

Association of Heat Shock Protein Beta 1 (HSPB1) Gene Expression with Tenderness in Loin Muscle of Korean Cattle (Hanwoo)

Dajeong Lim¹, Seung-Hwan Lee¹, Yong-Min Cho¹, Bong-Hwan Choi¹, Han-Ha Choi¹, Hwan-Hoo Seong¹, Seong-Koo Hong¹ and Nam-Kuk Kim^{2*}

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

²National Agricultural products Quality Management Service, Seoul 150-804, Korea

Received September 25, 2012 / Revised November 23, 2012 / Accepted November 26, 2012

In a previous proteomic study, heat shock protein beta 1 (HSPB1) was detected as differentially expressed protein in longissimus thoracis between low (grade 3) and high (grade 1++) meat quality groups by 2DE gel electrophoresis. The present study investigated an association of HSPB1 expression at the level of gene and protein with Warner-Bratzler shear force (WBS) measured in 20 Hanwoo steers. An analysis of variance (ANOVA) between expression values and WBS showed that WBS was affected by HSPB1 expression ($p < 0.05$). The expression (at both gene and protein level) of the HSPB1 was 2 times higher in the low WBS group than that in the high WBS group ($p < 0.01$). This result suggests that the HSPB1 gene may be a candidate gene associated with tenderness in longissimus thoracis of Korean cattle.

Key words : Heat shock protein beta 1, gene expression, Korean cattle (Hanwoo)

서 론

고기의 연도(tenderness)는 다즙성, 풍미 등과 함께 소비자가 육질을 평가하는 가장 중요한 요소 중 하나로 질기고 연한 정도를 의미한다. 한우에 있어 쇠고기의 품질 고급화와 차별화 방안으로 소비자가 느끼는 맛 즉 연도, 향미, 다즙성에 대한 만족도를 높이는 것이 중요하다. 특히, 우리나라 소비자들은 쇠고기 맛을 평가할 때 연도, 향미, 다즙성 순으로 가중치를 두는 것으로 나타나 연도를 가장 중요시 하는 것으로 밝혀졌다[4]. 이와 같이 소비자에게 맛에 있어 가장 큰 영향을 미치는 연도는 전단력(Warner-Bratzler shear force; WBS)으로 측정하며, 전단력 값이 낮을수록 연한고기로, 육질이 우수한 것으로 평가 받고 있다[6,12].

고기의 연도는 근섬유와 결합조직의 화학적 조성이나 구조의 변이로 인하여 다양한 차이를 보이게 된다. 근섬유와 관련된 연도의 증감은 사후강직과 그 후에 일어나는 단백질 분해 과정에 따라 달라지게 된다. 근육 내 단백질분해효소의 활성화가 진행되면서 근원섬유의 단백질 조직을 분해시킴으로써 연화가 진행된다[22]. 따라서 연도를 조절하는 특이 유전자 및 근육의 막 조직 구성에 대한 유전자발현 메커니즘을 규명할 수 있다면, 효과적인 쇠고기 생산에 이용할 수 있을 것이다.

최근 가축에 있어서 경제형질에 연관된 유전자를 탐색하기 위하여, quantitative trait loci (QTL) 연구[2,8], 특이발현유전

자 탐색[18], microarray [25] 및 proteomics [10] 등 대량분석체계를 활용한 다양한 연구기법들이 활용되고 있다[29]. 이와 더불어, 가축의 표현형질과 연관된 생리·생화학적 경로 등에서 기능이 알려져 있는 유전자를 후보유전자로 선정하여 그의 발현 및 유전변이와 형질과의 연관성을 규명하는 후보유전자 탐색 연구까지 많은 연구들이 수행되고 있다[13].

최근, Oh 등[20]은 한우에서 근육 내 육단백질 분해효소인 calpain을 억제하는 calpastatin (CAST) 유전자 내 다형성이 육질의 연도에 영향을 미친다고 보고하였으며, calpain 3 (CAPN3) 유전자 역시 단일염기서열변이의 유전자형 C의 발생빈도가 증가함에 따라 연도가 향상되는 것을 확인할 수 있었다[23]. 이러한 연구 결과들은 현재 single nucleotide polymorphism (SNP)를 포함 한 유전자 마커 개발에 중요한 자료로 활용되고 있다.

