

한우 지방산결합단백질 4(FABP4) 유전자 조절영역내 단일염기변이(SNP)와 도체형질간 연관성 분석

이승환¹ · 김남국² · 김승창³ · 최봉환³ · 허강녕⁴ · 이창수⁵ · 김언현⁵ · 이준현⁶ · 김형철^{1*} · 홍성구¹

¹국립축산과학원 한우시험장, ²농산물품질관리원, ³동물유전체과, ⁴가금과, ⁵건국대학교, ⁶충남대학교 동물자원학과

Genetic polymorphism in regulatory region of *fatty acid binding protein 4 (FABP4)* and its effect on carcass weight in Hanwoo steers

Seung Hwan Lee¹, Nam Kuk Kim², Seung Chang Kim³, Bong Hwan Choi³, Kang Neung Heo⁴, Chang Soo Lee⁵, Oun Hyun Kim⁵, Jun Heon Lee⁶, Hyeong Cheul Kim^{1*}, Seong Koo Hong¹

¹Hanwoo Experiment Station, National Institute of Animal Science, RDA, PyeongChang 232-950, Korea

²National Agricultural Product Quality Management Service, Busan, Korea

³Animal Genome & Bioinformatics Division, National Institute of Animal Science, RDA, Suwon, Korea

⁴Poultry Science Division, National Institute of Animal Science, RDA, Cheon-An, Korea

⁵Kon-Kuk University, Chungju, Korea

⁶Department of Animal Science, Chung Nam Nat'l University, Korea

Received on 13 October 2011, revised on 24 October 2011, accepted on 18 December 2011

Abstract : The aim of this study was to identify the polymorphism on fatty acid binding protein (FABP4) gene promoter region and its association with carcass traits in Hanwoo. We performed PCR-direct sequencing of FABP4 promoter region to identify single nucleotide polymorphism (SNPs) using unrelated 24 Hanwoo bulls. Four SNPs (-298A>G, -472A>G, -887A>G, -862A>G) were detected in the promoter region and genotyped on 583 Hanwoo steers. A linear mixed model revealed an association of three SNPs (-298A>G, -472A>G and -862A>G) with carcass weight and marbling score in dominance model ($P<0.05$). The animals with AA genotypes for the three SNPs were heavier carcass weight (5 kg) than animals with GG genotypes in the statistical analysis. For the marbling score, the AA genotype was lower effect of marbling score (0.21) than GG genotypes. In conclusion, this study indicates an important role for three SNPs detected in promoter region of FABP4 in determining carcass weight and marbling score in Hanwoo.

Key words : Hanwoo, Promoter, FABP4, SNP, Carcass weight, Marbling score

I. 서론

쇠고기의 육질 및 육량을 좌우하는 근내지방도 및 도체중은 국내 쇠고기 시장에서 농가의 경제적 이익을 결정하는 매우 중요한 요인이다. 그 중에서도 근내지방(intra-muscular fat)은 쇠고기의 풍미와 연도를 증가시켜 등급결정에 있어 가장 중요한 요인으로 작용하고 있다(Tatum 등, 1982). 또한, 미국(USDA, 1989), 일본(JMGA, 1988) 및 한국에서 쇠고기의 등급을 결정하는 중요한 요인 중 하나

다(Lee 등, 2007).

현재, 곡물위주의 장기비육 프로그램은 근내지방 및 도체중을 향상 시켰지만, 불가식 지방과 같은 비 효율적인 결과를 초래하고 있다. 1980년대 중반부터 시작된 가축개량 프로그램은 한우 도체형질(근내지방, 등지방두께, 등심단면적 및 도체중)의 유전능력을 두드러지게 향상 시켰을 뿐 아니라 유전적으로 차별화 되고 표준화된 종모우를 선발하고 있다(Lee 등, 2011). 그러나, 가축개량 프로그램에 있어서 가축 선발 방법은 가축선발시 까지 긴 세대 간격으로 비용이 많이 들 뿐 아니라 추정 육종가의 정확도가 낮은 단점이 있다. 이러한 단점을 보완 하기 위하여, 최근 가축

