

한우 아포지단백질 E (APOE) 유전자의 SNP Marker가 육량 및 육질형질에 미치는 영향

신기현 · 신성철 · 정구용 · 정의룡*

상지대학교 생명자원과학대학 동물생명자원학부

Effects of SNP Markers of the Apolipoprotein E (APOE) Gene on Meat Quantity and Quality Traits in Korean Cattle

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

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

Abstract

Apolipoprotein E (APOE) is a plasma lipoprotein in mammals and plays an important role in the transport and metabolism of lipids such as phospholipids and triglycerides. Therefore, the APOE gene could be a candidate gene controlling lipid metabolism in beef cattle. This study was performed to identify single nucleotide polymorphisms (SNP) in the APOE gene and to investigate the effects of SNP genotype on the carcass traits such as meat quantity and quality in Korean cattle. For PCR amplification, pooled DNA made from unrelated 60 individuals was prepared and primer pairs were designed based on the cDNA sequence of exon 4 region of the bovine APOE gene. A SNP was identified at position 2034 (T/C substitution) of the exon 4 region in the APOE gene. PCR-RFLP procedure with restriction enzyme ACC I was developed for determining the SNP genotype for each of a total of 309 animals with pedigree information and performance records through the national progeny testing program. The frequencies of the genotypes TT, TC and CC were 10.9, 46.9 and 42.2%. Gene frequencies were 0.344 for T allele and 0.656 for C allele. The g.2034T>C SNP genotype showed a significant effect ($p<0.05$) on dressing percentage and meat color, respectively. Animals with the TT genotype showed higher dressing percentage than those with the CC genotype, and TT genotype had desirable meat color compared with CC genotype. These results suggest that the g.2034T>C SNP genotype of the APOE gene may be useful as a DNA marker for meat quantity index and dressing percentage in Korean cattle.

Key words : apolipoprotein E, SNP, carcass traits, meat quantity

서 론

최근 한·미 FTA 협상 타결 이후 값싼 미국산 쇠고기 수입개방에 따른 한우고기의 육량증가 및 육질고급화가 매우 중요한 과제이다. 특히, 수입 쇠고기와 품질 차별화 및 경쟁력 향상을 위해 고품질 고급육 한우고기 생산을 위한 첨단 과학기술의 활용 등 다각적인 방안이 모색되어야 한다.

소 도체의 품질은 육량 및 육질로 평가하며 육량은 도체중, 등지방두께 및 배최장근 단면적을 기초로 등급을 판

정하고 육질은 근내지방도, 육색, 지방색, 조직감 및 성숙도 등으로 판정한다(축산물등급판정소, 2004). 이 가운데 근내지방도는 쇠고기의 관능적 특성의 기준이 되는 연도, 다즙성 및 풍미 등과 깊이 관련되어 있어 고급육 생산을 위해서는 근내지방 함량을 높이는 것이 매우 중요하다고 할 수 있다. 그동안 국내외적으로 영양학적, 생리학적, 생화학적 및 면역학적 방법 등으로 근내지방 축적 향상 등 육질개선을 위한 연구가 진행된 바 있으나 최근에는 지방세포 분화 및 체지방축적 등에 관여하는 지질대사조절유전자를 탐색 발굴하고 이들 기능성 유전자를 고품질 쇠고기 생산에 응용하는 연구가 활발히 추진되고 있다(Gao *et al.*, 2007; Mullen *et al.*, 2006). 현재 가축의 지방세포분화 촉진에 중요한 역할을 담당하는 유전자로서 C/EBP α 및 PPAR γ 유전자가 잘 알려져 있고(Rosen, 2005), 지방축적

*Corresponding author : Eui Ryong Chung, Division of Animal Science and Biotechnology, 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

제어인자로서 lipoprotein lipase, lipoprotein receptor 및 leptin 등의 유전자가 보고되어져 있다(Buchanan *et al.*, 2002; Haegeman *et al.*, 2000; Zechner, 1997).

