

# 재래돼지를 이용한 *IGF2* 유전자의 연관불균형과 유전자발현양상에 대한 분석

이승란\* · 이소평\* · 최봉환\*\* · 이철구\*\*\* · 조병욱\*\*\*\* · 김종주\*\*\*\*\* · 김관석\*

충북대학교 농업생명환경대학 응용생명환경학부 축산학과\*, 농촌진흥청 농촌진흥청 국립축산과학원\*\*, 고려대학교 생명과학대학 생명공학부\*\*\*, 부산대학교 생명자원과학부\*\*\*\*, 영남대학교 생명공학부\*\*\*\*\*

## Linkage Disequilibrium and Gene Expression Analyses of *IGF2* Gene in Korean Native Pigs

Songlan Li\*, Xiaoping Li\*, Bong Hwan Choi\*\*, Cheol Koo Lee\*\*\*, Byung Wook Cho\*\*\*\*, Jong-Joo Kim\*\*\*\*\* and Kwan Suk Kim\*

College of Agriculture, Life and Environment Sciences, Chungbuk National University, Chungbuk 361-763, Korea\*, Animal Genomics and Bioinformatics Division, National Livestock Research Institute, RDA, Suwon 441-707, Korea\*\*, College of Life Sciences & Biotechnology, Korea University, Seoul, 136-701, Korea\*\*\*, Department of Animal Science, Pusan National University, Miryang, 627-706, Korea\*\*\*\*, School of Biotechnology, Yeungnam University, Gyeongsan 712-749, Korea\*\*\*\*\*

### ABSTRACT

Insulin-like growth factor 2 (*IGF2*) is the first identified imprinted gene, which is paternally expressed in multiple mammalian species. A paternally expressed QTL for muscle growth and backfat thickness (BFT) has previously been identified near the *IGF2* locus on the distal tip of pig chromosome 2 (SSC2p). Therefore the *IGF2* gene is considered an economically important candidate gene for pig industry. Herein, this study explored genetic variation of *IGF2* for in3-G3072A, in7-G162C and a new SNP in intron7 (C1589T) in Korean native pig (KNP) and commercial pig breeds, and detected their linkage disequilibrium within these breeds. Furthermore we investigated the effect of in3-G3072A on *IGF2* gene expression in post-natal muscle and backfat tissues. The real-time quantitative PCR results showed that animals inherited allele G from a KNP sire had significant higher *IGF2* gene expression in backfat tissue than those inherited allele A from a Yorkshire sire, however opposite situation in muscle. These results demonstrated the allele 3072G is associated with a higher *IGF2* gene expression in fat tissues, but low gene expression in muscle tissues when compared with the 3072A allele. These results suggest that KNP with lower muscle mass and higher fat deposition might be associated with a higher frequency of the 3072G allele, and selecting KNP based on *IGF2* genotypes could result in an economic benefit to KNP producers.

(Key words : *IGF2*, QTL, imprinted gene, SNP, gene expression)

### I. 서 론

Insulin growth factor system은 Insulin-like growth factor-1 (IGF1)와 Insulin-like growth factor 2 (IGF2)로 이루어져 있고, *IGF2* 유전자는 세포의 유사분열을 촉진하는 성장조절 인자로서 돼지의 성장 발육에도 중요한 작용을 한다(Owens 등, 1999). 돼지에서 quantitative trait loci (QTL) 연구가 진행됨에 따라 Large White/Pietrain, Wild Boar/Large White를 이용하여 2번 염색체에서 부계로부터 유전되는 근육발달과 등지방 두께와 관련된 QTL 좌위가 *IGF2* 유전자와 동일한 위치에 있다는 것이 보고되었다(Nezer 등, 1999; Jeon

등, 1999). 또한 *IGF2* 유전자 Intron3번에 위치한 *IGF2*-in3-G3072A 변이가 근육발달과 지방축적에 영향을 주는 QTL의 원인유전자변이라는 것이 증명 되었는데, *IGF2*-in3-G3072A 변이는 근육조직에서 *IGF2* 유전자의 발현양을 증가시켜 돼지의 근육 발달과 지방 축적에 영향을 주는 것으로 알려졌다(Van Laere 등, 2003). Vykoukalova 등 (2006)은 *IGF2*-in3-G3072A는 Intron7번의 세 개의 단일염기 다양성 (*IGF2*-in7-G162C, *IGF2*-in7-C179G, *IGF2*-in7-G186T)과 연관성이 있다고 보고 하였는데, Landrace, Duroc, Large white, Hampshire 등 품종에서 유전자 변이빈도를 조사한 결과 Landrace와 Large white에서는 두 개의 반수체형이 완전히 연관되

