

OCX-32 유전자 내 c.494A>C 및 c.267T>G SNPOI 한국 재래닭 산란형질에 미치는 효과 분석

이지연¹ · 최소영¹ · 김종대² · 홍영호³ · 정동기⁴ · 이성진^{1,*}

¹강원대학교 동물생명과학대학, ²농촌진흥청 국립축산과학원, ³중앙대학교 동물생명공학과, ⁴제주대학교 생명공학부

Effects of c.494A>C and c.267T>G SNPs in OCX-32 Gene of Korean Native Chicken on Egg Production Traits

Ji-Yeon Lee¹, So-Young Choi¹, Chong-Dae Kim², Yeong Ho Hong³, Dong Kee Jeong⁴ and Sung-Jin Lee^{1,*}

¹College of Animal Life Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

²National Institute of Animal Science, Suwon 441-706, Korea

³Department of Animal Science and Technology, Chung-Ang University, Seoul 156-756, Korea

⁴Department of Animal Biotechnology, Jeju National University, Jeju 690-756, Korea

ABSTRACT The identification and utilization of potential candidate genes with significant effects on economically important traits have become increasingly important in poultry breeding programs. The ovocalyxin-32 (OCX-32) gene is located chromosome 9 in chicken, plays an important role in eggshell formation. This study was performed to assess the association between single nucleotide polymorphisms (SNPs) of OCX-32 gene and egg production traits in the Korean native chicken. Four Korean native chicken population (n = 181; including 46 females of Ogol, 46 females of white, 43 females of gray and 46 females of black) were used to analyze two SNPs (c.494A>C and c.267T>G) in the OCX-32 gene by PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction-Restricted Fragment Length Polymorphism). We measured egg production traits of age at first egg, first egg weight, egg production ratio and egg weight. The SNP c.494A>C was significantly associated with egg production ratio in Korean Ogol chickens ($p < 0.001$) and egg weight in Korean white chickens ($p < 0.05$). SNP c.267T>C was significantly associated with egg weight in Korean Ogol chickens ($p < 0.05$). But there was no significant association in Korean gray and black chickens. Results suggest the possibility of using molecular markers in OCX-32 gene as a tool for performance and egg production traits in Korean native chicken breeding program.

(Key words : OCX-32, SNP, Korean native chicken, egg production, PCR-RFLP)

서 론

한국 재래닭은 오랜 기간 동안 국내에서 사육되어졌지만, 생산성이 낮아 근대화 이후 외래 도입종으로 대체되면서 수가 급격히 감소되어 멸종 위기에 처했다(Lee 등, 2011). 그러한 이유로 농촌진흥청 국립축산과학원은 한국 재래닭 집단으로부터 기초계를 수집하여 고유 특성에 따른 순수계통을 육성하면서 한국 고유의 재래닭 유전 소재의 유지 보존과 이를 기초로 한 닭고기 개발 및 보급 사업을 추진하면서 품종을 유지하게 되었다.

한국 재래닭은 맛과 육질면에서 기호성은 좋으나, 발육이

늦고 체중이 가벼우며, 연간 산란 수 또한 적어 육계나 산란계로 이용하기에는 불리한 점이 많다. 또한 소규모의 농가 양계형태로 사육되어 왔기 때문에 특별한 목적으로 개량되거나 계통을 조성한 바가 없다. 한국 재래닭은 유전자원으로서의 가치를 충분히 인정받고 있지만, 산업적 활용 가치를 높이기 위해 생산 능력의 개량이 절대적으로 필요한 실정이다.

최근 분자 생물학적 기법이 다양하게 발달하면서 가축의 경제형질에 영향을 미치는 주요 유전자(Quantitative trait locus, QTL)의 특성에 관한 연구가 가속화되어 분자 육종에 의한 가축 개량이 점차 확대되고 있다(Lee 등, 2007). SNP(single nucleotide polymorphism)은 동물의 유전체상에서 약 1,000

* To whom correspondence should be addressed : sjlee@kangwon.ac.kr

개의 염기쌍 중 한 개의 빈도로 나타나는 염기 변이를 뜻하며, SNP에 의해 개체간의 형질이 다르게 나타나는 유전적 변이에 대한 관심이 높아지고 있다(Bell, 2002; Wang and Moul, 2001; Kim 등, 2013; Oh 등, 2005; Kong, 2013; Seo 등, 2013).

