

토종닭과 실용계에서 TYR 및 MC1R 유전자의 변이 분석

허강녕^{1†} · 추효준^{1†} · 서보영² · 박미나¹ · 정기철³ · 황보종¹ · 김학규¹ · 홍의철¹ · 서옥석¹ · 강보석^{1*}

¹농촌진흥청 국립축산과학원, ²대검찰청 DNA수사담당관실, ³국립농산물품질관리원

Investigation of TYR and MC1R polymorphisms in Korean native chickens and the commercial chickens

Kang Nyeong Heo^{1†}, Hyo Jun Choo^{1†}, Bo Young Seo², Mi Na Park¹, Kie Chul Jung³, Jong Hwangbo¹, Hak Kyu Kim¹, Eui Chul Hong¹, Ok Suk Seo¹, Bo Seok Kang^{1*}

¹National Institute of Animal Science, RDA

²Forensic Science Division DNA analysis unit, Supreme Prosecutor's Office

³National Agricultural Products Quality Management Service

[†]The authors are equally contributed to this work

Received on 2 September 2011, revised on 14 September 2011, accepted on 19 September 2011

Abstract : The commercial Korean native chickens (WR_CC) was developed by crossing a few native chicken breeds in Korea. In order to investigate the breed identification markers, SNPs from TYR gene and MC1R gene, which are associated with skin and feather colors respectively, were initially identified. In case of 3 identified SNPs in the TYR gene, yellow shank color was identified in Loss, Harvard, AA, RIR and CC, which have the fixed SNPs in most of the animals. On the other hand, SNP variations were observed in KNC_RB, C_B, WR_CC and HH_CC, which have the black, yellow and mixed color with black and yellow shank colors. Also, the investigation of 3 SNPs in the MC1R gene indicated that there were associations between shank and feather colors in RIR, SF, KNC_B, C_B and RIR. However, these results are not consistent among breeds. These SNP type inconsistencies within breeds suggested that the selection was performed based on the phenotypes, which is not include the genotype information. Thus, selection based on genetic information is required in the future.

Key words : Color variation, Korean native chicken, MC1R, SNPs, TYR

I. 서론

국립축산과학원에서는 1992년부터 2007년까지 15년간 순수 재래닭 복원 사업이 진행되었으며, 1967년부터 외국 도입종의 국내 토착화 연구가 진행되어 현재 5품종 9계통의 재래닭 복원 및 외국도입종의 국내 토착화를 완료하였다. 하지만 전용 육용계에 비하여 성장 및 산란능력이 낮은 순수 재래닭은 경제성이 낮아 상업화에 바로 적용하기에는 적합하지가 않다. 따라서 산란능력이 높은 겸용형 토착종과 맛이 좋은 재래닭의 교배로 생산한 잡종 1대에 증체능력이 우수한 육용형 토착종을 교배한 3원 교배로 성장능력

및 산란능력 등의 생산성이 순수 재래닭에 비해 높은 '우리맛닭'을 생산하게 되었다. 3원 교배에 의해 생산된 '우리맛닭'의 차별화를 위해 외모심사 등의 여러 방안이 제시되고 있으며, 분자 marker에 의한 '우리맛닭'의 판별은 다른 일 반육계와의 차별화를 위한 하나의 방안으로 제시되고 있다.

조류의 깃털색과 포유류의 모색은 Extension(E) locus 상의 eumelanin과 pheomelanin의 상대적인 양, 정도, 분포에 의해 조절된다고 보고되어 있으며(Evert 등, 2000; Robbins 등, 1993; Jackson 등, 1994), 조류와 포유류의 E locus는 Melanocortin 1 receptor(MC1R) 유전자로 암호화되어 있다는 것이 밝혀졌다(Takeuchi 등, 1996; Klungland 등, 1995; Newton 등, 2000; Kijas 등, 1998; Pielberg 등, 2002; Sato 등, 2007). Kerje 등(2003)은

*Corresponding author: Tel: +82-41-580-6728

E-mail address: kbs2901512@korea.kr

Red Jungle Fowl과 White Leghorn 사이의 이중교배를 이용한 연관성 분석에 의해 MC1R 유전자가 닭 chromosome 11에 존재한다고 정립하였다. MC1R 유전자는 α -melanocyte stimulating hormone(α -MSH)와의 결합에 의해 활성화된다(Vage 등, 1997). 활성화 receptor를 구성하게 되는 MC1R mutation은 우성이며 black 색상과 연관되어 있는 반면 mutation의 구조를 잃게 되면 열성이 되고 red/yellow 표현형과 연관되어 있다(Kerje 등, 2003).