Corresponding author : Corresponding author: Kwan Suk Kim, Department of Animal Science, Chungbuk National University, Cheongju, Chungbuk, 361-763 Korea  
Tel: 043-261-2547, Fax: 043-273-2240, E-mail: kwanskim@chungbuk.ac.kr

어 있었으나, Duroc과 Hampshire 품종에서는 불완전 연관되어 있고, IGF2 유전자내의 변이들은 일당증체량(Average daily gain)에는 영향을 주지 않으나 등지방두께(backfat thickness), 정육율(lean meat content)의 차이에 영향을 준다고 보고하였다.

한국재래돼지는 개량된 돼지품종보다 등지방이 많고 근육이 적으며 성장이 느린 특성을 가지고 있는 것으로 널리 알려져 있는데, 본 실험에서는 이러한 재래돼지의 특성이 IGF2 유전자의 단일염기 다양성(SNP)과 연관성이 있는지를 밝히고자 본 실험을 수행하였다. 한국재래돼지를 중심으로 한 Duroc, Landrace, Yorkshire, Berkshire 등 다섯 품종에서 IGF2 유전자내의 변이간의 연관성을 분석하였으며, IGF2 유전자의 변이와 유전자발현기능을 한국재래돼지와 요크셔를 교배하여 생산한 F1 자손에서 조사함으로써 한국재래돼지 특성을 분자생물학적 수준에서 규명하는데 필요한 유전적인 정보를 제공하고, IGF2 유전자가 중요한 유전자 마커로서 한국재래돼지 개량에 이용될 수 있는 가능성을 제시하고자 하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 공시재료와 DNA 및 RNA 추출

본 연구에 사용된 모든 Genomic DNA는 Genomic DNA Prep Kit (Solgent, Korea)를 이용하여 축산과학원에서 보유한 Korean native pig와 2005년 4월부터 2006년 3월까지 대한양돈협회 산하 검정소에 입식되어 우수한 종돈을 선발하기 위해 검정된 Duroc, Yorkshire, Berkshire, Landrace 성숙돼지의 혈액에서 DNA를 추출하였다. 충북 청원군 샘터농장에서 한국재래돼지(KNP)와 요크셔(Yorkshire) 품종의 양방향교배로 생산

되고 사육된 F1 자손 10두를 30일령에 선발하여 등지방조직과 근육조직(등심)을 샘플링 하였다. 시험구에 급여된 사료는 무항생제용 자돈사료 코코1호와 2호(코코엔터프라이즈)를 사용하였으며, 동일한 돈사에서 일반적인 관행법에 준하는 사양관리에서 사육되었다. RNA 추출은 TRIzol Reagent (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA.)를 이용하였으며, Omniscript reverse transcriptase (QIAGEN)과 Oligo-T17 primer 이용하여 추출한 RNA를 cDNA로 합성하였다.

### 2. 유전자 증폭 조건

본 실험을 위하여 제작된 프라이머는 모두 NCBI GenBank accession number AY044828를 참조하였고 Oligo 6 (Molecular Biology Insights, Cascade, CO, USA) 프로그램을 이용하여 제작하였다 (Table 1).

DNA 증폭을 위해 사용된 PCR 기계는 PTC-200 thermocycler (MJ Research, Watertown MA, USA)이며, DNA 증합효소는 h-Taq polymerase (Solgent, Korea)를 사용하였다. PCR 반응조건은 template DNA 25ng, primer 0.01uM, dNTP 5mM, 10XPCR buffer 2.5ul, 그리고 h-Taq DNA polymerase를 0.625 units를 넣어 최종 반응액 25ul을 이용하였다. 반응조건은 최초 95°C에서 15분간 예비가열 한 후 95°C에서 20초 동안 변성시키고, 각 프라이머에 대응하는 annealing 온도 (Table 1)에서 20초 그리고 72°C에서 30초 합성 (extension)시키는 총 40 사이클 반복증폭하고 72°C에서 5분 마지막 합성단계 (final extension)를 수행하고 DNA 증폭을 중단하였다. 증폭한 산물들은 4ul를 취하여 모두 2% agarose gel에서 100 mv 전압에서 20분간 전기영동을 통해 확인하였다.

