

제주 흑우 집단에서 Indel, Microsatellite 마커와 *MC1R* 유전자형을 이용한 친자 확인

한상현^{1,2*}, 조상래^{1*}, 조인철¹, 조원모¹, 김상금¹, 양성년¹, 강용준^{1,3}, 박용상¹, 김영훈⁴, 박세필^{3,5}, 김은영⁵, 이성수^{6,*}, 고문석^{1,*}

¹국립축산과학원 난지축산시험장, ²제주대학교 교육과학연구소, ³제주대학교 동물자원학과, ⁴제주도 축산진흥원, ⁵미래생명공학연구소/제주대학교 줄기세포연구센터, ⁶국립축산과학원

A Parentage Test using Indel, Microsatellite Markers and Genotypes of *MC1R* in the Jeju Black Cattle Population

Sang Hyun Han^{1,2*}, Sang-Rae Cho^{1*}, In-Cheol Cho¹, Won-Mo Cho¹, Sang-Geum Kim¹, Sung-Nyun Yang¹, Yong-Jun Kang^{1,3}, Yong-Sang Park¹, Young-Hoon Kim⁴, Se-Phil Park^{3,5}, Eun-Young Kim⁵, Sung-Soo Lee^{1,*}, and Moon-Suck Ko^{1,*}

¹Subtropical Animal Experiment Station, National Institute of Animal Science, RDA, Jeju 690-150, Korea

²Educational Science Research Institute, Jeju National University, Jeju 690-756, Korea

³Department of Animal Biotechnology, Jeju National University, Jeju 690-756, Korea

⁴Institute for Livestock Promotion, Jeju-do, Jeju 690-802, Korea

⁵Mirae Biotech. Co./Jeju National University Stem Cell Research Center, Seoul 143-854, Korea

⁶National Institute of Animal Science, RDA, Suwon 441-706, Korea

ABSTRACT

This study was carried out to examine a molecular marker system for parentage test in Jeju Black cattle (JBC). Based on the preliminarily studies, we finally selected for construction of a novel genetic marker system for molecular traceability, identity test, breed certification, and parentage test in JBC and its related industrial populations. The genetic marker system had eight MS markers, five indel markers, and two single nucleotide polymorphisms (SNPs; g.G299T and g.del310G) within *MC1R* gene which is critical to verify the breed specific genotypes for coat color of JBC differing from those of exotic black cattle breeds such as Holstein and Angus. The results showed lower level of a combined non-exclusion probability for second parent (NE-P2) of 4.1202×10^{-4} than those previously recommended by International Society of Animal Genetics (ISAG) of 5.000×10^{-4} for parentage, and a combined non-exclusion probability for sib identity (NE-SI) of 2.679×10^{-5} . Parentage analysis has been successfully identified the JBC offspring in the indigenous population and cattle farms used the certified AI semens for production using the JBC-derived offspring for commercial beef. This combined molecular marker system will be helpful to supply genetic information for parentage test and traceability and to develop the molecular breeding system for improvement of animal productivity in JBC population.

(Key words : molecular marker, parentage, microsatellite, indel, Jeju Black cattle)

서론

분자 생물학의 발달과 더불어 인간사회에서 단백질이나 DNA 등 생체 분자의 서열 정보는 계통 유전학, 진화학 등 학문 분야뿐만 아니라, 범인의 식별이나 친자 확인 등 응용 영역에서도 매우 중요한 자료로 활용되고 있다. 최근 국제 교역

의 증가와 더불어 식료품 원자재나 가공물의 원산지 표기는 국가 차원의 관리 대상이다. 특히 쇠고기의 경우 한우와 육우, 교잡우 등 국내산 소의 품종 구분뿐만 아니라, 수입 쇠고기와 식별이 동시에 이루어져야 한다는 점에서 DNA 동일성 검사가 생산 이력 추적의 필수 요소가 된 실정이다.

국내에서도 유일하게 제주도에서만 유지되고 있는 제주 흑

* 본 연구는 농촌진흥청 국립축산과학원 어젠다 과제(PJ008641, PJ906979)와 농림수산식품부의 “제주 흑우의 대량증식 기술개발 및 산업화” 연구과제(308008-5)의 지원에 의해 수행되었음.