Ovocalyxin-32(OCX-32)은 32kDa의 단백질로 난각 형성의 마지막 단계에서 자궁 내에 높은 수준으로 존재한다(Gautron 등, 2001). OCX-32 단백질은 조류의 바깥쪽 난각을 형성하여 배아의 항균작용에 중요한 역할을 한다(Xing 등, 2007). 최근 보고에 의하면, OCX-32 유전자는 닭의 산란 특성 및 계란 특성과 연관이 있었다. OCX-32 유전자는 White Leghorn × Rhode Island Red F₂의 산란율 및 계란의 황색지수와 육반에 연관이 있었다(Uemoto 등, 2009). 또한 Fulton 등(2012)의 연구에 의하면, OCX-32 유전자는 산란 수, 난중, 시산난중과 같은 닭의 산란 특성과 난각색, 난황무게 등 계란 특성에도 연관되어 있다고 보고되었다.

따라서 본 연구에서는 닭의 산란 특성과 관련된 OCX-32 유전자를 대상으로 한국 재래닭에서 산란율 향상 및 양적 형질에 있어서 효과가 있는지 알아보기 위해 유전자형 분석과 PCR-RFLP 방법을 통해 SNP을 확인하고, 분석하여 산란 형질과의 연관성을 통계적으로 분석하였고, 이 연구를 통하여 한국 재래닭의 선발에 있어서 DNA marker의 활용 가능성을 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 공시 재료

본 연구에서 이용된 공시 재료는 농촌진흥청 국립축산과학원에서 사육 중인 검정 자료(시산일령, 시산난중, 산란율, 난중)를 보유한 한국 재래닭 집단에서 181수를 선발하여 혈액을 EDTA가 함유된 tube에 채혈하였으며, 수집된 혈액으로부터 genomic DNA를 정제하여 공시 재료로 이용하였다.

2. Genomic DNA 추출

Genomic DNA는 공시축의 혈액으로부터 G-spin™ total

DNA Extraction Mini Kit(Intron Biotechnology, Korea)으로 지침서에 따라 추출 및 정제하였다. 추출된 DNA는 PCR을 하기 위하여 분광 광도계로 260~280 nm에서 흡광도를 측정하여 농도와 순도를 확인하였다.

3. OCX-32 유전자 Primer 설계

한국 재래닭 OCX-32 유전자의 SNP 실험을 위해 기존에 보고된 Uemoto 등(2009)의 논문에서 SNP c.494A>C와 c.267T>G의 primer sequence를 Genbank(Accession No. NM_204534: c.494A>C; NM_204534: c.267T>G)에서 재차 확인하였으며, 실험에 이용된 SNP c.494A>C와 c.267T>G primer 쌍의 염기서열 정보는 Table 1에 제시한 바와 같다.

4. OCX-32 유전자의 PCR 증폭

DNA 증폭을 위한 PCR 기계는 Veriti™ Thermal Cycler (Applied Biosystems, USA)를 사용하였으며, Top DNA polymerase (Bioneer, Korea)를 사용하여 PCR을 실시하였다.

PCR을 위한 첨가물 조건으로는 Genomic DNA 50 ng, primer 0.01 μM, 0.2 mM의 dNTP, 15 mM MgCl₂/mL를 포함한 10× PCR buffer 2.0 μL가 되게 조성하였다. 반응 조건으로는 최초 94℃에서 10분간 pre-denaturation을 한 후 94℃에서 30초간 denaturation, 57.5℃에서 30초간 annealing, 72℃에서 1분간 extension을 35회 반복하였고, 최종 72℃에서 5분간 final-extension 후 PCR을 종결하였다. 증폭된 산물들은 2.0% TBE agarose gel로 UV상에서 전기영동하여 증폭여부 및 크기를 확인하였다.