*Corresponding author: Tel: +82-33-330-0656

E-mail address: khc3365@korea.kr

의 유전체정보서열 해독이 완료되고 유전체기술의 급속한 발전으로 대용량의 단일염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNP) 정보가 상용화되면서 이들 SNP정보를 이용한 가축의 유전능력을 추정하는 유전체 육종가 추정(genomic estimated breeding value; GEBV) 연구가 더욱더 가속화 되고 있다(Meussen 등 2001; Hayes 등 2010). 이와 함께, DNA 분자수준에서 직접 유전자의 구조 및 기능 해석을 통하여 가축의 경제형질을 조절하는 양적 형질좌위(quantitative trait loci; QTL) 및 경제형질좌위(economic trait loci; ETL)에 직접 또는 간접적으로 영향을 미치는 표지인자를 선발한다면 마커도움선발(marker assisted selection; MAS)이 가능할 것이다(Lande와 Thompson, 1990). 이러한 유전체 선발 및 마커도움선발은 종래의 표현형 및 혈통에 의존한 가축 선발방법 보다 DNA 표지인자를 이용하여 가축의 육종가를 보다 정확하게 추정하여 가축의 조기선발을 가능하게 함으로 연간 얻을 수 있는 개량량을 증가시킬 수 있다(Dekker 등, 2004).

따라서, 가축의 경제형질관련 DNA 마커 발굴은 가축경질형질과 생물학적으로 연관된 후보유전자를 중심으로 SNP 발굴 및 통계적 연관성 연구방법을 통하여 활발히 진행되고 있으며, 현재까지 다양한 형질과 관련된 SNP들이 발굴되었다(Lee 등, 2004; Cheong 등, 2007; Kong 등, 2007; Cho 등, 2008). 최근 한우 집단을 이용한 QTL 분석을 통해 염색체 14번 48~58cM 영역내에 근내지방 및 도체중관련 QTL이 검출되었으며, 검출된 QTL영역 내에서 다수의 유전자가 검출되었다(Lee, 2011). 특히, 이 유전자들 중 fatty acid binding protein 4 (FABP4) 유전자는 지방산운반 단백질로서 세포내로 지방산을 운반하는 주요 기능을 담당하고 있으며, Lee 등(2010)은 FABP4유전자의 엑손 3번 및 인트론 2번에서 검출된 SNP가 한우 근내지방 및 도체중과 유의한 효과를 보고 하였다. 아울러, Lee 등(2006)은 가축의 근내지방 및 성장이 왕성하게 이루어지는 12개월과 27개월 사이에서 FABP4유전자의 발현이 왕성하

게 증가함을 보고 하였다. 이러한 결과를 종합하여 볼 때, FABP4유전자의 조절영역의 유전변이가 형질을 조절하는 주요 유전변이 일 가능성이 높다. 따라서 본 연구는 한우 집단에서 FABP4 유전자로부터 새로운 SNP 4종을 검출하였고, 이들 4종의 SNP이 한우 근내지방 및 도체중에 미치는 영향을 분석하였다.

II. 재료 및 방법

1. 공시재료 및 genomic DNA 추출

SNP 탐색을 위한 시료는 조부(grand-sire)와 부(sire)가 서로 다른 한우 종모우 24두를 선발하여 사용하였으며, 발굴된 SNP에 대한 유전자형 분석에는 도체형질 기록을 보유한 32차~35차 후대검정우 총 583두를 공시재료로 이용하였다. 분석에 사용된 후대검정우 583두에 대한 도체형질을 Table 1에 요약하였다. 공시재료로 확보된 한우 개체의 전혈로부터 genomic DNA purification kit인 Wizard genomic purification kit(Promega, USA) 및 MagExtractor (TOYOBO, Japan)를 이용하여 genomic DNA를 추출하였다. 추출된 genomic DNA의 농도는 ND-1000 UV-Vis Spectrophotometer(NanoDrop Technologies, USA)을 이용하여 측정하였고, 멸균 증류수를 이용하여 모두 50 ng/ μ l로 보정한 후 실험 사용 전까지 -20°C 에 보관하였다.

2. FABP4 유전자 전사조절영역 프라이머 설계 및 제작

한우 FABP4 유전자 전사조절영역에 대한 염기서열 결정을 위해 NCBI(National Center for Biotechnology Information) GenBank에 등록된 유전자 정보 (NC_007312.3: c41959600-41955210, Btau4.0)를 이용하였고, Primer3 프로그램(<http://fokker.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3/>)

Table 1. Summary statistics of data on the carcass and meat quality traits from 583 Hanwoo steers.