* Co-first authors; * Correspondence : E-mail : lee6470@rda.go.kr, koms21c@rda.go.kr

우는 1980년대의 멸종 위기를 벗어나 어느 정도 집단의 규모가 유지되고 있으나, 현재까지도 제주 흑우의 직접적인 산업화 자원으로 활용할 수 있는 수준에는 미치지 못하고 있다. 이에 반해 지역 특산물을 이용한 신 소득원으로써 제주 흑우에 대한 활용가치는 농가와 지방자치정부에는 매력적인 소재가 되고 있어, 이에 따른 실용화 산업이 시범적으로 진행되고 있다. 품종의 기초등록이나 동일성 검사 등에 대한 정보는 한우의 생산 이력제와 더불어 진행되고 있으나, 비육우 생산을 위한 송아지 생산 체계가 기관과 농장이 동시에 참여한다는 점과 제주 흑우와 외형상으로 매우 유사한 형태인 한우×Holstein 교잡우인 먹우(일명 먹통, 먹우)에 의한 시장의 혼란을 방지하기 위해서도 제주 흑우와 실용화 집단에 대한 친자 확인과 혈통관리는 매우 엄격하게 다루어져야 할 것이다. Han 등의 보고(2010)에서는 ISAG의 권장 11 MS 마커들이 포함된 22종의 MS 마커와 제주 흑우의 모색 특성이 반영되어 있는 두 가지 모색 관련 유전자(MC1R, ASIP) SNP 마커의 조합을 기반으로 농가에 보급된 제주 흑우 유래 수정란이식(Embryo Transfer, ET), 인공수정(Artificial Insemination, AI) 송아지들의 검출한 바 있다. 반면, 이 과정에서 MS 마커 분석에서 기 보고된 DNA polymerase의 slippage에 의한 miscounting allele이나 판독 오류의 가능성 때문에 어느 정도 부-모-자의 삼자간 불일치(trio-mismatch)를 허용하는 결과를 제시하였다.

소, 돼지를 비롯한 축산물에 대해서 과거부터 혈액형이나 혈액 단백질의 동위효소에 대한 정보뿐만 아니라, 최근에는 DNA 분석기법, 특히 MS 마커의 반복 양상에 따른 유전자형 자료는 가축 품종들의 품종 및 혈통 증명, 집단 식별, 개체 추적과 친자 확인 등에 보편적으로 이용되고 있다(Mannen 등, 1993; Arranz 등, 1996; Cho 등, 2003; Ji 등, 2007; Kim 등, 2007; Oh 등, 2007). MS 정보를 기반으로 하는 유전자 분석 체계는 다수의 시료를 대상으로 다양한 유전자의 다형성이 높은 유전자형 정보를 신속하게 확보할 수 있다는 차원에서 그 활용 범위가 매우 넓고 효율성도 매우 뛰어나다.

반면, MS 마커에 대한 유전 정보 분석은 MS 자체가 핵 DNA 내에서 상대적으로 매우 높은 돌연변이율을 보여 DNA 돌연변이에 대한 분자 수선 기능과 관련된 유전질환이 있는 경우에는 체세포 수준의 돌연변이나 불안정성(instability), 이형접합성의 획득/상실(gain/loss of heterogeneity) 등의 원인이 되기도 한다(Collins 등, 1987; Warren 등, 1987; Ostertag과 Kazazian, 2001; Garay 등, 2004; Chen 등, 2012a, 2012b; Huang 등, 2012; Kim 등, 2012;). 특히 현재 생산 이력제 등에 중점적으로 활용되고 있는 2-염기 반복(di-nucleotide repeat)인 MS는 증합 효소 연쇄 반응(polymerase chain reaction, PCR) 증폭 시 주형 DNA의 단순반복 때문에 효소의 slippage에 의해 stutter band의 형성과 이에 따른 유전자형 판독 오류의 원인이 되기

도 한다. 또한 다수 유전자를 동시에 증폭하는 multiplex PCR 과정에서 차등 증폭된 PCR 산물은 data의 일부가 소실되거나 판독이 불가능한 수준을 나타내기도 한다(Levinson과 Gutman, 1987; Wolff 등, 1989; Demers 등, 1995; Brinkmann 등, 1998; Poetsch 등, 2006). 이와 같은 문제점들의 보완을 위해 tri-, tetra-, oligo-nucleotide repeat MS, 다형성의 규모가 상대적으로 큰 minisatellite, variable number of tandem repeat(VNTR), SNP, indel marker 등에 의한 도입이 제안되기도 하였다(Daniels 등, 1998; Kersbergen 등, 2007; Pereira 등, 2009; Phillips 등, 2008; Borsting과 Morling, 2011; Pinto 등, 2013).

