

## 한국 Holstein종 유우집단의 *DGAT1* 유전자의 특성분석

손지영<sup>1</sup> · 정행진<sup>1</sup> · 유성란<sup>1</sup> · 이준현<sup>1</sup> · 도창희<sup>1</sup> · 류승희<sup>2</sup> · 상병찬<sup>1\*</sup>

## Characterization of the *DGAT1* Gene in the Korean Holstein Dairy Cattle Population

Ji-Young Son<sup>1</sup> · Hang Jin-Jeong<sup>1</sup> · Seong-Lan Yu<sup>1</sup> · Jun-Heon Lee<sup>1</sup> ·  
Chang-Hee Do<sup>1</sup> · Seung-Heui Ryoo<sup>2</sup> · Byung-Chan Sang<sup>1\*</sup>

### ABSTRACT

This study was conducted to characterize the *DGAT1* gene in Korean Holstein dairy cattle population and examine the relationship of *DGAT1* polymorphisms with milk yield and milk fat yield for the genetic improvement of Korean Holstein dairy cattle. Results indicated that the 411 bp PCR products were successfully amplified by *DGAT1* specific primers. Sequence analysis indicated that the *DGTA1* Q allele had AUG (Lysine, K) nucleotide sequences in 216-218 bp and q allele had GCG (Alanine, A) sequences in the same position. Nucleotide sequence homology between the *DGAT1* sequences generated in this study showed 100% homology with bovine *DGAT1* sequences in the NCBI database. The genotype frequencies of *DGAT1* QQ, Qq, and qq were 16.43, 36.43, and 47.14%, respectively, in Korean Holstein dairy cattle population.

---

2009년 08월 14일. 접수: 2009년 09월 21일. 수정: 2009년 12월 08일 채택

<sup>1</sup> 충남대학교 농업생명과학대학 동물자원과학부(Division of Animal Science and Resources, College of Agriculture and Life Sciences, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea)

<sup>2</sup> 충청남도 축산기술연구소(Government of Chungcheongnam-Do, Livestock Research Institute, Cheongyang 345-811, Korea)

\* 교신저자: 상병찬(E-mail: bcsang@cnu.ac.kr, Tel: +82-42-821-5788)

The observed Q and q allele frequencies were 0.35 and 0.65, respectively. Statistically significant ( $P < 0.05$ ) results were identified for milk yield and milk fat yield for the *DGAT1* genotypes. The Qq genotype Holsteins have significantly higher milk yield and milk fat yield than those of the QQ and qq genotype Holsteins ( $P < 0.05$ ).

**Key words** : *DGAT1* gene, Polymorphism, Milk yield, Milk fat yield, Holstein

## 1. 서 론

최근 축산물 시장의 개방화로 국제 경쟁력 강화를 위한 축산물의 생산성 향상이 시급한 실정에 있으며 특히 국내 유우의 효율적인 선발과 능력개량을 위한 다각적인 연구와 노력이 절실히 요구되고 있다.

따라서 유우의 생산성 향상과 과학적인 유전능력 개량을 위해서는 보다 효율적인 선발과 능력검정이 필요하며 최신의 유전 통계학적 기법에 의한 종축의 평가로 보다 유전능력이 우수한 종축을 선발 활용해야 할 것이다.

선진 외국에서는 가축의 주요경제형질의 발현에 직접적인 영향을 미치는 표지 유전자(marker gene)를 개발하여 이들 유전자의 효과를 가축의 선발모델에 포함시켜 가축의 유전적 능력개량의 효율을 보다 높이하고자 하는 연구가 활발히 진행되고 있다. 가축의 주요 경제형질을 지배하는 유전자의 유전적 다형현상과 관련된 염색체 좌위의 유전자형 및 유전자빈도의 추정에 의한 집단의 유전적 구조분석과 염색체 좌위의 유전적 표지와 주요 경제형질간의 연관성을 규명하고자 하는 연구결과 유전적 표지를 가축의 유전적 능력개량을 위한 유용한 선발도구로서의 이용가능성을 보고한 바 있다(Aleandri 등, 1990; Pedersen 등, 1991; Bovenhuis 등, 1992). 최근 Viitala 등(2003)의 연

구보고에 의하면 젖소의 유지율 관련 유전자 좌는 bovine chromosome의 3, 6, 14, 19, 26번에 위치해 있고, 유단백질유은 3, 6, 12, 14, 20, 23, 25번 염색체상에 위치한다고 발표한 바 있으며, Heyen 등(1999)은 유지율은 3, 5 및 14번 염색체상에 위치해 있고, 유량은 3, 7, 14, 29번 염색체상에 위치한다고 발표하였다. 이와 같이 유우에서 경제형질과 연관된 QTL중 유지방에 관여하는 염색체상의 위치에 대한 연구는 대부분 Bovine chromosome 14번(BTA 14)에 위치해 있다는 연구보고가 각기 다른 품종의 연구에 의해 발표되었다(Coppieters 등, 1998; Heyen 등, 1999; Riquet 등, 1999; Looft 등, 2001; Farnir 등, 2002; Biochard 등, 2000).

