

# 소 *MC1R* 우성흑모색 대립인자를 구분하는 변형 프라이머를 이용한 소 품종들의 유전자형 분포 분석

한상현\* · 김영훈\*\* · 조인철\* · 장병귀\* · 고문석\* · 정하연\* · 이성수\*

농촌진흥청 국립축산과학원\*, 제주특별자치도 축산진흥원\*\*

## Analysis of the Genotype Distribution in Cattle Breeds Using a Double Mismatched Primer Set that Discriminates the *MC1R* Dominant Black Allele

Sang-Hyun Han\*, Young-Hoon Kim\*\*, In-Cheol Cho\*, Byoung-Gui Jang\*, Moon-Suck Ko\*, Ha-Yeon Jung\* and Sung-Soo Lee\*

National Institute of Animal Science, RDA, Jeju 690-150, Korea\*,

Institute for Livestock Promotion, Jeju Special Self-governing Province, Jeju 690-802\*\*

### ABSTRACT

With a double mismatch primer set designed for amplifying the modified DNA sequence fragments, bovine *melanocortin-1 receptor (MC1R)* gene encoded in *Extension* locus which plays a critical role in coat color development was analyzed using polymerase chain reaction mediated restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). Amplified PCR fragments were successfully discriminated with combining the *MspI*- and *AluI*-RFLP into three major alleles ( $E^D$ ,  $E^+$ , and  $e$ ), directly related to bovine coat color phenotypes. The genotyping results showed that Jeju black cattle contained three *MC1R* alleles, but yellowish-red colored Hanwoo and bridle colored Korean Brindle cattle did not contained the dominant black allele  $E^D$ . However, two dominant black-colored cattle breeds, Holstein and Angus, contained the  $E^D$  allele over 96% in frequency. Hanwoo×Holstein  $F_1$  and Hanwoo×Angus  $F_1$  crossbred calves showed  $E^D/e$  *MC1R* genotypes, and uniformly black coat color. the results suggested that this *MC1R* genotyping method be useful in allele discrimination for bovine *MC1R* gene which used for breed classification and characterization, as one of the important genetic markers, using combination of *MspI*- and *AluI*-RFLP for modified PCR product amplified with a newly designed double mismatch primer set.

(**Key words** : Cattle breed, *MC1R*, Black coat color, Mismatch primer, Genotyping)

### I. 서 론

포유동물의 모색은 멜라닌의 유형과 이를 포함하는 melanocyte의 분화 및 이동, 분포 양상에 따라 결정되어 진다. 소의 모색은 품종의

특징을 나타내는 중요한 형질 중 하나로 품종 식별을 위해 이용되는 대표적인 질적 형질 중 하나이다. 우리나라의 재래 소 품종들 역시 모색을 중심으로 황갈색의 한우, 호반무늬를 나타내는 칩소, 흑모색의 흑우 등으로 구분되고

Corresponding author : Sung-Soo Lee, Jeju Sub-station, National Institute of Animal Science, RDA, San 175-6 Odeung-dong, Jeju, Jeju 690-150, Korea  
Tel : 82-64-754-5710, Fax : 82-64-754-5713, E-mail : lee6470@rda.go.kr

있다.

포유동물의 모색은 두 가지 색소, 즉 eumelanin (black/brown)과 pheomelanin (yellow/red)의 분포에 따라 결정되며 이들의 발현은 *Extension* (*E*)와 *Agouti* (*A*) 좌위에 의해 주로 조절된다. 다양한 소 품종에서 *E* 좌위에 암호화되어 있는 *MC1R* 유전자형에 대한 연구가 보고되었다. 우성 흑모색은 우성유전자형인  $E^D$ 에 의해 발현되고, 적색 또는 황갈색은 염기결실에 의한 frameshift mutation인 *e*가 열성동형접합에서 출현한다. 또한 야생형인  $E^+$ 는 여러 가지 모색으로 발현되는 것으로 보고되었다(Klungland 등, 1995; 이 등, 2000; Rouzaud 등, 2000).