Han 등의 보고들(2008, 2010, 2012)에서 채택되었던 22종의 MS 마커와 9종의 indel marker에 대한 예비 조사에서 최종 선발한 MS 8종과 indel 마커 5종, 제주 흑우의 모색 관련 핵심 유전자인 MC1R 유전자형의 조합을 이용하여 제주 흑우 원종집단 및 실용화 축군에서 친자 확인에 대한 효율성을 시험하고자 본 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

1. 공시동물과 DNA 추출

본 연구에 이용한 제주 흑우 원종 집단은 국립축산과학원 난지축산시험장(Subtropical Animal Experiment Station, National Institute of Animal Science, RDA, SAES)과 제주도축산진흥원(Livestock Promotion Institute, Jeju-do; LPI)에서 보관 중인 genomic DNA를 제공받거나, 말초 혈액에서 분리한 총 155두의 DNA를 이용하였다. 친자 확인을 위한 시험은 SAES에서 2008년부터 2010년까지 생산된 제주 흑우 원종의 후손 24두, SAES와 LPI의 인공 수정 정액을 이용하여 생산한 농가 후손집단(A, 8두; B, 8두; C, 8두)을 이용하였다. 인공 수정용 정액을 공급받은 농가에서 제주 흑우 실용화 축군과 비슷한 시기에 출생한 한우 후손을 대조실험을 위한 시료로 이용하였다. DNA 분리는 Sambrook 등(1989)의 방법을 변형하여 수행하였으며, 분리한 DNA는 NanoDrop ND-1000 spectrophotometer(NanoDrop Technology, USA)로 흡광도를 측정 후 A_{260}/A_{280} 와 A_{230}/A_{280} 이 모두 1.8 이상인 DNA들을 40~60 ng/ul로 희석하여 PCR 반응의 주형으로 이용하였다.

2. Microsatellite 유전자형의 결정

분석에 이용한 MS 마커는 Han 등(2010)의 보고에서 제시된 22종에 대한 사전 연구를 통해 8종(TGLA53, TGLA126, TGLA122, INRA23, ETH3, DIK4460, DIK3027, BL1134)을 선정하였다(Table 1). MS primer 쌍 중 하나를 FAM, HEX, NED, TAMRA 등으로 5'-형광 표지하여 multiplex PCR 조합을 구성하여 수행하였다. PCR 반응은 50 ng의 genomic DNA

용액에 1 × PCR buffer, 125 mM dNTP, 0.3 Unit HotStart *Taq* DNA polymerase(Bioneer, Korea), MS marker에 대한 primer 들을 첨가하고, 멸균 증류수를 첨가하여 최종 10 ul로 하였다. 준비된 반응액에 대한 PCR 증폭은 PTC-200 thermal cycler (Bio-Rad, USA) 상에서 95℃에서 5분간 초기 변성, 94℃ 45 초-annealing 온도에서 75초-72℃ 90초로 구성된 cycle을 35회 반복 수행하고, 72℃에서 10분간 최종 신장하였다. 증폭산물은 5배 또는 10배 희석 후 ET-400R size standard(Amersham Biosciences, USA)와 혼합하여 Megabase 1000 automated DNA Sequencer(Amersham Biosciences, USA) 상에서 전개하고, Genetic Profiler(Amersham Biosciences, USA)를 이용하여 유전자형을 결정하였다. 실험과정의 오차를 줄이기 위해 모든 종모우, 수정란 생산용 공란우들의 유전자형은 3회 이상 반복하여 결정하였다.