Table 1. Primers used in these experiments

Primer	Name	Primer Sequence(5'-3')	Annealing Temperature	Product Size (bp)
18274F		GGG CCG CGG CTT CGC CTA G	63°C	231
18274R		CGC ACG CTT CTC CTG CCA CTG		
IGF2-IN7-F1		GCT GCT CGT GCT GCT CGT C	62.5°C	2718
IGF2-IN7-R1		TGG CAC CGC AGA ATT ACG ACA		
IGF2-IN7-AF		CTA CCT GTG CGG GTC CTT	60°C	428
IGF2-IN7-AR		CAC TTT CAA TCC AAC AGT CCA		
IGF2-IN7-BF		GAG GGC GAG GAC GGG AAG	60°C	418
IGF2-IN7-BR		CAG ACA GGA CGC CCG GTC		
IGF2-IN3F		GGG CCG CGG CTT CGC CTAG	63°C	128
IGF2-IN3R		GCT GAT CCA CGG GCG CTCC		
IGF2-EX9F		TGG GCA AGT TCT TCC GCT ATG ACA	58°C	121
IGF2-EX9R		GTG ACG CTT GGC CTC TCT GAC		
RPL14F		AAA TGC ATG CAG CTC ACC GACTTC	58°C	125
RPL14R		CTT GTG GCT GCC CAC TTT GCATTA		

\* All primers were based on the porcine IGF2 sequence NCBI accession number AY044828.

### 3. Quantitative PCR

DyNamo SYBR green qPCR kit (Finnzymes Oy, Espoo, Finland)를 사용하여 quantitative PCR을 Exicycler TM 96 Real-Time Quantitative Thermal Block (Bioneer, Korea)에서 수행하였고, 반응 프라이머는 IGF2 EX9F/R를 이용하였다 (Table 1). 상대정량분석을 하기 위하여 housekeeping gene인 ribosomal protein L14 (RPL14) 유전자를 Internal standard로 이용하였으며 결과분석은 2<sup>-DDCt</sup> 방법을 사용하였다.

### 4. IGF2-in3-G3072A와 Exon7-Exon 9 유전자 변이 조사

IGF2-in3-G3072A 변이분석은 Van Laere 등 (2003)이 사용한 18274F/R 프라이머를 이용하였으며 Berkshire, Landrace, Duroc, Yorkshire와 KNP 품종에서 임의로 선택한 4개 샘플의 DNA를 혼합하여 template DNA로 사용하였다. 증폭산물을 GeneClean turbo kit (MP Bio-medicals USA)를 사용하여 정제한 후 염기서열분석을 하였다.

Exon7번의 29번째 염기로부터 Exon9번의 267번에 이르는 2718bp의 PCR 증폭산물은 프라이머 IGF2-IN7-F1/R1를 (Table 1) 가지고 Yorkshire와 KNP의 DNA에서 증폭하였으며, 합성된 PCR 산물은 pGEM-T easy vector system (Promega, Madison, WI)을 이용하여 클로닝을 하였다. 그리고 EcoRI의 제한효소를 이용하여 그 결합여부를 조사하였고, 확인된 재조합 plasmid를 추출하고 DNA sequencing을 수행하였다.

본 실험에서 얻어진 염기서열들은 NCBI GenBank의 Large White (AY044828), Pietrain (AY242098), European wild boar (EF375877), Landrace (AY242108), Meishan (AY242099), Japanese wild boar (AY242109), Hampshire (AY242110)의 염기서열들과 Sequencher 4.7 (Gene Codes, Ann RBOR, MI, USA) 프로그램을 이용하여 비교하였다.

### 5. IGF2 유전자 내 DNA 변이연관성 분석

IGF2-in3-3072과 Intron7번의 162, 179, 186, 1589번의 SNP들이 연관불균형성 (linkage disequilibrium) 유무를 확인하기위해서 Intron7번에 위치한 4개의 SNP를 포함한 염기서열을 IGF2-IN7-AF/AR와 IGF2-IN7-BF/BR를 이용한 두 개의 프라이머로 추가적인 염기서열 분석을 수행하였다.