E locus는 tyrosinase(TYR) 효소가 영향을 미치며, TYR의 활성화는 E locus에 존재하는 α -MSH 유전자 또는 receptor를 통해서 조절 된다(Lerner와 Fitzpatrick, 1950; Sazanov 등, 1998). TYR의 활성화가 낮으면 pheomelanin 색소를 합성하게 되고, TYR의 활성화가 높으면 eumelanin을 합성한다. 닭의 TYR 유전자는 Mochii 등(1992)에 의해 복제되었으며, Tobita-Teramoto 등(2000)은 TYR의 Cu-binding site에서 6개의 nucleotide가 deletion 되는 것이 백변증 닭을 유도한다고 보고하였다. 기존에 발표된 많은 연구 중, 특히 백변증 연구에서 TYR 유전자의 mutation에 의해 인간 질병이 발생한다는 결과를 도출하였다(Chan 등, 2007; Kefala와 Gogas, 2002). TYR 유전자는 닭의 chromosome 1에 위치해 있으며(Denovan-Wright 등, 1996), 5개의 exon과 4개의 intron으로 구성되어 있다(Zhang 등, 2010). Chang 등(2006)은 TYR 유전자의 intron 4에서 recessive white mutation(c)의 경우 7.7 kb의 insertion이 존재함을 발견하였다. 또한 recessive white, Red Jungle Fowl 그리고 Colored INRA sample을 이용하여 동형접합체의 colored와 recessive white 그리고 이형접합체 닭의 PCR diagnostic test를 실시하여 그 결과를 보고하였다.

재래닭 및 토착종의 3원 교배를 이용하여 생산한 ‘우리맛 닭’ 실용계와 일반적으로 유통되고 있는 브로일러와의 차별화를 위한 marker를 발굴하고자 정강이색과 연관성이 높을 것으로 추정되는 TYR 유전자 상의 3 SNP와 모색 및 깃털색의 발현에 관여하는 MC1R 유전자 상의 3 SNP를 조사하였다.

II. 재료 및 방법

1. 공시 동물 및 DNA 분리

TYR 유전자의 SNP를 조사하기 위해 로드아일랜드레드(RIR) 10수, 적갈색 재래닭(KNC_RB) 10수, 흑색 코니쉬(C_B) 10수, 로스 10수, 하바드 10수, 아바에이커(AA) 10수, 에이비안 5수, ‘우리맛닭’ 종계(WR_F1) 10수, ‘우리맛닭’ 실용계(F2, WR_CC) 20수, 한협에서 생산한 토종닭인 한협3호(HH_CC) 10수 그리고 일반적으로 유통되고 있는 브로일러(CC) 15수를 이용하였다. MC1R 유전자의 SNP를 조사하기 위해서는 로드아일랜드레드 20수, 흑색 재래닭 76수, 흑색 코니쉬 105수 그리고 오폴계(SF) 20수를 이용하였다. Genomic DNA를 추출하기 위해 EDTA가 혼합된 혈액 1 ml를 1000 rpm에서 10분 동안 원심분리 후 백혈구를 회수하였으며, PrimePrep Kit(GeNet Bio, Korea)을 이용하여 회수한 백혈구로부터 genomic DNA를 추출하였다.

2. TYR과 MC1R 유전자 상의 SNP 선정 및 primer 제작

NCBI에 등록되어 있는 NC_006088.2와 D88349.1의 sequence를 alignment하여 Tyrosinase(TYR) 유전자 상의 SNP들을 추정하였으며, 이 중 피부색과 연관성이 높을 것으로 추정되는 3개의 SNP(exon 1의 649와 741, intron 1의 19)를 선정하였다. Melanocortin 1 receptor(MC1R) 유전자 상의 SNP들을 추정하기 위해 NCBI에 등록되어 있는 AY220303, AY220304 그리고 AY220305의 sequence를 alignment 하였다. alignment 결과를 바탕으로 c.69, c.212, c.274, c.376, c.427, c.636, c.637 그리고 c.644의 8 SNP를 확보하였으며, 깃털색과 연관성이 높을 것으로 추정되는 3개의 SNP(exon 1의 c.212와 c.274, exon 2의 c.427)를 선정하였다. TYR과 MC1R 유전자 상에서 선정한 SNP들을 포함하는 영역의 위치는 Fig. 1, 2에 PCR을 위해 제작한 primer는 Table 1에 표기하였다.