한편, QTL mapping을 통해 BTA 14의 염색체 말단에 유지방과 관련된 positional gene인 exon 17개로 구성된 *DGAT1*(acylCoA: diacylglycerol acyltransferase 1) 유전자의 특성이 밝혀졌다(Farnir 등, 2002). *DGAT1* 유전자는 유지방의 약 98%를 형성하는 triglyceride의 합성 마지막 단계를 촉매하는 효소를 만들며(Cases 등, 1998; Cheng 등, 2001), *DGAT1* 유전자는 유선에서 triglyceride 합성에 중요한 역할을 한다고 보고되었다(Winter 등, 2002; Smith 등, 2000). Grisart 등(2001)은 *DGAT1* 유전자 Q 대립유전자와 q 대립유전자의 분석 결과 *DGAT1* 유전자의 K232A

돌연변이(lysine을 alanine 아미노산으로 치환)를 발견하여 보고하였다. *DGAT1* 유전자의 K232A 돌연변이 위치는 exon 8에 위치하는 핵산서열 10433-10434 bp으로 단백질의 232번째 아미노산에서 변화를 일으킨다.

네덜란드와 뉴질랜드의 Holstein-Friesian 젓소 집단에서 *DGAT1* 유전자의 유전적 다형과 산유형질간의 연관성을 분석한 결과 유지량은 *DGAT1* KK(QQ)와 AA(qq) 두 대립 유전자간에 31%의 차이를 보였다고 보고하였으며(Grisart 등, 2001), Spelman 등(2002)도 뉴질랜드 유우집단에서 *DGAT1* 유전자형과 산유형질간 연관성을 분석한 결과 *DGAT1* QQ 유전자형이 qq 유전자형에 비하여 유지량이 유의적으로 높았다고 보고하였다. 한편 Nasland 등(2008)은 Swedish Red와 Holstein종 유우에서 *DGAT1* K232A 다형성의 빈도 및 효과에 대한 연구에서 *DGAT1* K변이체가 유지율 및 단백질유를 현저히 증가시키는 반면에 유량이 있어서 DGAT1 A변이체 보다도 낮다고 보고하였다. 그리고 Schennink 등(2007)은 유우의 *DGAT1* 변이체와 유지방조성분간의 연관성에 대한 연구에서 *DGAT1* K232A 다형성은 유지방 조성에 유의적인 영향을 미치며 *DGAT1* K대립 인자는 보다 높은 포화지방과 연관되어 있다고 보고하였다. 또한 Schopen 등(2009)은 Holstein종의 유단백조성분과 양적형질간의 연관성 구명을 위한 Whole Genome Scan 연구에서 유조성분에 영향을 주는 QTL은  $\beta$ -CN, K-CN과 *DGAT1* 유전자들이라고 보고하였다.

따라서 본 연구는 한국 Holstein종 유우집단의 유전적 개량에 분자유전학적 기법의 접목을 위해 유우의 유지방 형성 효소 합성에 핵심적인 역할을 담당하고 있는 것으로 알려진 *DGAT1* 유전자 단편의 염기서열 결정에 의한 염기치환 위치를

확인하고, PCR-RFLP기법을 이용하여 *DGAT1* 유전자의 다형성을 분석하여 이들 유전자형과 홀스타인종의 산유형질 간의 연관성을 구명하여 유우의 효율적인 유생산을 위한 기초 및 응용자료를 얻고자 수행하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 공시동물 및 재료

본 연구는 한국 Holstein종 유우집단의 *DGAT1* 유전자의 특성을 구명하기 위해 후대검정우 140두의 경정맥으로부터 혈액 10 ml을 진공채혈관에 채취하여 실험에 이용하였다. Genomic DNA의 추출은 Genomic DNA Purification Kit(Toyobo, Japan)을 이용하여 분리하였다.

### 2. *DGAT1* 유전자의 증폭 및 확인

*DGAT1* 유전자의 증폭을 위해 사용된 primer는 Winter 등(2002)에 의해 보고된 forward primer 5'-GCACCATCCTCTTCCTCAAG-3'와 reverse primer 5'-GGAAGCGCTTTCGGATG-3'를 사용하였다. *DGAT1* 유전자의 증폭반응을 위해 사용된 반응 혼합액의 조성은 1  $\mu$ l genomic DNA, 0.4 pmol의 forward 및 reverse primer와 0.12 mM dNTPs, 1X enzyme buffer, 2.5 unit *Taq* DNA polymerase(Bioneer, Korea)로 PCR을 실시하였다. *DGAT1* 유전자의 증폭은 GeneAmp PCR System 9600(Perkin Elmer, Co. USA)을 이용하였으며, PCR 반응조건은 DNA 변성을 94°C에서 5분간 1회 실시한 후, DNA 변성은 94°C에서 30초, primer 결합은 67°C에서 30초, DNA 신장은 72°C에서 40초로 설정하여 37회 반복하였고, 최종 extension은 72°C에서 10분으로 하였다.