Yang 등 (2006)과 Vykoukalova 등 (2006)이 사용한 PCR-RFLP 방법을 이용하여 IGF2-in3-G3072A과 IGF2-in7-G162C 두 개의 SNP를 분석하였으며, 새로 발견된 IGF2-in7-C1589T에 관한 분석은 프라이머 IGF2-IN7-BF/BR를 사용하여 증폭하고, SNP 부위를 인식하는

제한효소 HpyCH4III를 유전자형결정에 이용하였다. 418bp 크기의 증폭산물이 Intron7번의 1589번의 염기 위치에서 대립유전자가 T일 때 잘린 산물은 186bp, 232bp로 분리되며, 대립유전자 C일 때에는 제한효소 HpyCH4III는 잘리지 않는다 (Fig. 1).

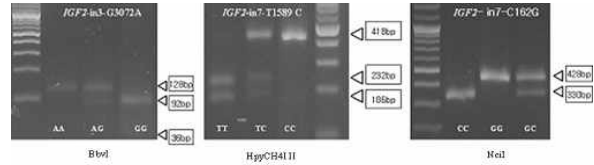


Fig. 1. PCR-RFLP analyses of IGF2-in3-G3072A, in7-T1589C and in7-C162G.

## III. 결 과

### 1. 한국재래돼지와 개량품종 돼지에서의 IGF2-in3-G3072A와 IGF2의 Intron 7번의 유전자 변이 조사

NCBI GenBank에서 얻어진 Large White, Pietrain, European wild boar, Landrace, Meishan, Japanese wild boar, Hampshire의 염기서열정보와 본 실험에서 얻어진 Berkshire, Landrace, Duroc, Yorkshire, KNP의 염기서열정보를 비교하였다. IGF2-in3-3072의 유전자형은 European wild boar, Meishan, Japanese wild boar는 모두 G인 대립유전자형을 나타내었으며, Large White, Pietrain, Landrace, Hampshire, Berkshire, Duroc, Yorkshire에서 A인 대립유전자형을 나타냈으며 KNP1는 A/G 이형접합형, KNP2는 G인 대립유전자형을 나타내고 나타냈다 (Table 2).

Yorkshire와 KNP의 DNA로부터 증폭된 산물에 대한 염기서열분석을 통하여 총 6개의 SNP를 발굴하였는데, 그 중 4개는 Intron7번에 위치하였으며, 나머지 2개는 Intron8번에 위치하였다. 염기서열 분석을 통해 SNP의 정확한 위치를 확인한 후 NCBI의 GenBank에 등록된 Large white, European wild boar, Landrace, Meishan, Japanese wild boar, Hampshire 등 품종의 염기서열 정보와 다시 비교하였는데 European wild boar, Japanese wild boar과 KNP2의 4개의 위치에서 162-G, 179-C, 186-G, 1589-C로 검출된 대립유전자형을 나타냈으며 Large white, Landrace, Meishan, Hampshire, KNP1은 162-C, 179-G, 186-T, 1589-T인 대립유전자형을 나타냈다 (Table 3).

### 2. IGF2 유전자 내 DNA 변이 연관성 분석

위의 결과에 기초하여 발굴된 SNP좌위들에 대한 유전자형을 PCR-RFLP 방법으로 KNP, Duroc, Landrace, Yorkshire, Berkshire 다섯 품종 중 62두에서 조사하였

Table 2. IGF2-in3-G3072A distribution in different pig breeds

	Breed	Allele	Accession NO.
NCBI	Large White	A	AY044828
	Pietrain	A	AY242098.1
	European wild boars	G	EF375877
	Landrace	A	AY242108.1
	Meishan	G	AY242099.1
	Japanese wild boars	G	AY22109.1
Experiment	Hampshire	A	AY242110.1
	Berkshire	A/G	Experiment
	Landrace	A	Experiment
	Duroc	A	Experiment
	Yorkshire	A	Experiment
	KNP1	A/G	Experiment
	KNP2	G	Experiment

Table 3. IGF2 SNP analysis in different pig breeds

Breeds	Nucleotide position on intron 7			
	162	179	186	1589
Large white	C	G	T	T
Pietrain	C	G	T	T
European wild boar	G	C	G	C
Landrace	C	G	T	T
Meishan	C	G	T	T
Japanese wild boar	G	C	G	C
Hampshire	C	G	T	T
Yorkshire	C	G	T	T
KNP1	C	G	T	T
KNP2	G	C	G	C