Traits	Mean	SD	Minimum	Maximum
Carcass weight (CWT; kg)	314.08	34.20	174.00	423.00
Eye muscle area (EMA; cm^2)	74.87	8.39	30.00	99.00
Back fat (BF; mm)	7.49	3.02	2.00	21.00
Marbling score (MS; 1-7)	2.02	1.25	1.00	7.00

Table 2. Primer sequence for SNP genotyping.

SNPs	Primer Name	Sequence (5'→3')	Product size (bp)
-298A>G, -472A>G	F4-P1	5'-CCGCTCTCCATCATTCTGGT-3'	421 bp
	F4-P2	5'-ATCCCAGCTTCCTCATTTC-3'	
-887A>G, -862A>G	F4-P3	5'-GCTGTCTAGATTCCTGGTGG-3'	486 bp
	F4-P4	5'-CCTCTGCAGTTTTCCCTCTG-3'	

primer3_www.cgi)을 통해 PCR 반응산물이 400~500 bp 되도록 프라이머를 제작 하였다(Table 2).

3. PCR(polymerase chain reaction) 증폭 반응

PCR 반응은 DNA 1 µl (50 ng/µl), 10X PCR reaction buffer(10 mM Tris-HCl, pH 8.3, 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂) 2 µl, 10 mM dNTPs 0.4 µl, primer 10 pmol/µl 각 0.4 µl, 1 unit Taq polymerase(G&P, Korea)에 멸균증류수로 총 20 µl가 되도록 증액하여 실시하였다. 유전자 증폭은 Tetrad 2 Peltier Thermal Cycler(Bio-Rad, USA)를 이용하였으며, 95°C에서 10분간 예비 변성후, 95°C에서 1분 변성, 각 프라이머 마다 적정한 annealing 온도에서 1분 접합 및 72°C에서 1분 합성 반응 3단계를 35회 반복한 후 72°C에서 마지막 합성 반응을 10분간 수행하였다.

4. 염기서열 분석

FABP4 유전자 조절부위에서 새로운 단일 염기다형을 탐색하기 위하여 한우 종모우 24두를 이용하여 PCR증폭을 실시하였으며, 증폭된 PCR 산물을 MultiScreen® PCR 96-Well Plate Kit(Millipore, USA)를 사용하여 정제한 후 PCR-direct sequencing 방법으로 FABP4 유전자 조절 영역의 염기서열을 분석하였다. 먼저 정제한 PCR 산물 2 µl, Big-dye terminator(Applied Biosystems, USA) 0.5 µl, 5 pmol의 프라이머 1µl, 5X buffer(400 mM tris, 10 mM MgCl₂) 1.75 µl를 넣고, 총 반응액을 10 µl가 되도록 멸균증류수를 첨가하였다. PCR 반응은 95°C에서 10초간 변성, 50°C에서 5초간 접합, 60°C에서 4분간 합성의 3단계 과정을 35회 반복 수행하였다. PCR 산물은 isopropanol 및 ethanol 정제 후, 건조된 펠렛에 8 µl의 Hi-Di™ Formamide를 넣고 95°C에서 2분간 변성 과정을 거쳐 염기

서열 분석기 (Applied Biosystems, ABI 3730, USA)로 각 개체의 염기서열을 결정하였다. 염기서열 변이 분석은 SeqMan 프로그램 (DNASTAR, USA)을 이용하여 실시하였다.

5. PCR-RFLP 기법을 이용한 유전자형 결정 및 일배체형 분석

한우 종모우 24두로부터 PCR-direct sequencing을 통해 검출된 4개의 SNP를 대상으로 유전자형을 결정 하였다. 4개의 SNP에 대한 제한효소 인지부위 존재여부를 파악하고, 한우 도체형질과 연관성분석을 위하여 한우 후대검정 우 583두에 대해서 PCR-RFLP 분석을 통해 유전자형을 결정하였다. PCR-RFLP 분석은 PCR 반응물 3 µl에 제한 효소 2~3 unit을 첨가하고 각 제한효소별 활성온도에서 4시간 이상 반응시킨 후 절단된 DNA 단편의 크기를 확인하였다. 절단된 DNA 밴드를 분석하여 최종적으로 각 개체별 유전자형을 판정하였고, SNP의 유전자형 및 대립유전자의 빈도를 분석하였다(Table 3). 검출된 4개의 단일염기다형에 대하여 일배체형 분석은 PHASE(stephen 등)프로그램을 이용하여 일배체형을 결정하였다.