Heat shock protein beta 1 (HSPB1)은 스트레스뿐만 아니라 환경·생물학적 자극에 의해 유도되는 단백질로 외부적 충격이나 자극에 의해 손상된 체내 단백질을 복원시키는 기능을 담당하는 chaperone으로 잘 알려져 있다. 또한, 사후경직이 진행되면서 근육에서 고기로 변화할 때 근육세포 자멸사를 유도하는 caspases의 apoptosis 신호전달과정에서 caspases 활성화와 apoptosome 형성을 방해하는 anti-apoptosis 역할을 담당하여 식육의 연화과정에서 연도를 조절할 것이라 추측하였으며[1,9], Zhao 등[30]의 연구를 통해 스트레스가 연도에 많은 영향을 미치는 것으로 확인되었다. 또한 한우 등심육을 대상으로 한 단백질 연구결과에서도 HSPB1이 육질과 관련되어 있음이 확인되었다[15]. 이러한 연구 결과

*Corresponding author

Tel : +82-2-2165-6081, Fax : +82-2-2165-6090
E-mail : nkvirus@korea.kr

로 볼 때 스트레스단백질이 식육의 연도와 밀접히 관련되어 있다고 판단된다.

본 연구는 육질의 차이를 보이는(3등급과 1++등급) 한우 등심조직에서 차등발현을 보이는 HSPB1의 유전자와 단백질 수준에서의 발현양상을 분석하고, 연도와와의 관련성을 분석하여 HSPB1이 연도와 관련된 형질 선별 마커로써의 가능성을 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

공시재료

HSPB1의 발현양상과 연도(전단력)와의 관련성 분석을 위하여 동일한 조건으로 사양·관리된(동기우) 한우 20두를 전단력이 낮은 그룹(n=10)과 높은 그룹(n=10)으로 나누어 분석에 사용하였다(Table 1). 모든 등심시료는 도축 후 30분 이내에 채취하여 액체질소를 이용 즉시 동결하고, 사용 전 까지 -70℃에 보관하면서 실험에 이용하였으며, 전단력(WBS, kg/cm²)은 Wheeler 등[22]의 방법에 기초하여 다음과 같이 측정하였다. 시료를 2.54 cm 두께로 준비하고, 미리 70℃로 예열된 항온수조에서 시료의 내부온도가 70℃가 될 때까지 반응시킨다. 반응이 끝난 시료는 흐르는 물(18℃)에서 30분간 냉각시킨 후 1.27 cm 두께의 코어로 8개를 분석용 시료로 준비하였다. 전단력의 측정에는 V형태의 칼날을 이용하여 분석 시료의 근섬유 방향과 직각이 되게 잘라 측정하였고, load cell은 50 kg, cross-head speed는 400 mm/min으로 측정하였다. 보수력(Water holding capacity, %)은 Kauffman 등[10]의 filter paper 방법을 통해 측정하였다.

총 RNA 추출 및 cDNA 합성

등심 시료로부터 총 RNA는 TRIzol을 이용하여 다음과 같이 진행하였다. 액체질소를 이용하여 곱게 마쇄한 시료 0.1 g에 TRIzol reagent 1 ml를 첨가하여 잘 혼합한 후 10분간 13,000 rpm에서 원심분리 후 상등액을 취하였다. 얻어진 상등액에 chloroform 0.2 ml를 첨가하고 혼합한 후 13,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 다시 상등액을 취하고, 상등액에 동량의 isopropanol 첨가 후 원심분리하여 RNA pellet를 획득하였다. 획득된 RNA pellet은 70% 에탄올을 이용하여 세척한 후 건조하고, DEPC를 처리한 멸균증류수에 녹여 사용하였다. 유전자 발현분석을 위하여 추출된 총 RNA는 RNeasy

MiniElute cleanup kit (Qiagen, Valencia, CA, USA)을 이용하여 정제 후 cDNA 합성에 이용하였다.

cDNA 합성은 총 RNA 2 µg에 random primer (Promega, Madison, WI, USA) 1 µl, 2.5 mM dNTP 1 µl를 첨가하고, DEPC를 처리한 증류수로 총 12 µl가 되도록 하였다. 65℃에서 5분간 변성 후 즉시 얼음 위에서 냉각한 후 5X buffer 4 µl, 0.1 M DTT 2 µl, RNase inhibitor (Promega) 0.5U 및 reverse transcriptase (SuperScript II Reverse Transcriptase, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) 1 µl를 첨가하여 42℃에서 60분간 반응시킨 후, 70℃에서 15분간 반응시켜 reverse transcriptase를 불활성화시킨 후 real-time PCR의 주형으로 사용하였다.