5. 유전자형 분석

OCX-32 유전자 SNP c.494A>C와 c.267T>G의 절단부위를 통한 allele을 결정하기 위하여, fast digest 제한효소 *Nco*I과 *Tai*I을 사용하였다. 총량 30 μL에 제한효소를 0.5 U씩 첨가하여, 각각 37℃와 65℃에서 5분간 처리하였다. 유전자형을 결정하기 위해 2.0% agarose gel로 전기영동을 실시하였다.

6. 통계 분석

Table 1. Information on SNPs markers used in the this study

SNP	Primer sequences (5'→3')	Product size (bp)	Annealing temp. (°C)	Enzyme
c.494A>C	F: TGTTTCTGATGAAGAGCCAGA R: CTTTGCCACTCTGTAGGCTGT	250	57.5	<i>Nco</i> I
c.267T>C	F: GCCCACTGGTCAGAAAAGAA R: CCTGCAGAGGAAAAGAGCTG	405	53.8	<i>Tai</i> I

산란 형질과 관련된 성적에 대한 *OCX-32* 유전자의 c.494A>C 및 c.267T>G SNP의 유전자형 분석에서 allele frequency는 Cervus Ver. 2.0 program(Marshall 등, 1998)을 이용하였다.

PCR-RFLP를 통하여 *OCX-32* 유전자 SNP c.494A>C 및 c.267T>G가 한국 재래닭의 주요 산란 형질과의 영향을 미치는 효과를 규명하기 위해 후보 유전자와 산란 형질 간의 상관관계를 SAS 9.2 Package(SAS institute, Cary, NC, USA)를 이용하여 PROC GLM 방식으로 통계 분석하였다. SNP 유전자형 효과의 유의성이 나타난 형질에 대해서는 Duncan's multiple range test에 의한 유전자형별 유의성 검정을 실시하였다. 통계 분석에 이용한 모형은 다음과 같다.

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

위 식에서,

Y_{ij} = 육종가 추정치

μ = 각 육종가의 평균

G_i = I 번째 SNP 유전자형의 효과

e_{ij} = 임의오차

결과 및 고찰

Ohh 등(2005)의 보고에 의하면 한국 재래닭의 270일령 산란수가 계통별로 백색 76.2개, 회색 77.2개, 흑색 73.6개이며, 산란율로 환산하면 각각 61.9%, 63.9%, 62.2%의 산란 특성을 가진다. 본 실험에서의 재래닭 계통별 산란율 평균 성적은 백색 71.0%, 회색 65.3%, 흑색 67.0%로 선행 연구된 보고에 비해 비교적 높은 성적을 가지는 것으로 확인되었다.

OCX-32 유전자의 c.494A>C 및 c.267T>G SNP를 분석하기 위해 실험에 사용된 개체별 한국 재래닭의 산란형질 자료인 시산일령(the age at first egg), 시산난중(first egg weight), 산란율(egg production ratio) 그리고 난중(egg weight)의 네 가지 항목에 대한 정보를 이용하여 *OCX-32* 유전자의 두 SNP와의 연관성을 분석하는데 참고하였다(Table 2). 유전자형을 알아보기 위해 PCR-RFLP 방법을 이용하여 각 절편으로 절단하여 개체별 유전자형 차이를 확인하였다. 제한효소 *NcoI*은 c.494A>C 돌연변이가 일어나는 특정 서열을 인식하게 되어 각각의 절편으로 잘라지게 되며, 절편의 길이는 AA genotype이 250 bp, AC genotype은 250 bp, 194 bp, 56 bp로 나누어지며, CC genotype은 194 bp, 56 bp로 나누어지게 된다. 또한 제한효소 *TaiI*은 c.267T>G 돌연변이의 특정 서열을 인식하여 TT genotype 238 bp, 167 bp로, TG genotype은

238 bp, 167 bp, 150 bp, 17 bp로, GG genotype은 238 bp, 150 bp, 17 bp로 나누어진다.

