



한국 재래계의 *HNF4a* 유전자 내 SNP와 성장과의 연관성 분석

양송이^{1*} · 최소영^{1*} · 홍민욱¹ · 김훈¹ · 광경록¹ · 이효정¹ · 정동기² · 손시환³ · 홍영호⁴ · 이성진^{5†}

¹강원대학교 동물생명과학대학 대학원생, ²제주대학교 생명공학부 교수,

³경남과학기술대학교 동물생명과학과 교수, ⁴중앙대학교 생명자원공학부 교수, ⁵강원대학교 동물생명과학대학 교수

Association of SNPs in the *HNF4a* Gene with Growth Performance of Korean Native Chickens

Song-Yi Yang^{1*}, So-Young Choi^{1*}, Min-Wook Hong¹, Hun Kim¹, Kyeongrok Kwak¹, Hyojeong Lee¹, Dong Kee Jeong², Sea Hwan Sohn³, Yeong Ho Hong⁴ and Sung-Jin Lee^{5†}

¹Graduate Student, College of Animal Life Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Republic of Korea

²Professor, Department of Animal Biotechnology, Jeju National University, Jeju 63243, Republic of Korea

³Professor, Department of Animal Science and Biotechnology, Gyeongnam National University of Science and Technology, Jinju 52725, Republic of Korea

⁴Professor, Department of Animal Science and Technology, Chung-Ang University, Anseong 17546, Republic of Korea

⁵Professor, College of Animal Life Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Republic of Korea

ABSTRACT The hepatocyte nuclear factor 4 alpha (*HNF4a*) gene is related to lipid transport, including abdominal fat and growth, in chickens. Interestingly, the A543G SNP within the *HNF4a* gene has previously been reported to be associated with body weight in both broilers and Korean native chickens (KNCs). However, its exact position within the *HNF4* is not yet reported. This study aimed to identify the position of the A543G SNP and to identify additional SNPs that can be used as genetic markers in KNCs. A total of 128 KNCs were used for the sequencing and analysis of these genetic associations. As a result, A543G SNP was located in intron 4 of the *HNF4a* gene; it is reported as rs731246957 in the NCBI database. Fourteen SNPs were detected in the sequenced portion of the *HNF4a* gene; three of these, rs731246957, rs736159604 and new SNP, intron 6 (249), were significantly related with growth in the chickens. In this study, the TT genotype of rs731246957, previously reported as A543G SNP, the GG genotype of rs736159604 and GT of new SNP have are highly associated with body weight from birth to 40 weeks of age in KNCs ($P < 0.01$). These results suggest that rs736159604, rs731246957 and intron 6 (249) SNPs within the *HNF4a* gene could function as growth-related markers in the selective breeding of KNCs.

(Key words: *HNF4a*, Korean native chicken, SNP, sequencing)

서론

한국 재래계는 증체율이 높지 않아 외래계에 비해 경제성은 떨어지지만 특유의 풍미와 식감을 가지고 있으며, 육계에 비해 우수한 영양 품질을 가져(Choi, 2000; Choe et al., 2010; Jeon et al., 2010; Kim et al., 2013) 자국민에게 선호도가 높다(Jayasena et al., 2013; Jayasena et al., 2014). 최근 닭 고기는 소, 돼지고기에 비해 생산품의 증가가 크며, 가격적

요인으로 인해 접근성이 좋아 소비량이 급증하는 추세이다(Nam et al., 2010).

Hepatocyte nuclear factor 4, alpha(*HNF4a*) 유전자는 사람과 닭의 20번 염색체상에 위치하며, 사람에서는 *HNF4a* 유전자의 변이가 췌장 세포의 발달과 분화에 따른 인슐린의 분비 조절, 제2형 당뇨병의 발현 등과 연관되어 있으며, 간세포 분화, 약물 및 지질 대사에 관련되어 있다(Argyrokastiris et al., 1997; Ellard et al., 2006; Lee et al., 2008; Wang et

* These authors contributed equally in this manuscript as first author.