Real-time PCR을 통한 유전자 발현분석

유전자의 발현양상을 분석하기 위하여 Real-time PCR법을 이용하였다. 시료로부터 추출된 총 RNA를 이용하여 cDNA를 합성하고, 합성된 cDNA 0.2 µg을 주형으로 2X Power SYBR Green PCR Master mix (Applied Biosystems, Warrington, UK)와 각각의 primer set을 이용하여 7500 Real time PCR system (Applied Biosystems)을 통하여 분석하였다. HSPB1 (5'-AGATCACTGGCAAGCACGAGGAAA-3', 5'-GGGCAGCGTGTATTTGCGAGTGAA-3') 유전자 분석에 사용된 primer는 GenBank에 등록된 염기서열(NM_001025569.1)을 기준으로 제작되었다. 각 PCR 반응은 95℃에서 10분간 예비 변성한 후 95℃에서 15초, 60℃에서 1분간 40회 반복하여 수행하였다. PCR 반응 종결 후 melting curve 작성을 통하여 유전자 증폭의 정확성을 재확인하였다. 유전자 발현량의 내부 보정을 위하여 Genbank에 등록된(BC102589) house keeping 유전자인 GAPDH (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase)를 이용하였고, 유전자 발현량은 2^{-ΔCt}값을 이용하여 계산하였다. 내부 보정용 유전자로 사용된 GAPDH 유전자의 발현은 5'-GGGTCATCATCTCTGCACCT-3'와 5'-GGTCATAAGTCCTCCACGA-3'의 primer를 이용하여 분석하였고, 발현량 (Ct)은 25~26의 범위로 각 개체별 유사한 값을 가짐을 확인 후 사용하였다.

Western-blotting을 통한 단백질 발현분석

등심시료 0.1 g을 액체질소로 곱게 마쇄한 후 1 ml의 추출용 버퍼(8 M urea, 2 M thio-urea, 65 mM dithiothreitol, 2% CHAPS, protease inhibitor cocktail)를 이용하여 30분간 반

Table 1. Summary statistics of tissue samples for gene expression analysis

Group	Age (month)	Trait (Average±SD)	
		WBS, kg/cm ²	WHC, %
Low (n=10)	29.3±0.496	3.32±0.214	61.88±1.175
High (n=10)	27.3±0.396**	5.25±0.301**	53.88±1.231**

*,** Significant differences (p<0.05 and <0.01) between levels of expression and WBS groups
WBS, Warner-Bratzler shear force; WHC, Water holding capacity

응시켜 단백질을 추출하였다. 추출된 50 ug의 단백질을 12% SDS-PAGE 상에서 전기영동 한 후 PVDF membrane (Millipore, Billerica MA, USA)에 transfer 하였다. Transfer 한 membrane을 blocking buffer (5% non-fat milk in TBS/T buffer)에 담가 4°C에서 12시간 반응시킨 후 TBS/T buffer (10 mM Tris-HCl, pH 8.0, 150 mM NaCl, 0.1% Tween 20)로 10분간 3회 반복하여 세척하였다. Blocking buffer에 primary goat anti-HSP27 (sc-1048, Santa Cruz Biotechnology, Inc. Delaware Avenue, CA, USA)를 1/200 비율로 첨가한 후 실온에서 2시간 반응시켰다. 반응이 끝난 후 다시 TBS/T buffer로 10분간 3회 세척 한 후 horseradish peroxidase-labeled (HRP) anti-goat secondary antibody (Santa Cruz Biotechnology)를 이용하여 실온에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 membrane은 chemiluminescent HRP substrate (Milipore)를 이용하여 반응시키고 luminescent image analyzer를 통하여 단백질 발현량을 측정하였다. 단백질의 발현량은 α -tubulin (sc-12462, Santa Cruz Biotechnology)을 이용하여 보정하였고, 각 개체별 intensity값을 이용하여 분석에 이용하였다.