Table 1. Primer sequences for TYR and MC1R genotyping.

Primer name	Primer sequences	Annealing temperature (°C)	Product size (bp)
TYR_Ex1_F	GCAAGTTTGGCTTCTCAGGA	62	647
TYR_Ex1_R	CTCTCCAGATAGCGCACCTC		
MC1R_F	ACGCCAGTGAGGGCAACCA	Touch down (64, 61, 58)	934
MC1R_R	CCATCCATCCATCCTCCTGT		

3. PCR

TYR과 MC1R 유전자의 SNP 분석을 위한 PCR은 genomic DNA(25 ng/ μ l) 2 μ l, 10X buffer(Genetbio, Korea) 2.5 μ l, dNTP(2.5 mM) 2 μ l, forward와 reverse primer(10 pmol) 각각 1 μ l, Taq DNA polymerase(GeNet Bio, Korea) 0.1 μ l, 3차 증류수 16.4 μ l를 첨가하여 전체 25 μ l의 반응액으로 제조하였다. TYR 유전자의 PCR 조건은 95°C에서 5분간 변성시킨 후 94°C에서 20초, annealing temperature(62°C)에서 20초, 72°C에서 45초를 1 cycle로 하여 36회 반복하였다. 그 후 72°C에서 10 분간 신장시킨 후 4°C에서 종료하였다. MC1R 유전자의 PCR은 Touch down PCR방법으로 수행하였으며, 95°C에서 5분간 변성시킨 후 1차로 94°C에서 20초, annealing temperature(64°C)에서 20초, 72°C에서 1분을 1 cycle로 하여 15회 반복하였다. 그 다음 2차로 94°C에서 20초, annealing temperature(61°C)에서 20초, 72°C에서 1분을 1 cycle로 하여 13회 반복하였으며, 마지막으로 94°C에서 20초, annealing temperature(58°C)에서 20초, 72°C에서 1분을 1 cycle로 하여 10회 반복하였다. 그 후 72°C에서 10 분간 신장시킨 후 4°C에서 종료하였다. PCR 산물은 2% agarose gel에서 전기영동하고 ethidium bromide(EtBr)로 염색한 후 UV image analyzer(Eastman Kodak Co., USA)로 관찰하였다.

4. Sequencing 분석

Sequencing PCR은 PCR 산물(5 ng/ μ l) 3 μ l, BigDye Terminator v3.1 Cycle sequencing RR-100(Applied Biosystems, USA) 0.25 μ l, 5X sequencing buffer 2 μ l, forward 또는 reverse primer(1.6 pmol) 1 μ l 그리고 3차 증류수 3.75 μ l를 혼합하여 전체 10 μ l로 하였다. Sequencing PCR은 MyGenie 96 Thermal Block(Bioneer, Korea) 기기를 이용하였으며, sequencing PCR 조건은 95°C에서 10

초, 50°C에서 4초, 60°C에서 4분을 36회 반복하였다. 반응이 완료된 Sequencing PCR 산물에 50 mM EDTA(pH 8.0)와 600 mM sodium acetate(pH 5.2)를 1:1로 혼합해서 pH 8.0으로 맞춘 ES buffer를 10 μ l 첨가하여 vortexing 후 3 volume의 100% ethanol을 첨가하고 20°C, 3000 rpm에서 40분간 원심분리를 하였다. 상층액을 제거하고 70% ethanol 200 μ l를 첨가하여 20°C, 3000 rpm에서 10분간 원심분리 후 상층액을 제거하고 37°C에서 15분간 건조하였다. 정제가 완료된 sequencing 산물은 ABI-3130xl sequencer(Applied Biosystems, USA)를 이용하여 분석하였다.