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

al., 2008; Kim et al., 2009; Woodfint et al., 2017). 닭에서 *HNF4a* 유전자는 특정 약물에 의해 전사 조절이 가능하며, 담즙산 수치의 지속적 증가를 방지할 수 있으며(Wang et al., 2005), 또한 Ahmed 등(2015)은 배아기에 간에서 *HNF4a* 유전자의 mRNA 발현이 높은 닭의 성장이 대조구에 비해 유의적으로 빠르다고 보고하였다. Silva 등(2012, 2013)은 *HNF4a* 유전자 6번째 intron의 A543G SNP을 PCR-RFLP 방법을 통하여 분석하여 해당 SNP이 육계의 날개 발달과 지방대사에 유의적 연관성이 있다고 보고하였으며, Choi 등(2016)은 A543G SNP이 한국재래계의 산육형질에 미치는 영향에 대하여 조사하여 이 SNP가 재래계의 성장에 유의적 영향을 미친다고 보고하였다. 이와 같은 선행 연구들의 결과는 *HNF4a* 유전자가 닭의 산육형질에 유의적 영향을 미칠 가능성이 있음을 시사하였으나, *HNF4a* 유전자의 A543G SNP에 대한 정확한 위치는 보고되지 않았다.

따라서 본 연구는 기존의 A543G SNP가 한국재래계의 체중과 유의한 연관성이 있었음을 상기하며, 닭의 20번째 염색체상에서의 A543G SNP의 정확한 위치를 파악하고, 주변의 SNP를 탐색하여 체중과 관련된 유의한 추가적인 *HNF4a* 유전자 내 분자 마커를 발굴하여 재래계의 성장을 개선에 활용할 수 있는 유전정보를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

1. 공시동물

본 연구는 경남과학기술대학교 부설농장에서 사육된 국내 H사 보유의 토종 순계 5계통의 이면교잡으로 생산된 한국재래계 25개 조합 중 사육기간 체중 평균을 기준으로 상·하위 각각 5개 조합에서 128수를 공시재료로 이용하였다. 각각의 날개대정맥에서 3.0 mL의 혈액을 채취하여 EDTA tube에 보관하였고, 이후 1X SSC로 2회 세척 및 원심분리하여 혈액내의 혈구성분만 얻었으며, 이를 genomic DNA 추출에 이용하였다. 재래계의 산육형질로써 생시부터 2~4주 간격으로 40주간 생체중을 측정하였다.

2. Genomic DNA 추출

Genomic DNA를 추출하기 위해 각 공시동물의 혈구 10 μ L, 1 \times Red Blood Cell Lysis Buffer(Sigma-Aldrich, USA) 90 μ L, 1 \times SSC 100 μ L를 첨가해 혈구 회석액을 조성한 후 상온에 10분간 인큐베이팅한 뒤, 회석액을 G-spinTM Total DNA Extraction Mini Kit(Intron Biotechnology, Korea)를 이용하여 닭의 gDNA를 추출하였다. 추출된 gDNA는 NanoDrop

ND-2000(NanoDrop Technologies, USA)로 DNA의 농도와 흡광도 260/280 nm 순도를 측정하였다.

3. Primer 설계 및 합성

재래계의 체중과 유의한 연관성이 기보고된 SNP rs73124 6957을 포함하는 *HNF4a* 유전자의 6번 intron 전후의 염기서열을 분석하기 위해 Primer3 Plus program을 이용하여 염기서열 627 bp를 증폭할 수 있도록 primer를 디자인하였으며, GeneBank(Accession #NC_006107.4)에서 검토하였다. Primer sequence 및 PCR 반응조건은 Table 1에 제시하였다.

4. PCR 및 Sequencing

PCR은 DNA Engine Tetrad 2 Peltier Cycle(Bio-RAD, CA, USA)을 이용하였다. 온도 및 반응시간 조건은 Pre-denaturation을 95 $^{\circ}$ C에서 5분간 진행하였고, 이후 denaturation 95 $^{\circ}$ C 30초, annealing 58 $^{\circ}$ C 30초, extension 72 $^{\circ}$ C 1분간 35회 반복 진행하였다. Final extension을 72 $^{\circ}$ C 7분간 진행한 뒤 반응을 종료하였으며, 증폭 산물을 -20 $^{\circ}$ C에서 냉동 보관하였다. PCR 과정으로 증폭된 산물을 정제하기 위해 Multiscreen filter plate(Millipore Corp, Darmstadt, Germany)를 이용하여 증폭에 이용되지 않은 nucleotide와 primer를 제거하였다.

Sequencing BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit(Applied Biosystems, USA)를 사용하였으며, ABIPRISM 3730XL Analyzer(Applied Biosystems)를 이용해 PCR 산물의 염기서열 분석을 진행하였다.