통계분석

HSPB1의 유전자 및 단백질 발현량과 연도와의 관련성 분석을 위하여 R statistical program의 analysis of variance (ANOVA) 모델을 활용하여 분석하였고, 분석에 사용한 모형은 다음과 같다.

$$\text{Expression}_{ij} = \mu + \text{Trait}_i + \text{Age}_{ij} + e_{ij}$$

여기서, Expression_{ij} 는 단백질과 유전자 수준에서의 발현량으로 단백질 발현량은 intensity값을, 유전자 발현량은 $2^{-\Delta Ct}$ 값을 나타내며, μ 는 전체 평균, Trait_i 는 한우 등심육의 도체형질 값, Age_{ij} 는 도축연령(개월) 및 e_{ij} 는 임의의 오차를 나타낸다.

결과 및 고찰

본 연구는 HSPB1 유전자를 대상으로 유전자와 단백질 수준에서의 발현양상과 한우의 연도와의 관련성 분석을 위해 수행하였다. 쇠고기 연도에 관한 국외 연구에서는 전단력 값과 관능평가에 의한 연도 평가 값 간에 음의 상관관계(-0.72)를 나타내며, 전단력이 낮을수록 연도가 높아진다고 보고되었다 [6]. 또한, Destefanis 등은 전단력 값 5.37 kg 이상은 질김, 4.37-5.37 kg은 중간, 4.37 kg은 연함으로 보고하였고, 한우를 대상으로 한 연구 역시 전단력 값과 관능평가 연도의 상관계수는 -0.67로써 외국과 비슷한 상관계수를 가지는 것을 알 수 있었다 [12]. 따라서 본 연구에서는 전단력 값에 차이를 보이는 한우 20두를 대상으로 HSPB1의 발현량과 전단력 값과의 관련성 분석을 통해, 연도와의 관련성을 확인하고자 하였다. 그 결과, HSPB1의 유전자와 단백질 수준에서 모두 전단력이 발현량에 큰 영향을 주는 요소임을 확인하였고 (Fig. 1, Table 2), 이 결과는 HSPB1이 한우 등심육의 전단력 값 수준에 따라 발현량에 영향을 받음을 나타낸다고 할 수 있다. 또한, 전단력 값의 차이를 보이는 두 그룹(낮은 그룹과 높은 그룹) 간 발현량 차이의 유의성 검정을 위하여 두 그룹의 최소제곱평균 (least square mean)에 대한 t-검정을 실시하였다. 단백질 발현량의 경우, 전단력이 낮은 그룹과 높은 그룹에서 각각 10.40 ± 2.077 과 20.20 ± 2.077 으로 두 그룹 간 발현량의 차이는 통계적으로 유의한 것으로 확인되었다 ($p < 0.01$). 유전자 수준에서의 차이 역시 두 그룹의 발현량이 각각 0.07 ± 0.025 과 0.17 ± 0.025 으로 통계적으로 유의한 결과를 나타내었다 ($p < 0.05$). 결론적으로 전단력이 낮은 그룹에서 높은 그룹보다 단백질 및 유전자 발현량이 약 2배 더 높게 나타났으며, 이러한 결과는 HSPB1의 단백질과 유전자의 발현량이 높을수록 전단력이 낮아져 연도가 향상됨을 잘 나타낸다고 할 수 있다.