3. Indel Marker의 선정 유전자형의 결정

연구에 이용한 Indel 마커는 Han 등(2012)이 제안한 9종의 마커 중 다형정보량이 0.3 이상인 5종(HW_G01, HW_G04, Indel_16, Indel_29, Indel_32)을 선발하였다(Table 1). 유전자형 결정을 위한 PCR 반응은 50 ng의 genomic DNA 용액에

1 × PCR buffer, 125 mM dNTP, 0.3 Unit *Taq* DNA polymerase(iNtRON Biotechnology, Korea)에 각각의 primer와 멸균 증류수를 첨가하여 최종 20 ul가 되게 준비하였다. 준비된 반응액에 대한 PCR 증폭은 PTC-200 thermal cycler(Bio-Rad, USA) 상에서 95℃에서 3분간 초기변성, 94℃ 45초-primer annealing 온도에서 45초-72℃ 45초로 구성된 cycle을 40회 반복 수행하고, 72℃에서 5분간 최종 신장하였다. PCR 증폭 산물은 ethidium bromide가 함유된 3.0% agarose 겔 상에서 전기영동하여 결정하였다.

4. *MC1R* 유전자형의 결정

연구에 이용한 *MC1R* 유전자형의 결정은 Han 등(2008)의 보고를 따랐다. PCR로 증폭한 *MC1R* 유전자 절편에 대한 PCR 산물은 *Alu I*과 *Msp I* 제한효소를 이용하여 37℃에서 overnight 반응한 후, 2% agarose gel 상에서 전개하여 유전자형을 판독하였다.

5. 대립 인자형의 결정 및 친자 검정

MS, Indel 마커들과 *MC1R* 유전자형 분석에서 산출된 모든 유전자 좌위에 대한 대립인자 빈도와 이형 접합성(heterozygo-

Table 1. Genetic markers examined for parentage test in the JBC population

Marker	Locus	K	N	Ho	He	PIC	HWE		
							χ^2 value	P-value	Significance ¹
Indel	HW_G01	2	155	0.606	0.492	0.37	7.6714	0.0056	ns
	HW_G04	2	155	0.568	0.494	0.371	3.0266	0.0819	ns
	Indel_16	2	154	0.526	0.469	0.358	1.8716	0.1713	ns
	Indel_29	2	154	0.526	0.481	0.365	1.0586	0.3035	ns
	Indel_32	2	155	0.458	0.483	0.365	0.2658	0.6062	ns
MS	ETH3	7	155	0.729	0.745	0.708	3.0791	0.3796	ns
	INRA23	6	155	0.832	0.803	0.772	0.0658	0.7975	ns
	TGLA122	9	155	0.786	0.799	0.774	0.0042	0.9485	ns
	TGLA126	5	154	0.819	0.737	0.695	7.62	0.0546	ns
	TGLA53	14	149	0.916	0.84	0.82	11.3222	0.0008	*
	DIK4460	8	155	0.667	0.722	0.676	5.7398	0.125	ns
	DIK3027	5	155	0.721	0.696	0.646	2.1871	0.5345	ns
	BL1134	5	155	0.673	0.716	0.670	3.3349	0.3428	ns
Mean		5.31		0.679	0.652	0.584			

K, number of alleles found; N, number of individuals genotyped; Ho, observed heterozygosity; He, expected heterozygosity; PIC, polymorphic information content; HWE, Hardy-Weinberg equilibrium.

¹* indicates $p < 0.05$; ns, not significant.

sity : He), 다형 정보량(Polymorphic Information Contents : PIC), χ^2 value, *P*-value, Hardy-Weinberg Equilibrium(HWE), 부권 부정율(Exclusion Probability, PE)을 산출하였다. χ^2 value는 Yates' correction을 이용하였고, HWE의 유의성은 Bonferroni correction을 이용하였다. 부권 부정율은 부모에 대한 정보가 전혀 없는 경우(NE-1P), 한쪽 부모를 알고 있을 때 다른 쪽의 부권 부정율(NE-2P)의 경우, 양친과 자손을 모두 알고 있는 경우(NE-PP)의 부권 부정율, 비혈연 집단 내에서 동일 유전자형을 보유할 수 있는 동일 개체 출현율(NE-1)과 두 형제 사이에서 동일한 유전자형을 보유할 수 있는 형제내 동일개체 출현율(SI) 등을 산출하였다. 유전자형에 대한 정보의 산출과 친자 검정은 CERVUS 3.0.3(Kalinowski 등, 2007)을 이용하였다. 조사된 개체들 중 유전자형이 동일한 개체의 확인은 CERVUS package 내 동일성 검사(Identity Analysis) program을 이용하였다. 제주 흑우 집단에서의 친자 확인을 위해 SAES와 LPI에서 관리 중인 임신 가능 연령의 암컷들을 모두 후보 모(candidate mother)로, 수정란 이식과 인공 수정을 위해 정액 채취에 이용된 모든 종모우를 후보 부(candidate father)로 선정하여 친자 검정(Parentage Analysis) program을 이용하여 95% 신뢰 수준에서 검출되는 모든 후보 부모를 찾아낸 후 수정란 이식 및 인공 수정의 판독에 이용하였다. 한편, 농장에서 사육 중인 실용화 축군은 후보 모의 DNA를 확보한 경우는 후보 모에 포함시켰으며, 후보 모의 DNA가 없는 개체는 인공 수정에 이용한 종모우를 검출하였다.