5. 통계분석

HNF4a 유전자의 sequencing을 통해 발견된 SNP들과 체중과의 연관성을 분석하기 위하여 SAS 9.4 package(SAS Institute, USA)를 이용하여 GLM(general linear model)방법으로 통계 분석하였으며, 사후 검정은 *t*검정을 이용하여 유의수준 $P < 0.05$ 범위 내에서 실시하였다.

Table 1. Sequence of primers and annealing temperature for the PCR

	Primer sequences (5' to 3')	Annealing temperature	Product size
Forward	TAA GAA CAG TTT GGG CCT GA	60 $^{\circ}$ C	627 bp
Reverse	CTG GCT CAC ACT CAC ATC AA		

결과 및 고찰

사람의 20번 염색체에 위치한 *HNF4a* 유전자는 인간의 장내 항상성 및 기능성 유지에 중요한 역할을 하고, 간 특이적 유전자의 중요한 발생, 전사 인자로서 간세포의 분화 및 간에서의 약물 대사 효소를 조절한다(Argyrokastritis et al., 1997; Lee et al., 2008; Yang et al., 2014; Woodfint et al., 2017). 뿐만 아니라 *HNF4a*는 지질대사와 연관된 유전자로 Handschin 등(2005)은 *HNF4a* 유전자가 콜레스테롤 대사와 연관된 CYP7A1(cholesterol 7-hydroxylase)의 발현에 영향을 미친다고 보고하였으며, Kwon 등(2016)은 이 유전자의 메틸화 수준이 비만을 예측할 수 있는 지표로 활용할 수 있다고 보고하였다. 이와 같이 사람에서 *HNF4a* 유전자의 연구는 다수 이루어졌지만, 닭과의 연관성 연구는 미흡한 수준이다. 닭에서의 *HNF4a* 유전자 연구 중 Ahmed 등(2015)은 느리게 성장하는 닭의 배아보다 빠르게 성장하는 닭 배아의 간에서 *HNF4a* 유전자의 mRNA 발현이 유의적으로 높음을 확인하였지만, 어떠한 기작이 성장에 영향을 미치는지를 밝혀내지는 못했다.

Silva 등(2012)은 *HNF4a* 유전자가 사람의 지질대사를 조절함에 착안하여 육계의 지방대사와 연관된 마커의 확인을 위해 닭의 20번 염색체에 위치한 *HNF4a* 유전자의 intron 6 상에 위치한 SNP를 PCR-RFLP를 이용하여 분석하였고, 해당 SNP의 이름을 A543G라고 명시하였다. 이 선행논문은 *HNF4a* 유전자 내 intron 6에 위치한 SNP A543G가 외래육계의 날개성장 및 복부 지방에 유의적 연관성이 있음을 밝혀냈다. 또한 Choi 등(2016)은 한국 재래계에서 *HNF4a* 유전자의 A543G SNP를 대상으로 생시체중에서 40주령 체중까지 유의적 연관성이 있음을 보고하여 *HNF4a* 유전자가 한국 재래계에서 체중과 관련된 후보 유전자로서 작용할 수 있음

을 시사하였다. 하지만 Silva 등(2012, 2013)은 729 bp의 PCR 증폭 산물의 크기와 제한효소에 관한 정보만 제공하였고, A543G SNP에 대한 정확한 위치를 명시하지 않았다. 이후 한국재래계를 대상으로 한 Choi 등(2016)의 실험에서는 전기영동결과와 NCBI database의 유전정보를 기반으로 하여 729 bp의 증폭산물의 크기와 제한효소에 의해 나타난 절편의 길이를 제공하였다(185 bp, 544 bp). 하지만 PCR-RFLP 실험방법의 한계로 유전자마커의 정확한 위치를 파악하기에는 어려움이 있었다.

