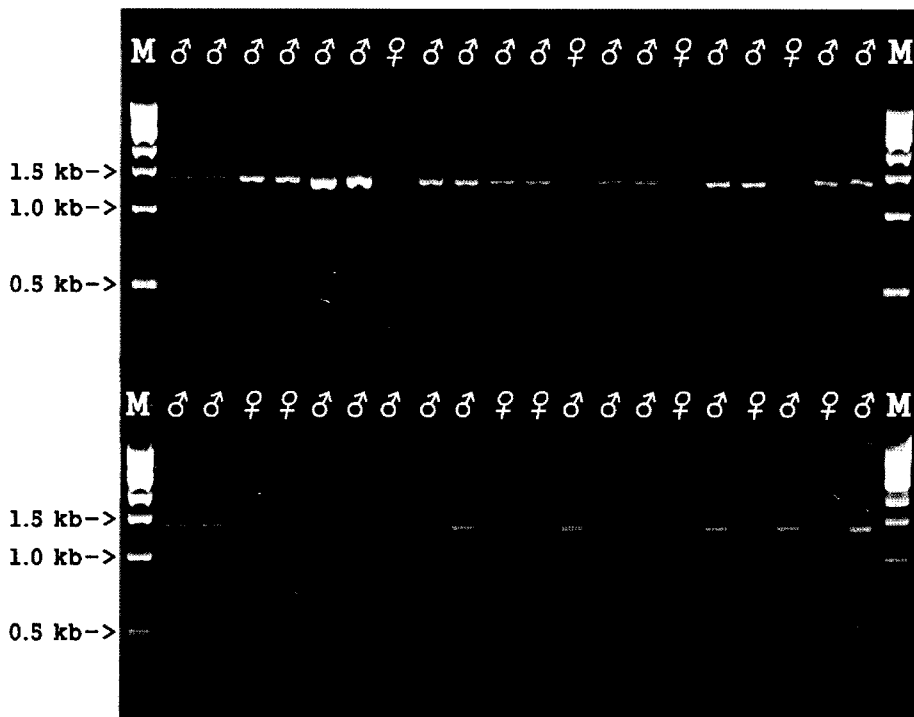


Fig. 4. Results of sex identification of commercial beef using male-specific SRY gene. M: 1 kb DNA size marker.

리고 암소가 98두(28%)로 조사되었다(Fig. 3). 따라서 소 웅성 특이적 유전자를 이용한 쇠고기의 성 감별기술은 도축 후 가공 및 유통판매 과정에서 쇠고기의 과학적 성 판별에 실제 활용할 수 있고 특히, 수소 거세우와 암소간의 구별이 가능하여 보다 육질이 부드럽고 연한 고품질 암소 고기를 원하는 소비자들에게 정확하고 신뢰할 수 있는 정보를 제공할 수 있고 숫소고기가 암소고기로 둔갑 판매되는 것을 사전에 통제할 수 있는 기술로 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

적 요

본 연구는 포유류의 Y-염색체상에 존재하는 SRY 및 ZFY의 웅성 특이적 성 결정 유전자를 이용하는 PCR 기법으로 쇠고기 성판별 기술을 개발하고자 수행하였다. 성 결정 유전자 영역의 특정 염기서열을 포함하는 primer를 각각 설계 합성하고 이들 primer를 이용하여 PCR 증폭을 실시한 다음, 각각의 증폭산물을 1.5% agarose gel에 전기영동하여 웅성 특이적 DNA band의 증폭여부를 확인하였다. SRY 유전자에서 웅성개체 쇠고기는 1,348 bp 크기의 단편을 가진 DNA band가 검출되었으나, 자성개체의 경우 DNA band가 전혀 검출되지 않은 것을 확인 할 수 있었다. 또한, ZFY 유전자에서 웅성개체의 쇠고기는 979 bp 크기의 단편을 가진 DNA band가 모두 검출되었으나, 자성개체의 쇠고기에서는 역시 DNA band가 전혀 검출되지 않았다. 즉, SRY 및 ZFY 유전자는 모두 숫소에서 유래한 쇠고기에서 웅성 특이적인 DNA band가 정확히 검출된 반면 암소에서 유래한 쇠고기에서는 웅성 특이적 DNA band가 전혀 검출되지 않았다. 또한 쇠고기 성 감별법을 도축 후 가공 유통판매단계에 실제 활용 가능성을 검증하고자 시중에 유통되고 있는 등심 및 갈비 포장육 350시료를 무작위 추출하여 성 판별을 실시한 결과 숫소가 252시료(72%) 그리고 암소가 98두(28%)로 조사되었다. 따라서 본 연구에서 개발한 SRY 또는 ZFY의 웅성 특이적 성 결정 유전자를 이용하는 쇠고기 성 감별기술은 생산단계는 물론 도축 후 가공 유통 판매되고 있는 모든 쇠고기의 암수 성감별을 위한 유용한 DNA 표지인자로 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

이 논문은 2006학년도 상지대학교 교내 연구비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Aasen, E. and Medrano, J. F. (1990) Amplification of the