Apolipoprotein은 혈중 지질 운반체로서 기능적으로 A, B, C 및 E 4개의 주요 그룹으로 분류하고 기타 H, J 및 (a) 등도 존재한다(Tsunoda *et al.*, 2002). Apolipoprotein E(APOE)는 포유동물에서 인지질(phospholipid) 및 트리글리세리드(triglyceride)와 같은 지질과 cholesterol의 운반과 대사작용에 중요한 기능을 담당하는 혈장 지단백(plasma lipoprotein)의 주요 구성분이다(Mahley, 1988). APOE는 중 밀도 지단백과 카일로마이크론(chylomicron) 단편과 같은 특이적 지단백들의 세포내 흡수를 매개하는 세포표면 지단백 수용체들을 위한 리간드(ligand)로서 지질대사에 중추적인 역할을 수행하는 생리학적 기능이 보고되었다(Mahley, 1988). 그동안 인간의 경우 APOE 유전자의 유전적 변이체로서 SNP(single nucleotide polymorphism)을 구명하고 특정 SNP 유전자형과 혈중 cholesterol 및 triglyceride 수준 등 지질대사와의 관련성이 여러 연구자들에 의해 보고된 바 있고(Braeckman *et al.*, 1996; Muros and Rodriguez-Ferrer, 1996), 지질대사 기능 외에도 세포 성장 및 분화의 조절기능이 알려졌다(Mensenkamp *et al.*, 2001). 이처럼 APOE 유전자가 인간을 포함한 포유동물에서 지질대사 관련 주요 유전자임에도 불구하고 동물에서는 APOE 유전자의 다형성 분석 및 경제형질들과의 관련성에 관한 연구는 매우 미흡한 실정이다. 돼지에서 APOE 유전자의 분리 및 유전적 특성을 보고한 단편적인 연구결과가 있으나(Ramsoondar *et al.*, 1998) 소의 경우 아직까지 APOE 유전자에 대한 연구결과를 찾기 어렵다.

따라서 본 연구는 한우에서 포유동물의 지질대사조절 관련 후보유전자의 하나인 APOE 유전자의 단일염기다형(SNP)을 탐색 발굴하고 한우의 주요 경제형질인 육량 및 육질에 미치는 영향을 분석하여 고급육 한우생산에 활용 가능한 APOE 유전자의 DNA marker를 개발하고자 수행하였다.

재료 및 방법

공시재료

본 연구에서 사용한 공시재료는 국가 후대검정사업을 통하여 혈통과 도체성적이 확보된 후대검정우 총 309두의 혈액을 채취하여 공시재료로 사용하였다. 후대검정축은 거세우로서 27개월령에 도축하였고 검정성적 조사항목은 생체중, 도체중, 도체율, 등지방두께, 배최장근단면적, 근내지방도, 육색, 지방색, 조직감, 성숙도, 육량 및 육질등급 등 13개 항목에 대하여 실시하였다. 한편, APOE 유전자의 SNP와 연관성 분석을 위해 이들 검정성적 가운데 주요 경제형질로서 육량형질은 도체중, 도체율, 등지방두께 및 배최장근단면적 그리고 육질형질은 근내지방도(마블링),

육색, 지방색 및 조직감에 관한 측정치를 이용하였다.

실험방법

Genomic DNA의 분리 및 정제

각 공시축의 혈액시료로부터 genomic DNA의 추출 및 정제는 NaCl 침전법(Miller *et al.*, 1988)을 일부 변경하여 실시한 후 추출한 DNA는 완충용액(10 mM Tris-HCl pH 7.4, 1 mM EDTA)에 용해하였다. 분리한 DNA는 아가로즈 젤 전기영동으로 DNA를 확인하였고 DNA 농도는 분광광도계를 이용하여 260 nm의 UV 흡착에 의해 측정하여 확인하였다.

APOE 유전자의 primer 설계 및 합성

한우 APOE 유전자의 SNP 영역을 탐색하기 위하여 NCBI GenBank(BC102620)에 등록된 bovine APOE exon 4 염기서열 정보를 이용하여 이 영역을 포함하는 317에서 876 번째 염기서열 부위를 포함하는 560 bp 단편을 증폭하기 위한 primer를 설계 합성하였으며, 이들 primer 쌍의 염기서열 정보는 Table 1에 제시한 바와 같다.