III. 결과 및 고찰

1. TYR 유전자 상의 SNP type 조사

Sequencing 분석을 통한 TYR 유전자 상에 존재하는 3 SNP(exon 1의 649와 741, intron 1의 19)의 SNP type을 조사한 결과 Table 2에서 보는바와 같이 로드아일랜드레드의 경우 1개의 YYR type과 9개의 CCA type으로 나타났으며, 적갈색 재래닭의 경우 YYR 과 CCA type이 각각 4개 그리고 CYR과 TYR type이 각각 1개로 나타났다. 흑색 코니쉬의 경우 YYR과 TTG type이 각각 3개 그리고 CCA, CYR, YTG 그리고 CTG type이 각각 1개로 나타났으며, 로스의 경우 YYR type이 6개, CCA type이 3개 그리고 TTG type이 1개로 나타났다. 하바드의 경우 YYR type이 7개, TTG type이 2개 그리고 TYR type이 1개로 나타났으며, 아바에이커와 에이비안은 모두 YYR type으로 나타났다. '우리맛닭' 종계의 경우 YYR type이 4개 그리고 CCA와 CYR type이 각각 3개로 나타났으며, '우리맛닭' 실용계(F2)의 경우 YYR type이 11개, CCA type이 4개, YTG type이 3개 그리고 TTG와 CYR type이 각각 1개로 나타났다. 한협에서 생산한 토종닭인 '한협3호'의 경우 YYR과 CCA



Fig. 1. The positions of SNPs for genotyping TYR gene in chicken.



Fig. 2. The positions of SNPs for genotyping MC1R gene in chicken.

Table 2. Identified SNP types in the TYR gene among 11 chicken breeds.

SNP type	RIR	KNC_RB	C_B	Ross	Harvard	AA	Avian	WR_F1	WR_CC	HH_CC	CC
YYR	1	4	3	6	7	10	5	4	11	3	2
CCA	9	4	1	3	0	0	0	3	4	3	5
TTG	0	0	3	1	2	0	0	0	1	0	8
CYR	0	1	1	0	0	0	0	3	1	2	0
YTG	0	0	1	0	0	0	0	0	3	2	0
CTG	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
TYR	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Total	10	10	10	10	10	10	5	10	20	10	15

RIR : Rhode Island Red, KNC_RB : Reddish brown Korean Native Chicken, C_B : Black Cornish, AA : Arbor Acre, WR_F1 : Woorimatdag Parent Stock, WR_CC: Commercial Woorimatdag, HH_CC : Commercial Hanhyup chicken, CC : Commercial Broiler.

type이 각각 3개 그리고 CYR과 YTG type이 각각 2개로 나타났으며, 일반적으로 유통되고 있는 브로일러의 경우 YYR type이 2개, CCA type이 5개 그리고 TTG type이 8개로 나타났다.

본 실험에 앞서 각각 8 수의 DNA sample을 이용한 TYR 유전자 상의 3 SNP를 조사한 결과에서 ‘우리맛닭’의 경우 YYR type으로 고정되어 있으며, 상업용 육계의 경우 TTG type으로 고정되어 있는 것처럼 보였다. 하지만 품종별로 TYR 유전자 상의 SNP들을 조사한 본 실험의 결과에서는 다양한 양상을 나타내었다. TYR 유전자 상의 SNP들을 조사한 결과에서 정강이색이 노란색으로 발현되는 로스, 하바드, 아바에이커, 로드아일랜드레드 그리고 일반적으로 유통되고 있는 브로일러는 비록 변이가 존재하지만 거의 대부분이 특정한 변이로 고정되어 있음을 알 수 있었다. 하지만 정강이색이 흑색, 노란색 그리고 흑색과 노란색이 섞여서 발현되는 적갈색 재래닭, 흑색 코니쉬, ‘우리맛닭’ 그리고 한협에서 생산한 토종닭인 ‘한협3호’의 경우 변이가 고정되어 있지 않음을 알 수 있었다.

