

돼지 *PGK 2* 유전자의 단일염기다형성 및 성장 형질과의 연관성 구명

장홍철^{1,3} · 김상욱² · 임다정¹ · 김재영¹ · 조규호¹ · 김명직¹ · 이지웅³ · 최봉환^{1*} · 김태현¹

¹농촌진흥청 국립축산과학원, ²충북대학교 축산학과, ³전남대학교 동물자원학부

Association of Single Nucleotide Polymorphism (SNP) in the *PGK 2* Gene with Growth Traits in Pigs

Hong-Chul Jang^{1,3}, Sang-Wook Kim², Dajeong Lim¹, Jae-Young Kim¹, Kyu-Ho Cho¹, Myung-Jick Kim¹, Ji-Woong Lee³,
Bong-Hwan Choi^{1*} and Tae-Hun Kim¹

¹National Institute of Animal Science, RDA, Suwon, 441-706, Korea

²Department of Animal Science, Chungbuk National University, Cheongju, Chungbuk, 361-763, Korea

³Department of Animal Science, Chonnam National University, Gwangju, 500-757, Korea

ABSTRACT

The purpose of this study was to analyse of association between growth traits and single nucleotide polymorphisms (SNPs) polymorphism of phosphoglycerate kinase 2 (*PGK 2*) gene in pigs. The birth weight of piglet influences on weaning weight and survival rate that are import economic traits in pig industry. Also, these growth traits are representative factor to decrease a period getting to marketing weight as well as growth rate in pig. The *PGK 2* is an isozyme that catalyzes the first ATP-generating step in the glycolytic pathway and important enzyme related with energy metabolism. Twenty of SNPs were discovered by genome structure analysis that compares the sequence on promoter and transcription region of *PGK 2* gene in porcine chromosome 7. An association between *PGK 2* SNPs and growth traits was analyzed in F₂ reciprocal-crossbred population between Korean native pig (KNP) and Landrace. Association analysis indicated that polymorphism of the *PGK 2* gene promoter region has significant effects on weight at birth ($p < 0.01$) and weight at 3 weeks of age ($p < 0.0001$). These results suggest that *PGK 2* gene polymorphism was associated with energy metabolism and physiological function of growth in pig.

(Key words : *PGK 2*, SNP, Pig, Birth weight, 3 weeks weight)

서 론

양돈 산업에 있어서 돼지의 성장 형질은 생산성과 수익성에 직결된 중요한 경제 형질이다. 특히 자돈의 생시 체중과 이유 체중은 돼지의 성장 형질에 중요한 영향을 미치는 요인으로 보고되었다 (Wolter와 Ellis 등, 2001). SCA Feed Evaluation Unit (2000)에서 발표한 자료에 따르면 자돈의 생시 체중이 1.2 kg 이상이면 자돈의 생존율이 약 59% 향상됨을 보였고, 생시 체중이 0.5 kg 더 높으면 이유 시 체중은 1 kg 이상 더 증가됨을 확인하였다. Mahan과 Lepine 등 (1991)에 의하면 이유 시 평균 체중이 2.8 kg 향상되었을 때 105 kg 도달 일령은 15일 이상 감소되는 것으로 보고하였으며, Campbell (1989)의 연구에서는 이유 시 체중 1.8 kg의 차이가 78일령에는 5.2 kg 차이를 발생시킨 것으로 보고되었다. Gondret 등 (2005)의 연구에서도 자돈의 생시 체중은 이유 체중 및 출하시까지 성장률뿐만 아니라 출하일령 단축과도 밀접한 연관

성이 있다고 보고되었다.

현재 돼지의 성장형질에 관련된 유전자에 대한 탐색이 활발히 이루어지고 있다. 하지만 이러한 양적형질과 관련된 유전자들은 몇몇 소수만이 보고되고 있다. *MC4R* (Melanocortin-4 receptor) 유전자는 에너지 중심조절에 중요한 G-protein 쌍의 receptor를 중심으로 발현하며, 자연적으로 발생하는 missense 변이는 지방의 축적, 성장, 그리고 사료섭취 특성과 관계가 있는 것으로 보고되었다 (Farooqi 등, 2003; Hernandez-Sanchez 등, 2003; Hinney 등, 2003). 또한 Gerbens 등 (1998)에 의하면 *H-FABP* (heart acid-binding protein; *FABP3*)와 *A-FABP* (adipocyte fatty acid-binding protein; *FABP4*)의 유전적 다형성은 돼지의 근내지방 함량, 등지방 두께 및 성장률과 연관성이 있다고 보고되었다. 기존에 연구되었던 돼지의 성장형질과 관련되어 있는 유전자 이외에 *PGK 2* (Phosphoglycerate kinase 2) 유전자는 돼지 7번 염색체에 위치하며, 해당 과정 7번째 단계에서 전이효소로 작용하여 1,3-