6. 도체형질과의 연관성 분석

표현형 측정치와 FABP4 유전자의 조절영역으로부터 검출된 4개 SNP의 유전자형과의 통계적 연관성 분석은 ASReml(Gilmour 등, 2006)을 이용하여 분석하였다. 또한 p-value 값이 0.05 이하인 경우를 통계적으로 유의한 것으로 인정하였으며, 평균값의 차이는 피셔의 최소유의차 검정을 통해 유전자형별 유의차 검증을 수행하였다. 분석에 이용한 모형은 아래와 같다.

$$Y_{ijk} = \mu + YS_i + b \cdot D_{ijk} + Genotype_j + A_{ijk} + e_{ijk}$$

여기서, Y_{ijk} = 각 형질의 측정치, μ = 각 형질의 전체 평균, YS_i = 계절효과, D_{ijk} = 도축연령 (month), $Genotype_j$ = 유전자형의 효과, A_{ijk} = 개체효과, e_{ijk} = 임의오차.

7. 일배체형(haplotype) 빈도 및 연관성 분석

FABP4 유전자 전사조절영역의 4개 SNP에 대한 일배체형은 Phase 프로그램을 이용하여 추정하였으며, 각 일배체형과 도체형질간 연관성 분석은 개개 SNP과 도체형질과의 연관성 분석 통계모형과 동일한 모형을 이용하여 ASReml에서 수행하였다.

III. 결과 및 고찰

1. FABP4 유전자 전사조절영역 내 SNP 탐색

FABP4 유전자(Accession No. NC_007312.3)로부터 전사조절영역 1.4 kb의 서열을 염기서열 분석한 결과 FABP4 유전자의 전사조절영역에서 총 4개의 SNP를 개시부위를 시작으로 -298, -472, -862 -887 bp 영역에서 검출하였다 (Table 2). 현재까지, FABP4 유전자의 전사조절영역으로부터 SNP이 보고된 적은 없으며, 본 연구에서 한우 FABP4 유전자의 전사조절영역에서 4개의 새로운 SNP을 검출하였다.

2. FABP4 유전자 전사조절영역 내 4개 SNP의 유전자형 분석

검출된 4개의 SNP 영역은 제한효소 인식부위를 가지고

있어 PCR-RFLP 기법을 이용하여 유전자형을 결정하였다. FABP4 유전자의 전사조절 영역의 4개 SNP은 Table 3에서 보는바와 같이 4개의 다른 제한효소를 이용하여 유전자형을 결정하였다.

각 SNP에 대하여 후대검정우 583두를 대상으로 유전자형을 결정한 후 유전자형 빈도를 분석하였다(Table 3). 그 결과, 4개의 SNP모두 minor allele frequency(MAF)의 분포가 0.32-0.34였고, 하디-와인버그 평형의 P-value는 0.004-0.047이었다.

각 SNP에 대한 대립유전자의 빈도는 -298A>G 및 -472A>G의 경우 A 대립유전자가 각각 67%, G 대립유전자가 33%였으며, -862A>G 및 -887A>G의 A 대립유전자는 각각 68%, 66% 그리고, G 대립유전자의 빈도가 32% 및 34%로 나타났다. 4개의 SNPs에 대한 하디-와인버그 평형 법칙에 대한 적합도 검정을 실시한 결과 각각 0.004에서 0.047로 모두 유의적인 차이($P < 0.001$)를 보이지 않았다 (Table 3). 즉, 하디-와인버그 평형을 유지하는 것으로 확인되었으며, 이 결과는 FABP4 유전자의 전사조절영역에서 새롭게 발굴된 4개의 SNP이 형질과 연관성분석을 통한 마커 선발에 이용 가능한 좌위라 할 수 있다. 하디-와인버그 평형이란 외적인 요인이 작용하지 않는다면, 유전자와 유전자형 빈도 모두가 변하지 않고 평형을 이루게 된다는 것으로 이것을 만족하는 집단은 대립유전형질의 독립성이 성립하게 된다. 하디-와인버그 평형검사는 실험에 사용된 시료의 선별이 잘 이루어졌는지 또는 특정 집단의 유전자형 및 유전형의 빈도가 일정하게 유지되고 있는지를 검사하기 위해 수행되며, 유전자형 분석이 정확하게 수행되었는지 점검하는데 사용할 수 있다(Lee 등, 2006).

Table 3. Genotype, minor allele frequency (MAF) and hardy-weinburg equilibrium (HWE) of the 4 SNPs in *FABP4* gene.

