

닭의 *iNOS*와 *TLR-4* 유전자 내 변이와 경제 형질 간의 연관성 분석

임희경¹ · 한정민¹ · 오재돈¹ · 이학교¹ · 전광주¹ · 이준현² · 서동원² · Muhammad Cahyadi² ·
송기덕¹ · 최강덕¹ · 공홍식^{1,*}

¹한경대학교 유전정보연구소, ²충남대학교 농업생명과학대학 동물자원생명과학과

Association of SNPs from *iNOS* and *TLR-4* Genes with Economic Trait in Chicken

Hee Kyong Lim¹, Jung-Min Han¹, Jae Don Oh¹, Hak Kyo Lee¹, Gwang Joo Jeon¹, Jun Heon Lee², Dong Won Seo²,
Muhammad Cahyadi², Ki Duk Song¹, Kang Duk Choi¹ and Hong Sik Kong^{1,*}

¹Genomic Informatics Center, Hankyong National University, Anseong 456-749, Korea

²Department of Animal Science and Biotechnology, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

ABSTRACT *iNOS* (Inducible nitric oxide synthase) and *TLR-4* (Toll-like Receptor-4) play crucial roles in innate immunity of poultry. *iNOS* has been mapped to chicken chromosome 14 and implicated in a variety of chicken diseases. *iNOS* possesses potent antimicrobial activity, including the inhibition of microbes replication *in vitro*. *TLR-4* is a pathogen associated molecular-pattern receptor for bacterial product, such as LPS (lipopolysaccharides) found in Gram negative bacteria, that triggers pro-inflammatory cytokine expression after engagement with ligands. In the previous studies, genetic analysis of *iNOS* and *TLR-4* revealed the possible association of mutation in these genes with the intestinal microflora of cecum when infected with *Salmonella* spp. This study was aimed to augment previous findings, which show the association of *iNOS* (C14513T) and *TLR-4* (G4409T) polymorphisms with economic traits in Korean Native Black (KNB), Rhode Island Red (RIR) and Cornish chickens. Investigation in the effect of SNPs on economic traits (layday, layw, layno, bw150, bw270, layw270) was conducted. *iNOS* (C14513T) had a significant effect on the average body weight at 270 days of age ($p < 0.05$) in both KNB and RIR, whereas *TLR-4* (G4409T) showed no significant correlation with all traits ($p > 0.05$). The results obtained from using the candidate genes can be useful for the genetic improvement of body weight in both KNB and RIR breeds.

(Key words : chicken, Korea Native Chicken, Cornish, Rhode Island Red, *iNOS*, *TLR-4*)

서 론

현재 국내외 양계 산업의 생산성 저하에 심각한 문제를 일으키고 있는 질병으로는 뉴캐슬병, 가금티푸스, 전염성 기관지염, 마렝병, 산란저하 증후군, 가금인플루엔자, 닭 전염성빈혈 등이 있다. 뉴캐슬병은 닭 전염병 중에 가장 잘 알려져 있으며, 1926년대에 최초로 발생하였고, 2000년부터 2006년까지 급속도로 질병이 전파되었다. 가금티푸스는 1992년 강화에서 처음 발견되었으며, 살모넬라균 계통이 병원체로 밝혀졌다. 조류인플루엔자는 2003년 음성지역에서 최초로 발생하면서 우리 사회에 심각한 충격을 주었다. 이러한 질병의 발생으로 인해 농가의 생산성이 저하되었고, 엄청난 경

제적 손실을 겪어야 했다.

2011년 7월부터 가금 사료에 항생제의 첨가가 금지됨에 따라 항생제 대체제의 개발을 위해 많은 노력이 진행되었으나, 아직까지 항생제를 대체할 완벽한 기술의 개발이 이루어지지 않고 있어, 이에 대한 대처 방안이 절실히 요구되고 있다. 항생제 대체를 위한 대부분의 연구는 사료첨가제를 활용한 닭의 면역력 증강에 대해 집중되고 있으나, 면역 및 강건성에 대한 유전 육종학적인 연구의 뒷받침 없이는 실용적인 결과 도출에 어려움이 있을 것으로 판단된다. Jayanthe et al.(2010)은 면역력 증강에 영향을 주는 β -glucan을 브로일러 종에 주입하였을 때 닭의 몸무게가 증가되었음을 확인하였다. 하지만 닭의 면역 및 강건성에 대한 연구가 아직 미

* To whom correspondence should be addressed : kebinkhs@empal.com

비한 수준에 있어 이에 지속적인 연구가 필요한 실정이다 (이상범 등, 2011).