APOE 유전자의 PCR 증폭

한우 APOE 유전자의 SNP 발굴을 위해 혈연관계가 없는 60개체의 DNA를 혼합한 DNA를 제작하여 PCR 증폭을 수행하였다. 즉, APOE 유전자의 PCR 증폭을 위한 반응조건은 GeneAmp PCR System 9700(Perkin-Elmer Cetus, USA)을 이용하여 다음과 같은 조건하에서 실시하였다. 즉, 반응액은 0.2 tube에 template DNA 50 ng, Primer 각 0.5 μ M, dNTP 각 250 μ M, 10 \times PCR buffer 그리고 Taq DNA polymerase 1 unit을 첨가하여 PCR 반응액을 총 20 μ L로 조정하였다. PCR cycle은 최초 94 $^{\circ}$ C에서 5분간 예비가열 후 94 $^{\circ}$ C에서 5초, 63 $^{\circ}$ C에서 5초 그리고 72 $^{\circ}$ C에서 5초간의 cycle을 총 35회 반복한 다음 마지막으로 72 $^{\circ}$ C에서 5분간 가열하고 PCR 반응을 종료하였다.

염기서열 분석에 의한 SNP 검출

PCR 증폭산물의 확인은 2% 아가로즈젤에 전기영동하여 확인하였으며 gel에서 DNA를 회수하여 정제과정을 거쳐 분리한 template 250 ng에 primer 각 2.0 pmol, BigDye Terminator 를 첨가하여 멸균증류수를 이용하여 총 10 μ L로 조정한 후 96 $^{\circ}$ C에서 10초, 50 $^{\circ}$ C에서 5초, 60 $^{\circ}$ C에서 4분간의 cycle로 총 25회 반응을 수행하였다. 그 후 에탄올 세척 및 침전을 통해 ABI Prism 310 DNA sequencer (Perkin-Elmer Cetus, USA)를 이용하여 염기서열 정보를 분석하였다.

PCR-RFLP 분석에 의한 SNP 유전자형 판정

염기서열 분석을 통해 검출된 APOE 유전자의 SNP 유

전자형을 결정하기 위해서 검정대상 개체별 PCR 증폭산물을 제한효소를 이용하여 절단하였다. 즉, 5 µL의 증폭산물에 *Acc I* 제한효소 1 unit을 이용하여 총 양을 10 µL로 조정해 37°C에서 3시간 이상 활성화하여 절단하고 65°C에서 20분간 불활성화시킨 후 제한효소로 절단하여 얻어진 DNA 단편을 확인하기 위해 TBE buffer(90 mM Tris-borate, 2 mM EDTA, pH 8.0)가 함유된 2.5% 아가로스겔로 전기영동 하여 분리한 후 ethidium bromide 용액으로 염색하여 UV 상에 나타난 DNA 분리 양상을 분석하여 유전자형을 판정하였다.

통계분석

공시축의 육량 및 육질 검정성적에 대한 APOE 유전자의 SNP 유전자형 효과를 추정하기 위한 통계분석은 SAS 8.1 Package/PC software(SAS, 2003)를 이용하여 PROC GLM 방법으로 통계 분석하였으며, SNP 유전자형 효과의 유의성이 나타난 형질에 대해서는 Duncan's multiple range test 의한 유전자형별 유의성 검정을 실시하였다. 통계분석에 이용한 모형은 다음과 같다.

$$Y_{ijkl} = \mu + YS_i + P_j + D_k + G_l + e_{ijkl}$$

여기서, Y_{ijkl} : 도체형질 관측치, μ : 형질의 전체평균, YS_i : 연도-계절 효과, P_j : 산차 효과, D_k : 도축일령에 대한 공변이, G_l : SNP 유전자형 효과, e_{ijkl} : 임의오차를 나타낸다.