제주흑우는 한우의 황모색과는 확연히 구분되는 흑모색을 나타내는 특성을 보이나, 개체나 성장단계에 따라 농도의 차가 관찰되기도 하고, 불분명한 호피문 또는 갈흑색의 모색이 관찰되기도 한다. 반면 외래품종인 Holstein이나 Angus는 제주흑우에 비해 더 짙고 균일한 흑색을 나타내며 *MC1R*의 유전자형은  $E^D$  대립인자의 비율이 월등히 높으며, 한우와 같이 frameshift mutation에 의해 열성동형상태에서 적모색 Holstein이 출현하기도 하는 것으로 알려져 있다(Jeorg 등, 1996). 흑모색이 주인 제주흑우의 *MC1R* 유전자형은 세 가지 대립인자  $E^D$ ,  $E^+$ , *e*에 의한 총 6가지로 구분되었으나,  $E^D$  대립인자는 제주흑우와 근연인 한우, 철소, 갈모화우에서 전혀 관찰되지 않기 때문에 외래 품종(Holstein 혹은 Angus)과의 교잡에 형성된 것이며, 야생형 대립인자인  $E^+$ 가 제주흑우 *MC1R* 유전자의 기본형인 것으로 추정하고 있다(이 등, 2000).

소 *MC1R* 유전자의 genotyping은 중합효소연쇄반응 산물에 대한 제한절편길이다형 (polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP)에 의한 방법이 고안되었다. 최근 우리나라에서는 한우와 수입육을 판별하기 위해 *MC1R* 유전자의 다형성을 경제적이고 신속하게 검출하기 위한 실험기법들이

개발되고 있다. 한우와 수입육의 판별인 경우 한우에서 *MC1R e/e* 동형접합자를 확인하는 염기결실 돌연변이의 확인은 *MspI* (인지서열 5'-GGCC-3')이나 isoschizomer들에 의해 확인이 용이하며, real-time PCR 등을 이용한 방법들이 이용되고 있다. 반면, *MC1R*의  $E^D$  allele의 확인은 g.296T>C에 의해 아미노산이 치환된(leucine > valine)형태로, 다형성의 확인을 위해서는 현재까지 두 가지 제한효소, *AciI* (5'-CCGC-3') 또는 *MspAII* (5'-CMGCKG-3')를 이용하고 있다(Rouzaud 등, 2000; 이 등, 2000; 김 등, 2000; 박 등, 2005; Sasazaki 등, 2005; Gan 등, 2007; 도 등, 2007). 하지만 *AciI* 제한효소의 경우 유전자 증폭시 이용되는 PCR 반응액에 의해 제한절단 활성이 저해되어 PCR 산물을 정제하여 사용해야 하며, 서열 내에 *AciI* 인지부위가 많아 전기영동시 고농도의 gel을 활용해야하는 단점을 가지고 있다. 반면 *MspAII*의 경우 *AciI* 제한효소가 갖는 문제점은 해결되나 인지서열에서 ambiguous code들 (M, K)이 출현하는 단점이 있다. 이에 제주흑우를 비롯한 우리나라의 재래 소 품종들과 외래 소품의 구분에 있어 매우 중요한 유전자 표지인자로 이용되고 있는 *MC1R* 유전자에서 야생형 대립인자인  $E^+$ 와 Angus나 Holstein 등 외래품종에서 유래한 우성 흑모색 대립인자  $E^D$ 를 명확히 구분해 낼 수 있는 실험기법을 고안하여 제주흑우를 포함한 여러 소 품종들에서 유전자형의 빈도와 분포를 구명하고자 본 연구를 수행하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 공시동물과 DNA 추출

본 연구에 이용된 시료는 제주흑우 201두를 제주특별자치도 축산진흥원과 농촌진흥청 국립축산과학원 제주출장소에서 전혈을 채혈하거나 DNA 상태로 분양받았다. 한우 235두는 국립축산과학원과 상기 두 기관에서 채혈하여 DNA