닭의 면역 반응은 바이러스, 병원성 미생물 등으로부터 자신을 보호하기 위한 방어체계로서 생체 일련의 반응 및 기관이 상호복합적으로 작용하여 골수, 흉선, 비장, F낭에서 일어나고 있다.

iNOS(inducible nitric oxide synthase) 유전자는 닭에서 19번 염색체에 위치하고 있으며, LPS(lipopolysaccharide), IFN- γ (interferon-gamma) 등에 의해 발현 유도되어 nitric oxide (NO)를 생성하며, 또한 *iNOS*는 칼슘 수용 단백질과 강하게 결합되어 미량의 칼슘이온에 의해서도 활성화되어 NO를 생성한다. NO는 세포막을 쉽게 통과할 수 있는 성질이 있고 생체 내에서 매우 다양한 작용을 한다. 구조가 간단하며 지용성이고 전기적으로 중성이기 때문에 주위 세포로 쉽게 확산되어 작용하며, 면역기관에서 생산되어 면역반응을 제어할 수 있다고 알려져 있다(서성준 등, 2002). 사람의 경우, 피부에서 *iNOS*는 LPS, IFN- γ 등에 의해 NO를 발현하여 피부병의 유발, 자외선에 의한 피부의 홍반 및 염증반응의 유발, 각종 세균, 진균 등에 대한 항균작용, 면역기능의 조절에 관여한다고 보고되었으며, *TLR-4*(Toll-like Receptor 4) 유전자는 *TLRs*의 10가지 중 하나로써 리간드를 인지하면 사이토카인 또는 보조 작용분자(co-stimulatory molecule)의 활성화를 유도하여 선천 면역반응과 적응면역 사이의 다리 역할을 한다. *TLR-4*는 그람 음성균의 LPS를 인식하여 상피조직, 폐, 대식세포 등에서 발현하여 초기 면역반응에 참여하는 것으로 알려져 있으며(박준용 등, 2003), 닭의 *iNOS*와 *TLR4* 유전자내 변이에 대한 연구에 따르면 intron 영역 G3954C 지역에 변이와 비장 내에 변화가 연관이 있는 것으로 알려져 있다(Malek et al., 2003; Tohidi et al., 2012)

따라서 본 연구는 면역반응에 관여하는 *iNOS* 유전자와 *TLR-4* 유전자 영역 내의 변이에 대한 연구를 통해 각 품종별(한국 재래닭, 로드아일랜드 레드 및 코니쉬) 유전 특성을

파악하고, 경제 형질과의 연관성을 분석하여 면역 및 강건성을 위한 분자 육종 체계 수립을 위한 기초자료로 활용하고자 수행하였다.

재료 및 방법

1. 공시 재료

본 연구의 공시 재료는 국립축산과학원 가금과에서 사육 중인 코니쉬 96수, 로드아일랜드 레드 96수, 한국 재래닭 96수의 닭의 혈액 (총 3품종 288수)을 이용하였다. 공시축의 채혈은 닭의 날갯죽지 정맥에서 채혈하여 EDTA가 포함된 들어 있는 진공 채혈관에 보관하였다. 수집된 혈액에서 genomic DNA를 분리하여 본 실험에 공시재료로 사용하였다.

경제 형질은 암컷의 형질인 시산 일령, 시산 난중, 150일령 몸무게, 270일령 몸무게, 270일령 난중, 270일령 산란수를 조사하였다. 시산 일령은 개체별 시산한 첫날의 일령, 시산 난중은 첫 산란 시 난중을 개체별로 3개씩 측정하여 평균을 구하였고, 150일령과 270일령 몸무게는 각 일령 시 개체별 몸무게를 측정하였으며, 270일령 난중은 261일령부터 270일령까지 생산된 계란을 개체별로 3개씩 측정하여 평균을 산출하였다. 270일령 산란수는 시산 일령부터 270일령까지 계란을 산란한 닭의 산란수를 매일 개체별로 조사하여 합계를 구하였다.

2. PCR-RFLP

SNP 탐색을 위한 primer를 제작하기 위하여 NC_006106, NC006104(NCBI)를 참조하여 2쌍의 primer를 제작하였다 (Table 1). PCR 반응액은 template DNA 24 ng, 200 nM의 dNTP, 25 pmole 농도의 각 유전자의 primer, 2.5 U의 *Taq* polymerase 및 10 mM Tris-HCl(pH 9.0), 50 mM KCl, 1.4 mM MgCl₂ 및 1% Triton X-100을 포함하는 용액을 제조하였다. PCR 온도 조건은 denaturation 과정 94°C에서 5분,

Table 1. Primer design for PCR-RFLP analysis of 2 candidate genes

Gene	Sequence	Product size (bp)	Enzyme	SNP ¹
<i>iNOS</i>	F 5'-CCAATAAAAGTAGAAGCGA-3'	400	Alu-I	C14513T
	R 5'-GAGAGCAAGGATGTTTAAAAAGTAA-3'			
<i>TLR-4</i>	F 5'-GTGCTGCTCAGTGGGTGTAA-3'	676	Xba-I	G4409T
	R 5'-GGAGGAAGGCAATCATCAAA-3'			

¹ Location was based on the sequence of the chicken *iNOS* and *TLR-4* genes from GenBank accession no. NC_006106, NC006104, respectively.