결과 및 고찰

한우 APOE 유전자 Exon 4 영역의 SNP 분석

소의 APOE 유전자는 18번 염색체의 18q 24에 위치하

고 있으며 총 2687 bp의 염기서열을 가지며 4개의 exon과 3개의 intron으로 구성되어져 있고, 4번째 exon의 크기가 718 bp로 다른 유전자의 exon에 비해 큰 것으로 알려져 있다(Takahashi *et al.*, 2003). 본 연구에서는 NCBI GenBank (BC102620)에 등록된 *Bos taurus* APOE mRNA(cDNA clone)의 염기서열 정보를 기초로 하여 APOE 유전자의 exon 4 영역의 SNP를 탐색하기 위하여 Table 1과 같이 primer를 설계 합성하여 570 bp 크기의 DNA 단편을 증폭하였다. 즉, 혈연관계가 없는 총 60두의 한우 복합 DNA를 제작하여 PCR기법으로 증폭 후, PCR 증폭산물을 염기서열 분석한 결과 exon 4 영역의 2034번째 염기서열 부위에서 T(thymine)가 C(cytosine)로의 단일염기치환에 의해 발생된 SNP를 검출하였다(Fig. 2). 이와 같이 검출된 SNP 영역에 제한효소 *Acc I*(G[▼]TMKAC)의 인지부위가 존재하여 PCR-RFLP기법으로 후대 검정우 총 309두에 대한 검정 개체별 SNP 유전자형을 분석하였다. Fig. 1에 제시한 PCR-RFLP 전기영동분석 결과에서 보는 바와 같이 *Acc I* 제한효소 인지부위의 존재 유무에 따라 1개의 인지부위가 존재하는 C/C 유전자형은 268과 292 bp의 2개의 단편으로 절단되어 분리되었고, 2개의 인지부위가 존재하는 T/T 유전자형은 97, 195 및 268 bp의 3개의 단편으로 분리되었다. 그리고 T/C hetero 유전자형은 T와 C 대립유전자를 모두 공유하므로 97, 195, 268 및 292 bp 4개의 단편으로 분리된 양상으로 DNA band들이 출현하였다. 한편 PCR-RFLP법으로 검출된 3개 SNP 유전자형에 대하여 각각 염기서열 분석을 실시하여 염기치환의 일치여부를 확인하였다(Fig. 1). 이상과 같은 PCR-RFLP 법으로 검정개체별 SNP 유전자형을 분석하여 검정 집단내 SNP 유전자형 출현율과 대립유전자 빈도를 조사한 결과 Table 2와 같

Table 1. Primer sequence of exon 4 region within APOE gene for PCR amplification

Primer name	Primer sequence (5' - 3')	Amplified region	Product size (bp)
APOE -F	TGGAGGAGACCATGAAGGAG	exon 4	560
APOE -R	CATCTGGTTGCCCTGCTC		

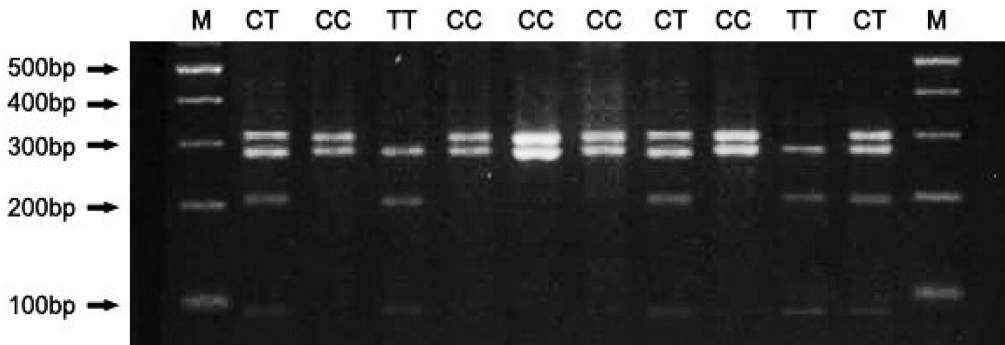


Fig. 1. PCR-RFLP for the detection of SNP genotypes (TT, TC or CC) of the exon 4 region within APOE gene in Korean cattle. A SNP with the T/C transition was detected at position 2034 (g.2034T>C) within exon 4 region of the APOE gene. M : size marker (100 bp DNA ladder).

이 3개 SNP 유전자형 가운데 T/C hetero형이 46.9%로 가장 출현율이 높았고 다음으로 C/C homo형이 42.2%를 차지한 반면 T/T homo형은 10.9%로 출현율이 낮았다. 또한, SNP 대립유전자 빈도에 있어서도 C 대립유전자가 0.656, C 대립유전자가 0.344로 C 대립유전자가 2배 가까이 높은 출현빈도를 나타냈다. 본 한우 검정집단의 이형접합성 (He) 수준은 0.451로 추정되었고 다형정보지수(PIC)는 0.350으로 나타났다. Hardy-Weinberg법칙에 대한 적합도 검정을 실시한 결과에서도 유전적 평형을 이루고 있는 집단으로 조사되었다($p>0.05$).