PCR 반응으로 증폭한 *DGAT1* 유전자의 증폭산물은 1.5% agarose gel상에서 100V로 약 30분간 전기영동한 후, EtBr(ethidium bromide)로 염색하여, UV상에서 polaroid film(polaroid 667, UK)에 노출시켜 PCR 증폭산물을 확인하였다.

### 3. *DGAT1* 유전자의 염기서열 분석

#### 1) 재조합 벡터 및 형질전환

PCR 반응에 의해 증폭되어진 *DGAT1* 유전자는 pGEM<sup>®</sup>-T Easy vector(Promega, USA)에 ligation시켜 cloning하였다. ligation mixture의 조성은 PCR product 3  $\mu$ 에 1X rapid ligation buffer와 25 ng/ $\mu$ l vector, 0.3 unit T4 DNA ligase로 실온에서 3시간 방치하여 ligation하였다. 재조합 vector의 대장균 형질전환은 ligation 반응이 완료된 mixture에 DH5a competent cell을 100  $\mu$ l 첨가한 후 형질전환시켜 대장균에 넣고 shaking incubator(37°C, 150rpm)에서 1시간 동안 배양하였다.

#### 2) Clone의 선별과 Plasmid의 추출

Clone의 선별은 형질전환된 sample에 X-gal(1.9 mg/ml)과 IPTG(1.52 mg/ml)을 첨가하고 plate에 도포한 후, 37°C의 incubator에서 18시간 넣어 두어 대장균 중 하얀색의 colony만을 선별하여, colony를 넣어 shaking incubator에서 12시간 배양하였다. Plasmid의 추출은 배양된 대장균을 centrifuge(1300rpm, 4°C, 15분)하여 pellet만을 남겨두고, 상층액을 제거한 후, cell resuspension solution 250  $\mu$ l를 넣었다. 여기에 10  $\mu$ l의 alkaline protease solution을 첨가하고, 350  $\mu$ l의 neutralization(4.09 M guanidine hydrochloride, 0.759 M potassium acetate, 2.12 M glacial acetic acid)을 혼합했다. 이를 centrifuge한 후, 상층액을 column에 옮겨

다시 centrifuge하여 column에 DNA를 결합시켰다. Column wash solution을 750  $\mu$ l를 넣었고, centrifuge하여 DNA를 세정하고, 100  $\mu$ l의 nuclease-free water를 첨가하여 centrifuge를 1분 한 후 plasmid DNA를 추출하였다.

#### 3) 염기서열의 결정 및 비교분석

각 clone들의 염기서열을 결정하기 위하여 재조합된 plasmid DNA 200 ng을 Bigdye terminator (PE Applied Biosystems, USA)를 사용하여 cycle sequencing reaction을 실시하였다. PCR 반응은 PE 9600(PE Applied Biosystems, USA)을 이용하여 96°C에서 1초, 50°C에서 5초, 60°C에서 4분간의 조건으로 25회 실시하였고, 반응이 끝난 PCR산물은 ethanol로 정제한 후, ABI 377 자동염기서열 분석장치(PE Applied Biosystems, USA)를 사용하여 염기서열을 결정하고 분석하였다. 결정된 염기서열을 NCBI(National Center for Biotechnology Information, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/gorf.html>)의 bovine의 *DGAT1* 유전자의 염기서열과 비교분석하였다.

### 4. *DGAT1* 유전자의 다형성 분석

#### 1) 제한효소 처리 및 확인

*DGAT1* 유전자의 다형성을 분석하기 위한 제한효소의 처리는, Grisort 등(2001)이 보고한 PCR product에 *EaeI*(NEB, USA)을 넣고, 37°C의 incubator에서 5시간 동안 digestion하였으며, 이때의 조성물은 PCR product 12  $\mu$ l, 1X buffer와 4 unit *EaeI*(NEB, USA), 증류수 5.6  $\mu$ l로 총 용량이 20  $\mu$ l되게 하였다. *DGAT1* 유전자의 증폭산물을 제한효소로 처리한 후 얻어진 단편들의 다형성의 확인은 3% agarose gel(Hoefer Scientific Instruments, USA)에서 100V로 약 20분간 영동

하였다. 전기영동이 끝난 gel은 EtBr(ethidium bromide)로 염색하여 UV상에서 polaroid film (polaroid 667, UK)에 노출시켜 다형성을 확인하였다.