다. IGF2-in3-3072, IGF2-in7-162, IGF2-in7-1589 세 좌위들을 조사하였는데, 한국재래돼지에서는 (IGF2-in3-3072-GG)-(IGF2-in7-162-GG)-(IGF2-in7-1589-CC)형이 높은 비율을 차지하며, Duroc과 Yorkshire 품종에서는

(IGF2-in3-3072-AA)-(IGF2-in7-162-CC)-(IGF2-in7-1589-TT)형이 높은 비율을 차지하였다 (Table 4).

세 개의 SNP좌위 유전자형에 대한 개체 별 분석을 통하여 반수체 (haplotype)를 예측하였는데, IGF2 (in3-3072G)-(IGF2-in7-162G)-(IGF2-in7-1589C)와 (IGF2-in3-3072A)-(IGF2-in7-162C)-(IGF2-in7-1589T)의 두 개의 반수체형이 나타났다. 이러한 결과는 3개의 SNP IGF2-in3-3072A와 in7-162C, in7-1589T 조사된 모든 돼지품종에서 완전히 연쇄되어 있다는 것이며, Vykoukalova 등 (2006)이 보고한 Large White와 Landrace 품종에서만 완전한 연관성이 발생한다는 결과와는 다른 결과를 나타낸 것이다.

### 3. IGF2-in3-G3072A 유전자 변이의 IGF2 유전자 발현에 미치는 영향

IGF2-in3-G3072A 변이가 IGF2 유전자 발현에 주는 영향을 조사하기 위해서 두 그룹의 가계에서 유전자형 분석과 유전자발현양상을 조사하였다. K그룹의 수태지는 IGF2-in3-G3072를 가진 KNP를 이용하였고 암태지는 IGF2-in3-3072A를 가진 요크셔 품종을 모돈으로 이용하였으며, Y그룹은 요크셔 품종의 수태지로 IGF2-in3-3072A의 유전자형을 가진 개체를 부계로 이용하였고, 암태지는 KNP로 IGF2-in3-G3072의 유전자형을 가진 개체를 모돈으로 이용하였다.

이렇게 만들어진 K그룹과 Y그룹의 자손 가운데 30 일령 각각 5마리의 수컷만을 선발하여 등지방 조직과 근육조직의 IGF2유전자 발현양을 조사하였을 때 (Fig. 2), 등지방 조직에서는 IGF2 유전자 발현양이 KNP 부계 (IGF2-in3-3072G)인 K그룹에서 요크셔품종이 부계 (IGF2-in3-3072A)인 Y그룹 보다 유의적으로 높았다 (P=0.0125). 하지만 반대로 근육조직에서는 K그룹보다 Y그룹에서의 IGF2 유전자 발현양이 유의적으로 더 높았다 (P=0.0003).

Table 4. Genotypic frequencies of IGF2-in3-G3072A, IGF2-in7-G162C, and IGF2-in7-C1589T polymorphisms in five different pig breeds

Locus	Genotype	Breed				
		Duroc (n=14)	Landrace (n=11)	Yorkshire (n=14)	KNP (n=11)	Berkshire (n=12)
IGF2-in3-G3072A	GG	0.071	0.182	0	0.818	0.417
	GA	0.143	0.273	0.286	0.182	0.417
	AA	0.786	0.545	0.714	0	0.167
IGF2-in7-G162C	GG	0.071	0.182	0	0.818	0.417
	GC	0.143	0.273	0.286	0.182	0.417
	CC	0.786	0.545	0.714	0	0.167
IGF2-in7-C1589T	CC	0.071	0.182	0	0.818	0.417
	CT	0.143	0.273	0.286	0.182	0.417
	TT	0.786	0.545	0.714	0	0.167

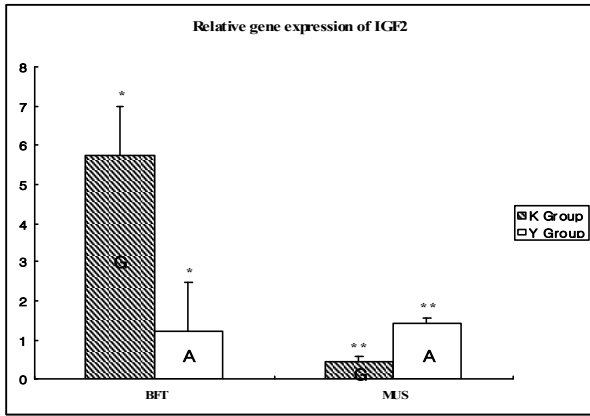


Fig. 2. IGF2 gene expression in backfat (BFT) and muscle (MUS) tissues.