94°C에서 30초, annealing 온도는 유전자별 조건에 맞는 온도에서 30초, 72°C에서 40초 간의 과정을 조건에 맞춰 30~35 cycle 수행 후, 72°C로 최종 extension 과정을 유전자 증폭을 마무리하였다. 증폭된 유전자의 확인은 1.5% 농도의 아가로스 젤 전기영동을 실시하였다. 증폭되어진 PCR 산물 2 µL에 1 U의 제한효소(*iNOS* : *AluI*, *TLR-4* : *XbaI*), 10× 제한효소 버퍼 1 µL를 첨가한 후 증류수를 첨가하여 총 10 µL로 만들었다. 각 제한효소의 처리는 최적 온도(37°C)에서 반응하는 온도와 시간으로 반응시킨 뒤 1.5% 농도의 아가로스 젤에서 전기영동을 실시하여 유전자형을 결정하였다.

3. 통계분석

*iNOS*와 *TLR-4*의 유전자형과 경제 형질 간의 연관성을 분석하기 위하여 SAS 9.1(SAS, USA)프로그램을 통하여 분석을 실시하였다. 전체 품종에서 유전형의 효과에 대해 최소 유의차 검정을 통하여 평균간 차이에 대한 유의성의 통계분석 모형은 다음과 같다.

$$Y_{ijk} = \mu + Breed_i + G_j + e_{ijk}$$

상기 모형에서,

Y_{ijk} = 대상형질에 대한 관측치

μ = 대상형질의 전체 평균

$Breed_i$ = 품종효과(i = 로드아일랜드 레드, 코니쉬, 재래닭)

G_j = 유전자형(Genotype)의 효과

e_{ijk} = 임의 오차

각 품종별(한국 재래닭, 로드아일랜드 레드, 코니쉬) 경제 형질과 유전자형의 연관성 분석을 위해 사용되어진 모형은 다음과 같다.

$$Y_{ij} = \mu + G_i + e_{ij}$$

Y_{ij} = 대상형질에 대한 관측치

μ = 대상형질의 전체 평균

G_i = 유전자형(Genotype)의 효과

e_{ij} = 임의오차

결 과

1. 유전자별 유전자형 분석

코니쉬 96수, 로드아일랜드 레드 96수, 한국 재래닭 96수를 대상으로 *iNOS*와 *TLR-4* 유전자 내 변이 지역에 대한 유

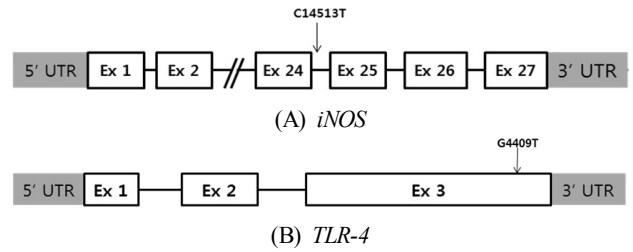


Fig. 1. SNP map of Chicken *iNOS* and *TLR-4* genes. The coding exon is marked by white block, 5' and 3' UTRs by Gray.

전자형을 결정하였다. *iNOS* 유전자형 결정을 위해 제한효소 *AluI*을 이용하였으며, *TLR-4* 유전자는 G4409T 지역의 변이를 확인하기 위하여 제한효소 *XbaI*를 이용하였다. *iNOS* 유전자의 C14513T 지역의 확인된 유전자형은 TT, TC 그리고