결과 및 고찰

1. 선정된 MS, Indel 마커의 다형성

제주 흑우 원종인 SAES 집단과 LPI 집단에서 조사에 이용된 MS 8종, indel 마커 5종의 다형성을 조사하였다(Table 1). 유전자의 구조상에서 예측할 수 있듯이, indel 마커의 경우는 조사된 모든 마커의 대립인자의 수가 2개로 삽입(insertion)형

과 결실(deletion)형으로 구분되었다. 반면, MS 마커의 경우 잘 알려진 바와 같이 여러 가지 대립인자들이 관찰되었고, 제주 흑우 원종 집단에서 관찰된 MS 마커 8종의 평균 대립인자 수는 7.38개로 확인되었다. 대립인자가 가장 많았던 마커는 TGLA 53으로 총 14개의 대립인자가 출현하였고, TGLA126, DIK 3027, BL1134 등 3종의 MS 마커는 5개의 대립인자를 나타내었다. Indel-MS 마커들 전체의 평균 대립 인자의 수는 5.31개, 관찰된 이형 접합자형은 평균 0.679, 예상된 이형 접합자형은 평균 0.652, 다형 정보량의 평균은 0.584로 확인되었다. 전체 13종의 마커 중 TGLA53은 Hardy-Weinberg 평형에서 유의적으로 벗어남을 확인하였다($p < 0.05$).

2. Indel-MS, MC1R 마커 체계의 부권 부정율

Table 2는 indel 마커와 MS 마커, MC1R 유전자형의 대립인자 분포에 따른 친자 감별 시의 부권 부정율과 동일 개체 출현율 등을 나타낸 것이다. 제주 흑우와 제주 흑우를 이용한 실용화 축군의 집단 내 혈통 관리와 친자 확인, 동일성 검사 등에서 가장 핵심적인 요소 중 하나는 원종집단뿐만 아니라, 제주 흑우 실용화 축군의 생산을 위해 SAES와 LPI의 종모우만을 이용한다는 점이다. 이에 따라 유전자 검사의 1차 목표는 인공 수정 및 자연 종부에 이용된 종모우의 검출이며, 이는 소수의 종모우만이 이용되는 범주에서 친자 확인과 혈통 검사가 진행되어야 한다는 점을 동시에 내포하고 있다.

3. 친자 확인 시험

유전자형을 기반으로 한 친자 확인 시험은 SAES 제주 흑우 원종의 후손 24두, SAES와 LPI의 인공 수정 정액을 이용한 농가 후손 집단에서 24두를 이용하였다. 본 연구에서 제안한 MS 8종과 indel 5종, MC1R 유전자형을 이용하여 친자 확인 시험을 수행한 결과 분석에 이용한 제주 흑우 원종 24두는 정확히 후보부집단과 후보 모집단에서 사용된 인공 수정용 정액공여자인 종모우와 어미 소를 확인할 수 있었다. 반면, 농

Table 2. Combined non-exclusion probabilities obtained from the analyses

Molecular marker	NE-1P	NE-2P	NE-PP	NE-I	NE-SI
5 indel markers	0.5385288	0.36396456	0.1993177	0.00838453	0.08094537
8 MS markers	0.02319201	0.00157938	0.00001843	4.56×10^{-9}	0.0005992
Combined indel + MS markers	0.01248957	5.74×10^{-4}	3.67×10^{-6}	3.82×10^{-11}	4.85×10^{-5}
Combined indel + MS + MC1R markers	0.01070323	4.12×10^{-4}	2.09×10^{-6}	1.05×10^{-11}	2.68×10^{-5}

NE-1P : Combined non-exclusion probability for one candidate parent.