2) *DGATI* 유전자빈도의 추정

*DGATI* 유전자빈도의 추정은 이들 유전적 변이체는 공우성 대립유전자에 의해 지배되어지며, 이들 유전자형에 의거 Pirchner(1983)의 유전자 빈도추정 방법에 따라 다음과 같이 계산하였다.

$$PA = (2AA+AB)/2N$$

여기서, PA = A 유전자빈도,

AA = AA 유전자형 빈도수

AB = AB 유전자형 빈도수,

N = 총 관측치 수

5. 통계분석

*DGATI* 유전자의 다형성이 유우의 생산 능력에 미치는 효과를 규명하기 위하여 총 140두에 대한 기록을 이용하였다. 모든 산유능력은 USDA-DHIA의 보정 계수에 의하여 305일, 2회 착유, 성우 동등 기준으로 보정하였으며, 본 연구 자료의 통계분석은 다음과 같은 선형모형(linear model)을 설정하여 Harvey(1975)의 최소자승법(least square method)에 의하여 분석하였다.

$$Y_{ijkl} = \mu + S_i + P_j + C_k + D_l + e_{ijkl}$$

여기서,  $Y_{ijkl}$  = i번째 종모우, j번째 산차, k번째 분만 계절, l번째 *DGATI* 유전자 좌위의 유전자형에 속하는 l번째 개체의 각 형질 관측치

$\mu$  = 전체 평균

$S_i$  = i번째 종모우의 효과

$P_j$  = j번째 산차의 효과

$C_k$  = k번째 분만 계절의 효과

$D_l$  = l번째 *DGATI* 유전자형의 효과

$e_{ijkl}$  = 각 개체에 대한 임의 오차

III. 결과 및 고찰

1. *DGATI* 유전자의 증폭 및 형질전환체의 clone 확인

*DGATI* 유전자를 한국 홀스타인종에서 specific primer를 이용하여 증폭한 결과 411 bp로 Winter 등(2002)이 보고한 *DGATI* 유전자의 증폭 결과와 일치하였고, 이 *DGATI* 유전자의 형질전환체 clone을 만들기 위하여 PCR product를 pGEM®-T Easy vector(Promega, USA)내에 ligation하였고 대장균에 형질전환한 후, 흰색 colony로부터 추출해낸 재조합 plasmid를 *EcoRI*로 처리한 산물과 추출된 재조합 plasmid를 PCR 반응에 의해 *DGATI* 유전자를 증폭한 산물을 1.5% agarose gel에 전기영동한 결과는 Fig. 1에 나타낸 바와 같다.

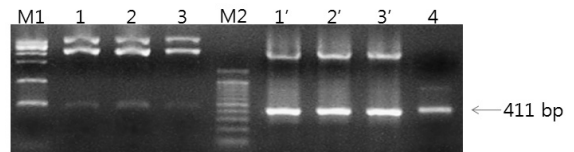


Fig. 1. Electrophoregram of cloned PCR products ran on a 1.5 % agarose gel.

M1: DNA ladder marker (1 kb DNA ladder: ELPIS, Korea), Lane 1-3: *DGATI* clone products digested with *EcoRI* restriction enzyme, M2: DNA ladder marker (100 bp DNA ladder: ELPIS, Korea), Lane 1'-3': 411 bp *DGATI* clone products, Lane 4: 411 bp *DGATI* PCR product.

Fig. 1의 좌측 lane 1, 2 및 3은 형질전환체로부터 추출된 plasmid 재조합 vector를 제한효소 *EcoRI*로 절단하여 400 bp정도의 *DGATI* 유전자 삽입 절편과 *EcoRI*으로 절단되지 않은 supercoil 재조합 vector(약 2800 bp)와 *EcoRI*로 절단은 되었으나, linear 상태인 plasmid 재조합 vector(약 3500 bp)를 확인할 수 있었다. 따라서 *DGATI* 유전자 단편을 삽입한 재조합 vector를 만들어 진 것을 확인할 수 있었으며, 이들 형질전환된 *DGATI* 삽입 vector들을 염기서열 분석용으로 이용하였다.

## 2. *DGATI* 유전자의 염기서열 결정 및 비교분석

*DGATI* 유전자의 염기서열을 결정하기 위하여 재조합된 plasmid DNA의 삽입된 *DGATI*의 유전자에 대하여 ABI 377 상동염기서열 분석장치를 이용하여 한국 홀스타인종과 한우 *DGATI* 유전자의 염기서열을 분석한 결과는 각각 Fig. 2 및 3과 같다.