전기 영동 결과로 한국 재래닭 *OCX-32* 유전자의 두 SNP genotype을 결정하여 유전자형 출현 빈도를 분석하였다(Table 3). 오골계의 c.494A>C genotype 빈도는 AA형 6.5%, AC 67.4%, CC 26.1%로 AC 유전자형이 가장 높은 빈도를 나타냈으며, c.267T>G genotype 빈도는 TT 93.5%로 가장 높은 빈도를 나타냈다. 백색 재래닭의 c.494A>C genotype 빈도는 높은 순서대로 AA 52.2%, AC 39.1%, CC 8.7%이며, c.267T>G genotype 빈도는 TT 54.3%, GG 32.6%, TG 13.1%로 나타났다. c.494A>C genotype의 빈도는 오골계와 흑색 재래닭이 유사한 패턴을 보였지만, 백색 재래닭의 경우, 대조적으로 AA 유전자형의 빈도가 높게 관측되었다. c.267T>G genotype의 빈도는 오골계와 백색 재래닭에서 TT 유전자형이 가장 높게 관측된 반면, 회색과 흑색 재래닭에서는 GG genotype이 가장 높게 관측되었다. 이러한 집단별 유전자형 빈도 차이는 재래닭의 교배 방법에 의해 계통 간 차이가 있는 것으로 사료된다.

한국 재래닭 *OCX-32* 유전자의 c.494A>C 및 c.267T>G SNP이 산란 형질에 영향을 주는지 알아보기 위하여 산란 형질 자료와 PCR-RFLP 방법으로 분석한 genotype 자료를 이용하여 SAS 9.2 Package(SAS Institute, Cary, NC, USA)로 통계 분석하였다.

분석에 이용된 181수의 한국 재래닭 중 오골계의 c.494A>C와 산란율(EPR)은 CC genotype과 AC genotype이 평균 75.0%와 75.8%로 높게 관측된 반면, AA genotype은 48.5%로 낮게 나타났다($p < 0.001$). 백색 재래닭의 c.494A>C SNP과 난중(EW)은 CC genotype이 52.0g으로 다른 유전자형들에 비해 높게 나타났으며, AC 51.2 g, AA 48.1 g 순으로 유의적인 상관관계가 나타났다($p < 0.05$). 또한 오골계의 *OCX-32* c.267T>G SNP와 난중(EW)은 TT genotype이 53.3 g으로 가장 높았으며, TG(52.3 g), GG(47.2 g) 순으로 유의적인 차이가 나타났다($p < 0.05$). 오골계를 제외한 한국 재래닭의 산란율과 *OCX-32* 유전자 내 c.494A>C SNP 간의 유의적인 차이는 나타나지 않았지만, 대체로 산란율 평균치는 CC형보다 AA형이 높은 수치를 보이는 것을 확인하였다. 이는 오골계와 상반되는 결과로써 오골계의 종 특이적인 선발 마커로 이용할 수 있는 가치가 높을 것으로 사료된다.

*OCX-32*는 닭의 난각 형성에 중요한 역할을 수행하는 단백질로 알려져 있다. Mikšlík 등(2007)의 보고에 의하면, *OCX-32*는 난각의 큐티클층에서 발견되었다. *OCX-32* 유전자는 닭의 9번 염색체의 약 21.4 Mbp 위치에 존재하고 있으며, 6개