일반적으로 식육 중 수분은 75% 정도를 차지하고 있으며,

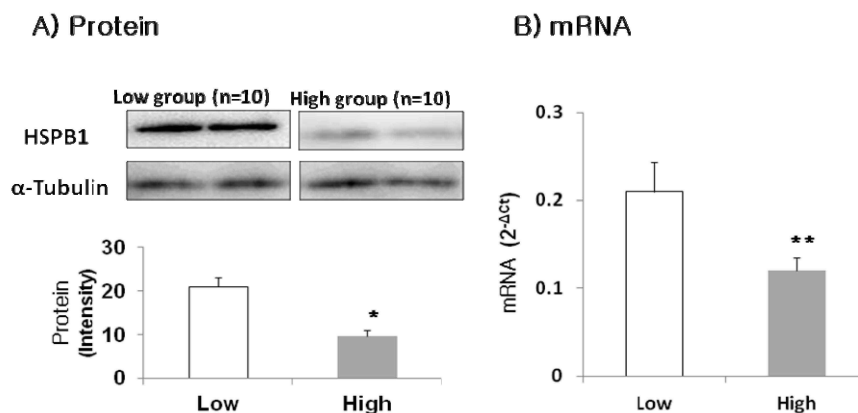


Fig. 1. Gene and protein expression level of heat shock protein beta 1 (HSPB1) using Real-time PCR in Korean cattle (Hanwoo) loin muscle between high and low Warner-Bratzler shear force (WBS) groups. *,** Significant differences ($p < 0.05$ and < 0.01) between levels of expression and low- and high-WBS group

Table 2. ANOVA table of HSPB1 expression analysis in loin muscles

Type	Source	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr (>F)
Gene	WBS	1	496.1	496.1	14.85	0.00127**
	Age	1	192.1	192.1	5.75	0.02824*
	Residuals	17	567.9	33.4		
	WHC	1	559.4	559.4	3.832	0.00171**
	Age	1	9.1	9.1	0.226	0.64072
	Residuals	17	687.6	40.4		
Protein	WBS	1	0.04064	0.04064	5.658	0.0294*
	Age	1	0.00084	0.00084	0.116	0.7372
	Residuals	17	0.12211	0.00718		
	WHC	1	0.03881	0.03881	6.065	0.0248*
	Age	1	0.016	0.016	2.500	0.1323
	Residuals	17	0.10878	0.0064		

보수력은 육질등급 및 근육의 종류와 밀접히 관련되어 다즙성(juiciness)에 영향을 미쳐 육질을 평가하는 중요한 지표로 사용되고 있다[19]. 또한 한우를 대상으로 한 관능적 기호도 평가에서 보수력과 기호도 간 양의 상관관계($r=0.33, p<0.01$)가 있는 것으로 보고 되었다[16]. 이러한 보수력은 단백질 구조와 이온의 변화에 따라 변화된다고 보고되었으며[28], 전단력과 음의 상관관계(-0.52)가 확인되었으며, 육질등급이 낮을 수록 유의하게($p<0.05$) 감소된다고 보고하였다[17]. 본 연구에서도 전단력과 보수력 간 음의 상관관계(-0.61, $p<0.01$)가 확인되었고, HSPB1의 발현이 전단력과 마찬가지로 보수력에서도 유의적인 차이가 관찰되었다(Table 2, $p<0.05$).

고기의 연도는 결합조직의 수용성 정도, 양, 근내지방 함량 등의 차이로 다양한 생물학적 요인에 의해 조절될 수 있다. 또한, 연도는 0.22~0.50, 전단력은 0.12~0.58의 비교적 높은 유전력을 가지고 있다[27]. 따라서, 고기의 연도를 개선시키기 위한 단일염기다형성(SNP) 분석 등과 같은 유전자 구조 특성 분석 연구와 발현 및 유전자 상호 관계 연구 등을 통해 경제형질과 관련된 유전자 선발이 가능하다면, 고연도의 육류 생산 시 유전적 가능성을 고려하여 개체를 선발하는데 유용할 것으로 보인다. 연도에 관련된 후보유전자 탐색 연구는 calpain 시스템에 관여하는 근원섬유단백질군(myofibrillar proteins)을 중심으로 진행되었다. 연도에 관련된 양적형질좌위는 소의 4, 5, 9, 15, 20, 29번 염색체로 보고되었으며[3], 특히 소 염색체 29번 위치한 calpain I 유전자의 경우 9번과 14번 exon 영역의 단일염기서열변이가 아미노산의 치환을 유발하며, 이러한 변이는 도체형질과 고도의 유의적 연관성이 있다고 확인되었다[21]. Tarylor 등[24]은 growth hormone (GH) 유전자 역시 표적 세포(target cell)의 표면에 위치한 growth hormone receptor (GHR)와 결합, 지방 또는 근육 조직의 성장 및 활성화에 관여하여 개체 성장 및 도체 형질(carass composition) 특히, 전단력과 유의한 관련성($p<0.01$)이 있음을 보고하였다.