분리에 이용하였다. 외래 품종 중 *MC1R* 유전자의 우성 흑모색대립인자  $E^D$ 의 빈도가 매우 높은 것으로 알려진 Holstein 107 두와 적모색과 흰색반점의 Red Holstein 3 두, 진신 흑모색 Angus 10 두, 한우×Holstein의  $F_1$  48 두, 한우×Angus의  $F_1$  4 두의 혈액 또는 동결정액을 제주 도내 사육농가와 농협 우유개량사업소에서 수집하였다. 혈액에서 DNA 분리는 Birren 등 (1997)의 방법을 변형하여 수행하였다. 경정맥에서 채취한 전혈을 red cell lysis solution을 이용하여 적혈구를 용해한 후, 회수한 백혈구에 sucrose-proteinase K nuclei lysis buffer를 첨가하고 55°C에서 over-night 진탕하였다. 동결정액에서 DNA 추출을 위해 1 mM EDTA/0.9% NaCl 용액으로 희석한 후 원심분리하여 동결보존액을 제거하였다. 침강된 정자세포를 Phosphate-buffered saline에 재현탁하고 0.5% SDS/ proteinase K (10 mg/ml) 용액을 첨가하여 55°C 진탕항온수조에서 overnight 반응하여 단백질을 제거하였다. 각각의 추출액에 RNase를 처리하고 phenol-chloroform을 이용하여 단백질을 분리 제거한 후, ethanol 침전법으로 DNA를 회수하여 TE buffer에 용해하였다. 준비한 DNA 용액은 NanoDrop ND-1000 spectrophotometer (NanoDrop Technologies, USA)로 흡광도를 측정 한 후  $A_{260}/A_{280}$  1.8 이상인 DNA 용액들을 50-60 ng/ $\mu$ l로 희석하여 PCR 증폭을 위한 주형으로 이용하였다.

## 2. 이중 mismatch primer의 제작

소 *MC1R* 유전자형의 분석을 위해 기존에 보고된 서열 (AF445641)을 이용하여  $E^D$ ,  $E^+$ ,  $e$ 에 해당하는 염기변이 부분을 포함하는 절편을 증폭하기 위한 primer 쌍을 제작하였다. 우성 흑모색대립인자형인 *MC1R*  $E^D$  (g.296C) 유전자형의 검출을 위해 기존의 분석법에서 *AciI*과 *MspA1I*의 제한절단 부위에 해당하는 염기서열에서 *MC1R* g.293T를 A로 변환하여 제한효소

*AluI* (5'-AGCT-3')의 인지서열로 이용할 수 있는 mismatch primer bMC1RmF (5'-TGG TGA GCG TCA GCA ACG TGC TGG AGA CGG CAG TCA aG-3')을 37번째 염기 T를 A로 변환하여 제작하였고, bMC1RmF와 쌍을 이루며 PCR 반응에 이용한 primer bMC1RmR (bMC1mR; 5'-TG ATC CGC ACA TGA GCA CGT CGA TGA CAT TGT CCA aC-3') 또한 기존 *MC1R* 유전자에서 출현하는 *AluI* 제한효소 인지부위를 제거하기 위한 37번째 염기 G를 A로 변환한 이중 mismatch primer 쌍을 제작하였다 (Fig. 1).

## 3. PCR 증폭과 *MC1R* 유전자형 결정

유전자형 결정을 위한 PCR 반응은 10×반응 완충액, 20 mM dNTP, 각각 200 mM primer, 1.5 units *i-Taq* DNA polymerase (Intron Biotechnology, Korea)와 50-60 ng genomic DNA 용액에 멸균한 탈이온수를 첨가하고, PTC-200 (MJ Research, USA)을 이용하여 95°C 3분 초기변성 후, 94°C-30초, 65°C-45초, 72°C-45초로 구성된 연쇄반응을 35회 반복한 후 72°C에서 5분간 최종 신장하였다. *MC1R* 296T>C의 결정은 *AluI*, 311delG (e)는 *MspI* 제한효소로 공급자의 manual을 따라 37°C에서 overnight 처리한 후 2.5% agarose gel 상에서 전개하여 판독하였다.

## 4. 염기서열 결정과 data 분석

이중 mismatch primer 쌍으로 증폭된 PCR 산물의 염기서열 결정을 위해 PCR 산물을 Agarose Gel DNA Extraction Kit (Roche, Germany)로 정제하고 ET dye-termination sequencing kit (Amersham Pharmacia, USA) 반응 후 MegaBase1000 (Amersham Pharmacia, USA)을 이용하여 확인하였다. 염기변이 확인은 본 연구에서 결정된 서열들과 기존에 GenBank database에 등록된 소 *MC1R* 유전자 서열들(NM\_174108, EU169232-4, AF445641-2)과 다중정렬하여 비교하였다 (Fig. 1).