2. MC1R 유전자 상의 SNP type 조사

Sequencing 분석을 통한 MC1R 유전자 상에 존재하는 3 SNP(c.212, c.274 그리고 c.427)를 조사한 결과(Table 3) 깃이 갈색이고 정강이가 노란색인 로드아일랜드레드의 경우 모두 TGG type으로 나타났으며, 깃과 정강이 색이 모두 흑색인 오골계에서는 CAA와 YAA의 2 type으로 나타났다. 깃색은 모두 흑색이나 정강이 색이 흑색 또는 흑색과 노란색이 섞인 표현형을 나타내는 흑색 재래닭의 경우

CAA, YAA 그리고 YRA의 3 type으로 나타났으며, CAA와 YAA type은 흑색 또는 흑색과 노란색이 섞인 표현형에서 모두 발견되었다. 흑색 코니쉬의 경우 깃색이 흑색, 흑색과 갈색이 섞인 것 그리고 흑색, 갈색 및 노란색이 섞인 3개의 표현형을 보였으며, 정강이색은 흑색, 흑색에 살색과 노란색이 섞인 것 그리고 흰색과 노란색이 섞인 3개의 표현형을 보였다. SNP type은 CAA, TAA, TRA, YAA 그리고 YGA의 5 type으로 나타났다. 이 중 CAA와 YAA의 경우 깃색과 정강이색이 모두 흑색인 표현형을 포함하고 있으나 다른 표현형들도 모두 발견되었다.

로드아일랜드레드, 오골계, 흑색 재래닭 그리고 흑색 코니쉬의 MC1R 유전자 상에 존재하는 3 SNP를 조사한 결과에서 깃색과 정강이색이 다양할수록 더 많은 SNP type이 존재하였다. Kerje 등(2003)이 보고한 적색 계통과 흰색 계통인 화이트레그혼의 교배에 의해 생산된 자손들의 깃색을 조사한 결과에서 적색과 흑색 그리고 흰색의 구분이 가능할 것으로 보였다. 본 연구에서도 갈색깃과 노란색 정강이의 표현형을 갖는 로드아일랜드레드의 경우 TGG type으로 고정되어 있는 것으로 나타났으며, 깃색과 정강이색이 모두 흑색인 오골계의 경우 비록 CAA와 YAA의 2 type으로 나타났지만 흑색이 우성으로 발현되는 것을 가정한다면 아무런 문제점이 없을 것으로 추정되었다. 하지만 깃색과 정강이색이 고정되어 있지 않은 흑색 재래닭과 흑색 코니쉬에서는 SNP type과 깃색 및 정강이색이 서로 연관 가능성이 없는 것으로 확인되었다.

이와 같이 TYR과 MC1R에서 품종별 SNP type의 형태가 고정되어 있지 않은 이유는 개체 특성에 의해 나타나는 현상이 아니라 재래닭의 복원 및 외래품종들의 토착화 과정

Table 3. Identified SNP types in the MC1R gene and their plumage and shank colors among 4 chicken breeds.

Breed	Total No.	SNP type	Allele frequency	SNP type No.	Phenotype No.	Plumage color	Shank color			
RIR	20	TGG	1	20	20	Brown	Yellow			
SF	20	CAA	0.75	15	15	Black	Black			
		YAA	0.25	5	5	Black	Black			
KNC_B	76	CAA	0.526	40	28	Black	Black			
					12	Black	BlYe			
		YAA	0.422	32	12	Black	Black			
					20	Black	BlYe			
C_B	105	YAA	0.343	36	4	Black	BlYe			
					18	Black	Black			
					6	Black	BlInYe			
					12	BlBr	Black			
					6	BlBr	BlInYe			
					12	BlBrYe	Black			
					3	BlBrYe	WhYe			
					TAA	0.028	3	3	BlBrYe	WhYe
					TRA	0.057	6	6	BlBr	WhYe
					YGA	0.029	3	3	BlBrYe	WhYe

RIR : Rhode Island Red, SF : Silky fowl, KNC_B : Black Korean Native Chicken, C_B : Black Cornish, BlBr : Black+Brown, BlBrYe : Black+Brown+Yellow, BlYe : Black+Yellow, BlInYe : Black+Incarnadine+Yellow, WhYe : White+Yellow.