* Corresponding author : Bong-Hwan Choi, Animal Genomics & Bioinformatics Division, National Institute of Animal Science, RDA, #564 Omockchun-dong, Suwon, 441-706, Republic of Korea. Tel: +82-31-290-1592, E-mail: bhchoi@korea.kr

diphosphoglycerate에서 3-phosphoglycerate로 전환시켜 ATP 1 분자를 생성시키며, 포도당이나 과당을 피루산으로 전환시킨다 (Chen 등, 2004). 또한 Chen (2004) 등에 의하면 정소상태에서 정자의 대사를 조절하는 것으로 알려져 있으며, 해당과정 경로의 동질효소로서 정자의 운동성을 위한 ATP의 요구를 제공하여 수컷의 생식능력에도 관여하는 것으로 알려져 있다 최근에 *PGK* 유전자는 이황화 환원효소로서 혈관형성 과정에서 종양의 확산과 전이에 증대한 영향을 미치는 것으로 보고된 바 있다(Lay 등, 2000). 또한 효모를 포함한 모든 진핵 생물 효소의 기능적인 측면에서 높은 보존력에 관여한다는 보고가 있다(Mas 등, 1986). 계승 염기서열 분석 결과에 의하면 돼지 *PGK 2* 유전자는 인간, 말, 쥐에서와 같이 종분화적 상동성(ortholog)으로 single-exon을 포함하는 유전자로 확인되었다(McCarry와 Thomas, 1987; Boer 등, 1987; Giese 등, 2002). 이러한 결과들을 정리해 볼 때 *PGK 2* 유전자는 돼지의 에너지 대사와 같은 생체 내 중요한 기능을 담당하고 있으며, 성장 형질과도 관련되어 있을 것으로 추정 할 수 있다.

따라서 본 연구는 돼지 집단을 대상으로 해당과정 중 전이 및 동질효소로서 작용하여 에너지 대사에 영향을 미치고, 다양한 기능에 관여하고 있는 *PGK 2* 유전자의 promoter 영역 및 transcription 영역을 대상으로 DNA 염기서열을 결정하고 새로운 SNP를 발굴하여 유전자형을 결정한 후 돼지의 성장 형질과의 연관성을 분석하고자 수행하였다.

재료 및 방법

1. 공시재료

본 연구에 사용된 공시재료는 농촌진흥청 국립축산과학원의 순종 재래돼지(Korean Native Pig, KNP) 5두와 Landrace 9두의 품종간 교배를 통해 F₁을 생산하고, F₁ 간의 교배를 통해 F₂ 집단 268두를 생산하였다. 사용된 집단은 성장 형질인 생시 체중과 3, 5, 12, 30 주령 체중 및 일당증체량의 기록을 보유하고 있다.

2. Genomic DNA 추출 및 농도 측정

Genomic DNA는 F₂ 집단 268두의 전혈을 채취한 후, Wizard genomic purification kit(Promega, USA)를 이용하여 genomic DNA를 추출하였다. 추출된 genomic DNA는 spectrophotometer(Nanodrop technologies, Inc. USA)를 이용하여 농도를 측정한 후, 50 ng/ul 로 보정하여 -20℃에 보관하면서 실험에 사용하였다.

3. *PGK 2* 유전자 증폭 및 염기서열 결정

PGK 2 유전자 내 SNP 발굴을 위하여, 각각 품종이 다른 재래 돼지, Duroc, Berkshire, Yorkshire, Landrace, Minipig 품종으로부터 각각 8두씩 총 48두를 이용하였다. *PGK 2* 유전자의

promoter 영역 및 transcription 영역의 증폭 및 확인을 위한 8개의 primer는 NCBI Genbank (Accession NO. AY500132.1)를 참고하고 Oligo 6 (Molecular Biology Insights, Cascade, CO, USA) 프로그램을 사용하여 최종 반응산물이 600 bp 내외가 되도록 제작 하였다(Table 1). 8개의 primer는 양끝의 염기 서열이 모두 중복되도록 제작하여 *PGK 2* 유전자의 정확한 염기서열을 얻을 수 있도록 하였다. PCR 반응은 PCR reaction buffer (500 mM KCl; 100 mM Tris-Cl, pH 8.2; 15 mM MgCl₂ 0.1% Triton X-100, TaKaRa Co, Japan) 2.5 μl, 2.5 mM dNTPs 2 μl, 10 pmole/ul의 primer 각 0.5 ul, 50 ng/ul의 genomic DNA, 1unit의 Taq DNA polymerase(CoreBio)를 넣고 멸균증류수를 첨가하여 최종 부피를 25 μl가 되도록 하였다. 유전자 증폭은 Thermal Cycler PTC-0240 (MJ Research, Inc., MA, USA)를 이용하여 94℃ 10분간 pre_denaturation을 시작으로 94℃ 30초, 50-61℃ 30초, 72℃ 70초를 1cycle로 하여 총 35 cycle 증폭 후 72℃에서 5분간 신장 반응을 수행하였다. PCR이 끝난 후 5 μl의 PCR 증폭산물은 1.5%의 agarose gel에서 전기영동을 통하여 확인하였다.

PCR 반응을 통해 증폭된 산물은 유전자 증폭산물 정제 키트(PCR Purification Kit, CoreBio PPHTS-30)를 이용하여 정제한 후, BigDye® Terminator(ver3.1) Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems)와 ABI 3730XL (Applied Biosystems)을 이용하여 직접 염기서열분석을 수행하였다.

4. *PGK 2* 유전자내 SNP 분석 및 유전자형 결정

개체별로 결정된 염기서열은 SNP 확인을 위하여 Lasergene SeqMan program (DNASTAR, Inc., USA)을 사용하였다. 확인된 SNPs는 PCR-RFLP 방법을 이용하여 유전자형을 결정하였다. 증폭된 PCR 산물은 MboII 제한효소(5'-GAAGA(N)₈-3')를 처리하여 5시간 동안 37℃에서 반응시키고 ethidium bromide가 포함된 2.5% agarose gel에서 전기영동 후 UV상에서 확인하였다. 사용된 primer 및 제한 효소는 Table 1과 같다.