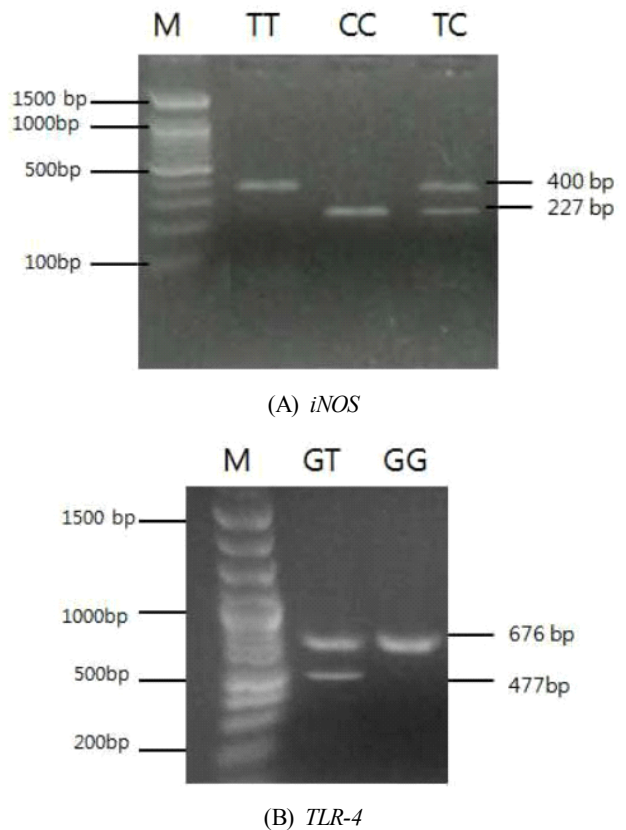


Fig. 2. SNP variation in *iNOS* and *TLR-4* gene visualized by 1.5% agarose gel. (A) agarose gel displaying a *AluI* restriction digest on an amplified portion of Chicken *iNOS* gene. M : 100 bp ladder ; TT : 400 bp ; CC : 227 bp and 173 bp; TC : 400 bp, 227 bp and 173 bp. (B) agarose gel displaying a *XbaI* restriction digest on an amplified portion of Chicken *TLR-4* gene. M : 100 bp ladder ; GT : 676 bp, 477 bp and 209 bp; GG : 676 bp.

CC형이었다. 제한효소로 절단한 유전자형 중 TT 유전자형은 400 bp 하나의 단편을 보유하였으며, CC 유전자형은 227 bp와 173 bp 두 개의 단편, TC 유전자형은 400 bp, 227 bp 그리고 173 bp의 3개의 단편을 보유한 것으로 확인되었다. *TLR-4* 유전자의 G4409T 지역의 유전자형은 GG와 GT로 확인되었으며, GG 유전자형은 676 bp 하나의 단편을 보유하였고, GT 유전자형은 676 bp, 477 bp 그리고 209 bp의 단편이 확인되었다(Fig. 2).

*AhaI*으로 처리한 C14513T(*iNOS*) 지역의 각각의 품종별 유전자형 출현빈도는 코니쉬 종에서 0.427(TT), 0.281(TC), 0.292(CC), 로드아일랜드 레드에서 0.191(TT), 0.383(TC), 0.426(CC), 한국 재래닭에서 0.073(TT), 0.344(TC), 0.583(CC)로 확인되었다. 전체 축군에 대한 빈도는 0.231(TT), 0.281(TC), 0.433(CC)으로 확인되었다(Table 2).

*XbaI*으로 처리한 G4409T(*TLR-4*) 지역은 코니쉬 종에서 0.611(GG), 0.381(GT), 로드아일랜드 레드에서 0.469(GG), 0.531(GT), 한국 재래닭에서 0.573(GG), 0.427(GT)로 확인되었으며, 전체 축군에 대한 빈도는 0.551(GG), 0.449(GT)로

Table 2. Genotype frequencies at loci in *iNOS* and *TLR-4* genes

Breed	<i>iNOS</i> (C14513T)			<i>TLR-4</i> (G4409T)	
	TT	TC	CC	GG	GT
Cornish	0.427	0.281	0.292	0.611	0.381
Rhode Island Red	0.191	0.383	0.426	0.469	0.531
Korea Native Chicken	0.073	0.344	0.583	0.573	0.427
Total	0.231	0.336	0.433	0.551	0.449

확인되었다(Table 2).

2. 전체 축군에 대한 연관성 분석

Table 3은 본 연구에 활용된 공시 축군의 품종별 각 경제 형질(시산일령, 시산난중, 산란수, 150일령 몸무게, 270일령 몸무게, 270일령 난중)에 대한 평균 값 등을 제시하였다.

전체 공시축을 하나의 분석 대상 축군으로 하여 품종 효과를 고려해 각 경제 형질에 대한 유전자(*iNOS*, *TLR-4*) 변이 효과를 분석하여 Table 4에 제시하였다. 전체 축군에서 *iNOS*와 *TLR-4* 유전자의 변이와 경제 형질 간의 연관성을 분석한 결과, 유의적인 연관성($p < 0.05$)은 검출되지 않았다.