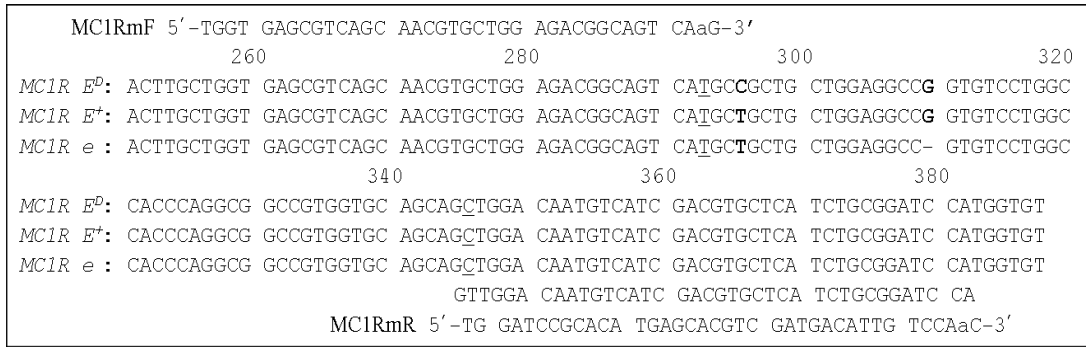


Fig. 1. Sequence alignment of three *MC1R* alleles and nucleotide sequences of the mismatch primers used in this study. Bold letters indicate polymorphic nucleotides corresponding to g.296T>C and g.310delG, respectively. Underlined letters are modification target nucleotides for mismatch primers. Small letters are mismatched sequences of modified primers.

### III. 결과 및 고찰

소의 모색 발현에 결정적인 역할을 수행하는 *MC1R* 유전자형을 변형된 염기서열이 증폭하게 짜여진 이중 mismatch primer 쌍을 이용하여 증폭한 후 RFLP 방법으로 분석하였다. 제주흑우와 흰소, 한우를 포함한 소 5 품종, 한우×Holstein F<sub>1</sub>, 한우×Angus F<sub>1</sub>에서 *MC1R*의

g.296T>C와 g.310delG에 의해 형성된 *Extension* 좌위의 세 가지 대립인자 *E<sup>D</sup>*, *E<sup>+</sup>*, *e*가 모두 검출되었다 (Fig. 2). 기존의 연구 보고에서 *AciI*이나 *MspA1I*에 의해 구분되었던 *MC1R* 296C (*E<sup>D</sup>*)와 296T (*E<sup>+</sup>* 또는 *e*)는 mismatch priming에 의해 증폭된 PCR 산물에 대한 *AluI*-RFLP를 통해 성공적으로 구분되었고 (Fig. 2A), 열성 대립인자 인 *e* 역시 *MspI*-RFLP에 의해 *E<sup>D</sup>*, *E<sup>+</sup>* 등과 구분

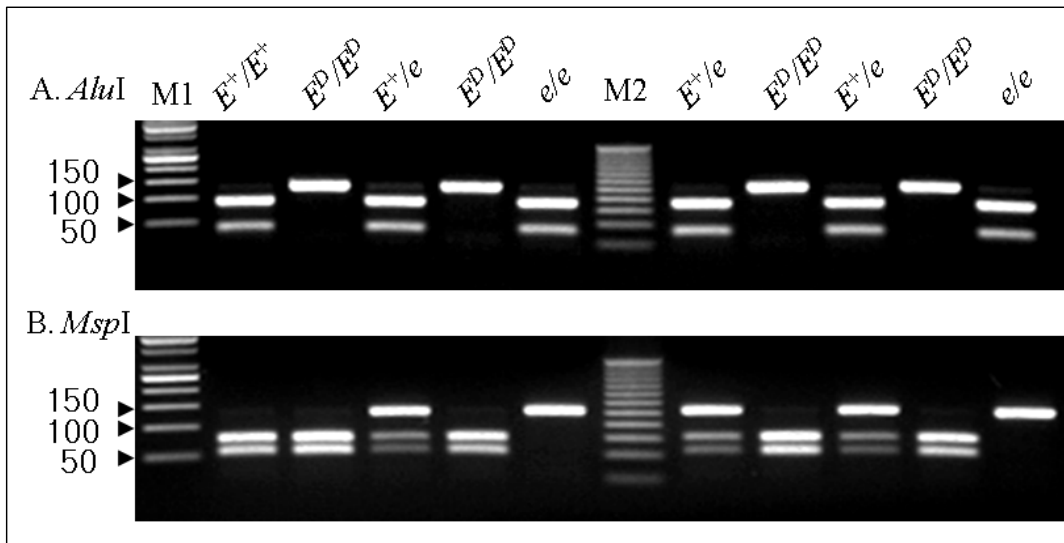


Fig. 2. Genotyping of three alleles for *MC1R* gene using the modified mismatch primer set designed in this study. PCR products were digested by *AluI* (A) and *MspI* (B). Digested fragments were separated on 2.5% agarose gels with two molecular markers (M1 and M2 are 50-bp and 100-bp DNA ladder, respectively).