한국 Holstein종과 한우의 *DGATI* 유전자의 염기서열을 분석한 결과 대립유전자 Q(그림 a)는 216-218 bp의 염기서열이 AAG (lysine, K)이었으나, 동 위치에서 대립유전자 q(그림 b)의

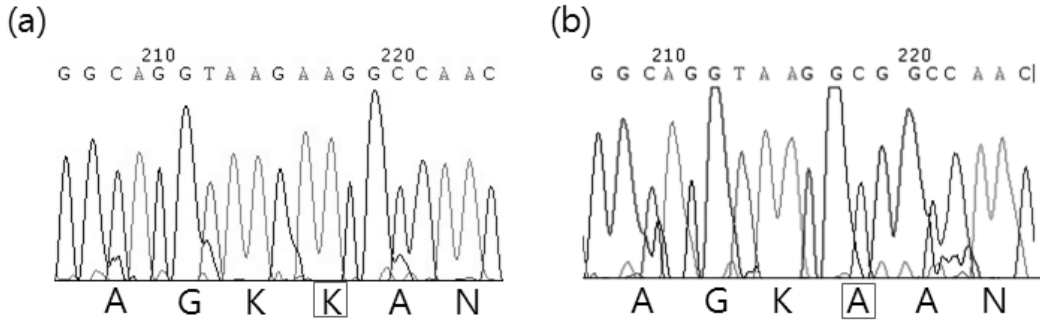


Fig. 2. Polymorphisms found in the *DGATI* gene in Korean Holstein dairy cattle. (a) the Q allele having lysine (K) residue. (b) the q allele having alanine (A) residue.

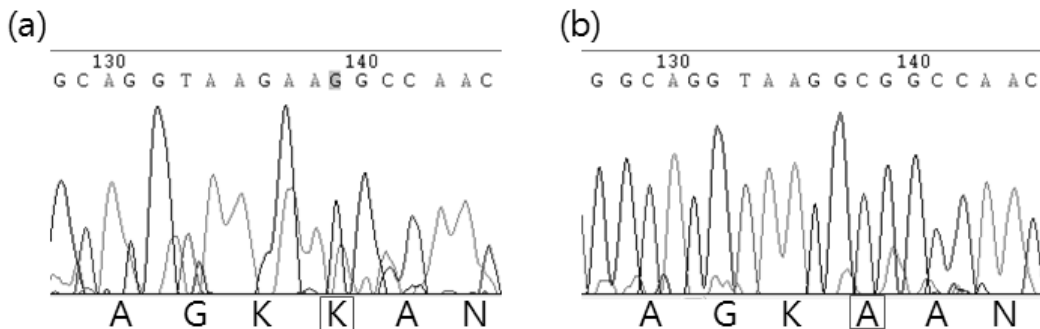


Fig. 3. Polymorphisms found in the *DGATI* gene in Korean cattle (Hanwoo). (a) the Q allele having lysine (K) residue. (b) the q allele having alanine (A) residue.

염기서열은 GCG (alanine, A)로 치환되어 있음을 확인할 수 있었다. 이 결과는 Grisart 등(2001), Winter 등(2002) 및 Spelman 등(2002)이 몇몇 소 품종의 *DGATI* 유전자의 특성분석에서 10433-10434 bp의 핵산서열에서 염기치환에 의해 아미노산 lysine(K)이 alanine(A)으로 치환되어 있음을 확인한 결과와 일치하였을 뿐만 아니라 한국형 홀스타인종 *DGATI* 유전자의 coding sequence의 염기서열과 이미 NCBI에 보고되어 있는 bovine *DGATI* 유전자의 염기서열(AY065621)을 비교한 결과 양 품종간의 염기서열은 100%의 상동성을 보였다. 이와 같은 결과는 Grisart 등(2001)이 소 품종과 다른 종간의 *DGATI* coding sequence의 염기서열을 비교한 결과 소 품종간에는 염기서열에 차이를 보이지 않았다고 보고한 결과와 일치하였다.

### 3. *DGATI* 유전자의 다형성 분석

1) *DGATI* 유전자 증폭산물의 제한효소처리 및 확인

*DGATI* 유전자의 다형성을 분석하기 위하여 PCR 반응에 의해 증폭되어진 411 bp의 *DGATI*

유전자와 단편을 제한효소 *EaeI*으로 절단한 후, 3% agarose gel에 전기영동였다(Fig. 4).