HSPB1은 스트레스 저항성과 actin organization에 관여하는 유전자로써, α 와 β tubulin, microtubule과 관련된다고 알

려져 있다. Guay 등[7]은 HSPB1 유전자의 down-regulation이 액틴 중합반응(actin polymerization)을 유도하여 액틴 미세섬유(actin microfilaments)의 안정화를 증가시킨다고 보고하였고, 이러한 actin의 사후붕괴과정(post-mortem degradation)이 연도에 영향을 준다고 보고 하였다. 또한, HSPB1 유전자는 apoptotic signaling pathway에 관여하는 주요 유전자들과 상호작용하여 caspase activation과 apoptosis 과정에서 항 세포자멸사 단백질로 기능하는 것이 밝혀졌다[5]. 이러한 결과는 HSPB1의 발현이 actin의 사후붕괴과정에 관여하여 연도에 영향을 미칠 수 있음을 잘 보여주는 결과라 하겠다. 최근, 한우 등심을 대상으로 한 HSPB1에 대한 연구에서 HSPB1의 발현이 근내지방함량과 관련되어 있으며, 지방 생합성 과정에 관련된 유전자들과 상호 조절작용을 가짐을 보고하였다[14]. 또한, 샤롤레(Charlolais) 품종을 대상으로 한 microarray 분석 결과, HSPB1의 발현이 연도, 다즙성 및 향미와 관련됨이 보고되었고, 한우에서와 같이 유전자 발현량과 도체 형질간 음의 상관관계를 나타내었다[1]. 본 연구에서도 동기우 집단 20두를 대상으로 한 유전자 및 단백질 발현분석과 통계분석을 통해 HSPB1의 발현량이 전단력과 보수력에 유의성이 있음이 확인되었다. 이러한 결과로 볼 때 HSPB1이 한우 등심의 연도와 관련된 유용한 마커라고 판단된다.

References

- Bernard, C., Cassar-Malek, I., Le Cunff, M., Dubroeuq, H., Renand, G. and Hocquette, J. F. 2007. New indicators of beef sensory quality revealed by expression of specific genes. *J. Agric. Food Chem.* **27**, 5229-5237.
- Casas, E., Keele, J. W., Shackelford, S. D., Koohmaraie, M. and Stone, R. T. 2003. Identification of quantitative trait loci for growth and carcass composition in cattle. *Anim. Genet.* **35**, 2-6.
- Casas, E., Shackelford, S. D., Keele, J. W., Koohmaraie, M., Smith, T. P. L. and Stone, R. T. 2003. Detection of quantitative trait loci for growth and carcass composition in cattle.