되었다 (Fig. 2B). Table 1은 조사에 이용한 소 품종별 *MC1R* 유전자형의 분포와 품종 내 빈도를 나타낸 것이다.

분석결과 조사에 이용한 5 품종에서 모두 기존의 연구와 유사한 결과를 보였다. 먼저 한우에서 가장 높은 빈도를 차지하는 열성대립인자 *e*는 해당하는 *MC1R* g.310delG 염기결실은 전신 흑색인 Angus를 제외한 모든 품종에서 관찰되었다. 반면, *e/e* 동형접합자는 황색인 한우 품종과 모색이 적-백 얼룩인 Red Holstein 2두에서만 관찰되었고, Red Holstein 중 1두는  $E^+/e$ 의 *MC1R* 유전자형을 나타내었다. 흑-백 얼룩인 Black Holstein은  $E^D/-$  형태로  $E^D/E^D$ 가 대부분이며  $E^D/E^+$ 와  $E^D/e$ 는 각각 1두에서만 확인되었다. 황색 한우와 1대 교잡 ( $F_1$ )에서는 한우 × Holstein  $F_1$ 과 한우 × Angus  $F_1$ 에서 모두  $E^D/e$ 만 확인되었으며, 이들의 모색은 얼굴이나 등 부위에 얼룩이 없는 흑색을 나타내었다.

유전자분석기법의 도입은 범인식별, 친자감별뿐만 아니라 학술적 연구에서도 data의 정확성이 매우 중대하게 다루어져야 하며, 분석과정 역시 신속성과 경제성이 동시에 요구된다. 축산업에 있어 품종의 식별은 다양한 분야에서 요구되는 필수조건이며, 그 중 우리나라에서 중요 경제축종으로 다루어지는 한우는 유통과정에서 타 품종과의 정확한 식별은 유통구조의

확립과 농가소득 보존의 전제조건이 되고 있다. 현재까지 유전자 수준의 다형성을 이용하여 한우와 수입육, 특히 젖소에 대한 품종구분을 수행하고자하는 다양한 연구 결과들이 보고되었다.

핵산지문법을 이용한 한우 판별이 시도된 이래 (이 등, 1994; 이와 오, 1995), 한우와 수입육의 식별을 위한 유전자 분석은 다양한 방법으로 전개되어왔다. 이 등 (2000)이 한우를 포함한 제주흑우, 일본화우 등에서 모색과 연관된 유전자인 *MC1R*의 유전자형의 보고에서 한우와 젖소육의 구분가능성을 제시한 이래, 한우와 수입육 구분은 황모색 한우의 유전자형과 우성 흑모색인 Holstein, Angus 등과의 구분에 초점이 맞추어져왔다. 정 등 (2000)은 한우와 Angus, Holstein, Hereford, Charolais 등에 대한 *MC1R* RFLP 연구에서 *MC1R*310delG의 확인을 통한 한우와 수입육의 판별 가능성을 제기하였고, 김 등 (2000)이 한우를 포함한 Brown Swiss, Limousin, Simmental 등의 황모색 소 품종과 흑모색 품종, 수입육에 대한 연구에서 *MC1R* 열성대립인자의 동형접합체의 빈도가 한우 품종에서 가장 높은 빈도를 갖는 것으로 보고하였다. 이는 비슷한 황모색을 보이는 외국 소 품종들보다 더 높은 빈도였으며, 이를 바탕으로 한우와 타 품종의 구분에 있어 *MC1R* 유전자형

Table 1. Genotype and allele frequencies of *MC1R* gene in cattle breeds

Breed	No. of animals	Genotype						Allele		
		$E^D/E^D$	$E^D/E^+$	$E^D/e$	$E^+/E^+$	$E^+/e$	$e/e$	$E^D$	$E^+$	$e$
Hanwoo	235	—	—	—	—	20	215	0.000	0.043	0.957
Jeju Black cattle	201	—	43	12	68	78	—	0.137	0.639	0.224
Korean Brindle cattle	17	—	—	—	4	13	—	0.000	0.618	0.382
Holstein	110	105	1	1	—	1*	2*	0.964	0.009	0.027
Angus	10	10	—	—	—	—	—	1.000	0.000	0.000
Hanwoo×Holstein $F_1$	48	—	—	48	—	—	—	0.500	0.000	0.500
Hanwoo×Angus $F_1$	4	—	—	4	—	—	—	0.500	0.000	0.500

Numbers in parentheses indicate the numbers of allele or animal detected.