Table 3. Mean and standard deviation of each economic traits in three populations

Trait	Cornish	Rhode Island Red	Korea Native Chicken
layday	163.56 ± 12.12	154.23 ± 22.05	163.24 ± 11.94
layw	41.4 ± 8.31	40.43 ± 4.78	40.65 ± 6.07
bw150	294.8 ± 28.68	150.7 ± 20.82	165.28 ± 23.11
bw270	382.65 ± 38.6	188.41 ± 19.49	195.4 ± 26.88
layw270	58.5 ± 4.48	55.25 ± 8.37	52.71 ± 3.74
layno	39.62 ± 10.61	33.9 ± 21.79	43.75 ± 12.08

layday: Age of first egg, layw: Egg weight at first, layno: The number of eggs laid, BW150: Body weight at 150 days of age, BW270: Body weight at 270 days of age, layw270: Egg weight at 270 days of age.

Table 4. Effect of the polymorphism in the chicken *iNOS* and *TLR-4* genes on the economic traits in the population

Traits	<i>iNOS</i> (C14513T)			<i>TLR-4</i> (G4409T)	
	TT	TC	CC	GG	GT
layday	161.73 ± 2.575	159.59 ± 1.949	160.36 ± 1.632	160.16 ± 1.510	160.71 ± 1.629
layw	41.26 ± 1.259	40.61 ± 0.953	40.84 ± 0.798	40.71 ± 0.736	41.07 ± 0.794
layno	37.56 ± 2.462	38.91 ± 1.863	40.31 ± 1.560	38.36 ± 1.455	39.85 ± 1.569
bw150	204.07 ± 4.179	207.57 ± 3.362	200.05 ± 2.788	204.60 ± 2.574	202.57 ± 2.817
bw270	255.34 ± 5.260	256.43 ± 4.232	254.58 ± 3.509	254.58 ± 3.197	256.89 ± 3.500
layw270	54.40 ± 0.861	55.99 ± 0.713	55.69 ± 0.645	55.75 ± 0.578	55.12 ± 0.646

layday: Age of first egg, layw: Egg weight at first, layno: The number of eggs laid, BW150: Body weight at 150 days of age, BW270: Body weight at 270 days of age, layw270: Egg weight at 270 days of age.

3. 각 품종별 축군에 대한 연관성 분석

3 품종(코니쉬, 로드아일랜드 레드, 한국 재래닭)에 대한 유전자형과 경제 형질과의 연관성 분석을 수행하였다. 코니쉬 중에서 *iNOS*와 *TLR-4* 유전자형과 경제 형질과의 연관성을 분석한 결과, 유의적인 연관성($p>0.05$)이 확인되지 않았다(Table 5).

로드아일랜드 레드의 경우에는 *iNOS*의 유전자형에서 270일령 몸무게와 관련하여 유의적인 연관성($p<0.05$)이 확인되었다. 270일령 몸무게는 CC 유전자형이 192.43 ± 4.640 , TC 유전자형이 188.46 ± 5.148 , TT 유전자형이 168.00 ± 9.280 으로 확인되었으며, CC를 보유한 집단이 270일령 몸무게가 가장 무거운 것으로 나타났고, TT 유전자형을 보유한 집단의 차이가 유의적($p<0.05$)인 것으로 확인되었다. *TLR-4*의 유전자형이 각 형질에 미치는 효과를 분석한 결과, 대부분의 형질에서 큰 차이를 보이지 않았으며, 어떠한 유의적인 연

관성($p>0.05$)도 나타나지 않았다(Table 6).

재래닭에서는 *iNOS*에서 로드아일랜드 레드와 마찬가지로 270일령 몸무게에서 유의적인 연관성($p<0.05$)이 확인되었으나, TT 유전자형(224.50 ± 10.56)이 TC 유전자형(193.26 ± 5.398)과 CC 유전자형(192.94 ± 3.625)에 비해 훨씬 높은 것으로 나타났다. *TLR-4*의 유전자형과 경제 형질 간의 연관성 분석 결과에서는 유의적인 연관성($p>0.05$)이 확인되지 않았다(Table 7).