SNPs	No of Animal	Genotype			MAF ¹	HWE ²	Restriction Enzyme
-298A>G	567	AA	AG	GG	0.33	0.004	MwoI
		239	281	47			
-472A>G	567	AA	AG	GG	0.33	0.004	HpyCH4IV
		239	281	47			
-887A>G	406	AA	AG	GG	0.32	0.049	BstOI
		179	194	33			
-862A>G	562	AA	AG	GG	0.34	0.047	ApeKI
		231	275	56			

¹MAF indicates minor allele frequency.

²Hardy-Weinburg Equilibrium.

3. FABP4 유전자의 SNP와 한우 도체형질과의 연관성 분석

한우 FABP4 유전자의 전사조절영역에서 검출된 4개의 SNP와 도체형질과의 연관성 분석은 상가적유전모델(additive model)과 우성유전모델(dominance model)을 이용하여 분석하였다. 상가적유전모델을 이용한 연관성 분석 결과, 전사조절영역의 4개 SNP 모두 도체형질과는 통계적 유의성이 검출되지 않았다(Table 4). 그러나 SNP -298A>G와 -472A>G는 근내지방도와 6% 유의 수준에서 효과를 보이고 있었다(P=0.06). 또한 우성유전모델(dominance model)을 이용하여 분석한 결과, 4개의 SNP중 3개의 SNP(-298A>G, -472A>G 및 -862A>G)에서 도체중과 근내지방도에서 통계적 유의성(P<0.05)을 보였다(Table 4). 도체중 및 근내지방도와 통계적 유의성을 보인 3개의 SNP(-298A>G,

-472A>G 및 -862A>G)에 대해서 각 유전자형의 최소제공 평균값을 분석한 결과, A 대립유전자를 보유한 개체가 G 대립유전자형을 보유한 개체보다 도체중에서 약 5 kg 더 높았다. 그러나 근내지방도에서는 A 대립유전자를 보유한 개체 보다 G 대립유전자를 보유한 개체가 근내지방도에서 0.19 정도 높았다.

Table 5에서 보는바와 같이 FABP4 유전자 전사조절영역에서 검출된 3개의 SNP(-298A>G, -472A>G 및 -862A>G)의 A 대립유전자의 효과가 도체중 및 근내지방도에서 부의 상관관계를 보였다. 이러한 결과는, 한우에 있어서 도체중과 근내지방도의 유전상관(0.06)이 낮은 원인 때문일 것으로 사료 된다(Hwang 등, 2008). FABP4 유전자는 지방세포내로 지방산을 운반하는 주요 유전자로서 가축에서 생리·생화학적으로 근내지방축적을 조절하는 주요 유전자로 알려져 있다(Gerbens 등, 2000; Hocquette 등,

Table 4. P-values of all associations tested between the four single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the promoter region of the FABP4 gene with carcass traits (n=583). Significant (P<0.05) traits are listed with an asterisk (*).

Traits (Genetic model)	SNPs (P values)			
	-298A>G	-472A>G	-887A>G	-862A>G
<i>Additive</i>				
Carcass weight (CWT)	0.1	0.1	0.24	0.12
Eye muscle area (EMA)	0.7	0.7	0.89	0.65
Back fat thickness (BF)	0.46	0.46	0.22	0.43
Marbling score (MS)	0.06	0.06	0.8	0.21
<i>Dominance</i>				
Carcass weight (CWT)	0.04	0.04	0.1	0.04
Eye muscle area (EMA)	0.75	0.75	0.72	0.78
Back fat thickness (BF)	0.25	0.25	0.18	0.22
Marbling score (MS)	0.03*	0.03*	0.25	0.04*

Table 5. Least square mean (LSM) for carcass weight (CWT) of FABP4 regulatory SNPs in Hanwoo steers.

Traits (Genetic Models)		LSM for carcass weight and marbling for FABP4 SNPs			
		-298A>G	-472A>G	-887A>G	-862A>G
Carcass weight (Dominant)	AA	316.47 ± 2.61	316.47 ± 2.61	316.75 ± 3.04	316.53 ± 2.67
	AG-GG	311.26 ± 2.23	311.26 ± 2.23	311.87 ± 2.74	311.18 ± 2.21
	F-value	4.23	4.23	2.55	4.04
	P-value	0.04*	0.04*	0.11	0.04*
Marbling score (Dominant)	AA	1.85 ± 0.1	1.85 ± 0.1	2.02 ± 0.13	1.85 ± 0.1
	AG-GG	2.09 ± 0.08	2.09 ± 0.08	2.19 ± 0.12	2.08 ± 0.08
	F-value	4.56	4.56	1.32	4.32
	P-value	0.03*	0.03*	0.25	0.04*

*indicated a significant levels (P<0.05).