\* showed red coat color with white spots but not black hairs.

의 확인은 품종식별을 위한 유전자 분석의 출발점이 되고 있다. 정 등 (2001)은 *MC1R* 유전자의 증폭산물을 *MspI*으로 제한 절단한 후 single stranded conformation polymorphism 방식으로 확인하는 방식을 제안하였고, 김 등 (2004)는 *MC1R* g.310delG와 선별적으로 결합하는 3'-tailed primer를 이용한 흑모색 소 품종 대비 한우 판별법을 제안하였다. 박 등 (2005)은 PCR 증폭과정에서 대립인자-특이적인 탐침의 부착 여부에 따라 판독하는 real-time PCR 기법을 소개하였으며, 김과 이 (2005)는 역시 *MC1R* g.310delG에 대한 RFLP를 통하여 한우, Holstein, 한우×Holstein의 교잡 F<sub>1</sub>인 먹우의 구분이 가능함을 제시하였고, 고 (2005)는 *MC1R* 유전자에서 multiplex PCR을 이용한 한우육과 젓소육의 구분을 소개하였다. 하지만, *MC1R* 유전자형의 분석은 모색과 연관된 유전자라는 차원에서는 높은 신뢰성을 나타내지만 한우의 일부에서 *MC1R* E<sup>+</sup>/e인 이형접합자의 존재가 보고되었으며, 일본의 화우와 중국의 소 재래소 품종에서도 유사한 결과가 확인되어 (이 등, 2000, 2002; 김 등, 2000; 정 등, 2000, 2001; Sasazaki 등, 2005; Gan 등, 2007), 단일 유전자 분석을 통한 품종 식별에는 어느 정도의 위험이 따른다고 하겠다. 이를 보완하기 위해 유전체 상에 많이 산재되어 있는 microsatellite에 대한 유전자 분석법의 도입이나 한우 특이 SNP를 발굴하여 분석체계 내로 도입되어야 할 것으로 사료된다.

한우 (*MC1R* e/e)와는 달리 제주흑우와 칠킨소는 E<sup>-</sup>/-가 가장 많은 빈도를 나타내어 SNP 차원에서 볼 때 열성 황모색대립인자 e 뿐만 아니라 야생형 대립인자 E<sup>+</sup>와 우성 흑모색대립인자 E<sup>D</sup>에 대한 식별이 무엇보다도 중요한 선결 조건임을 보여주고 있다. 제주흑우의 경우 연구보고에서 낮은 빈도이긴 하나 E<sup>D</sup>가 출현하며 이는 Holstein, Angus 등 외국 소 품종과의 교잡에 의해 유입된 것으로 추정하고 있으며 점진적으로 제거해야 할 것으로 제안되었다 (이

등, 2000). 본 연구에서 분석한 결과에서도 제주흑우에서 아직까지 E<sup>D</sup>/-를 보유한 개체들이 다소 확인되었으며, 개체의 이력을 추적한 결과, 과거 후보축 수집과정에서 유입된 경우와 그들의 직계후손에서 출현함으로 알 수 있었다. 대립인자 E<sup>D</sup>의 빈도는 과거에 비해 많이 감소되어 있음을 확인할 수 있었으나, 품종의 특성을 명확히 유지하기 위해서 E<sup>D</sup> 보유 개체의 제거가 빠른 시일 내에 완료되어야 할 것으로 사료된다. 칠킨소는 제주흑우, 한우와는 달리 이형접합자인 E<sup>+</sup>/e가 기본형이며, E<sup>+</sup>/E<sup>+</sup> 개체 역시 보고되었다 (이 등, 2002). 현재의 칠킨소 계통 내에 Holstein이나 Angus 등의 E<sup>D</sup> 대립인자형이 유입되지 않았다는 점에서 다행스러운 결과라 할 것이며, 향후 E<sup>D</sup> 유전자형의 유입을 차단하는 것은 중요한 과제가 될 것으로 사료된다.