NE-2P : Combined non-exclusion probability for one candidate parent given the genotype of a known parent of the opposite sex.

NE-PP : Combined non-exclusion probability for a candidate parent pair.

NE-I : Combined non-exclusion probability for identity of two unrelated individuals.

NE-SI : Combined non-exclusion probability for identity of two siblings.

가에서 출생한 제주 흑우 후손 24두들은 인공 수정용 정액을 공급한 종모우는 모두 SAES와 LPI의 종모우인 것으로 확인되었으나, A 농장 송아지 2마리와 B 농장 1마리에서 신뢰도 99% 이상의 구간에서 어미 소로 추정할 수 있는 개체들이 발견되지 않았다. 이들에 대한 농장주의 기록과 대조한 결과, 해당 소들 중에서 A 농장 1두와 B 농장 1두는 모두 외부 다른 농가에서 구입한 것으로 확인되었다. 이후 이들 2마리의 어미 소의 혈액을 채혈하여 유전자형을 분석하고, 친자 확인 시험을 다시 수행한 결과는 이들 2마리의 송아지의 어미 소가 맞는 것으로 판독되었다. 반면, A 농장의 또 다른 송아지 한 마리의 경우는 송아지 출생 후 어미 소가 도축된 것으로 확인되어 최종적인 어미 소의 확인은 불가능하였다. 결과적으로 A 농장에서 어미 소가 도축된 경우를 제외하고, 제주 흑우 원종 집단과 실용화 축군 집단에서 시험된 48두는 모두 본 연구에서 개발한 유전자 검사 체계만으로도 99% 이상의 신뢰성이 인정된 수준에서 인공 수정용 정액을 생산한 종모우와 종번우를 모두 확인할 수 있었다.

특히 제주 흑우 순종 집단에서 종모우 1두를 이용한 두 가계에서 Han 등(2010)이 제시한 22종의 MS 분석 과정에서 MS 1종의 stutter band의 출현에 의해 부-모-자 3자 불일치로 판정되어 이후 반복적인 실험 수행을 통해 재확인을 수행한 바 있다(data not shown). 하지만 해당 가계에 대한 본 연구의 친자 확인 체계에서는 stutter band를 나타내었던 MS를 제외하면서 indel 마커를 추가하면서, 해당 종모우에서 유래한 2가계의 친자확인 시험에서도 오류 없이 정확한 후보부-후보모를 찾는 결과를 나타내었다.

4. MS-indel 마커 체계의 활용

본 연구의 목표는 제주 흑우 집단과 제주 흑우 유래의 최고기 생산용 실용화 축군에 적용하기 적합한 유전자 마커의 조합을 구축하는 것으로, 기존에 보고된 체계 중에서 논란의 소지가 있는 MS 마커의 이용을 가급적 줄이면서도 유전자 정보력이 충분한 마커 조합을 구축하기 위해 indel 마커의 활용 가능성을 시험하는 데 있다. 소, 돼지를 비롯한 주요 축산물의 동일성 검사와 생산 이력 추적, 품종 관별을 위한 유전자 분석 체계는 MS 마커의 반복수에 대한 유전자형 분석이 주로 활용되고 있으나(Mannen 등, 1993; Arranz 등, 1996; Cho 등, 2003; Ji 등, 2007; Kim 등, 2007; Oh 등, 2007), 반면 MS 마커가 나타낼 수 있는 체세포 돌연변이나 불안정성, 이형 접합성의 획득·상실, 분석 과정에서 종종 오류를 유발하는 효소의 slippage에 의해 stutter band의 형성 등(Collins 등, 1987; Warren 등, 1989; Ostertag과 Kazazian, 2001; Garay 등, 2004; Chen 등, 2012a, b; Huang 등, 2012; Kim 등, 2012)은 이상의 검사 체계를 보완할 수 있는 tri-, tetra-, oligo-nucleotide repeat MS, minisatellite, VNTR, SNP, indel 마커 등, 유전자 정보량이 다

소 적더라도 유전자형의 판독이 보다 명확한 진단 체계와의 혼합 이용이 제기되기도 하였다(Daniels 등, 1998; Kersbergen 등, 2007; Pereira 등, 2009; Phillips 등, 2008; Borsting과 Morling, 2011; Pinto 등, 2013).