에서 유전적 특성을 배제하고 외형적 특징에 의한 선별과정을 거쳤기 때문에 나타나는 현상인 것으로 생각된다. 이러한 문제점의 대안으로 DNA 분자수준에서 직접 유전자의 구조 및 기능 해석을 통하여 양적형질좌위 (quantitative trait loci; QTL) 및 경제형질좌위 (economic trait loci; ETL)에 직접 또는 간접적으로 영향을 미치는 표지인자를 선발하고 한편으로는 경제형질 발현에 관여하는 표적 또는 후보유전자와의 연관에 기초한 표지인자를 이용한 선발 (marker assisted selection; MAS) 및 유전자형을 이용한 선발법 (genotype assisted selection; GAS)이 개발되었다. 이로서 종래의 표현형에 의존한 선발육종으로부터 분자수준에서 유전자형 그 자체에 의한 선발이 가능하게 되어 육종개량 방안에 획기적인 변화와 발전을 가져오게 되었다. 따라서 복원된 재래닭 및 토착종들의 명확한 구명을 위해서는 유전적 특성을 고려한 선별과정이 필요하며 이를

위한 많은 연구들이 진행되어져야 할 것으로 사료된다.

VI. 요약

복원된 재래닭의 상업용 가치를 높이기 위해 토착 겸용종 및 육용종과의 교배를 통하여 '우리맛닭'을 생산하게 되었다. 복원된 재래닭, 토착종 그리고 3원 교배에 의해 생산된 '우리맛닭'의 유전적 특성을 조사하기 위해 피부색과 연관성이 있는 TYR 유전자와 모색 및 깃색과 연관성이 있는 MC1R 유전자 상에 존재하는 SNP들을 탐지하였다. TYR 유전자의 3 SNP를 조사한 결과 정강이색이 노란색으로 발현되는 로스, 하바드, 아바에이커, 로드아일랜드레드 그리고 일반적으로 유통되고 있는 브로일러는 비록 변이가 존재하지만 거의 대부분이 특정한 변이로 고정되어 있었다. 하지만 정강이색이 흑색, 노란색 그리고 흑색과 노란색이

섞여서 발현되는 적갈색 재래닭, 흑색 코니쉬, 우리맛닭 그리고 한협에서 생산한 토종닭인 '한협3호'의 경우 변이가 다양하게 나타났다. 또한 로드아일랜드레드, 오골계, 흑색 재래닭 그리고 흑색 코니쉬의 MC1R 유전자 상에 존재하는 3 SNP를 조사한 결과에서는 갈색깃과 노란색 정강이의 표현형을 갖는 로드아일랜드레드와 깃색과 정강이색이 모두 흑색인 오골계는 유전자형과 표현형간의 연관 가능성이 있는 것으로 나타났지만 깃색과 정강이색이 고정되어 있지 않은 흑색 재래닭과 흑색 코니쉬에서는 SNP type과 깃색 및 정강이색이 서로 연관 가능성이 없는 것으로 나타났다. 이와 같이 품종별 SNP type의 형태가 고정되어 있지 않은 이유는 개체 특성에 의해 나타나는 현상이 아니라 복원된 재래닭 및 토착종들의 유전적 특성을 배제하고 외형적 특징에 의해 선별과정을 거쳤기 때문에 나타나는 현상인 것으로 생각된다. 따라서 복원된 재래닭 및 토착종들의 명확한 구명을 위해서는 유전적 특성을 고려한 선별과정이 필요하며 이를 위한 많은 연구들이 진행되어야 할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2011년 농촌진흥청 국립축산과학원의 연구비 지원에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고 문헌

Chan PA, Duraisamy S, Miller PJ, Newell JA, McBride C, Bond JP, Raevaara T, Ollila S, Nystrom M, Grimm AJ, Christodoulou J, Oetting WS, Greenblatt MS. 2007. Interpreting missense variants: comparing computational methods in human disease genes CDKN2A, MLH1, MSH2, MECP2, and tyrosinase (TYR). *Hum. Mutat.* 28(7): 683-693.

Chang CM, Coville JL, Coquerelle G, Gourichon D, Oulmouden A, Tixier-Boichard M. 2006. Complete association between a retroviral insertion in the tyrosinase gene and the recessive white mutation in chickens. *BMC Genomics* 7: 19-19.