5. 통계분석

돼지 각 개체의 유전자형과 성장 형질과의 연관성 분석을 실시하였다. 연관성 분석은 SAS package (Version 9.01; SAS, Inst., Inc., Cary, NC)의 혼합 효과 모형(MIXED)을 이용하였으며, 유전자형의 효과와 유의한 형질들에 대해 최소 유의 검정차이에 대한 유의성을 조사하였다. 통계분석에 이용한 모형은 다음과 같다.

$$Y_{ijklm} = \mu + S_i + G_j + D_k + e_{ijklm}$$

여기서 Y_{ijklm}: 도체형질 관측치, μ: 전체의 평균, S_i: 아비에 대한 임의효과, G_j: 유전자형 효과, D_k: 도축차수, e_{ijklm}: 임의오차를 나타낸다.

Table 1. Primer and restriction enzyme for promoter and transcription region of *PGK 2* gene in pig

Primer names	* Sequence (5'→3')	Annealing Tm (°C)	Product size (bp)	Restriction enzyme
<i>PGK 2-1</i>	Forward	5'-TTCCAATAACGATAAAT-3'	50	<i>Mbo</i> II
	Reverse	5'-GATGTGGTTCCTTACTGTTCC-3'		
<i>PGK 2-2</i>	Forward	5'-TTCTCCAAAATAAAAACTCT-3'	50	525
	Reverse	5'-AAGAATGAAAAGCATACCTC-3'		
<i>PGK 2-3</i>	Forward	5'-CAAGGAAAAAACAGAAGCATA-3'	55	596
	Reverse	5'-CACGTCCAGTTTGTCCAA-3'		
<i>PGK 2-4</i>	Forward	5'-GACCCGGTGCTTGGAAAGATAG-3'	57	685
	Reverse	5'-TGCGGCAGATTCCTCC-3'		
<i>PGK 2-5</i>	Forward	5'-CATCCTACTGGAGAACCTTCG-3'	61	603
	Reverse	5'-CCACAGTCCAAAGCCACC-3'		
<i>PGK 2-6</i>	Forward	5'-AGATTGGTGCCTCCCTGTTTCG-3'	61	628
	Reverse	5'-CCCATTCTTGGTCTTTGCCT-3'		
<i>PGK 2-7</i>	Forward	5'-AGTGTTCCTCCTACTGTTTT-3'	61	582
	Reverse	5'-GCAGCAGAAATGAATCC-3'		
<i>PGK 2-8</i>	Forward	5'-AGGCTAGGGTTCGAATCA-3'	55	425
	Reverse	5'-GATGCCTGACCCACTGAGCAA-3'		

*: Position using the GenBank AY500132.1 sequence as the reference.

결과 및 고찰

1. 돼지 *PGK 2* 유전자의 SNP 및 유전자형 분석

PCR 및 직접 염기서열분석을 통하여 *PGK 2* 유전자에서 20개의 SNP를 발견하였다(Fig. 1). 현재까지 Genbank에 돼지 *PGK 2* 유전자는 42개의 SNP가 보고되어 있으나, 성장형질과 연관된 SNP는 아직 보고되어 있지 않다. 단일염기다형성(SNP)은 DNA 염기서열에서 하나의 염기 변화로 인한 아미노산의 변화를 유발하여 단백질의 기능에 작용함으로써 여러 형질에 큰 영향을 미친다. 그러므로 SNP와 형질과의 관련성 연구에 주재료가 된다(Chasman, 2001 Sunyaev 등, 2001). 본 연구를 통하여 발견된 20개의 SNP는 Genbank SNP database와 비교한 결과 g.2093 C > T(exon 영역), g.2643 G > A, g.2644 T > C, g.2653 G > A(3'-UTR 영역) 등 4개의 SNP를 제외한 16개의 SNPs는 모두 신규 SNP로 확인 되었다. 그리고 총 20개의 발견된 SNP들 가운데 11개는 promoter 영역에서, 6개는 exon 영역에서, 4개는 3'-untranslated region(UTR) 영역에서 확인이 되었으며, g.2161 A > C SNP는 단백질 아미노산 구조에 변화를 주는 Missense SNP로 확인되었다. 발견된 20개의 SNP중 연관불균형과 다형성을