Two groups of pigs were used: group K; KNP Sire (in3-G3072) crossed with Yorkshire Dam (in3-A3072) and group Y: Yorkshire sire (in3-A3072) crossed with KNP Dam (in3-G3072). In each group there are five offspring.

#### IV. 고 찰

본 실험을 수행한 목적은 근육과 지방축적에 관련 후보 유전자로 알려진 IGF2 유전자의 유전자 특성을 한국재래돼지에서 규명하는 것이다. IGF2 유전자는 최초로 연구된 각인 유전자로서 (Dechiara 등, 1991), 포유동물의 중요한 성장조절인자로서 알려져 있다 (Efstratiadis, 1998; Florini 등, 1993; Grealley 등, 1997).

본 실험은 한국재래돼지를 이용한 IGF2 유전자에 대한 최초의 연구로써 우선 IGF2 유전자의 Intron3번에 관한 조사를 통하여 한국재래돼지는 아시아 계열의 야생형 품종에 속하는 Meishan이나 European wild boar과 같이 고유한 열성형질인 G대립유전자형을 가지고 있을 뿐만 아니라 우성형질인 A 대립유전자형도 낮은 빈도로 가지고 있는 것을 밝혀냈는데, 이는 한국재래돼지에서 상대적으로 낮은 빈도이지만 A 대립유전자형이 나타난 결과는 외래개량종의 유입의 영향으로 사료된다.

IGF2 유전자의 Exon7- Exon9 영역에 대한 염기서열 분석을 통해 Intron7번에서 4개의 SNP를 찾았으며, 그 중 SNP IGF2-in7-C1589T는 본 연구를 통해서 신규로 발견하였다. 한국재래돼지를 중심으로 한 Duroc, Landrace, Yorkshire, Berkshire등 다섯 품종에서 이러한 IGF2 유전자의 IGF2-intron3-G3072A와 Intron7번의 4개의 SNP IGF2-in7-G162C, IGF2-in7-C179G, IGF2-in7-G186T, IGF2-in7-C1589T는 완전히 연관되어 있다는 결과를 얻었다. 이런 결과는 Landrace와 Large White에서만 연쇄되지만 Duroc에서는 intron7내에서만 연쇄되고 IGF2-in3-G3072A와는 연쇄되지 않는다는 Vykoukalova 등 (2006)의 결과와 다르다. 그리고 NCBI에서 얻은 IGF2 염기서열들과 비교한 결과에서 돼지 야생종 (유럽과 일본의 Wildboar)과 일부 한국재래돼지는 Intron7번의 SNP들이 동일한 반수체형을 나타내고 있지만,

개량돼지품종과 Meishan에서는 다른 형태의 반수체형을 나타내었다. 이는 다른 연구결과에서처럼 중국 Meishan 품종이 유럽의 돼지품종을 개량하는데 유전적인 영향을 주었음을 시사하는 것이다.

Yorkshire와 한국재래돼지를 양방향으로 교배하여 생산된 F1 수퇘지에서 등지방과 근육조직에서 IGF2 유전자의 발현양을 비교하였는데, 발현양 조사에 이용된 개체의 유전자형은 모두 이형접합형인 AG이지만, 교배에 이용한 친 세대 부모의 유전자형에 따라서 유전자 발현에도 현저한 차이를 보여주었다 (Fig. 2). 이러한 결과는 부계로만 전달되는 IGF2 유전자의 발현양상은 부계의 유전자형에 따라서 등지방과 근육조직의 발달에 영향을 주게 된다는 것을 제시하였다.