- J. Anim. Sci.* **81**, 2976-2983.
4. Cho, S. H., Kim, J. H., Kim, J. H., Seung, P. N., Park, B. Y., Kim, D. H. Lee, J. M. and Ahn, C. N. 2008. Prediction of palatability grading scores analyzed with sensory data of Hanwoo bull and steer beef. *Proc. Kor. J. Anim. Sci. Technol.* pp. 136.
 5. Concannon, C. G., Gorman, A. M. and Samali, A. 2003. On the role of Hsp27 in regulating apoptosis. *Apoptosis* **8**, 61-70.
 6. Destefanis, G., Brugiapaglia, A., Barge, M. T. and DalMolin, E. 2008. Relationship between beef consumer tenderness perception and Warner-Bratzler shear force. *Meat Sci.* **78**, 153-156.
 7. Guay, J., Lambert, H., Gingras-Breton, G., Lavoie, J. N., Huot, J. and Landry, J. 1997. Regulation of actin filament dynamics by p38 map kinase-mediated phosphorylation of heat shock protein. *J. Cell Sci.* **110**, 357-368.
 8. Gutierrez-Gil, B., Wiener, P., Nute, G. R., Burton, D., Gill, J. L., Wood, J. D. and Williams, J. L. 2007. Detection of quantitative trait loci for meat quality traits in cattle. *Anim. Genet.* **39**, 51-61.
 9. Herrera-Mendez, C. H., Becila, S., Boudjellal, A. and Ouali, A. 2006. Meat ageing: Reconsideration of the current concept. *Trends Food Sci. Tech.* **17**, 394-405.
 10. Hollung, K., Veiseth, E., Jia, X., Færgestad, E. M. and Hildrum, K. I. 2007. Application of proteomics to understand the molecular mechanisms behind meat quality. *Meat Sci.* **77**, 97-104.
 11. Kauffman, R. G., Eikelenboom, G., van der Wal, P. G., Engel, B. and Zaar, M. 1986. A comparison of methods to estimate water-holding capacity in post-rigor porcine muscle. *Meat Sci.* **18**, 307-322.
 12. Kim, J. H., Cho, S. H., Seong, P. N., Jeong, D. W., In, T. S., Hah, K. H., Jung, M. O., Park, B. Y., Lee, J. M. and Kim, D. H. 2009. Relationship between sensory property and Warner-Bratzler shear force for prediction of tenderness for branded Hanwoo beef. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* **29**, 40-46.
 13. Kim, N. K., Kim, S. K., Heo, K. N., Yoon, D., Lee, S. C., Im, S. K. and Park, E. W. 2008. Expression profiles of triacylglycerol biosynthesis genes on fattening stages in Hanwoo. *J. Anim. Sci. Technol.* **50**, 293-300.
 14. Kim, N. K., Lim, D., Lee, S. H., Cho, Y. M., Park, E. W., Lee, C. S., Shin, B. S., Kim, T. H. and Yoon, D. 2011. Heat shock protein B1 and its regulator genes are negatively correlated with intramuscular fat content in the longissimus thoracis muscle of Hanwoo (Korean cattle) steers. *J. Agric. Food Chem.* **25**, 5657-5664.
 15. Kim, N. K., Cho, S., Lee, S. H., Park, H. R., Lee, C. S., Cho, Y. M., Choy, Y. H., Yoon, D., Im, S. K. and Park, E. W. 2008. Proteins in longissimus muscle of Korean native cattle and their relationship to meat quality. *Meat Sci.* **80**, 1068-1073.
 16. Lee, J. M., Choe, J. H., Oh, M. H., Kim, Y. S., Cheon, D. W., Seo, S. C., Hwang, K. S. and Jang, A. 2010. Effect of sex on quality grade factors, physicochemical and sensory traits of longissimus dorsi in Hanwoo. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* **30**, 321-327.
 17. Lee, J. M. Choe, J. H., Lee, H. K., Na, J. C., Kim, Y. H., Cheon, D. W., Seo, S. C. and Hwang, K. S. 2010. Effect of quality grades on carcass characteristics, physico-chemical and sensory traits of longissimus dorsi in Hanwoo. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* **30**, 495-503.
 18. Lee, S. H., Park, E. W., Cho, Y. M., Kim, S. K., Lee, J. H., Jeon, J. T., Lee, C. S., Im, S. K., Oh, S. J., Thompson, J. M. and Yoon, D. 2007. Identification of differentially expressed genes related to intramuscular fat development in the early and late fattening stages of hanwoo steers. *J. Biochem Mol. Biol.* **40**, 757-764.
 19. Moon, S. S., Kang, G. H., Hur, S. J., Jeong, J. Y., Yamg, H. S., Jim, J. S., Joo, S. T. and Park, G. B. 2002. Effect of carcass traits, sarcomere length and meat quality properties on beef longissimus tenderness at 24 hr postmortem. *Kor. J. Food Sci. Ani. Resour.* **23**, 109-114.
 20. Oh, D. D., Lee, J. A., Lee, K. W., Park, K. D., Cho, B. W., Jeon, G. J., Lee, H. K. and Kong, H. S. 2010. Identification of polymorphisms in CAST gene associated with economic traits in Hanwoo (*Bos taurus coreanae*). *J. Life Sci.* **20**, 1298-1504.
 21. Page, B. T., Casas, E. R., Quaas, L., Thallman, R. M., Wheeler, T. L. Shackelford, S. D. Koochmariae, M., White, S. N., Bennett, G. L., Keele, J. W., Dikeman, M. E. and Smith, T. P. 2004. Association of markers in the bovine CAPN1 gene with meat tenderness in large crossbred populations that sample influential industry sires. *J. Anim. Sci.* **82**, 3474-3481.
 22. Ouali, A. 1990. Meat tenderization: possible causes and mechanisms. *J. Muscle Foods* **1**, 129-165.
 23. Schenkel, F. S., Miller, S. P., Jiang, Z., Mandell, I. B., Ye, X., Li, H. and Wilton, J. W. 2006. Association of a single nucleotide polymorphism in the calpastatin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle. *J. Anim. Sci.* **84**, 291-299.
 24. Taylor, J. F., Coutinho, L. L., Herring, K. L., Gallagher, D. S., Brenneman, R. A., Burney, N., Sanders, J. O., Turner, J. W., Smith, S. B. and Miller, R. K. 1998. Candidate gene analysis of GH1 for effects on growth and carcass composition of cattle. *Anim. Genet.* **29**, 194-201.
 25. Wang, Y. H., Reverter, A., Tan, S. H., Jager, N. D., Eang, R., McWilliam, S. M., Cafe, L. M., Greenwood, P. L. and Lehnert, S. A. 2008. Gene expression patterns during intramuscular fat development in cattle. *J. Anim. Sci.* **87**, 119-130.
 26. Wheeler, T. L., Shackelford, S. D. and Koochmariae, M. 2000. Relationship of beef longissimus tenderness classes to tenderness of gluteus medius, semimembranosus, and biceps femoris. *J. Anim. Sci.* **78**, 2856-2861.
 27. Wheeler, T. L., Cundiff, L. V., Shackelford, S. D. and Koochmariae, M. 2005. Characterization of biological types of cattle (Cycle VII): Carcass, yield, and longissimus palatability traits. *J. Anim. Sci.* **83**, 196-207.
 28. Wu, F. Y. and Smith, S. B. 1987. Ionic strength and myofibrillar protein solubilization. *J. Anim. Sci.* **165**, 597-605.
 29. Yu, S. L. and Lee, J. H. 2006. Current research status for economically important candidate genes and microarray studies in cattle. *J. Anim. Sci. Technol.* **48**, 169-190.
 30. Zhao, C., Fei, T., Yu, Y., Luo, J., Mitra, A., Zhan, F., Hou, Y., Liu, G., Zan, L., Updike, M. and Song, J. 2012. Functional genomic analysis of variation on beef tenderness induced by acute stress in Angus cattle. *Comp. Funct. Genom.* **2012**, 11.