고려하여, g.122 T > G SNP를 재래돼지와 Landrace의 F₂ 집단 268두를 대상으로 PCR-RFLP 방법을 통하여 유전자형을 조사 하였고, 대립유전자빈도 분석을 수행하였다(Table 2). 확인 결과 GG 유전자형은 2개의 band로 92 bp와 450 bp로 절단되어 2개의 band로 나타났으며, GT형은 절단되지 않는 542 bp와 절단된 92 bp 와 450 bp 등 3개의 band로 나타났다. TT형은 절단되지 않는 542 bp 1개의 band 만 나타났다. 유전자형 빈도는 GG형, GT형, TT형이 각각 40두(14.9%), 128두(47.8%), 100두(37.3%)로 나타났다. 또한 SNP 확인을 위하여 사용된 재래돼지·Duroc·Berkshire·Yorkshire·Landrace·Minipig 등 6개 품종에 대한 유전자형 및 대립유전자 빈도는 Table 3에 제시하였다. Table 3의 유전자형 빈도는 g.235 G > A, g.240 A > G, g.263 A > G, g.365 G > A, g.536 C > T, g.638 G > A, g.2477 T > G, g.2643 G > A, g.2644 T > C, g.2653 G > A 총 10개의 SNP 는 연관불균형의 정도가 매우 높음을 알 수 있으며, 또한 g.651 G > A, g.714 T > G, g.810 A > G, g.1523 G > A, g.1823 T > C, g.1874 A > G, g.2093 T > C, g.2161 A > C 등 총 8개의 SNP 들 역시 연관불균형 정도가 매우 높으나 그 다형성이 높지 않음을 확인하여, g.122 T > G 등 1개의 SNP 유전자형 효과를 분석하였다.

```

CGAACTGCCA AACTATTTCC CTAACAGCTG TAGCATACCT TATTCCCAAT AACGATAAAT GAGATGTCTT ATTGCTGTGC ATCTTTGA
ATGCTGTGAT AATGTTGGAT GTTAGCCATT GAAGAGTAT GCGGATATCA TTAACATATCT AGAATGGAA TTGCTGGGTC ATATGGTAA
TTCATGTTTA ATATTTTGAA AAAATATCAA GCGCTCCTCT AAACGTACTA CAATTTTCGCATTCTACC AGCAATATGC GAGGTACCA
ACTTTTCCTC ATCCTAGTCA ACTTTGTTAC TGTCTTTTTT AAATTTTAGC CATCCTCTAA AATAGTTTTG TCAAACCTT CCTGCTAC
ATTTAGTTCA TGCAACTTAT AGAACTGCT ATAATAATTG CAAAGCCCGT TTTTATCTCT AAACCTATCA GCCATATATA TACTTTCT
AAAAATAAAA ACTCTTACTC ATTTTCAGTT CAGATGTTTT CATTCTCATG AAACCTATGCC TGTTTTCAGC TGAATTTCAA AGTTACAG
GTAGTGAAAC AGAGAGAGGA GAGGGAACAG TAAGGAACCA CATCATAACT TTGTAGCCTG AAAGAAATGT CACCATTACC TTGAGGGG
TACTGATACT CTGTGCTATG ATCTTATCAC ATTTCTCCCA AAGAAGCCAC CAAGCATTCT CTCACGGTAG TATGAGAACA GGAAGAA
GCTAGTGAAA ATACTGTATA TTCACCCAC GCTGGAATAT ACCTAAAACC AAAGGCTCAT ACCAAGCTAT GCTCTTAAAC GAAATATG
TCAAGACAAG GAAAAACAG AAGCATATTA TGTTGCCTTG AATAAACAG GTTTCATAGA CCCATTCTTT CAAATCTTTC CTTTAATT
GCAGGGCACA AGTTTCTACA CTCATATATA TTAGGATTTT ACATGGGGGG AGGTATGCTT TTCATTCTTT TAAAAGAATA AAAGCAAT
TTAAAAAAA AAAAATGTG AAAAGAACC AGCAGGAGGC TTGGACGTCA GGACTCCTCT TCTTTCAGGG TTCTTACC TCTTCAAC
TCACCCCAAG CCACCAGATA TCACTAGTCT AGTCTT CAGC CTGGCTCGT AGAATCTGCA CCACGCTCT CCAAATCCCG ATTGACAG
CGATTGGACC AATCACAGAG CCAGGTTTCC TTGCCCGGT CCAATCATGG CTGCCATGTG GGAGACCCGG TGCTTGAAG ATAGGGGC
GCCAAGAGGA AGGGCGTTAG GAAACGCCAT CCGCGCAACA TCGCAGCAGC AGTGAAGTGG TTCCCTGCAA CATCGGATC TAAGTGT