2003). 또한 Wang 등(2005)은 근내지방이 높은 일본 흑모 화우와 홀스타인의 등심조직에서 FABP4 유전자의 발현을 분석한 결과, 일본 흑모화우에서 2배 이상 발현이 높은 것으로 보고 하였다. 이러한 결과를 종합하여 볼 때, 본 연구에서 새롭게 발굴한 FABP4 유전자의 전사조절영역의 SNP가 유전자 발현을 조절하여 표현형에 있어서의 차이를 만들어 낼 가능성이 있을 것이다. 최근 Heo 등(2011)은 소 염색체 14번 내 FABP4 유전자와 가까운 영역에 위치한 FABP5 유전자로부터 검출된 SNP가 근내지방 및 도체중에서 유의적인 효과를 가지고 있음을 보고 하였다. FABP4와 FABP5는 유전자 서열에 있어서 매우 높은 상동성을 가지며(Krieg 등, 1993) 기능적으로 지방산 신호체계, 세포의 성장 및 조절, 분화 등의 기능에 관여하는 14-15kDa의 근내세포 지질결합단백질이다(Luis 등, 2002). Maeda 등(2003)의 연구에 따르면 FABP5가 결핍된 생쥐에게 고지방 식이를 급여하였을 때 체중과 피하지방에서 각각 10%와 20%의 감소를 관찰하였으며, FABP4와 FABP5를 함께 결핍시킨 생쥐에서는 정상 식이에서도 20%의 체지방 감소를 확인하였다. 또한, 돼지에 있어서도 FABP4와 FABP5 유전자는 염색체 4번(SSC4) 내에서 매우 가까이 존재하며 이들 두 유전자가 지방침착(fat deposition)과 밀접히 관련되어 있다고 보고되었다(Estelle 등, 2006). 이러한 결과는 FABP4와 FABP5 유전자가 존재하는 유전체 좌위가 지방 대사 조절에 매우 중요한 역할을 담당하고 있다는 사실을

나타낸다고 할 수 있다.

4. FABP4 유전자 전사조절영역 SNP의 일배체형(haplotype) 빈도 및 연관성 분석

한우 FABP4 유전자 전사조절영역에서 확인된 4개의 SNP에 대해서 Phase 프로그램을 이용하여 일배체형을 구성하였다. 4개의 SNP으로부터 총 7개의 일배체형이 구성되었으며, 전체 일배체형 빈도 중 일배체형 2(hAAAA; 0.652)가 가장 높은 빈도를, 일배체형 6(hGGGG; 0.312)이 두 번째로 높은 빈도를 보였다(Table 6).

일배체형(haplotype) 중 높은 빈도를 보인 2개의 일배체형을 대상으로 한우 도체형질과 통계적 연관성을 분석하였다. 그 결과 개개의 SNP를 분석했을 때와 달리, 일배체형 연관성분석에서는 통계적 유의성을 보이지 않았다. 그러나 Table 7에서 보는바와 같이 도체중에서 두 일배체형간 효과를 비교한 결과 hAAAA 일배체형이 hGGGG 일배체형 보다 도체중에서 약 5 kg 이 높게 분석되었다. 아울러, 근내지방도에서는 hGGGG 일배체형이 5% 유의수준에서 통계적 유의차를 보였고, 일배체형 hAAAA보다 근내지방도 0.2정도 높게 분석되었다. 이러한 결과는 개개의 SNP 및 일배체형이 표현형에 있어서 동일한 효과를 보이는 결과라 하겠다. 이러한 결과로 볼 때 향후 유전자 기능연구에 있어 두 일배체형을 지닌 개체 간 FABP4 유전자의 발현분석 및

Table 6. Haplotype frequencies of the 4 regulatory SNPs in the Hanwoo steers.

No	haplotypes	Freq	S.E
1*	AAAG	0.016217	0.000785
2*	AAAA	0.652263	0.002573
3	AAGA	0.000995	0.000390
4*	GGAG	0.015590	0.002959
5	GGAA	0.002804	0.000625
6*	GGGG	0.312062	0.003710
7	GGGA	0.000051	0.000237

*Four major haplotypes in regulatory region of FABP4 gene.