기존에 보고된 *MC1R* 유전자의 E<sup>D</sup> 유전자형과 E<sup>+</sup> 유전자형의 구별 방법 중 해당 염기변이 서열을 직접 확인하는 방법으로는 제한효소 *AciI*과 *MspAII*을 이용한 PCR-RFLP 방식이 보편적으로 이용되고 있다. 연구보고들에서 *AciI*-RFLP에서는 PCR 반응액에 의한 영향을 받아 추후 정제과정을 거쳐야 한다는 점 (Sasazaki 등, 2005)과 *MC1R* 유전자 서열 내에서 다소 많은 인지부위를 포함하고 있어 해석상의 오류가 발생할 수 있다. 또한 *MspAII*-RFLP는 인지 서열 중 두 개의 ambiguous code (M=A 또는 C, K=G 또는 T)가 있어 해당부위에서 제한절단에 영향을 줄 수 있는 또 다른 염기변이에 의한 오류 요인이 잠재되어 있다. 비록 현재까지는 해당부위에 변이보고는 다행히 없으나 그 가능성을 완전히 배제할 수 없다. E<sup>D</sup>와 E<sup>+</sup>를 구분하는 g.296T>C가 ambiguous code상에 존재하기 때문에 보다 명확한 분석법의 도입이 필요하다고 하겠다. 이외에도 유전자형의 분석을 위해 제한효소 구매와 고농도의 gel 제조와 확인에 소요되는 경제적 측면도 무시할 수 없다. 뿐만 아니라, PCR-RFLP 방식은 분자유전학과 관련

한 연구실에 보편적으로 보급되어 있는 일반적인 PCR 기기와 간단한 agarose gel 전기영동 장치만으로 확인할 수 있어 고가의 특수장비 없이 분석할 수 있는 효율성을 함께 고려한다면, 본 연구에서 고안한 이중 mismatch primer 쌍의 활용을 통한 *AluI*-RFLP 분석법은 현재 소의 품종 특성 규명과 품종 식별에서 가장 중요한 유전자 중 하나인 *MC1R* 유전자의 세 가지 대립인자를 식별하는 데 유용한 실험기법이 될 것이며, 품종 식별을 위한 자료 제공에 효율적으로 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

#### IV. 요약

소의 모색 발현에 결정적인 역할을 수행하며 Extension 좌위에 암호화되어 있는 *melanocortin-1 receptor (MC1R)* 유전자형을 변형된 염기서열이 증폭되게 제작된 이중 mismatch primer 쌍을 이용하여 PCR-RFLP 방법으로 분석하였다. 증폭된 PCR 절편들은 *MC1R* 유전자에서 모색 표현형과 직접적으로 연관되어 있어 중요하게 다루어지고 있는 세 가지 대립인자들 ( $E^D$ ,  $E^+$ ,  $e$ )로 *MspI*-과 *AluI*-RFLP에 의해 성공적으로 구분되었다. *MC1R* 유전자형의 분포를 조사한 결과 제주흑우는 세 가지 대립인자가 모두 출현하였고, 황-적모색의 한우와 호피문의 칙소에서는 흑모색우성 대립인자  $E^D$ 가 출현하지 않았다. 반면, 우성흑모색으로 알려진 두 소 품종 Holstein과 Angus는  $E^D$  대립인자의 빈도가 96% 이상으로 조사되었다. 한우×Holstein F<sub>1</sub>과 한우×Angus F<sub>1</sub>은 모두  $E^D/e$ 의 유전자형을 나타내었고, 표현형은 전신 흑색으로 확인되었다. 본 연구에서 고안한 이중 mismatch primer 쌍을 이용한 *MC1R* 유전자 증폭 절편에 대한 *MspI*-과 *AluI*-RFLP 조합은 소의 품종 특성 규명과 품종 식별에서 매우 중요한 유전자 표지인자 중 하나인 *MC1R* 유전자의 세 가지 대립인자를 식별하는 데 유용한 실험기법이 될 것으로 사료된다.

#### V. 사 사

본 연구는 2008년도 농촌진흥청 박사후연수 과정지원사업에 의해 이루어진 것이며 연구비 지원에 감사드립니다.