Denovan-Wright EM, Ramsey NB, McCormick CJ, Lazier CB, Wright JM. 1996. Nucleotide sequence of transferrin cDNAs and tissue-specific of the transferrin gene in Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol.* 113(2): 269-273.

Evert RE, Rothuizen J, van Oost BA. 2000. Identification of a premature stop codon in the melanocyte-stimulating hormone receptor gene(MC1R) in labrador and golden

retrievers with yellow coat color. *Anim. Genet.* 31: 194-199.

Jackson IJ, Budd P, Horn JM, Johnson R, Raymond S, Steel K. 1994. Genetics and molecular biology of mouse pigmentation. *Pigment Cell Res.* 7(2): 73-80.

Kefala G, Gogas H. RT-PCR for tyrosinase expression as a molecular marker in malignant melanoma. *J. BUON.* 7(4): 325-330.

Kerje S, Lind J, Schutz K, Jensen P, Andersson L. 2003. Melanocortin 1-receptor (MC1R) mutations are associated with plumage colour in chicken. *Anim. Genet.* 34(4): 241-248.

Kijas JMH, Wales R, Törnsten A, Chardon P, Moller M, Andersson L. 1998. Melanocortin receptor 1(MC1R) mutations and coat color in pigs. *Genetics* 150: 1177-1185.

Klungland H, Vage DI, Gomez-Raya L, Adalsteinsson S, Lien S. 1995. The role of melanocyte-stimulating hormone (MSH) receptor in bovine coat color determination. *Mamm. Genome* 6(9): 636-639.

Lerner AB, Fitzpatrick TB. 1950. Biochemistry of melanin formation. *Physiol. Rev.* 30(1): 91-126.

Mochii M, Iio A, Yamamoto H, Takeuchi T, Eguchi G. 1992. Isolation and characterization of a chicken tyrosinase cDNA. *Pigment Cell Res.* 5(4): 162-167.

Newton JM, Wilkie AL, He L, Jordan SA, Metallinos DL, Holmes NG, Jackson IJ, Barsh GS. 2000. Melanocortin 1 receptor variation in the domestic dog. *Mamm. Genome* 11(1): 24-30.

Pielberg G, Olsson C, Syvänen AC, Andersson L. 2002. Unexpectedly high allelic diversity at the KIT locus causing dominant white color in the domestic pig. *Genetics* 160: 305-311.

Robbins LS, Nadeau JH, Johnson KR, Kelly MA, Roselli-Rehffuss L, Baack E, Mountjoy KG, Cone RD. 1993. Pigmentation phenotypes of variant extension locus alleles result from point mutations that alter MSH receptor function. *Cell* 72(6): 827-834.

Sato S, Otake T, Suzuki C, Saburi J, Kobayashi E. 2007. Mapping of the recessive white locus and analysis of the tyrosinase gene in chickens. *Poult. Sci.* 86(10): 2126-2133.

Sazanov A, Masabanda J, Ewald D, Takeuchi S, Tixier-Boichard M, Buitkamp J, Fries R. 1998. Evolutionarily conserved telomeric location of BBC1 and MC1R on a microchromosome questions the identity of MC1R and a pigmentation locus on chromosome 1 in chicken. *Chromosome Res.* 6(8): 651-654.

Takeuchi S, Suzuki H, Yabuuchi M, Takahashi S. 1996. A possible involvement of melanocortin 1-receptor in regulating feather color pigmentation in the chicken. *Biochim. Biophys. Acta.* 1308(2): 164-168.

Tobita-Teramoto T, Jang GY, Kino K, Salter DW, Brumbaugh J, Akiyama T. 2000. Autosomal albino

chicken mutation (*ca/ca*) deletes hexanucleotide (-delta GACTGG817) at a copper-binding site of the tyrosinase gene. *Poult Sci* 79(1): 46-50.

Vage DI, Lu D, Klungland H, Lien S, Adalsteinsson S, Cone RD. 1997. A non-epistatic interaction of agouti and extension in the fox, *Vulpes vulpes*. *Nat. Genet.*

15(3): 311-315.

Zhang JQ, Chen H, Sun ZJ, Liu XL, Qiang-Ba YZ, Gu YL. 2010. Flesh color association with polymorphism of the tyrosinase gene in different Chinese chicken breeds. *Mol. Biol. Rep.* 37(1): 165-169.