인간의 APOE는 37 kDa 단백질로서 이 단백질 합성을 지배하는 APOE 유전자 좌위의 유전적 변이체는 E2, E3 및 E4 3개의 대립유전자에 의해 지배되는 6종류의 유전자형이 존재하는 것으로 알려져 있고(Harrington *et al.*, 1995), 돼지의 APOE 유전자는 intron 3 영역에 최소한 4개의 대립유전자가 존재하는 (CG)₁₃ microsatellite marker가 보고된 바 있다(Ramsoondar *et al.*, 1998). 그러나 소의 APOE 유전자에서는 아직까지 유전적 다형성이 보고된 바 없어 본 연구에서 한우 APOE 유전자의 SNP 검출은 소에서 처음으로 유전적 다형성을 규명한 결과로서 이 유전적 변이체는 앞으로 소의 여러 경제형질 및 질병 등과의 관련성을 연구하는데 중요한 DNA 마커로 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

한우 APOE 유전자의 SNP 유전자형이 육량 및 육질에 미치는 영향

한우 APOE 유전자의 exon 4 영역의 2034번째 T>C SNP가 한우의 주요 경제형질에 미치는 영향을 구명하기 위하여 g.2034T>C SNP 유전자형과 육량 및 육질형질들과의 연관성을 분석한 결과는 Table 3과 같다. 한우 APOE 유전자의 g.2034T>C SNP 유전자형은 육량 및 육질형질 가운데 육량등급에 영향을 미치는 도체율(DP %)과 육질에 영향을 미치는 육색에 유의적인 효과가 인정되었다($p<0.05$). 그러나 근내지방도를 포함한 나머지 도체형질들에 있어서는 APOE의 SNP 유전자형에 따른 통계적 유의차가 나타나지 않았다. 한우 도체율 성적에서 TT 유전자형을 가진 개체들의 도체율 값이 57.818%로서 CC(56.854%)와 TC(57.291%) 유전자형을 가진 개체들에 비해 각각 0.964% 및 0.527% 정도 유의적으로 높게 나타났다. 한편, 비록 통계적 유의성이 나타나지 않았지만 생시체중(LW)과 도체중(CW)에서도 역시 TT 유전자형을 가진 개체들이 각각 556.875와 322.125로 TC(534.927과 306.840) 및 CC(552.741과 314.451) 유전자형을 가진 개체들보다 더 높은 것으로 나타났으며 특히, 생시체중은 유의수준에 근접한 값($p<0.08$)을 보였다. 또한, 육량을 결정하는 주요 인자로서 배최장 근단면적(LDA)도 TT 유전자형이 76.625로서 CC(74.516) 및 TC(75.333) 유전자형에 비해 더 큰 경향을 보였고 등지방두께(BF)는 TT 유전자형이 0.606으로 CC(0.680) 및

Table 2. Frequencies of genotypes and allele for the APOE gene in Korean cattle

Candidate Gene	No. of animals	Frequencies					He ¹⁾	PIC ²⁾	χ^2
		Genotype(%)			Allele				
APOE (g.2034T>C)	309	CC	TC	TT	C	T	0.451	0.350	0.467
		42.2	46.9	10.9	0.656	0.344			

¹⁾heterozygosity value; ²⁾polymorphic information content.

Table 3. Least square means and standard errors for carcass and meat quality traits of three different APOE (g.2034T>C) genotypes in Korean cattle (n=309)

Traits	SNP genotype			P-value	Effect	
	TT	TC	CC		Additive	Dominance
LW/kg	556.875 ± 12.650	534.927 ± 6.091	552.741 ± 6.426	0.083	-4.133 ± 14.188	39.761 ± 18.701
CW/kg	322.125 ± 8.156	306.840 ± 3.927	314.451 ± 4.143	0.168	-7.673 ± 9.148	22.895 ± 12.057
DP/%	57.818 ± 0.382 ^a	57.291 ± 0.184 ^{ab}	56.854 ± 0.194 ^b	0.045	-0.963 ± 0.428*	0.090 ± 0.565
BF/cm	0.606 ± 0.068	0.623 ± 0.032	0.680 ± 0.034	0.406	0.074 ± 0.076	0.040 ± 0.101
LDA/cm ²	76.625 ± 2.056	75.333 ± 0.990	74.516 ± 1.044	0.633	-2.108 ± 2.306	0.474 ± 3.040
MS/1~7	1.937 ± 0.311	2.159 ± 0.150	2.000 ± 0.158	0.695	0.062 ± 0.349	-0.381 ± 0.461
Meat color	4.625 ± 0.132 ^b	4.724 ± 0.063 ^{ab}	4.983 ± 0.067 ^a	0.006	0.358 ± 0.148*	0.159 ± 0.196
Fat color	3.000 ± 0.046	2.971 ± 0.022	2.983 ± 0.023	0.828	-0.016 ± 0.051	0.041 ± 0.068
Texture	1.937 ± 0.080	1.855 ± 0.038	1.903 ± 0.040	0.544	-0.034 ± 0.090	0.130 ± 0.118