Fig. 4와 같이 *DGATI* 유전자 좌위 단편(411 bp)을 제한효소 *EaeI*로 절단한 결과 절단되지 않는 411 bp의 Q대립유전자와 *EaeI* 처리시 절단되어 208 bp와 203 bp의 두 단편을 나타내는 q대립유전자를 확인할 수 있었다. Fig. 4에서 lane 8, 9 및 10은 *DGATI* QQ유전자형으로 *EaeI*으로 절단되지 않는 411 bp의 단편을 보였고, lane 1, 2, 5, 6, 7, 11 및 15는 *DGATI* Qq형으로 *EaeI*으로 절단되지 않는 411 bp의 Q유전자형과 *EaeI*으로 절단되는 q유전자로 208 bp와 203 bp의 유전자단편이 서로 비슷한 크기로 중복된 단편을 보였다. 한편 lane 3, 4, 12, 13 및 14는 *EaeI*으로 절단되는 q형으로 208 bp 및 203 bp의 비슷한 크기의 단편으로 200 bp에서 중복되어 하나의 밴드로 보였다. 이와 같은 결과는 Grisart 등(2001)이 제한효소 *EaeI*으로 *DGATI* 유전자의 단편을 절단시 *DGATI* Q 대립유전자는 절단되지 않는 411 bp의 단편만을 보이거나 q 대립유전자는 *EaeI*으로 절단되어 208 bp와 203 bp의 두 단편을 나타낸다고 보고한 결과와 일치하였다.

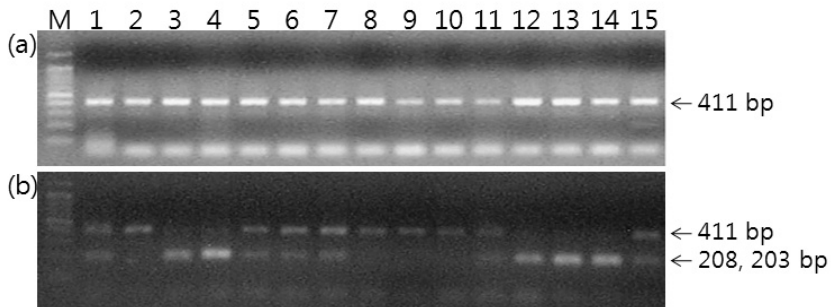


Fig. 4. Electrophotograph of *DGATI* PCR products digested with *EaeI* restriction enzyme. Samples were run on a 3% agarose gel. Panel a: PCR product, Panel b: PCR-RFLP.

2) 유전자형 및 유전자빈도 분포

본 연구에서 얻어진 한국 Holstein종 유우집단의 *DGATI* 유전자좌의 유전자형의 분포 및 유전자빈도는 Table 1과 같다.

**Table 1. Gene and genotype frequencies of the *DGATI* gene in Korean Holstein dairy cattle population**

Item	Genotypes			Gene Frequencies	
	Q/Q	Q/q	q/q	Q	q
140	23	51	66	0.35	0.65
Ratio(%)	16.43	36.43	47.14	34.65	65.35

한국 Holstein종 유우집단의 *DGATI* 유전자형의 분포는 총 140두 중 *DGATI* QQ, Qq 및 qq가 각각 23두, 51두 및 66두로 16.43, 36.43 및 47.14%의 분포를 보였으며, *DGATI* qq 열성호모가 47.14%로 QQ 우성호모의 분포 16.43%에 비하여 높은 분포를 보였다. 이들 결과를 다른 연구보고와 비교하여 보면 Spelman 등(2002)은 1527두의 Holstein종과 1,053두의 Jersey종에서 *DGATI* QQ 유전자형의 분포가 각각 38.17 및 79.20%로 qq 유전자형의 분포보다 아주 높다고 보고하였는 바, 이는 본 연구와는 상이한 *DGATI* 유전자형의 분포를 보였다. 그러나 133두의 Ayrshire종에서는 *DGATI* QQ 유전자형의 분포보다 qq 유전자형의 분포가 높다고 보고한 결과와는 유사한 분포를 보였다.

한편, 한국 Holstein종 유우집단의 *DGATI* 유전자빈도에 있어서는 *DGATI* Q 및 q 유전자빈도가 각각 0.35 및 0.65로 Q유전자빈도가 q 유전자빈도에 비하여 높은 빈도를 보였다. 이들 결과를 다른 연구 보고와 비교하여 보면, Spelman 등

(2002)은 Holstein종과 Jersey종의 *DGATI* Q 유전자빈도가 각각 0.60 및 0.88이고, q 유전자빈도는 각각 0.40 및 0.12로 Q 유전자빈도가 q 유전자빈도에 비하여 아주 높다고 보고하였다. 그러나 Ayrshire종에 있어서는 *DGATI* Q 및 q 유전자빈도가 각각 0.22 및 0.78로 본 연구의 *DGATI* 유전자빈도와 유사한 분포를 보였다.

이와 같은 결과는 한국의 Holstein종 집단의 *DGATI* 유전자빈도의 분포와 Spelman 등(2002)이 Holstein종과 Jersey종의 집단에 의한 *DGATI* 유전자의 분포간에 차이를 나타내는 것은 Spelman 등(2002)이 보고한 뉴질랜드의 유우집단은 방목 위주로 유지율이 낮아 유지율 증대 위주의 개량으로 유지율과 유지량이 높은 *DGATI* Q 유전자의 빈도가 높아진 것으로 생각되고, 우리나라는 농후사료 위주의 사양으로 유지율보다는 유량위주의 개량이 이루어지기 때문에 *DGATI* q 유전자빈도가 높은 것으로 사료된다.