#### VI. 인용 문헌

1. Gan, H., Li, J., Wang, H., Gao, Y., Liu, W., Li J. and Zhong, J. 2007. Allele frequencies of TYR and *MC1R* in Chinese native cattle. *Anim. Sci. J.* 78:484-488.
2. Joerg, H., Fries, H. R., Meijerink, E. and Stranzinger, G. F. 1996. Red coat color in Holstein cattle is associated with a deletion in the *MSHR* gene. *Mamm. Genome* 7(4):317-318.
3. Klungland, H., Vage, D. I., Gomez-Raya, L., Adalsteinsson, S. and Lien, S. 1995. The role of melanocyte-stimulating hormone (MSH) receptor in bovine coat color determination. *Mamm. Genome* 6: 636-639.
4. Rouzaud, F., Martin, J., Gallet, P. F., Delourme, D., Goulemot-Leger, V., Amigues, Y., Ménissier, F., Levéziel, H., Julien, R. and Oulmouden, A. 2000. A first genotyping assay of French cattle breeds based on a new allele of the extension gene encoding the melanocortin-1 receptor (*Mcl1r*). *Genet. Sel. Evol.* 32(5):511-20.
5. Sasazaki, S., Usui, M., Mannen, H., Hiura, C. and Tsuji, S. 2005. Allele frequencies of the extension locus encoding the melanocortin-1 receptor in Japanese and Korean cattle. *Anim. Sci. J.* 76: 129-132.
6. 고바라다. 2005. Multiplex allele specific PCR 방법을 이용한 한우고기와 젖소고기의 신속한 판별. *대한수의학회지* 45(3): 351-357.
7. 김태중, 이재일. 2005. *MC1R* 유전자의 PCR-RFLP를 이용한 한우육과 젖소육/black Angus 수 입육의 구분. *대한수의학회지* 45(3):335-339.
8. 김태현, 윤두학, 박응우, 이해영, 오성중, 정일정, 탁태영, 김경남, 한재용. 2000. 소 품종별 Melanocortin Receptor 1 (*MC1R*) 유전자의 유전자

- 형 빈도에 관한 연구. 한국동물자원과학회지 42: 735-744.
9. 도경탁, 신희영, 이종혁, 김내수, 박응우, 김관석. 2007. 한우에서의 모색관련 유전자 변이에 관한 연구. 한국동물자원과학회지. 49(6):711-718.
  10. 박성도, 김태중, 이재일. 2005. 모 모색관련 *MC1R* 유전자의 SNP와 관련한 MGB probe에 기초한 real-time PCR을 이용한 한우육과 Holstein 육의 판별. 대한수의학회지. 45(1):25-28.
  11. 이창수, 오홍록. 1995. PCR법을 이용한 쇠고기의 성판별과 근육부위별 한우와 젃소의 DNA 다형성 분석. 한국축산식품학회지 15(1):26-30.
  12. 이창수, 유영복, 나기준, 조병대, 최병규. 1994. 핵산지문법에 의한 한우의 판별. 한국동물자원과학회지. 36:369-373.
  13. 이성수, 양보석, 양영훈, 고서봉, 정진관, 오운용, 오성중, 김규일. 2002. 첩소와 비경흑색 한우의 Melanocortin Receptor 1 (*MC1R*) 유전자형 분석. 한국동물자원과학회지 44(1):23-30.
  14. 이성수, 양영훈, 강승률, 오운용, 양보석, 고서봉, 오성중, 김규일. 2000. 한우, 제주재래흑우, 흑모 화우와 갈모화우에서의 MSH Receptor (*MC1R*) 유전자의 유전자형 및 빈도 분석. 한국동물자원과학회지 42(3):253-260.
  15. 정의룡, 김우태, 김연수, 한상기. 2000. 소 모색관련 유전자 *MC1R*의 PCR-RFLP Marker를 이용한 한우육 판별. 한국동물자원과학회지 42(4):379-390.
  16. 정의룡, 김우태, 김연수, 한상기. 2001. PCR-SSCP 기법을 이용한 소 *MC1R* 유전자의 다형성 분석 및 한우육 감별. 한국동물자원과학회지 43(1):45-52.
- (접수일자 : 2008. 8. 20. / 수정일자 : 2008. 10. 20. / 채택일자 : 2008. 10. 22.)