CCTGTCTTCG TATTGTCAA ATGTCTCTTT CTAAGAAGTT AACTTTGGAC AAACCTGGAC TGAAAGGGAA ACGAGTCAATGAGAGTAG
ACTTCAATGT TCCCATGAAG AGGAACCAAG TTACAAACA CCAAAGAATC AAGGCTTCCC TCCAAGCAT CAGTACTGC AGATAACG
GAGCCAGGTC AGTAGTCTC ATGAGTCATT TAGGTAGACC TGATGGTGT GCGATGCCTG ATAAATACTC CTTAGAGCCG GTGGCTGC
AACTCAAATC CTTGCTGGG AAAGACGTTT TGTTCC TAAA AGACTGTGTG GGCTCAGAAG CAGAGCAAGC TTGTGCAAC CCACCTGC
GTTCACTCAT CCTACTGGAG AACCTTCGCT TTCATGTGGA AGAGGAAGG AAGGCAAG ATCCTTCTGG GAATAAGCTG AAAGTGA
CAGATAAAGT AGAAGCCTTC CCGCATCGC TCTCCAAGCT GGGGGATGTG TATGTCAATG ATGCTTTTGG CAGGCTCAC CGGGCTCAC
GTTCCATGGT GGGAGTGAAT CTGCCGCAGA AGGCATCTGG ATTCTGTATG AAAAAGGAGC TGGATTACTT TGCCAAAGCC TTGGAAAA
CAGAGAGACC CTTTCTGGCT ATCCTTGGTG GAGCTAAAGT GGCAGACAAG ATCCAACCTCA TCAAAAATAT GCTGGACAAA GTCATGA
TGATTATTGG TGGCGGAATG GCTTTTACCT TCCTTAAAGT ACTCAACAAC ATGGAGATTG GTGCCTCCCT GTTCGACAAA GAGGGAGC
CGATTGTCAA AGAGATCATG GCCAAAGCTG AAAAGAATAG GGTGAACATT ACCTTTCCTG TTGACTTTGT CATTGCTGAC AAGTTTGA
AAAAATGCTAA GGTGGCCAG GCCACGGTAG CGTCAGGTAT ACCTGCCGGC TGGGTGGCTT TGGACTGTGG TCCTGAGACC AACAGAA
ATGCACAAGT TGTGGCCCGA GCCAAGCTAA TTGTGTGGAA TGGACCTTTA GGGTCTTTT AATGGGATGC CTTTGCTAAT GGAACGAA
CCCTCATGGA TGAAATGTG AAAGCCACCT CCAAGGCTG TATCATATT ATAGGAGGTG GAGACACGGC CACTTGCTGT GCCAAATGG
ACACTGAAGA TAAAGTCAGT CATGTGAGCA CTGGAGGAGG TGCCAGTCTA GAGCTTCTGG AAGGTAAAGT CCTTCTGGA GTGGAGGC
TCAGCAATCT GTAGTTGATA GTGTTCTTTC CACTGTTTT CTGTGCACAG CCTTAAAGTC AACTTAGTGC TTTTACATCT CAACTGAA
TTTGTAAAA TCTACCCCTC CATCAAGACT CAGGCAAGA CCAAGGAATG GGCCATCAGG AACTCTTAA ACAGCTTAA CAGTACAA
CATTTTTGT CTGTGATGCA TTTGCCTACT GTCTTAAAGA TCTCATTGA ACTTCACTGT TGTAATTCAT AGAAAGTGAG CTGCCAT
AAGTGAATTG AATAAGCTGA ATTTCCTTCT CTTTTAATTT TAGACCAGCT TTATATTGT TTTACCATT GAAACATGGA AACCAAC
AAGTGCTAA GGAAGGGTGG GGTACAAGGT GACAAA TTTT TATTTTATT TTTTGTCTTT TTAGGGCCAC ACGCATGGCA CATGGAGG
CCTAGGCTAG GGGTCGAATC AGAGCTGTAG CTGCCAGCCT ATGCCACAGC CTCACCAGAT CCCAGCCATG TCTGTACCT ACACCACA
TAATGGCAAT GCCGGATCCT TAACCACTG AGTGAGGCTT AGCCGGATTC ATTTCTGCTG CACCACGAAG GGAACCTCCG AGGTGATA
TTATTAATA ATGAAAGTGT CCCAATAAAC TGAGAAAAAT AATTGCATTT AAGAACTCAT GGGTAGCATT AAAGCTCCAC TAAGAGGA
GTTTACTAA ATAAGAAGAG AAATAAAAA TACTTATTAA CTAAGAAGT TAAAAAAA AAAAGGGAGT TCCCATCATG GCTCAGCT
AATGAATCTG AGTAGCATCC ATGAAAGATGC AGATTCAATC CTTGGCTTTG CTCAGTGGGT CAGGCATCTG GGGTGGCCGT GCACTCTG