고찰

iNOS 유전자는 닭의 19번 염색체에 위치하고 있으며, 사람은 17번 염색체, 돼지는 12번 염색체, 소는 19번 염색체에 위치하고 있다. *iNOS* 유전자는 칼슘 비의존성이며, 주로 자극에 의해 NO를 생산하는 유전자이다. 대식세포에서 주로

Table 5. Effect of the polymorphism (chicken *iNOS* and *TLR-4* genes) on the economic traits in Cornish chickens

Traits	<i>iNOS</i> (C14513T)			<i>TLR-4</i> (G4409T)	
	TT	TC	CC	GG	GT
layday	162.83 ± 2.241	164.00 ± 2.745	164.13 ± 2.505	163.17 ± 1.874	164.58 ± 2.181
layw	41.43 ± 1.530	40.15 ± 1.874	42.42 ± 1.710	41.29 ± 1.288	41.87 ± 1.499
layno	38.50 ± 1.955	39.60 ± 2.394	41.04 ± 2.186	39.81 ± 1.646	39.00 ± 1.917
bw150	294.74 ± 4.794	303.48 ± 6.189	287.60 ± 5.672	293.49 ± 4.206	297.33 ± 5.020
bw270	379.91 ± 6.587	387.71 ± 8.504	382.24 ± 7.794	377.62 ± 5.594	390.85 ± 6.676
layw270	57.61 ± 0.848	59.37 ± 1.029	58.87 ± 0.935	58.65 ± 0.719	58.28 ± 0.844

layday: Age of first egg, layw: Egg weight at first, layno: The number of eggs laid, BW150: Body weight at 150 days of age, BW270: Body weight at 270 days of age, layw270: Egg weight at 270 days of age.

Table 6. Effect of the polymorphisms (chicken *iNOS* and *TLR-4* genes) on the economic traits in Rhode Island Red chickens

Traits	<i>iNOS</i> (C14513T)			<i>TLR-4</i> (G4409T)	
	TT	TC	CC	GG	GT
layday	171.67 ± 12.871	149.50 ± 6.436	154.71 ± 5.958	157.50 ± 5.940	151.37 ± 5.556
layw	41.33 ± 2.876	41.17 ± 1.438	39.71 ± 1.331	41.36 ± 1.279	39.63 ± 1.196
layno	38.33 ± 2.976	36.75 ± 6.488	32.00 ± 6.007	34.29 ± 5.927	33.56 ± 5.545
bw150	138.50 ± 10.194	152.85 ± 5.655	149.88 ± 5.097	150.94 ± 5.287	150.50 ± 4.985
bw270	168.00 ± 9.280 ^a	188.46 ± 5.148 ^{ab}	192.43 ± 4.640 ^b	188.94 ± 4.947	187.94 ± 4.664
layw270	54.00 ± 4.682	55.60 ± 3.626	55.75 ± 4.055	57.86 ± 2.629	51.60 ± 3.111

layday: Age of first egg, layw: Egg weight at first, layno: The number of eggs laid, BW150: Body weight at 150 days of age, BW270: Body weight at 270 days of age, layw270: Egg weight at 270 days of age.

Table 7. Effect of the polymorphisms (chicken *iNOS* and *TLR-4* genes) on the economic traits in Korea Native chickens

Traits	<i>iNOS</i> (C14513T)			<i>TLR-4</i> (G4409T)	
	TT	TC	CC	GG	GT
layday	165.80 ± 5.400	163.48 ± 2.518	162.88 ± 1.691	162.26 ± 1.764	164.61 ± 2.082
layw	42.60 ± 2.741	40.83 ± 1.278	40.39 ± 0.858	40.26 ± 0.899	41.21 ± 1.061
layno	37.40 ± 5.372	41.65 ± 2.505	45.33 ± 1.682	41.89 ± 1.763	46.36 ± 2.082
bw150	177.00 ± 9.441	166.43 ± 4.822	163.39 ± 3.238	168.83 ± 3.335	160.24 ± 3.981
bw270	224.50 ± 10.569 ^a	193.26 ± 5.398 ^b	192.94 ± 3.625 ^b	198.36 ± 3.912	191.18 ± 4.669
layw270	51.75 ± 1.892	52.91 ± 0.789	52.69 ± 0.540	52.70 ± 0.568	52.72 ± 0.666

layday: Age of first egg, layw: Egg weight at first, layno: The number of eggs laid, BW150: Body weight at 150 days of age, BW270: Body weight at 270 days of age, layw270: Egg weight at 270 days of age.

발현되고 세균 감염, 염증 사이토카인이나 LPS 등의 세포 자극 물질에 의하여 NO의 생산이 증가되어진다. 칼슘 수용 단백질과 강하게 결합하여 미량의 칼슘 이온에서도 활성화되기 때문에 칼슘 이온의 농도와는 상관없이 *iNOS*가 존재하는 한 NO가 지속적으로 생성된다. *iNOS*의 합성이 시작되면 효소가 없어질 때까지 다량의 NO를 생성하기 때문에 이산화질소나 과산화아질산염이라는 산화력이 강한 물질을 생성한다. 이후에 지질을 과산화 시키거나 세포내 단백질의 구조와 기능을 변화시켜서 항균작용이나 살균작용을 하게 된다(Malek et al., 2003; 서성준 등, 2002).