Table 2. Association between SNPs of ovocalyxin-32 (*OCX-32*) gene and egg production traits in Korean native chicken

strain	SNP	Genotype	Trait ¹			
			AFE(days)	WFE(g)	EW(g) ²	EPR(%)
Ogol	c.494A>C	AA	159.3±7.8	36.0±3.1	53.6±0.7	48.5±16.5 ^a
		AC	146.8±2.0	36.3±0.7	52.8±0.7	75.8±1.5 ^b
		CC	152.6±5.4	38.8±1.4	53.3±1.0	75.0±1.9 ^b
		<i>p</i> -value	NS	NS	NS	<0.001
	c.267T>G	TT	149.4±2.1	37.0±0.67	53.3±0.5 ^a	72.7±2.0
		TG	135.0	36.0	52.3 ^{ab}	70.4
		GG	150.0±12	34.0±1.0	47.2±0.6 ^b	87.9±3.8
		<i>p</i> -value	NS	NS	<0.05	NS
White	c.494A>C	AA	150.0±3.1	31.8±0.8	48.1±0.7 ^a	71.8±2.9
		AC	149.2±2.8	31.2±1.2	51.2±1.0 ^b	70.1±3.7
		CC	142.8±0.8	31.8±1.0	52.0±1.1 ^b	70.5±4.1
		<i>p</i> -value	NS	NS	<0.05	NS
	c.267T>G	TT	148.7±2.7	31.6±0.8	48.8±0.9	69.2±3.3
		TG	148.5±6.6	32.7±1.3	51.3±0.9	65.5±4.7
		GG	149.9±3.4	31.0±1.4	50.1±1.0	76.2±2.3
		<i>p</i> -value	NS	NS	NS	NS
Gray	c.494A>C	AA	144.0±11.4	32.8±1.8	47.5±0.7	65.9±2.9
		AC	144.5± 2.7	33.0±0.8	49.7±0.6	65.5±1.6
		CC	140.0	35.0	49.4	62.3
		<i>p</i> -value	NS	NS	NS	NS
	c.267T>G	TT	142.0±6.7	33.7±1.8	49.7±3.4	68.2±2.1
		TG	139.9±4.1	33.1±1.9	51.3±0.9	62.3±3.6
		GG	146.5±5.4	33.0±0.8	48.9±0.7	66.7±1.5
		<i>p</i> -value	NS	NS	NS	NS
Black	c.494A>C	AA	148.0	34.0	53.0	76.2
		AC	136.4±1.4	36.7±0.9	55.6±0.6	66.1±1.9
		CC	136.5±3.6	37.4±1.4	56.5±1.2	68.5±4.1
		<i>p</i> -value	NS	NS	NS	NS
	c.267T>G	TT	138.0±5.5	37.6±2.8	56.2±2.3	65.8±6.9
		TG	138.0±2.8	36.0±1.0	54.1±1.3	61.6±4.4
		GG	136.2±1.6	36.9±0.9	56.0±0.6	68.3±2.0
		<i>p</i> -value	NS	NS	NS	NS

¹ AFE = age at first egg; WFE = weight of first egg; EW = egg weight; EPR = egg production ratio.² Means with different letter in each row are significantly different($P<0.05$).

Table 3. Genotype frequencies of SNPs on *OCX-32* gene in Korean native chickens

Strain	No.	c.494A>C			Allele frequency		c.267T>G			Allele frequency	
		AA	AC	CC	A	C	TT	TG	GG	T	G
Ogol	46	0.065(3)	0.674(31)	0.261(12)	0.4	0.6	0.935(43)	0.022(1)	0.043(2)	0.9	0.1
White	46	0.522(24)	0.391(18)	0.087(4)	0.7	0.3	0.543(25)	0.131(6)	0.326(15)	0.6	0.4
Gray	43	0.093(4)	0.884(38)	0.023(1)	0.5	0.5	0.070(3)	0.256(11)	0.674(29)	0.2	0.8
Black	46	0.022(1)	0.695(32)	0.283(13)	0.4	0.6	0.109(5)	0.152(7)	0.739(34)	0.2	0.8

의 exon을 가진다(Gautron 등, 2001). Takahashi 등(2009)의 연구에 따르면, White Leghorn 중에서 *OCX-32* 유전자의 변이가 egg weight, short length of the egg, long length of the egg, eggshell weight, non-destructive deformation에서 계란 품질과 관련한 특성에 유의적($p<0.05$)인 영향을 미치는 것을 확인하였다. 또한, Dunn 등(2008)의 보고에 의하면, *OCX-32* 유전자의 SNP는 계란의 유두층의 두께와 연관을 확인하였다.