LW, live weight; CW, carcass weight; DP, dressing percentage; BF, backfat thickness; LDA, *M. longissimus dori* area; MS, marbling score.

* $p<0.05$.

^{a, b} Within a row, means with different superscripts letter significantly differ ($p<0.05$).

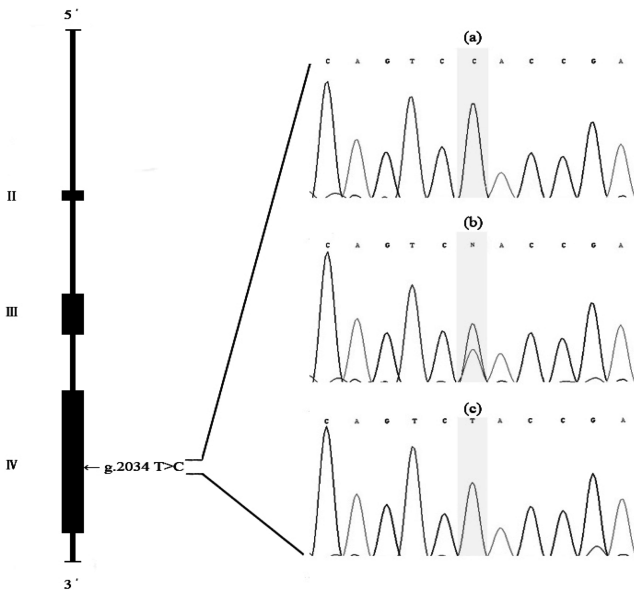


Fig. 2. Map of SNP in the APOE gene on chromosome 18 and sequence chromatograms showing three SNP genotypes C/C(a), T/C(b) and T/T(c) at position 2034 with T/C transition in Korean cattle. Coding exons are marked by black box.

TC(0.623) 유전자형들에 비해 상대적으로 가장 낮은 값을 나타냈다. 육색에 있어서도 CC 유전자형이 4.983으로 가장 높았고 다음으로 TC 유전자형이 4.724 그리고 TT 유전자형은 4.625로서 가장 낮은 값을 보였고 이들 유전자형간에 유의적인 차이가 인정되었다($p < 0.05$). 또한, 근내 지방도(MS)에 있어서도 유전자형간에 유의성이 나타나지 않았지만 TT(1.937) 유전자형은 TC(2.159) 및 CC(2.000) 유전자형에 비해 상대적으로 낮은 경향을 보였다. 이상의 결과를 종합해 볼 때 한우 APOE 유전자의 TT SNP 유전자형은 육량형질에 영향을 미치며 특히, 도체율과 유의적인 연관성이 입증되었다. 또한 TT SNP 유전자형은 육색과 유의적인 연관성이 나타나 육질형질에 영향을 미치는 것으로 추정되었다.

Apolipoprotein은 지질대사 및 운송의 기능을 하는 담당하는 단백질로서 이들은 기능에 따라서 A, B, C 그리고 E 군으로 분류되며 다른 지단백질들로서 H, J가 존재하지만 생물학적 기능이 명확하지 않다(Tsunoda *et al.*, 2002). 이 가운데 본 연구에서 후보유전자로 선발한 APOE는 동물실험을 통한 최근의 연구결과에 의하면 세포내 지질대사 및 초저밀도 지단백(very low-density lipoprotein) 생산 조절에 중요한 역할을 수행하는 것으로 알려졌다(Mensenkamp *et al.*, 2001). 특히, APOE 지단백은 인지질과 트리글리세라이드와 같은 지질과 cholesterol의 대사 및 수송에 중요한 기능을 담당하고 있어 지방대사조절 후보유전자로 관심의 대상이 되고 있다. APOE 지단백의 이 같은 생리적 생화학적 특성 때문에 그동안 인간의 경우 APOE 지단백