- ZFY and ZFX genes for sex identification in humans, cattle, sheep and goats. *Bio/technology* **8**, 1279-1281.
2. Angelo, M. and Moreira, M. (2002) SRY evolution in Cebidae (Platyrrhini: Primates). *J. Mol. Evol.* **55**, 92-103.
3. Bondioli, K. R., Ellis, S. B., Pryor, J. H., Williams, M. W., and Harpoid M. M. (1989) The use of male-specific chromosomal DNA fragments to determine the sex of bovine preimplantation embryos. *Theriogenology* **31**, 95-104.
4. Cho, I. C., Kang, S. Y., Lee, S. S., Choi, Y. L., Ko, M. S., Oh, M. Y., and Han, S. H. (2005) Molecular sexing using SRY and genes in pigs. *J. Anim. Sci. Technol.* **47**, 317-324.
5. Clawson, M. L., Heaton, M. P., Fox, J. M., Chitko-McKown, C. G., Smith, T. P. L., and Kaegreid, W. W. (2004) Male-specific SRY and ZFY haplotypes in US beef cattle. *Anim. Genet.* **35**, 245-264.
6. Graves, J. A. and Westerman, M. (2002) Marsupial genetics and genomics. *Trends. Genet.* **18**, 517-521.
7. Hwang, Y. S., Han, Y. M., Lee, C. S., Kim, S. G., and Lee, K. G. (1995) Sex determination of bovine embryos by polymerase chain reaction. *Korean J. Anim. Reprod.* **18**, 275-284.
8. Itagaki, Y., Sato, S., Shitanaka, Y., Kudo, T., Yamaguchi, Y., and Sutou, S. (1993) Sexing of bovine embryos with male-specific repetitive DNA by polymerase chain reaction: Sexing of bovine embryos and production of calves of with predicted sex. *J. Reprod. Dev.* **39**, 65-72.
9. Kageyama, S., Moriyasu, S., Tabata, T., and Chikuni, K. (1992) Amplification and sequence analysis of SRY (sex-determining region Y) conserved region of domestic animals using polymerase chain reaction. *Anim. Sci. Technol. (Jpn)* **63**, 1059-1065.
10. Kim, D. J., Cheon, Y. H., Jang, A. R., Lee, S. O., Min, J. S., and Lee, M. (2002) Determination of Physico-chemical properties and quality attributes of Hanwoo beef with grade and sex. *J. Anim. Sci. Technol.* **44**, 599-606.
11. Kobayashi, J., Sekimoto, A., Uchida, H., Wada, T., Sasaki, K., Sasada, H., Umezumi, M., and Sato, E. (1998) Rapid detection of male-specific DNA sequence in bovine embryos using fluorescence in situ hybridization. *Mol. Reprod. Dev.* **51**, 390-394.
12. Kudo, T., Sato, S., and Sutou, S. (1993) Sexing of bovine embryos using male-specific repetitive DNA by polymerase chain reaction. I. Cloning and characterization of bovine male-specific repetitive DNA. *J. Reprod. Dev.* **39**, 55-63.
13. Lee, J. M., Park, B. Y., Cho, S. H., Kim, J. H., Yoo, Y. M., Chae, H. S., and Choi, Y. I. (2005) Analysis of carcass quality grade components and chemico-physical and sensory traits of M. longissimus dorsi in Hanwoo. *J. Anim. Sci. Technol.* **46**, 833-840.
14. Liu, W. S., Mariani, P., Beattie, C. W., Alexander, L. J., and Ponce De Leon, F. A. (2002) A radiation hybrid map for the bovine Y Chromosome. *Mamm. Genome* **13**, 320-326.
15. Miller, S. A., Dykes, D. D., and Polesky, H. F. (1988) A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.* **16**, 1215.
16. Miller, J. R. and Koopman, M. (1990) Isolation and characterization of two-male specific DNA fragment from the

- bovine gene. *Anim. Genet.* **21**, 77-87.
17. Nagai, K. (2001) Molecular evolution of SRY and SOX gene. *Gene* **270**, 161-169.
 18. Park, J. H., Lee, K. H., Choi, K. M., Joung, S. Y., Kim, J. Y., Chung, G. H., Jin, D. I., and Im, K. S. (2001) Rapid sexing of preimplantation bovine embryo using consecutive and multiplex polymerase chain reaction(PCR) with biopsied single blastomere. *Theriogenology* **55**, 1843-1853.
 19. Park, G. B., Moon, S. S., Ko, Y. D., Ha, J. K., Lee, J. G., Chang, H. H., and Joo, T. (2002) Influence of slaughter weight and sex on yield and quality grades of Hanwoo (Korean native cattle) carcasses. *J. Anim. Sci.* **80**, 129-136.
 20. Tucker, P. K., Adkins, R. M., and Rest, J. S. (2003) Differential rates of evolution for the ZFY-related zinc finger genes, Zfy, Zfx, and Zfa in the mouse genus. *Mus. Mol. Biol. Evol.* **20**, 999-1005.
 21. Xiao, C., Tsuchiya, K., and Sutou, S. (1998) Cloning and mapping of bovine ZFX gene to the long arm of the X-chromosome (Xq34) and homologous mapping of ZFY gene to the distal region of the short arm of the bovine (Yp13), ovine (Yp12-p13), and caprine (Yp12-p13) Y chromosome. *Mamm. Genome* **9**, 125-130.
 22. 축산물등급판정소 (2005) 축산물 등급판정 통계. 소도체 등급 판정자료.
-
- (2006. 12. 1. 접수/2007. 6. 20. 채택)