TLR-4 유전자는 닭의 17번 염색체, 사람은 9번 염색체, 돼지는 1번 염색체, 소는 8번 염색체에 위치하고 있다. *TLR-4*는 초파리의 세포막 수용체 Toll의 상동체인 toll-like receptors(TLRs)가 human에서 관찰되었으며, 선천 면역 과정에서 항원에 대한 세포반응에 관여한다. 현재 *TLRs*는 10가지의 family를 가지는 것으로 알려져 있으며, 그 중 *TLR-4*는 상피세포, 포식세포, 단핵구, 내피세포 등 여러 가지 세포에서 발현되어 그람 음성균의 LPS과 반응하여 면역반응에 필수적인 것으로 보고되었다(Malek et al., 2003; 박준용 등, 2003).

Tohidi et al.(2012)은 유전자 다형성에 따른 살모넬라 감염 시 맹장의 장내 균총 변화에 대한 연구 결과, *iNOS*(C14513T)와 *TLR-4*(G4409T) 유전자의 변이와 유의적인 연관성을 나타내고 있음을 보고한 바 있다. *iNOS* 유전자의 C14513T 지역은 24번째 intron 지역에 존재하고 있으며, *TLR-4* 유전자의 G4409T 지역은 3번 exon 지역에 위치하고 있다. G4409T 지역은 변이에 의해 아미노산 코딩에 변화를 주는 non-synonymous로 변이에 의해 Arginine에서 Leucine으로 바뀌게 된다.

Gao et al.(2011)의 보고에 따르면 닭의 19번 염색체의 9

cM에서 40 cM 사이에서 가슴둘레 사이즈와 연관된 QTL이 존재하고 있다고 보고하였다. *iNOS* 유전자는 이 QTL 지역에 위치하고 있음을 확인하였고, 따라서 닭의 면역과 관련된 중요한 역할을 수행하고 있으며, 또한 몸무게와 관련된 주요 형질에도 영향을 미칠 수 있을 것으로 사료된다.

본 연구 결과, 유전자 변이와 경제 형질간의 연관성은 로드아일랜드 레드와 한국 재래닭 품종의 *iNOS* 유전자 내에 위치한 C14513T 변이 지역과 270일령 몸무게에서 유의적인 차이가 확인되었다. 하지만 로드아일랜드 레드에서는 CC 유전자형(192.43 ± 4.640)에서 가장 높은 것으로 나타난 반면, 한국 재래닭에서는 TT 유전자형(224.50 ± 10.569)이 가장 높은 것으로 확인되었다. 270일령 몸무게가 로드아일랜드 레드 품종에서는 CC 유전자형 보유집단이, 한국 재래닭 품종에서는 TT 유전자형 보유집단이 높은 것으로 나타나 각 품종별 유전자형과 경제 형질 간의 연관성 분석 결과에 큰 차이를 나타내고 있음을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 특정 형질에 대한 QTL 영역 내에는 많은 유전자와 유전변이들이 존재하고 있으며, 이들의 유전적 구조에 따라 특정 형질에 다양한 영향을 미치게 된다. 특히 유전변이들의 유전적 구조는 LD(Linkage Disequilibrium)의 구조를 통해 확인할 수 있으며, 이러한 LD block의 구조는 품종에 따라 그 특성이 분류될 수 있다(Gautier et al., 2007; Amaral et al., 2008; Megens et al., 2009). 따라서 각 품종(로드아일랜드 레드, 한국 재래닭)의 서로 다른 유전자형(CC 또는 TT)이 동일한 경제 형질(270일령 몸무게)에서 유의적인 차이가 확인된 것은 이 유전변이가 형질에 직접적인 영향을 주었다기보다는 형질과 연관된 주요 유전자 또는 주요 유전변이와 유전적으로 연관되어 있을 가능성이 높을 것으로 판단된다.

또한 *iNOS* 유전자를 포함하고 있는 QTL 영역 내 유전변이들에 대한 LD분석 및 유전 구조 분석을 통해 질병 저항성 및 몸무게 관련 형질에 대한 주요 유전변이인자 탐색이 가능할 것으로 사료된다.