을 합성하는 유전자의 다형성을 분석하고 SNP 유전자형과 지질성분 함량 및 여러 질환과의 관련성을 보고한 연구결과가 많이 발표되어 있으나(Weisgraber *et al.*, 1982; Hodson, 1985) 가축을 포함한 동물에 있어서 APOE 유전자의 다형성 분석과 경제형질들과의 관련성을 보고한 연구결과는 전무한 실정이다. 최근 젖소에서 분만 전 후 초저밀도 지단백의 분비에 따른 지방간과 대사장애의 관련성을 알아보기 위해 APOE의 mRNA 발현량을 측정하여 보고한 바 있다(Bernabucci *et al.*, 2004).

본 연구는 한우 APOE 유전자에서 최초로 점 돌연변이의 염기치환에 의한 SNP의 유전적 변이체를 발굴하고 SNP 유전자형이 한우의 주요 경제형질인 육량 및 육질형질에 미치는 영향을 조사하기 위하여 SNP 유전자형과 이들 도체형질들과의 관련성을 분석한 결과 도체율과 육색 형질에서 통계적 유의차가 존재하는 것을 확인하였다. 따라서 본 연구에서 검출한 한우 APOE 유전자의 SNP 유전자형은 도체형질 가운데 특히, 육량지수 평가 및 선발을 위한 DNA marker로 활용 가능할 것으로 기대된다. 육우에서 도체율은 산육능력을 평가하는 주요 지표가 되지만 한우는 다른 육우품종에 비해 성숙체중이 작고 도체율이 적은 것이 단점으로 지적되고 있다. 따라서 육질개선과 함께 체중을 증가시키고 도체중과 도체율이 높도록 개량하는 것이 경제적으로 중요하다. 그러나 후보유전자를 이용한 선발효과에 대한 효율성을 향상시키기 위해서는 유전자 전체를 대상으로 다수의 SNP를 검출할 필요가 있으며 따라서 향후 exon 4이외의 다른 영역에 대한 SNP 탐색이 이루어져야 하고 동시에 유전자 발현 조절부위로서 promoter 영역에 대한 SNP 분석도 요구된다.

요 약

포유동물의 혈장 지단백의 일종인 apolipoprotein E (APOE)는 인지질 및 트리글리세라이드와 같은 지질과 콜레스테롤의 대사와 운반에 중요한 기능을 담당한다. 본 연구는 지질대사조절 관련 후보유전자로서 APOE 유전자를 대상으로 한우에서 이 유전자의 SNP를 탐색 발굴하고 SNP 유전자형이 육량 및 육질 등 도체형질에 미치는 영향을 분석하기 위하여 수행하였다. 먼저 혈연관계가 없는 한우 60두의 pooled DNA를 제작하여 APOE 유전자의 exon 4 영역을 포함하는 primer를 설계하여 PCR로 증폭한 결과 exon 4 영역내 2034번째 T>C 염기치환에 의한 SNP를 검출하였다. 후대검정우 총 309두에 대한 검정 개체별 SNP 유전자형을 판정하기 위하여 Acc I 제한효소를 이용하여 PCR-RFLP기법으로 분석한 결과 SNP 유전자형 출현빈도는 TT형 10.9%, TC형 46.9% 및 CC형 42.2%로 나타났으며, T와 C 대립유전자빈도는 각각 0.344와 0.656으로 추정되었다. 또한 APOE 유전자의 SNP 유전자형과

육량 및 육질 등 도체형질과의 연관성을 통계 분석한 결과 도체율 및 육색형질과의 유의적 연관성이 입증되었다. 즉, TT형을 가진 개체들이 CC형을 가진 개체들에 비해 도체율 값이 유의적으로 높았다($p < 0.05$). 또한 육색에서도 TT형을 가진 개체들이 CC형을 가진 개체들에 비해 좀 더 바람직한 육색을 나타내었다. 따라서 본 연구에서 검출한 한우 APOE 유전자의 SNP 유전자형은 한우의 육량지수 평가 및 도체율이 높은 개체선발을 위한 DNA marker로 활용 가능할 것으로 기대된다.

감사의 글

이 논문은 2008년도 상지대학교 교내연구비 지원에 의한 것임.