Uemoto 등(2009)은 White Leghorn(WL)과 Rhode Island Red(RIR) 및 WL × RIR F₂ 종의 *OCX-32* 유전자의 SNP 연구에서 c.494A>C genotype이 WL에서 AA type이 40%로 가장 높았고, RIR에서 CC type이 37.5%로 가장 높았으며, F₂ 종에서는 AA, AC, CC type이 각각 33.5%, 35.7%, 30.9%로 나타났다. c.267T>G genotype은 WL에서 TT와 TG type이 40%로 가장 높았고, RIR에서는 TG type이 43.8%로 가장 높았으며, F₂ 종에서는 TT, TG, GG type이 각각 33.5%, 35.7%, 30.9%로 나타났다. 또한 *OCX-32* 유전자 내 SNP과 경제 형질(Yellowness, Egg production ratio, frequencies of meat spot)과의 연관성을 확인하였다($p<0.05$). 하지만 한국 재래닭에서 *OCX-32* 유전자의 SNP과 산란 형질과의 연관성은 본 실험에서 처음으로 보고하는 것이다.

본 연구의 결과, *OCX-32* 유전자 내 SNP c.494A>C와 c.267T>G는 한국 재래닭의 산란형질과 연관성을 확인할 수 있었다. 하지만 집단별로 두수가 적기 때문에 추후 더욱 많은 개체군을 통한 추가적인 경제 형질과의 연관성을 찾는 연구가 기대되며, 본 연구 결과, *OCX-32* 유전자 내 SNP c.494A>C와 c.267T>G는 한국 재래닭 육종에 기초 자료로 사용될 수 있을 것으로 사료되어진다.

적 요

가금 사육 프로그램에서 경제적으로 중요한 형질에 잠재적인 후보 유전자의 식별 및 활용은 점점 더 중요해지고 있다. *Ovocalycin-32(OCX-32)* 유전자는 닭의 9번 염색체에 위

치하며, 난각을 형성하는데 중요한 역할을 한다. 본 연구의 목적은 한국 재래닭의 *OCX-32* 유전자 내 SNP의 유전자형 결정과 산란 형질과의 연관성을 분석하기 위해 수행하였다. PCR-RFLP 방법을 통해 한국 오골계 46수, 백색 46수, 회색 43수, 흑색 46수를 포함한 총 181수의 한국 재래닭 암컷 4종의 SNP를 분석하였다. 산란 형질은 시산일령, 시산난중, 산란율, 난중의 4가지 항목을 포함하여 측정하였다. *OCX-32* 유전자 내 c.494A>C SNP은 오골계의 산란율과 유의적인 차이를 나타냈으며($p<0.001$), 백색 재래닭에서는 난중과 유의적인 상관관계가 있었다($p<0.05$). c.267T>G SNP은 오골계의 난중과 유의적인 연관성이 나타났다($p<0.05$). 하지만 회색과 흑색 재래닭에서는 유의적인 상관관계가 나타나지 않았다. 본 연구 결과, 한국 재래닭의 사육 프로그램에서 산란 형질을 선발하는 마커로 사용되기까지 추후 더 많은 개체군을 통한 연구가 요구되나, *OCX-32* 유전자 내 c.494A>C와 c.267T>G의 단일염기변이가 한국 재래닭 중 오골계와 백색 재래닭에서 산란 특성에 따른 DNA 선발 마커로서 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

(색인어 : 재래닭, 산란형질, *OCX-32*, 단일염기변이)