```

Fig. 1. A sequence alignment the *PGK 2* gene of pig (Genbank accession No. AY500132.1).

* Promoter region, ** Single-exon region, *** 3'-UTR region.

2. 돼지 *PGK 2* 유전자내 SNP와 성장형질과의 연관성 분석

SNP를 채래돼지와 Landrace F₂ 268두의 성장 형질과의 연관성 분석을 해 본 결과, promoter 영역의 g.122 T>G SNP는 3주령 체중 (p<0.001) 및 생시 체중 (p<0.01)에서 유의적인 차이가 관찰 되었으나, 5, 12, 30 주령 체중 및 일당증체량은 유의적 연관성을

SNP와 성장 형질과의 연관성 분석을 위하여 발굴된 20개의

Table 2. Genotype and allele frequency of SNP in porcine *PGK 2* gene promoter region

SNP position	No. of Animal	Genotype			Allele frequency	
		GG	GT	TT	G	T
g.122 T>G	268	0.15(40*)	0.48(128*)	0.37(100*)	0.39	0.61

*: Number of pig

Table 3. Genotype and allele frequency of SNPs in the six pig breeds *PGK 2* gene

Breeds	SNP	Genotype					Allele frequency					SNP	Genotype					Allele frequency						
		GG	TG	TT	G	T	AA	AG	GG	A	G		CC	CA	AA	C	A	AA	AG	GG	A	G	CC	CT
KNP*	g.122 T>G	0	3	5	0.19	0.81	g.365 G>A	0	3	5	0.19	0.81	g.810 A>G	0	0	8	0.00	1.00	g.2161 A>C	8	0	0	1.00	0.00
Duroc		4	4	0	0.75	0.25		4	3	1	0.69	0.31		0	0	8	0.00	1.00		7	0	1	0.88	0.12
Berkshire		5	1	2	0.69	0.31		5	1	2	0.69	0.31		0	1	7	0.06	0.94		7	0	1	0.88	0.12
Yorkshire		8	0	0	1.00	0.00		8	0	0	1.00	0.00		4	1	3	0.56	0.44		8	0	0	1.00	0.00
Landrace		0	3	5	0.19	0.81		0	4	4	0.25	0.75		0	0	8	0.00	1.00		8	0	0	1.00	0.00
Minipig		4	3	1	0.69	0.31		4	3	1	0.69	0.31		0	0	8	0.00	1.00		4	0	4	0.50	0.50
KNP*	g.154-Dd	4	4		0.50	0.50	g.536 C>T	5	3	0	0.81	0.19	g.1523 G>A	8	0	0	1.00	0.00	g.247 C>T	4	0	4	0.50	0.50
Duroc		8	0		1.00	0.00		1	3	4	0.31	0.69		7	1	0	0.94	0.06		1	0	7	0.13	0.87
Berkshire		8	0		1.00	0.00		2	1	5	0.31	0.69		6	2	0	0.88	0.12		3	0	5	0.38	0.62
Yorkshire		8	0		1.00	0.00		0	0	8	0.00	1.00		1	3	4	0.31	0.69		0	0	8	0.00	1.00
Landrace		8	0		1.00	0.00		4	4	0	0.75	0.25		8	0	0	1.00	0.00		5	0	3	0.63	0.37
Minipig		6	2		0.75	0.25		2	3	3	0.44	0.56		8	0	0	1.00	0.00		1	0	7	0.12	0.88
KNP*	g.235 G>A	0	3	5	0.19	0.81	g.638 G>A	5	3	0	0.81	0.19	g.1823 T>C	8	0	0	1.00	0.00	g.2643 G>A	0	2	5	0.12	0.88
Duroc		4	3	1	0.69	0.31		1	3	4	0.31	0.69		6	1	1	0.81	0.19		3	4	1	0.62	0.38
Berkshire		5	1	2	0.69	0.31		2	1	5	0.31	0.69		6	0	2	0.75	0.25		1	3	4	0.31	0.69
Yorkshire		8	0	0	1.00	0.00		0	0	8	0.00	1.00		8	0	0	1	0		0	3	4	0.19	0.81
Landrace		0	4	4	0.25	0.75		4	4	0	0.75	0.25		8	0	0	1.00	0.00		0	3	4	0.19	0.81
Minipig		4	3	1	0.69	0.31		1	3	4	0.31	0.69		8	0	0	1.00	0.00		4	2	1	0.62	0.38
KNP*	g.240 A>G	5	3	0	0.81	0.19	g.651 G>A	8	0	0	1.00	0.00	g.1874 A>G	0	0	8	0.00	1.00	g.2644 T>C	0	2	5	0.12	0.88
Duroc		1	3	4	0.31	0.69		7	0	1	0.88	0.12		0	1	7	0.06	0.94		3	4	1	0.62	0.38
Berkshire		2	1	5	0.31	0.69		8	0	0	1.00	0.00		0	1	7	0.06	0.94		1	3	4	0.31	0.69
Yorkshire		0	0	8	0.00	1.00		3	1	4	0.44	0.56		4	2	2	0.62	0.38		0	3	4	0.19	0.81
Landrace		4	4	0	0.75	0.25		8	0	0	1.00	0.00		0	1	7	0.06	0.94		0	3	4	0.19	0.81
Minipig		1	3	4	0.31	0.69		8	0	0	1.00	0.00		0	0	8	0.00	1.00		4	2	1	0.62	0.38
KNP*	g.263 A>G	5	3	0	0.81	0.19	g.714 T>G	0	0	8	0.00	1.00	g.2093 T>C	8	0	0	1.00	0.00	g.2653 G>A	5	2	0	0.75	0.25
Duroc		1	3	4	0.12	0.88		0	0	8	0.00	1.00		8	0	0	1.00	0.00		1	4	3	0.38	0.62
Berkshire		2	1	5	0.31	0.69		0	1	7	0.06	0.94		5	2	1	0.75	0.25		4	2	1	0.62	0.38
Yorkshire		0	0	8	0.00	1.00		4	3	1	0.69	0.31		8	0	0	1.00	0.00		3	1	1	0.44	0.56
Landrace		4	4	0	0.75	0.25		0	0	8	0.00	1.00		8	0	0	1.00	0.00		3	3	1	0.56	0.44
Minipig		1	3	4	0.31	0.69		0	0	8	0.00	1.00		8	0	0	1.00	0.00		1	1	4	0.19	0.81

* KNP; Korean native pig.

확인할 수 없었다 (Table 4). 또한 6개 품종간 다형성을 보인 다른 19개의 SNP도 성장형질과의 유의적 연관성을 확인 할 수 없었다. 유의적 연관성이 확인된 g.122 T >G SNP의 경우 GT 및 GG 유전자형이 TT 유전자형 보다 생시 체중에서 더 우수한 효과를 보였으며, 3주령 체중에서도 GT 및 GG 유전자형이 TT 유전자형에 비하여 더 우수한 것으로 확인되었다 (Table 4). Gondret 등 (2005)에 의하면 생시 체중은 이유 시 체중에 영향을 주어 출하 시 까지 돼지의 성장률뿐만 아니라 출하 일령 단축 및 출하 체중 증가

와도 밀접한 연관성이 있다. 또한 김 등 (2005)의 연구에 의하면 성장률에 관여하는 *FABP3* 유전자의 promoter 상에서 발견된 신규돌연변이가 한국재래돼지와 Landrace 교배조합의 F₂ 집단에서 초기 성장 단계라 할 수 있는 생시, 3주, 5주, 12 주령 체중과는 유의적 연관성을 보인다. 본 연구에서도 생시 체중은 이유 시 일령 인 3 주령 체중과 높은 유의적 연관성이 확인됨을 알 수 있었다. 돼지의 성장 형질에 대한 QTL 연구에서 성장에 관여하는 다양한 유전자들이 품종간의 차이를 나타내지만 돼지 4, 6, 7번 염색체

Table 4. Least square means and standard error on phenotypic measurements from growth trait of pig by *PGK 2* genotypes

SNP	Growth trait	Genotype			P-value
		GG (40*)	GT (128*)	TT (100*)	
g.122 T>G	BW 0	1.271 ± 0.433 ^a	1.290 ± 0.420 ^a	1.121 ± 0.360 ^b	0.01
	BW 3	5.121 ± 0.400 ^a	5.199 ± 0.421 ^a	4.460 ± 0.401 ^b	0.0001
	BW 5	7.312 ± 0.290	7.300 ± 0.143	6.770 ± 0.129	0.057
	BW 12	23.677 ± 0.977	24.123 ± 0.525	23.001 ± 0.442	0.15
	BW 30	86.799 ± 2.431	87.213 ± 1.564	87.607 ± 1.501	0.933
	ADG (kg)	0.480 ± 0.011	0.479 ± 0.005	0.469 ± 0.008	0.822

BW 0, BW 3, BW 5, BW 12, BW 30 are body weight at birth, 3, 5, 12, 30 weeks of age, respectively (kg).