Table 7. Effect of two main haplotypes on carcass weight (CWT) and marbling score (MS) in Hanwoo steers.

Trait	Haplotypes	df	Regression coefficients	F-value	P-value
Carcass weight (CWT)	AAAA	1	4.27 ± 3.03	2.70	0.12
	GGGG	1	-1.27 ± 5.28	0.10	0.75
Marbling score (MS)	AAAA	1	-0.11 ± 0.15	3.32	0.07
	GGGG	1	0.11 ± 0.15	3.87	0.05

전사조절인자 결합단백질 탐색과 같은 연구수행에 매우 귀중한 자료로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

IV. 결론

본 연구는 한우에서 육질과 육량이 우수한 개체를 조기에 진단하여 선발할 수 있는 DNA 마커를 개발하고자 수행하였다. PCR-direct sequencing을 통해 소 염색체 14번에 위치한 FABP4 유전자의 전사조절영역 내 SNP를 탐색하였다. 한우 종모우 24두를 이용한 탐색 결과 4개의 신규 SNP(-298A>G, -472A>G, -887A>G, -862A>G)를 검출하였다. 상가적유전모델(additive model)을 이용한 SNP과 도체형질과의 연관성 분석한 결과 통계적 유의성이 검출되지 않았다. 그러나 SNP -298A>G와 -472A>G는 근내지방도와 6% 유의 수준에서 효과를 보이고 있었다(P=0.06). 또한 우성유전모델(dominance model)을 이용하여 분석한 결과, 4개의 SNP중 3개의 SNP(-298A>G, -472A>G 및 -862A>G)에서 도체중과 근내지방도에서 통계적 유의성(P<0.05)을 보였다. 또한 일배체형(haplotype) 중 높은 빈도를 보인 2개의 일배체형에 대한 연관성 분석을 수행한 결과 도체중에서는 통계적 연관성을 보이지 않았으나, 근내지방도에서는 5% 유의 수준에서 통계적 연관성을 보였다. 이러한 결과로 볼 때 향후 유전자 기능연구에 있어 두 일배체형을 지닌 개체 간 FABP4 유전자의 발현분석 및 전사조절인자 결합단백질 탐색과 같은 연구수행에 매우 귀중한 자료로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

참고 문헌

Cheong HS, Yoon D, Kim LH, Park BL, Lee HW, Han CS, Kim EM, Cho H, Chung ER, Cheong IJ, Shin HD. 2007. Titin-cap (TCAP) polymorphisms associated with marbling score of beef. *Meat Sci.* 77: 257-263.

Cho S, Park TS, Yoon D, Cheong HS, Namgoong S, Park BL, Lee HW, Han CS, Kim EM, Cheong IC, Kim H, Shin HD. 2008. Identification of genetic polymorphisms in FABP3 and FABP4 and putative association with back fat thickness in Korean native cattle. *BMB Reports* 41: 29-34.

Dekker JCM. 2004. Commercial application of marker and gene assisted selection in livestock: Strategies and lessons. *J. Anim. Sci.* 82: E313-E328.

Estelle T, Perez-Enciso M, Mercade A, Varona L, Alves E, Sanchez A, Folch JM. 2006. Characterization of the porcine FABP5 gene and its association with the FAT1 QTL in an

Iberian by Landrace cross. *Anim. Genet.* 37(6): 589-591.

Gerbens F, de Koning DJ, Harders F, Meuwissen THE, Janss LLG, Groenen MA, Veerkamp JH, Van Arendonk JAM, Te Pas MFW. 2000. The effect adipocyte and heart fatty acid-binding protein genes on intramuscular fat and backfat content in Meishan crossbred pigs. *J. Anim. Sci.* 78: 552-559.

Gilmour AR, Gogel BJ, Cullis BR, Thompson R. 2006. *ASREML User Guide*. Release 2.0. VSN International Ltd., Hemel Hempstead, HP1 1ES, UK.

Hayes BJ, Bowman PJ, Chamberlain AJ, Goddard ME. 2009. Invited review: Genomic selection in dairy cattle: Progress and challenges. *J. Dairy.Sci.* 92: 433-443.