참고문헌

- Bernabucci, U., Ronchi, B., Basirico, L., Pirazzi, D., Rueca, F., Lacetera, N., and Nardone, A. 2004. Abundance of mRNA of apolipoprotein B₁₀₀, apolipoprotein E, and microsomal triglyceride transfer protein in liver from periparturient dairy cow. *J. Dairy Sci.* **87**, 2881-2888.
- Braeckman, L., De Bacquer, D., Rosseneu, M., and De Backer, G. 1996. Apolipoprotein E polymorphism in middle-aged Belgian men: Phenotype distribution and relation to serum lipids and lipoproteins. *Atherosclerosis*. **120**, 67-73.
- Buchanan, F. C., Fitzsimmons, C. J., Van Kessel, A. G., Thue, T. D., Winkelman-Sim, D. C., and Schmutz, S. M. 2002. Association of a missense mutation in the bovine leptin gene with carcass fat content and leptin mRNA levels. *Genet. Sel. Evol.* **34**, 105-116.
- Gao, Y., Zhang, R., Hu, X., and Li, N. 2007. Application of genomic technologies to the improvement of meat quality of farm animals. *Meat Sci.* **77**, 36-45.
- Haegeman, A., Van Zeveren, A., and Peelman L. J. 2000. New mutation in exon 2 of the bovine leptin gene. *Anim. Genet.* **31**, 79-79.
- Harrington, C. R., Anderson, J. R., and Chan K. K. 1995. Apolipoprotein E type E4 allele frequency is not increased in patients with sporadic inclusion-body myositis. *Neurosci. Lett.* **183**, 35-38.
- Hodson, G. J. 1985. The pig as a model for studying kidney disease in man. *Swine in biomedical research*, Plenum Publishing, New York. pp. 1691-1704.
- Mahley, R. W. 1988. Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. *Science*. **240**, 622-630.
- Mensenkamp, A. R., Havekes, L. M., Romijn, J. A., and Kuipers, F. 2001. Hepatic steatosis and very low density lipoprotein secretion: The involvement of apolipoprotein E. *J. Hepatol.* **35**, 816-822.
- Mullen, A. M., Stapleton, P. C., Corcoran, D., Hamill, R. M., and White, A. 2006. Understanding meat quality through the application of genomic and proteomic approaches. *Meat Sci.* **74**, 3-16.
- Muros, M. and Rodriguez-Ferrer, C. 1996. Apolipoprotein E polymorphism influence on lipids, apolipoproteins and Lp(a) in a Spanish population underexpressing apo E4. *Atherosclerosis*. **121**, 13-21.
- Ramsouder, J. J., Rucker, E. B., Vasquez, J. G., Gallagher, D. S., Grimm, D. R., Lunney, J. K., Schook, L. B., and Piedrahita, J. A. 1998. Isolation and genetic characterization of the porcine apolipoprotein E gene. *Anim. Genet.* **29**, 43-47.
- Rosen, E. D. 2005. The transcriptional basis of adipocyte development. *Prostag. Leukotr. Ess.* **73**, 31-34.
- Takahashi, Y., Sato, K., Itoh, F., Miyamoto, T., Oohashi, T., and Katoh, N. 2003. Bovine apolipoprotein E in plasma : increase of ApoE concentration induced by fasting and distribution in lipoprotein fractions. *J. Vet. Med. Sci.* **65**, 199-205.
- Tsunoda, K., Harihara, S., Dashnyam, B., Semjidmaa, D., Yamaguchi, Y., Tanabe, Y., Sakai, N., Sato, A., and Sato, K. 2002. Apolipoprotein E and H polymorphism in Mongolian buryat: Allele frequencies and relationship with plasma lipid levels. *Hum. Biol.* **74**, 659-671.
- Weisgraber, K. H., Innerarity, T. L., and Mahley, R. W. 1982. Abnormal lipoprotein receptor-binding activity of the human E apoprotein due to cysteine-arginine interchange at a single site. *J. Biol. Chem.* **257**, 2518-2521.
- Zechner, R. 1997. The tissue-specific expression of lipoprotein lipase: implications for energy and lipoprotein metabolism. *Curr. Opin. Lipidol.* **8**, 77-88.

(Received 2008.9.3/Revised 1st 2008.12.1, 2nd 2009.1.29/
Accepted 2009.1.29)