연구 결과에서 8종의 MS와 5종의 indel 마커의 조합만으로도 ISAG의 권장 수준 이상의 정보력을 나타내는 조합을 선정할 수 있었으며, 이들의 조합만으로도 제주 흑우와 실용화 축군에 대한 혈통 관리, 친자 확인이 모두 가능한 수준임을 확인하였다. 생산 이력 추적에 도입하는 부분은 현재의 국가 단위 마커 체계와 비교 평가나 법률적인 검토가 필요한 부분이나, 지역의 브랜드 육성을 위한 인증 체계로써는 충분히 장점을 나타낸다고 하겠다. 아직까지 MS와 indel을 동시에 판독할 수 있는 multiplex PCR 기법의 확립 등 실험적인 보완이 요구되는 실정이나, 본 연구의 결과는 제주 흑우의 품종 인증, 친자 확인, 관련 축산물의 브랜드화 등에 관리 체계 구축에 유용한 자료가 될 것으로 판단된다.

참 고 문 헌

- Arranz JJ, Bayon Y and San Primitivo F. 1996. Comparison of protein markers and microsatellites in differentiation of cattle populations. *Anim. Genet.* 27: 415-419.
- Borsting C and Morling N. 2011. Mutations and/or close relatives? Six case work examples where 49 autosomal SNPs were used as supplementary markers. *Forensic Sci. Int. Genet.* 2: 198-204.
- Brinkmann B, Klitschar M, Neuhuber F, Huhne J and Rolf B. 1998. Mutation rate in human microsatellites: influence of the structure and length of the tandem repeat. *Am. J. Hum. Genet.* 62: 1408-1415.
- Chen C, Zhou Z, Li M, Qu M, Ma Q, Zhong M, Zhang Y and Yu Z. 2012a. Presenilin-2 polymorphisms and risk of sporadic AD: Evidence from a meta-analysis. *Gene* 503: 194-199.
- Chen Z, Li X, Tang B, Wang J, Shi Y, Sun Z, Zhang L, Pan Q, Xia K and Jiang H. 2012b. Spinocerebellar ataxia type 27 (SCA27) is an uncommon cause of dominant ataxia among Chinese Han population. *Neurosci. Lett.* 520: 16-19.
- Cho GJ, Yang YJ and Kim BH. 2003. A case of parentage testing in the thoroughbred horse by microsatellite typing. *Kor. J. Vet. Res.* 43: 25-30.
- Collins FS, Drumm ML, Cole JL, Lockwood WK, vande Woude GF and Iannuzzi MC. 1987. Construction of a general human chromosome jumping library, with application to cystic fibrosis. *Science* 235: 1046-1049.