**4. *DGATI* 유전자의 다형성과 경제형질간의 연관성**

한국 Holstein종의 *DGATI* 유전자형과 산유형질인 유량 및 유지량간의 연관성을 분석한 결과는 Table 2와 같다.

Table 2에서 보는 바와 같이 유량 및 유지량의 최소자승평균 각각 7667.67 및 278.43 kg이었고, *DGATI* 유전자형은 유량 및 유지량에 유의적인 차이(P<0.05)의 영향이 있음을 보였다. *DGATI* 유전자형에 따른 유량은 *DGATI* QQ, Qq 및 qq형에서 각각 7107.36, 8016.97 및 7878.67 kg으로 Qq 유전자형이 QQ 및 qq 유전자형에 비하여 유의적으로 유량이 높았다. 한편 *DGATI* 유전자형에 따른 유지량은 *DGATI* QQ, Qq 및 qq형에서 각각 253.86, 297.95 및 283.49 kg으로 Qq 헤테로



Table 2. Least square means and standard errors of milk yield and fat yield for *DGATI* genotypes in Korean Holstein dairy cattle population

Genotypes	No. of cows	Milk yield (kg)	Fat yield (kg)
		LSM±SE	LSM±SE
QQ	23	7107.36 <sup>c</sup> ±384.81	253.86 <sup>c</sup> ±15.99
Qq	51	8016.97 <sup>a</sup> ±317.59	297.95 <sup>a</sup> ±13.20
qq	66	7878.67 <sup>b</sup> ±332.68	283.49 <sup>b</sup> ±13.83
Overall Mean	140	7667.67±353.56	278.43±14.28

1) Means with different superscripts in the same column are significant ( $P<0.05$ ).

형이 QQ 및 qq 호모형에 비하여 유의적으로 높은 유지량을 보였다. 이와 같은 결과는 Spelman 등(2002) 및 Winter 등(2002)이 뉴질랜드 유우 집단의 *DGATI* 유전자형과 산유형질간의 연관 분석에서 *DGATI* QQ 유전자형이 Qq 및 qq 유전자형보다 유량과 유지방량에서는 유의적으로 높다고 보고한 성적과는 다소 상이한 결과를 보였다. 따라서 *DGATI* 유전자는 유량과 유지방 생산에 중요한 역할을 하는 것으로 판단되어 젖소의 산유능력향상을 위한 선발마커로서의 활용이 가능할 것으로 사료된다.

#### IV. 적 요

본 연구는 한국형 Holstein종 젖소집단의 *DGATI* 유전자의 특성을 구명하고, *DGATI*의 유전적 다형과 산유형질인 유량 및 유지량 간의 연관성을 구명하여 젖소집단의 유전적 개량을 위한 분자유전학적 접목을 위하여 실험을 실시하였다. Holstein 종의 genomic DNA로부터 PCR기법을 이용하여 *DGATI* 유전자좌를 specific primers로 증폭한 후, 1.5% agarose gel에 전기영동한 결과 411 bp의 단편이 양호하게 증폭되었음을 확인하였다.

*DGATI* 유전자의 염기서열을 분석한 결과 *DGATI* Q 대립유전자의 216-218 bp의 염기서열이 AUG(lysine, K)였으나, 동위치의 대립유전자 q의 염기서열은 GCG(alanine, A)로 치환되어 있음을 확인할 수 있었다. 한편 한국 Holstein종과 NCBI에서 보고된 bovine *DGATI* 유전자 단편의 염기서열간에는 100% 상동성을 보였다. 한국 Holstein종 유우집단의 *DGATI* 유전자형의 분포는 *DGATI* QQ, Qq 및 qq 유전자 분포가 각각 16.43, 36.43 및 47.14%로 qq 유전자형빈도가 다른 유전자형에 비하여 높았으며, 유전자빈도는 *DGATI* Q 및 q 빈도가 각각 0.35 및 0.65로 q의 빈도가 높았다. *DGATI* 유전자형과 산유량인 유량 및 유지량간의 연관성에 있어서는 *DGATI* 유전자형이 유량 및 유지량에서 유의적인 차이 ( $P<0.05$ )를 보였으며, *DGATI* Qq 유전자형이 QQ 및 qq 유전자형에 비하여 유량과 유지량에서 유의적인 차이( $P<0.05$ )로 높은 수치를 나타냈다.

#### 사 사

본 연구는 2007년도 충남대학교 학술연구비의 지원에 의하여 연구되었으며 연구비 지원에 감사

드립니다.