초록 : 한우 등심조직 내 heat shock protein beta 1 (HSPB1) 발현과 연도와의 관련성 연구

임다정¹ · 이승환¹ · 조용민¹ · 최봉환¹ · 채한화¹ · 성환후¹ · 홍성구¹ · 김남국^{2*}

(¹국립축산과학원, ²국립농산물품질관리원)

육질 등급에 차이를 보이는(3등급과 1++등급) 한우 등심육을 대상으로 한 단백질 연구를 통해 heat shock protein beta 1 (HSPB1)의 발현 차이가 관찰되었다. 따라서 본 연구는 HSPB1의 유전자와 단백질 수준에서의 발현이 육질에 중요한 요인으로 작용하는 연도(전단력)에 미치는 영향을 규명하기 위하여 수행하였다. 전단력 값의 차이를 보이는 동기우 집단 20두를 대상으로 유전자 및 단백질의 발현량을 분석하였고, 통계분석을 수행하였다. 유전자 및 단백질 수준에서의 발현량을 분석한 결과 HSPB1은 전단력이 낮은 그룹에서 전단력이 높은 그룹보다 2배 발현이 높은 것으로 확인되었으며($p < 0.05$), 전단력과의 관련성 분석 결과에서도 유전자와 단백질 발현량 모두에서 통계적 유의성이 확인하였다($p < 0.05$). 이러한 결과로 볼 때 HSPB1 유전자는 한우 등심육의 연도와 밀접히 관련되어있다고 판단되며, 지속적으로 유전자구조 변이연구 등을 통해 유전자 마커로의 개발이 필요할 것으로 생각된다.