ADG (g), average daily gain

*: Number of pig

^{a,b} Means with different superscripts within row are significantly different (P<0.05).

에서의 높은 유의성이 인정되었다(Andersson 등, 1994; Wang 등, 1998; Marklund 등, 1999; Ovilo 등, 2002; Sato 등, 2003). 이 중에서도 growth hormone, insulin-like growth factor, TGF-β, Leptin과 수용체 등은 세포 분화 및 조직 형성을 상위에서 조절하는 조절인자들이 배 발생 과정에서부터 중요한 역할을 수행하며, 이들 유전자의 다형성은 표현형에 직·간접적으로 많은 영향을 미치는 것으로 연구 되어 지고 있다(Brab 등, 2001; Kennes 등, 2001; Laere 등, 2003; Kopency 등, 2004; Louveau 등, 2004).

이상의 연구 결과로 판단하여 볼 때 현재 돼지 *PGK 2* 유전자는 돼지의 성장 형질에 관여한다는 연구 결과는 없다. 그러나 해당과정 중 전이 및 동질효소로서 작용하여 에너지 대사에 관여하며 유전자의 기능에 영향을 줄 수 있는 *PGK 2* 유전자의 promoter 영역내의 SNP가 생시 체중 및 3주령 체중과 유의적 연관성이 있음을 확인하여, 건강한 자돈 및 종돈을 조기 선발하는 DNA marker로 개발하는데 활용 함으로서 향후 국내 양돈산업에 크게 기여할 수 있을 것으로 판단된다. 그리고 연구 대상을 다른 품종으로 확대하여 돼지 *PGK 2* 유전자에 대한 추가적인 연구가 이루어 져야 할 것으로 사료된다.

요 약

자돈의 생시 체중은 자돈의 이유 체중 및 생존율에도 크게 영향을 미친다. 또한 출하 시까지 돼지의 성장률 뿐만아니라 출하 일령 단축 및 출하 체중과도 밀접한 연관성이 있는 것으로 알려져 있다. 본 연구는 돼지 7번 염색체의 *PGK 2*(phosphoglycerate kinase 2) 유전자의 promoter 영역 및 transcription 영역에 해당하는 DNA 염기서열을 유전체 구조분석을 통해 20개의 SNP(Single Nucleotide Polymorphism)를 발굴하였고, 발굴된 SNP 중 *PGK 2* 유전자의 전사 조절 영역 내 g.122 T>G 다형을 재래돼지와 Landrace를 이용한 F₂ 집단 268두 자돈의 성장 형질과의 연관성

분석을 실시한 결과, 생시 체중 (p<0.01) 및 3주령 체중 (p<0.001) 에서 통계적으로 고도의 유의적 연관성이 있음을 확인 할 수 있었다. 따라서 본 연구를 통하여 확인된 *PGK 2* 유전자의 promoter 영역 내 성장 형질 관련 SNP는 건강한 자돈 및 종돈을 조기 선발하기 위한 유전자 marker로 활용 가능성을 제시하였다.

(주제어: 포스포글리세레이트 카이나제 2 유전자, 단일염기다형성, 돼지, 생시체중, 이유체중)

사 사

본 연구는 농촌진흥청 바이오그린 21 과제로 수행중인 “DNA 마커 도움선발(MAS, Marker-Assisted Selection)을 이용한 한국 재래돼지 개량과 상업적 비육 흑돼지 계통조성” 과제의 일부 결과물이며, 실험에 사용된 일부 시료는 국립축산과학원 양돈과의 협조로 확보 되었습니다. 시료 확보에 도움을 주신 모든 분들께 감사드립니다.

인 용 문 헌

- Andersson, L., Haley, C. S., Ellergren, H., Knott, S. A., Johansson, M., Andersson, K., Andersson-Eklund, L., Edfor-Lilja, I., Fredholm, M., Hansson, I., Hakansson, J. and Lundstrom, K. 1994. Genetic mapping of quantitative loci for growth and fatness in pigs. *Science*. 263:1771-1774.
- Anonymous. 2000. Nutrition's Feed Evaluation Unit in Pig. *SCA Corp.*, U.S.A.
- Boer, P. H., Adra, C. N., Lau, Y. F. and McBurney, M. W. 1987. The testis-specific phosphoglycerate kinase gene *PGK-2* is a recruited retroposon. *Mol. Cell Biol.* 7:31073112.
- Brab, C. R., Hausman, G. J. and Houseknecht, K. L. 2001. *Biology*