이러한 돼지 IGF2유전자 변이의 작용 기작은 여러 각도로 해석하고 있는데 우선 각인유전자 (Imprinted gene) 자체의 특수한 유전체학적 구조와 연관될 것이라고 생각한다. IGF2 유전자가 10개의 Exon (1, 2, 3, 4a, 4b, 5, 6, 7, 8, 9)을 가지고 있으나 코드 되는 부위는 Exon7, 8, 9번이다. IGF2-intron3-3072는 DMR1 (differentially methylated region 1)에 위치하여 있는 매우 잘 보존되어 있는 CpG Island에 속하며 사람과 마우스를 포함한 8종의 개체에서 모두 보존되어 있다고 보고되었다 (Amarger 등, 2002). Van Laere 등 (2003)은 Intron3번의 3072G>A 변이는 CpG island에 속해 있는데, cis-acting silencer 기작으로 작용을 하는데 단일 점 돌연변이가 발생하면 trans-acting suppressor와 the cis-acting silencer의 작용이 취소되면서 postnatal skeletal와 cardiac muscle에서의 IGF2 유전자 발현이 증가시켜 근육의 발달을 높인다. 이러한 DMR1와 CpG island를 마우스의 게놈상에서 제거 하였을 때 근육에서의 IGF2 유전자의 발현양상이 달라지는 것을 보고되었다 (Constancia 등, 2000).

IGF2-intron3-3072의 유전변이가 등지방과 근육성장에 영향 주는 원인변이라는 결과에 의하여 단백질을 코드하는 유전자 부위에서의 돌연변이만 중요한 것이 아니라 유전자의 코드하지 않는 부위에서의 돌연변이도 유전자의 조절 방법에 영향을 줄 수 있다는 것이 증명되었다. Intron7번의 유전자 변이가 어떠한 분자생물학적인 작용을 하여 IGF2 유전자의 기능에 영향을 주는지는 알려지지 않았지만, Intron3번의 염기서열들의 GC 함량이 높아, DNA 증폭과 유전자형 결정이 어려운 부위에 있어서, Intron7번의 DNA 변이와 완전연쇄 된다는 것을 이용해서 보다 쉬운 방법으로 유전자형 분석을 수행할 수 있어 간접적으로 IGF2-intron3-3072 위치의 변이를 이용할 수 있는 정보를 제공할 수 있다. 이러한 IGF2 유전자내의 변이가 한국재래돼지의 높은 체지방축적과 낮은 성장률에 관련된 마커로써 활용 가치가 있으며, IGF2 유전자의 발현양상은 재래돼지가 가진 특성을 이해하는데 분자유전학적인 근거를 제공하고 있다. 따라서 IGF2 유전자가 중요한

후보유전자로서 한국재래돼지 개량에 이용될 수 있는 가능성뿐만 아니라, IGF2 유전자의 근육 및 지방조직 발달에 관한 조절기능을 밝히고 재래돼지를 체지방축적과 관련된 비만연구모델로 활용할 수 있는 가능성을 제시하고 있다.

## V. 요약

IGF2 유전자는 최초로 연구된 각인 유전자이고 대부분 포유동물의 부계로부터 유전되는 각인 유전자이다. 근육성장과 지방축적에 연관된 경제 형질좌위가 2번 염색체에 위치하여 있다고 보고되었는데, IGF2-in3-G3072A가 원인 유전자변이라고 밝혀졌다. 본 연구는 IGF2 유전자의 Intron7번의 세 개의 SNP (IGF2-in7-G162C, IGF2-in7-C179G, IGF2-in7-G186T)는 IGF2-in3-G3072A와 품종 별 연관불균형으로 완전 연쇄되어 있는 것을 보고 하였다. Real-time quantitative PCR 실험 결과에서 부모세대가 부계가 IGF2-in3-3072A를 가진 요크셔품종 수태지가 IGF2-in3-3072G를 가진 한국재래 암돼지와 교배하여 생산한 자손 (Y그룹)과 IGF2-in3-3072G 유전자형의 한국재래품종 수태지와 IGF2-in3-3072A를 가진 요크셔 암돼지와 교배하여 생산된 자손 (K그룹)에서 보다 등지방 조직에서의 IGF2 유전자 발현양이 낮았다. 하지만 근육조직에서는 요크셔품종의 유전자형이 IGF2-in3-3072A를 부계로 하고 IGF2-in3-3072G를 한국재래돼지품종모계로 할 때 IGF2 유전자 발현양이 높은 결과를 보였다. 이러한 연구에서 IGF2 유전자의 근육과 지방조직에서의 발현양은 부계의 유전자형에 의해 결정되며, 한국재래돼지의 높은 체지방 축적과 낮은 성장률에 관련된 특성이 IGF2 유전자 유전자형에 의해 영향을 받는다는 유전적인 근거를 제공함으로써 한국재래돼지를 상업적으로 이용하는데 있어서 IGF2 유전자를 이용할 수 있는 분자유전학적 근거를 제시하였다.