Heo KN, Kim NK, Lee SH, Kim NY, Jeon JT, Park EW, Oh SJ, Kim TH, Seong HH, Yoon DH. 2011. Association between the polymorphism of the fatty acid binding protein 5 gene within the BTA14 QTL region and carcass/meat quality traits in Hanwoo. *J. Anim. Sci. & Technol.* 53(4): 311-317. [in Korean]

Hocquette JF, Jurie C, Ueda Y, Boulesteix P, Bauchart D, Pethick DW. 2003. The relationship between muscle metabolic pathways and marbling of beef. *Progress in Research on Energy and Protein Metabolism*, pp. 513-516, Wageningen, Netherlands.

Hwang JM, Kim S, Choi YH, Yoon HB, Park CJ. 2008. Genetic parameter estimation of carcass traits of Hanwoo steers. *J. Anim. Sci. & Technol.* 50(5): 613-620. [in Korean]

JMGA. 1988. New beef carcass grading standards. Japan Meat Grading Association, Tokyo, Japan.

Kong HS, Oh JD, Lee JH, Yoon DH, Choi YH, Cho BW, Lee HK, Jeon GJ. 2007. Association of sequence variations in DGAT 1 gene with economic traits in Hanwoo (Korea cattle). *Asian-Aust. Anim. Sci.* 20: 817-820.

Krieg P, Feil S, Furstenberger G, Bowden GT. 1993. Tumor-specific overexpression of a novel keratinocyte lipidbinding protein: identification and characterization of a cloned sequence activated during multistage carcinogenesis in mouse skin. *Biol. Chem.* 268: 17362-17369.

Lande R, Thompson R. 1990. Efficiency of marker assisted selection in the improvement of quantitative traits. *Genetics.* 124: 743-756.

Lee SH, Park EW, Cho YM, Kim KH, Oh YK, Lee JH, Lee CS, Oh SJ, Yoon DH. 2006. Lipogenesis gene expression profiling in longissimus dorsi on the early and late fattening stage of Hanwoo. *J. Anim. Sci. & Technol.* 48: 913-920. [in Korean]

Lee SH, Park EW, Cho YM, Kim SK, Lee JH, Jeon JT, Lee CS, Im SK, Oh SJ, Thompson JM, Yoon D. 2007. Identification of differentially expressed genes related to intramuscular fat development in the early and late fattening stages of hanwoo steers. *Biochem. Mol. Biol.* 40(5): 757-764.

Lee SH, van der Werf JHJ, Lee SH, Park EW, Oh SJ, Gibson JP, Thompson JM. 2010. Genetic polymorphisms of the

- bovine Fatty acid binding protein 4 gene are significantly associated with marbling and carcass weight in Hanwoo (Korean Cattle). *Anim. Genet.* 41(4): 442-444.
- Lee SH. 2011. Genome analysis to identify QTL and genes affecting carcass traits in Hanwoo (Korean cattle). The University of New England, Ph.D thesis.
- Liu Z, Sun HX, Zhang YW, Li YF, Zuo J, Meng Y, Fang FD. 2004. Effect of SNPs in protein kinase Cz gene on gene expression in the reporter gene detection system. *World J. Gastroenterol.* 10: 2357-2360.
- Luis H, Gutierrez C, Christian L, Carsten H, Martin R, Thorsten H, Heinz R, Friedrich S, Christian L. 2002. Solution structure and backbone dynamics of human epidermal-type fatty acid-binding protein (E-FABP). *Biochem.* 364: 725-737.
- Maeda K, Uysal KT, Makowski L, Go'rgu'n CZ, Atsumi G, Parker RA, Bru'ning J, Hertzell AV, Bernlohr DA, Hotamisligil GS. 2003. Role of the fatty acid binding protein mall in obesity and insulin resistance. *Diabetes* 52: 300-307.
- Meuwissen THE, Goddard ME. 2001. Prediction of identity by descent probabilities from marker-haplotypes. *Genet. Sel. Evol.* 33: 605-634.
- Stephens M, Smith NJ, Donnelly P. 2001. A new statistical method for haplotype reconstruction from population data. *American Journal of Human Genetics* 68: 978-989.
- Tatum J, Smith C, Carpenter Z. 1982. Interrelationships between marbling, subcutaneous fat thickness, and cooked beef palatability. *J. Anim. Sci.* 43: 777-784.
- USDA. 1989. Official united states standards for grades of beef carcasses. Agric. Marketing Serv. USDA, Washington, USA.
- Wang YH, Byrne KA, Reverter A, Harper GS, Taniguchi M, McWilliam SM, Mannen H, Oyama K, Lehnert SA. 2005. Transcriptional profiling of skeletal muscle tissue from two breeds of cattle. *Mamm Genome* 16: 201-210.