사 사

본 연구는 GSP 중축사업단 프로젝트(PJ009925012014)와 강원대학교 학술연구조성비(120140381)에 의해 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Bell JI 2002 Single nucleotide polymorphism and disease gene mapping. *Arthritis Research* 4:S273-S278.
- Dunn IC, Joseph NT, Bain M, Edmond A, Wilson PW, Milona P, Nys Y, Gautron J, Schmutz M, Preisinger R, Waddington D 2008 Polymorphisms in eggshell organic matrix genes

- are associated with eggshell quality measurements in pedigree Rhode Island Red hens. *Anim Genet* 40:110-114.
- Fulton JE, Soller M, Lund AR, Arango J, Lipkin E 2012 Variation in the ovocalyxin-32 gene in commercial egg-laying chickens and its relationship with egg production and egg quality traits. *Anim Genet* 43:102-113.
- Gautron J, Hincke MT, Mann K, Panhéleux M, Bain M, McKee MD, Solomon SE, Nys Y 2001 Ovocalyxin-32, a novel chicken eggshell matrix protein: isolation, amino acid sequencing, cloning, and immunocytochemical localization. *J Biol Chem* 276:39243-39252.
- Kim H, Choi SY, Lee JY, Hong YH, Lee SJ 2013 Current status of study about association of SNPs on meat quantity and egg production traits in chickens: An overview. *Anim Resour Sci* 24:178-188.
- Kong HS 2013 Association of SNPs from NRAMP-1 genes with economic traits in chicken. *Agric Life Sci* 47:137-144.
- Lee JM, Song GC, Lee JY, Kim YB 2007 Analysis of single nucleotide polymorphisms of leptin gene in Hanwoo (Korean Cattle). *Anim Sci Technol* 49:295-302.
- Lee PY, Yeon SH, Ko YG, Son JK, Lee HH, Cho CY 2011 Genetic composition of Korean Native Chicken populations - National scale molecular genetic evaluation based on microsatellite markers. *Poult Sci* 38:81-87.
- Marshall TC, Slate J, Kruuk LE, Pemberton JM 1998 Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Mol Ecol* 7:639-655.
- Mikšlík I, Eckhardt A, Sedláková P, Mikulíková K 2007 Proteins of insoluble matrix of avian(*Gallus gallus*) eggshell. *Connect Tissue Res* 48:1-8.
- Oh SD, Lee JH, Hong YS, Lee SJ, Lee SG, Kong HS, Sang BD, Choi SH, Cho BW, Jeon GJ, Lee HK 2005 The +1316 T/T genotype in the exon 3 of uncoupling protein gene is associated with daily percent lay in Korean Native Chicken. *Poult Sci* 32.
- Ohh BK, Choi CH, Han SW 2005 Conservation and utilization of native fowl in Korea. In: International Symposium on Native Chicken. pp. 6-20.
- Seo JH, On JD, Choi EJ, Lim HK, Seong JY, Song KD, Lee JH, Lee HK, Kong HS, Jeon GJ, Shon YG, Choi KD 2013 Effects of SNP in TSH- β gene of chicken on economic traits. *Poult Sci* 40:115-120.
- Takahashi H, Yang D, Sasaki O, Furukawa T, Nirasawa K 2009 Mapping of quantitative trait loci affecting eggshell quality on chromosome 9 in an F₂ intercross between two chicken lines divergently selected for eggshell strength. *Anim Genet* 40:779-782.
- Uemoto Y, Suzuki C, Sato S, Sato S, Ohtake T, Sasaki O, Takahashi H, Kobayashi E 2009 Polymorphism of the ovocalyxin-32 gene and its association with egg production traits in the chicken. *Poultry Sci* 88:2512-2517.
- Xing J, Wellman-Labadie O, Gautron J, Hincke MT 2007 Recombinant eggshell ovocalyxin-32: expression, purification and biological activity of the glutathione S-transferase fusion protein. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 147:172-177.
- Wang Z, Moulton J 2001 SNPs, protein structure, and disease. *Hum Mutat* 17:263-270.

(접수: 2014. 7. 21, 수정: 2014. 8. 13, 채택: 2014. 9. 1)