## VI. 사 사

본 연구는 2008년 농촌진흥청 바이오그린 21 과제 “DNA 마커 도움선발을 이용한 한국재래돼지 개량과 상업적 비육흑돼지 계통조성 (과제번호 200804010340-530080400)”의 지원에 의하여 수행되었으며, 이송란과 이소평은 2단계 BK21 사업 바이오농업기술 실용화사업단의 장학금 수혜를 받았습니다. 본 논문의 완성도와 질적수준 향상에 도움을 주신 익명의 심사위원님들께 감사드립니다.

## VII. 인용 문헌

1. Amarger, V., Nguyen, M., Van Laere, A. S., Braunschweig, M., Nezer, C., Georges, M. and Andersson, L.

2002. Comparative sequence analysis of the INS-IGF2-H19 gene cluster in pigs. *Mammalian Genome*. 13:388-398.

2. Constancia, M., Dean, W., Lopes, S., Moore, T., Kelsey, G. and Reik, W. 2000. Deletion of a silencer element in Igf2 results in loss of imprinting independent of H19. *Nature Genetics*. 26:203-206.

3. Dechiara, T. M., Robertson, E. J. and Efstratiadis, A. 1991. Parental imprinting of the mouse insulin-like growth factor II gene. *Cell*. 64:849-859.

4. Efstratiadis, A. 1998. Genetics of mouse growth. *Int. J. Dev. Biol.* 42:955-976.

5. Florini, J. R., Ewton, D. Z., Magri, K. A. and Mangiacapra, F. J. 1993. IGFs and muscle differentiation. *Adv. Exp. Med. Biol.* 343, 319-26.

6. Grelly, J. M., Guinness, M. E., McGrath, J. and Zemel, S. 1997. Matrix-attachment regions in the mouse Chromosome 7F imprinted domain. *Mammalian Genome*. 8, 805-810.

7. Jeon, J. T., Carlborg, O., Törnsten, A., Giuffra, E., Amarger, V., Chardon, P., Andersson-Eklund, L., Andersson, K., Hansson, I., Lundström, K. and Andersson, L. 1999. A paternally expressed QTL affecting skeletal and cardiac muscle mass in pigs maps to the IGF2 locus. *Nature Genetics*. 21(2):157-158.

8. Nezer, C., Moreau, L., Brouwers, B., Coppieters, W., Detilleux, J., Hanset, R., Karim, L., Kvasz, A., Leroy, P. and Georges, M. 1999. An imprinted QTL with major effect on muscle mass and fat deposition maps to the IGF2 locus. *Nature Genetics*. 21:155-156.

9. Owens, P. C., Gatford, K. L., Walton, P. E., Morley, W. and Campbell, R. G. 1999. The relationship between endogenous insulin-like growth factors and growth in pigs. *J. Anim. Sci.* 64(4):849-859.

10. Van Laere, A. S., Nguyen, M., Braunschweig, M., Nezer, C., Collette, C., Moreau, L., Archibald, A. L., Haley, C. S., Buys, N., Tally, M., Andersson, G., Georges, M. and Andersson, L. 2003. A regulatory mutation in IGF2 causes a major QTL effect on muscle growth in the pig. *Nature*. 425:832-836.

11. Vykoukalov, Z., Knoll, A., Dvork, J. and Cepica, S. 2006. New SNPs in the IGF2 gene and association between this gene and backfat thickness and lean meat content in Large White pigs. *J. Anim. Breed. Genet.* 123(3):204-207.

12. Yang, G. C., Ren, J., Guo, Y. M., Ding, N. S., Chen, C. Y. and Huang, L. S. 2006. Genetic evidence for the origin of an IGF2 quantitative trait nucleotide in Chinese pigs. *Animal Genetics*. 37:179-188.

(접수일자 : 2008. 10. 14. / 수정일자 : 2009. 2. 9. / 채택일자 : 2009. 2. 11.)