## 인 용 문 헌

1. Aleandri, R., G. Buttazzoni and J. C. Schneider. 1990. The effects of milk protein polymorphism on milk components and cheese producing ability. *J. Dairy Sci.* 71:241-255.
2. Boichard, D. C., F. Grohs and Bourgois. 2000. Detection of genes influencing economic traits in three french cattle breeds. Abstract 51st EAAP Mtg., The Hague, The Netherlands.
3. Bovenhuis, H., A. M. Johan, A. Van and Korver. 1992. Association between milk protein polymorphisms and milk production traits. *J. Dairy Sci.* 75:2549-2559.
4. Cases, S., S. J. Smith and Y. W. Zheng. 1998. Identification of a gene encoding an acyl CoA: diacylglycerol acyltransferase, a key enzyme in triacylglycerol synthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 95:13018-13023.
5. Cheng, D., R. L. Meegalla and H. E. Bokang. 2001. Human acyl-CoA: diacylglycerol acyltransferase is a tetrameric protein. *Biochem. J.* 359:707 -714.
6. Coppieters, W., J. Riquet and J. J. Arranz. 1998. A QTL with major effect on milk yield and composition maps to bovien chromosome 14. *Mamm. Genome.* 9:540-5442.
7. Farnir, F., B. Grisart and W. Coppieters. 2002. Simultaneous mining of linkage and LD to fine-map QTL in outbred half-sib pedigrees: Revisiting the location of a QTL with major effect on milk production on bovine chromosome 14. *Genetics.* 161:275-287.
8. Grisart, B., W. Coppieters and F. Farnir. 2001. Positional candidate cloning of a QTL in dairy cattle: Identification of a missense Mutation in the bovine DGAT1 gene with major effect on milk yield and composition. *Genome Res.* 12:222-231.
9. Harvey, W. R. 1975. Least sqaeres analysis of data with unequal subclass numbers. USA Agriculture Research Service H-4.
10. Heyen, D. W., J. I. Weller, M. Ron and M. Band. 1999. A genome scan for QTL influencing milk production and health traits in dairy cattle. *Physiol. Genomics.* 1:165-175.
11. Looft, C., N. Reinsch and C. Karall-Albrecht. 2001. A mammary gland EST showing linkage disequilibrium to a milk production QTL on bovine Chromosome 14. *Mamm. Genome.* 12:646-650.
12. Naslund, J., W. F. Fikesw, G. R. Pielberg, and A. Lunden 2008. Frequency and effect of the bovine Acyl-CoA:Diacylglycerol acyltransferase 1(DGAT1) K232A polymorphism in Swedish Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 91: 2127-2134.
13. Pedersen, J. 1991. Selection to increase frequency of Kappa-casein variant B in dairy cattle. *J. Anim Breed and Gene.* 108:110-118.
14. Pirchner, F. 1983. Population genetics in Animal breeding. Freeman Company, San Francisco.
15. Riquet, J., W. Coppieters and N. Cambisano. 1999. Fine-mapping of quantitative trait loci by identity by descent in outbred populations: Application to milk production in dairy cattle. 1999. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96:9252-9257.
16. SAS. 2002. SAS/STAT guide for personal comper @6.13. SAS institute inc., NC., USA.
17. Schennink, A., W. M. Stoop, M. H. W. Visker, L. M. L. heck, H. Bovenhuis, J. J. van der Poel, H. J. F. van Valenberg and J. A. M. van Arendonk. 2007. DGAT1 underlies large genetic variation in milk-fat composition of dairy cows. *Animal Genetics.* 38: 467-473.

18. Schopen, G. C., P. D. Koks, J.A. van Arendonk, H. Bovenhuis and M. H. P. W. Visker. 2009. Whole genome scan to detect Quantitative trait loci for bovine milk protein composition. *Animal Genetics*, 40: 524-537.
19. Smith, S. J., S. Case. and D. R. Jensen. 2000. Obesity resistance and multiple mechanism of triglyceride synthesis in mice lacking *DGAT1*. *Nature Genetics*, 25(1):87-90.
20. Spelman, R. J., and A. M. van Arendonk. 2002. Effect of inaccurate parameter estimates on genetic response to marker assisted selection in an outbred population. *J. Dairy Sci.* 80:3399-3410.
21. Viitala, S. M., N. F. Schulman and Koning. 2003. Quantitative trait loci affecting milk production traits in finnish ayrshire dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 86:1828-1386.
22. Winter, A., K. Wolfgang and A. O. Werner, Fabian, 2002. Association of a lysine-232/alanine polymorphism in a bovine gene encoding acyl-CoA: diacylglycerol acyltransferase (*DGAT1*) with variation at a quantitative trait locus for milk fat content. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99:8512-8517.