- Daniels J, Holmans P, Williams N, Turic D, McGuffin P, Plomin R and Owen MJ. 1998. A simple method for analyzing microsatellite allele image patterns generated from DNA pools and its application to allelic association studies. *Am. J. Hum. Genet.* 62: 1189-1197.
- Demers DB, Curry ET, Egholm M and Sozer AC. 1995. Enhanced PCR amplification of VNTR locus D1S80 using peptide nucleic acid (PNA). *Nucleic Acids Res.* 23: 3050-3055.
- Garay J, Bravo JC, Correa P and Schneider BG. 2004. Infrequency of microsatellite instability in complete and incomplete gastric intestinal metaplasia. *Hum. Pathol.* 35: 102-106.
- Han SH, Kim JH, Cho IC, Cho SR, Cho WM, Kim SG, Kim YK, Kang YJ, Park YS, Kim YH, Park SP, Kim EY, Lee SS and Ko MS. 2012. Polymorphisms and allele distribution of novel indel markers in Jeju Black cattle, Hanwoo and imported cattle breeds. *J. Life Sci.* 22: 1644-1650.
- Han SH, Kim YH, Cho IC, Jang BG, Ko MS, Jung HY and Lee SS. 2008. Analysis of the genotype distribution in cattle breeds using a double mismatched primer set that discriminates the MC1R dominant black allele. *J. Anim. Sci. Technol.* 50: 633-640.
- Han SH, Ko JC, Kim YH, Kim NY, Kim JH, Ko MS, Jeong HY, Cho IC, Yang YH and Lee SS. 2010. Verification of ET and AI derived offspring using on the genetic polymorphisms of microsatellite and coat color related genes in Jeju Black cattle. *J. Life Sci.* 20: 381-387.
- Huang L, Xiao X, Li S, Jia X, Wang P, Guo X and Zhang Q. 2012. CRX variants in cone-rod dystrophy and mutation overview. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 426: 498-503.
- Ji H, Kim E, Lee K, Kang T, Lee J, Shin H, Kim L and Yun Y. 2007. Beagle dogs parentage testing by using 22 ISAG microsatellite markers. *Kor. J. Vet. Res.* 47: 457-460.
- Kalinowski ST, Taper M and Marshall TC. 2007. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Mol. Ecol.* 16: 1099-1106.
- Kersbergen P, van Eede PH, Kraaijenbrink T, Lardy NM, Sijen T, Bakker E and de Knijff P. 2008. "False positive" or true paternity: Investigating one or two STR mismatches by detailed SNP analyses. *Forensic Sci. Int. Genet. Suppl. Series 1*: 518-519.
- Kim MJ, Li GH, Oh JD, Cho KH, Jeon GJ, Choi BH, Lee JH, Hong YS, Kong HS and Lee HK. 2007. Characterization of a Korean traditional porcine breed using microsatellite markers and establishment of an individual identification system. *Kor. J. Food Sci. Ani. Resour.* 27: 150-156.
- Kim RN, Kim A, Kim D, Choi SH, Kim D, Nam S, Kang A, Kim M, Park K, Yoon B, Lee KS and Park H. 2012. Analysis of indel variations in the human disease-associated genes CDKN2AIP, WDR66, USP20 and OR7C2 in a Korean population. *J. Genet.* 91: e1-e11.
- Levinson G and Gutman GA. 1987. Slipped-strand mispairing: a major mechanism for DNA sequence evolution. *Mol. Biol. Evol.* 4: 203-221.
- Mannen H, Tsuji S, Mukai F, Goto N and Ohtagaki S. 1993. Genetic similarity using DNA fingerprinting in cattle to determine relationship coefficient. *J. Hered.* 84: 166-169.
- Oh JD, Kong HS, Lee JH, Moon SJ, Jeon GJ and Lee HK. 2007. The genetic relationship between regional population of Hanwoo brands (Korean Cattle) using microsatellite markers. *Kor. J. Food Sci. Ani. Resour.* 27: 357-362.
- Ostertag EM and Kazazian Jr HH. 2001. Biology of mammalian L1 retrotransposons. *Annu. Rev. Genet.* 35: 501-538.
- Pereira R, Phillips C, Alves C, Amorim A, Carracedo A and Gusmão L. 2009. Insertion/deletion polymorphisms: A multiplex assay and forensic applications. *Forensic Sci. Int. Genet. Suppl. Series 2*: 513-515.
- Phillips C, Fondevila M, García-Magariños M, Rodriguez A, Salas A, Carracedo A and Lareu MV. 2008. Resolving relationship tests that show ambiguous STR results using autosomal SNPs as supplementary markers. *Forensic Sci. Int. Genet.* 2: 198-204.
- Pinto N, Magalhaes M, Conde-Sousa E, Gomes C, Pereira R, Alves C, Gusmao L and Amorim A. 2013. Assessing paternities with inconclusive STR results: The suitability of bi-allelic markers. *Forensic Sci. Int. Genet.* 7: 16-21.
- Poetsch M, Ludcke C, Repenning A, Fischer L, Malyusz V, Simeoni E, Lignitz E, Oehmichen M and von Wurmb-Schwark N. 2006. The problem of single parent/child paternity analysis-Practical results involving 336 children and 348 unrelated men. *Forensic Sci. Int.* 159: 98-103.
- Sambrook J, Fritsch E. F and Maniatis T. 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 2nd Ed. Cold Spring Harbor Laboratory. New York.
- Warren ST, Zhang F, Licameli GR and Peters JF. 1987. The fragile X site in somatic cell hybrids: an approach for molecular cloning of fragile sites. *Science* 237: 420-423.

Wolff RK, Plaetke R, Jeffreys AJ and White R. 1989. Unequal crossing over between homologous chromosomes is not the major mechanism involved in the generation of new alleles

at VNTR loci. *Genomics* 5: 382-384.

(접수: 2013. 07. 17/ 심사: 2013. 07. 18/ 채택: 2013. 09. 03)