요 약

iNOS(inducible nitric oxide synthase)와 *TLR-4*(toll-like receptor 4) 유전자는 모든 생물의 면역반응에 필요한 필수 유전자로 알려져 있다. *iNOS*는 닭에서 19번 염색체에 위치하고 있으며, NO를 면역기관에서 생산되어 면역반응을 일으키는 것으로 알려져 있으며, *TLR-4*는 *TLRs*(toll-like receptors) 중 하나로 알려져 있고, 그람 음성균의 LPS를 인식하여 초기 면역반응에 참여하는 것으로 알려져 있다. 이들의 유전적 변이는 살모넬라균에 감염되었을 때 맹장의 장내 균총에 영향을 주는 것으로 알려져 있다. 본 연구는 *iNOS*의 intron 24 영역 내 C14513T와 *TLR-4*의 exon 3 영역 내 G4409T 변이 지역을 대상으로 3품종(한국 재래닭, 코니쉬, 로드아일랜드 레드)을 이용하여 유전자형을 확인하고, 경제 형질 간의 연관성 분석을 실시하였다. 분석 결과, *iNOS*의 변이 지역(C14513T)은 한국 재래닭과 로드아일랜드 레드종에서 270 일령 몸무게와 유의적인 연관성이 확인되었으며, *TLR-4*의 변이 지역(G4409T)은 경제 형질과의 연관성이 확인되지 않았다. 본 연구 결과는 면역 및 경제 형질 관련 표지인자 발굴을 위한 유용한 기초 자료로 활용될 수 있으며, 추가적인 연구를 통해 분자 육종을 위한 유전표지인자 개발에 활용이 가능할 것으로 사료된다.

(색인어: 재래닭, *iNOS*, *TLR-4*, 단일염기변이, 경제 형질)

사 사

본 연구는 농촌진흥청 차세대 바이오그린 21사업(PJ008-196)의 지원에 의해 이루어진 것이며, 공시축의 시료와 정보를 제공해 주신 국립축산과학원 담당자 여러분에게 감사드립니다.

참고문헌

Amaral AJ, Megens HJ, Crooijmans RP, Heuven HC, Groenen MA 2008 Linkage disequilibrium decay and haplotype block structure in the pig. *Genetics* 179:569-579.

Gao Y, Feng CG, Song C, Du ZQ, Deng XM, Li N, Hu XX 2011 Mapping quantitative trait loci affecting chicken body size traits via genome scanning. *Anim Genet* 42:670-674.

Gautier M, Faraut T, Moazami-Goudarzi K, Navratil V, Foglio M, Grohs C, Boland A, Garnier JG, Boichard D, Lathrop GM, Gut IG, Eggen A 2007 Genetic and haplotypic structure in 14 European and African cattle breeds. *Genetics* 177:1059-1070.

Jayanthe RP, Rajapakse JR, Buddhika MD, Nagataki M, Nomura H, Watanabe Y, Ikeue Y, Agatsuma T 2010 Effect of Sophy β -glucan on immunity and growth performance in broiler chicken. *J Vet Med Sci* 72:1629-1632.

Malek M, Lamont SJ 2003 Association of INOS, TRAIL, TGF-beta2, TGF-beta3, and IgL genes with response to *Salmonella enteritidis* in poultry. *Genet Sel Evol* 35:S 99-111.

Malek M, Hasenstein JR, Lamont SJ 2004 Analysis of chicken TLR4, CD28, MIF, MD-2, and LITAF genes in a *Salmonella enteritidis* resource population. *Poultry Sci* 83: 544-549.

Megens HJ, Crooijmans RP, Bastiaansen JW, Kerstens HH, Coster A, Jalving R, Vereijken A, Silva P, Muir WM, Cheng HH, Hanotte O, Groenen MA 2009 Comparison of linkage disequilibrium and haplotype diversity on macro- and microchromosomes in chicken. *BMC Genet* 10:86.

Tohidi R, Idris IB, Panandam JM, Bejo MH 2012 The effects of polymorphisms in IL-2, IFN- γ , TGF- β 2, IgL, TLR-4, MD-2 and *iNOS* genes on resistance to *Salmonella Enteritidis* in indigenous chickens. *Avian Pathol* 41:605-612.

박준용 한동수 김보현 강은경 이영춘 이항락 김진배 손주현 최호순 강정옥 함준수 2003 *Helicobacter pylori* 감염증에서 위점막의 Toll-like Receptor 4 발현. *대한소화기학회지* 41:171-176.

서성준 노병관 신봉주 홍창권 2002 Dendric Epidermal T cell에서 *iNOS* mRNA의 발현과 IL-3 생산에 NO가 미치는 영향. *대한피부과학회지* 40:1225-1234.

이상범 김병극 박창호 박건현 김영성 강한석 김영철 김윤철 배승철 김선구 최윤재 이흥구 2011 토종육계에 있어서 복합 생균제 및 면역증강제의 항생제 대체효과. *한국동물자원과학회지* 53:409-418.

(접수: 2013. 3. 4, 수정: 2013. 4. 25, 채택: 2013. 5. 7)