- of leptin in the pig. *Domest. Anim. Endocrinol.* 21:297-317.
- Chasman, D. and Adams, R. M. 2001. Predicting the functional consequences of non-synonymous single nucleotide polymorphism: structure-based assessment of amino acid variation. *J. Mol. Biol.* 307:683-706.
- Campbell, R. G., Steele, N. C., Caperna, T. J., McMurtry, P. J., Solomon, M. B. and Mitchell, A. D. 1989. Inter relationships between energy intake and endogenous porcine growth hormone administration on the performance, body composition and protein and energy metabolism of growing pigs weighing 25 to 55 kilograms live weight. *J. Anim. Sci.* 66:1643.
- Farooqi, I. S., Keogh, J. M., Yeo, G. S., Lank, E. J., Cheetham, T. and O'Rahilly, S. 2003. Clinical spectrum of obesity and mutations in the melanocortin-4 receptor gene. *N. Engl. J. Me.* 348, 1085-1089.
- Gerbens, F., Harders, F. L., Groenen, M. A. M., Veerkamp, J. H. and Te Pas, M. F. W. 1998. A dimorphic microsatellite in the porcine H-FABP gene at chromosome 6, *Anim Genet.* 29:408.
- Chen, K., Knorr, C., Moser, G., Gatphayak, K. and Brenig, B. 2004. Molecular characterization of the porcine testis-specific phosphoglycerate kinase 2 (*PGK 2*) gene and its association with male fertility. *Mamm. Genome.* 15:996-1006.
- Giese, A., Jude, R., Kuiper, H., Piumi, F. and Schambony, A. 2002. Molecular characterization of the equine *AEG1* locus. *Gene.* 292:6572.
- Gondret, F., Lefaucheur, L., Louveau, I., Leuret, B., Pichodo, X. and Le Cozler, Y. 2005. Influence of piglet birth weight on postnatal growth performance, tissue lipogenic capacity and muscle histological traits at market weight. *Live. Pro Sci.* 93:137-146.
- Hernandez-Sanchez, J., Visscher, P., Plastow, G. S. and Haley, C. 2003. Candidate gene analysis for quantitative traits using the transmission disequilibrium test: the example of the melanocortin-4 receptor in pigs. *Genetice.* 164, 637-644.
- Hinney, A. S., Hohmann, F., Geller, C., Vogel, C., Hess, AK., Wermter, B., Brokamp, H., Goldschmidt, W., Siegfried, H., Remschmidt, H., Schafer, T., Gudermann and Hebebrand, J. 2003. Melanocortin-4 receptor gene: case-control study and transmission disequilibrium test confirm that functionally relevant mutations are compatible with a major gene effect for extreme obesity. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 88, 4258- 4267.
- Kennes, Y. M., Murphy, B. D., Pothier, F. and Palin, M. F. 2001. Characterization of swine *leptin* (*LEP*) polymorphisms and their association with production traits. *Anim. Genet.* 32:215-218.
- Kim, J. H., Park, E. W., Park, J. J., Choi, B. W., Kim, T. H., Seo, B. Y., Cheong, I. C., Lim, H. T., Oh, S. J., Lee, J. G. and Jeon, J. T. 2005. Detection of novel mutations in the *FABP3* promoter region and association analysis with intramuscular fat content in pigs. *Korea. J. Anim. Sci & Technol.* 47:1-10.
- Kopency, M., Stratil, A., van Poucke, M., Bartenschlager, H., Geldermann, H. and Peelman, L. J. 2004. PCR-RFLPs, linkage and RH mapping of the porcine *TGFBI* and *TGFBR1* genes. *Anim. Genet.* 35:245-264.
- Lay, A. J., Jiang, X. M., Kisker, O., Flynn, E., Underwood, A., Rosemary, Condron. and Philip, J. Hogg. 2000. Phosphoglycerate kinase acts in tumour angiogenesis as a disulphide reductase. *Nature.* 408:869-873.
- Louveau, I. and Gondret, F. 2004. Regulation of development and metabolism of adipose tissue by growth hormone and the insulin-like growth factor system. *Domest. Anim. Endocrinol.* 27:241-255.
- Mahan, D. C. and Lepine, A. J. 1991. Effect of pig weaning weight and associated nursery feeding programs on subsequent performance to 105 kilograms body weight. *J. Anim. Sci.* 69: 1370-1378.
- Marklund, L., Nystrom, P., Stern, S., Andersson-Eklund, L. and Andersson, L. 1999. Confirmed quantitative trait loci for fatness and growth on pig chromosome 4. *Heredity.* 82:134-141.
- Mas, M. T., Chen, C. Y., Hitzeman, R. A. and Riggs, A. D. 1986. Active human-yeast chimeric phosphoglycerate kinases engineered by domain interchange. *Science.* 233:788-790.
- McCarrey, J. R. and Thomas, K. 1987. Human testis-specific *PGK* gene lacks introns and possesses characteristics of a processed gene. *Nature.* 326:501-505.
- Ovilo, C., Oliver, A., Noguera, J. L., Clop, A., Barrangan, C., Varona, L., Rodriguez, C., Toro, M., Sanchez, A., Perez-Enciso, M. and Silio, L. 2002. Test for positional candidate genes for body composition on pig chromosome 6. *Genet. Sel. Evol.* 34:465-479.
- Sato, S., Oyamada, Y., Atsuji, K., Nade, T., Sato, S. I., Kobayashi, E., Mistubishi, T., Nirasawa, K., Komatsuda, A., Saito, Y., Terai, S., Hayashi, T. and Sugimoto, Y. 2003. Quantitative trait loci analysis for growth and carcass traits in a Meishan × Duroc F2 resource population. *J. Anim. Sci.* 81:2938-2949.
- Sunyaev, S., Ramensky, V., Koch, I., Lathe, W., Kondrashov, A. S. and Bork, P. 2001. Prediction of deleterious human alleles. *Hum. Mol. Genet.* 10:591-597.
- 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.
- Wang, L., Yu, T. P., Tuggle, C. K., Liu, H. C. and Rothschild. M.

- F. 2003. A directed search for quantitative trait loci on chromosomes 4 and 7 in pigs. *J. Anim. Sci.* 76:2560-2567.
- Wolter, B. F. and Ellis, M. 2001. The effect of weaning weight and rate of growth immediately after weaning on subsequent pig growth performance and carcass characteristics. *Can. J. Anim. Sci.* 81:363-369.
- (Received Aug. 24, 2010; Revised Oct. 8, 2010; Accepted Dec. 2, 2010)