본 연구에서는 *HNF4a* 유전자의 부분 염기서열분석을 위해 128수의 한국재래계 DNA를 이용하였으나, 17개의 시료가 PCR에 의해 증폭되지 않아 111개의 시료를 이용하여 분석을 진행하였다. 적색야계(Red Jungle fowl, inbred line UCD001)을 대상으로 분석된 NCBI의 데이터베이스(NC_006107.4)에 의하면 닭의 *HNF4a* 유전자상의 5,566,470~5,567,096번째 염기서열 안에 총 21개의 SNP의 존재가 보고되었다. 한편, 한국 재래계를 대상으로 동일 위치의 염기서열 분석한 결과, 한국재래계의 염기서열내에서 14개의 SNP가 존재를 확인하였다(Fig. 1, Table 2). 기존에 보고된 SNP와 비교하였을 때, NCBI상에 등록된 8개 SNP를 확인할 수 없었으며, 1개의 기보고되지 않은 새로운 SNP를 발견하였다. 이러한 닭의 동일한 유전자 위치에서 발생하는 SNP의 차이는 한국 재래계와 외래계간의 유전적 차이에 기인한 것으로 사료되며, 이는 외래계를 대상으로 기존에 조사된 유전자마커가 한국재래계의 경제형질 증진에 대한 효과가 기대에 미치지 못할 수도 있는 점을 시사하는 것으로 한국재래계에 적합한 유전자마커 개발의 필요성을 역설하는 바이다.

본 연구에서 A543G SNP의 위치파악을 위해서 선행논문 에 제공된 primer 정보와 제한효소 자리를 토대로 SNP의 위

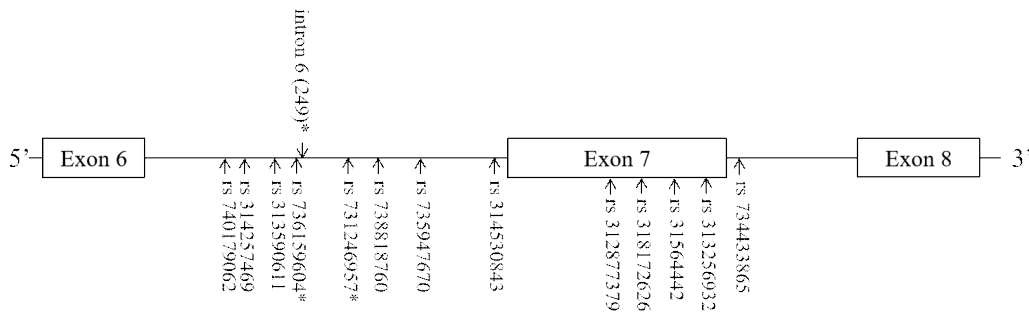


Fig. 1. SNPs were detected by sequencing in *HNF4a* gene of Korean native chickens.

* SNPs that showed to have a significant association with body weight in Korean native chickens.

Table 2. Information about SNPs detected in sequencing region of *HNF4a* gene

SNP ID	Allele	Chromosome position	Location in <i>HNF4a</i> gene
rs740179062	C/T	5,567,055	intron 6 (206)
rs314257469	C/T	5,567,041	intron 6 (220)
rs313590611	A/G	5,567,024	intron 6 (237)
rs736159604	G/A	5,567,013	intron 6 (248)
intron 6 (249) (new)	C/T	5,567,012	intron 6 (249)
rs731249757	T/C	5,566,970	intron 6 (291)
rs738818760	G/A	5,566,941	intron 6 (320)
rs735947670	A/G	5,566,854	intron 6 (407)
rs314530843	G/A	5,566,759	intron 6 (502)
rs312877379	C/T	5,566,648	exon 7 (101)
rs318172626	G/A	5,566,639	exon 7 (110)
rs31564442	G/A	5,566,627	exon 7 (121)
rs313256932	G/A	5,566,600	exon 7 (149)
rs734433865	C/T	5,566,573	intron 7 (20)

치를 추정하여 해당 부위의 염기서열을 확인한 결과, SNP의 NCBI 데이터베이스 상에서의 A543G SNP의 이름은 rs731246957이며, 위치는 5,566,970이고, 해당 SNP의 유전자형은 T와 C로 나타났다. Silva 등(2012, 2013)과 Choi 등(2016)에서 SNP의 유전자형을 A와 G로 표기한 것은 NCBI

의 *HNF4a* 유전자 염기서열 정보(NC_006107.4)가 음성가닥으로 제공되는 것에 기인한 것으로 사료되며, SNP database (db SNP)에서는 양성가닥을 기준으로 기존의 단일염기와 변이를 표현하기 때문에 T와 C로 나타난다. 따라서 A543G SNP은 닭의 20번 염색체의 5,566,970번째 염기서열에 위치하며, 해당 위치는 *HNF4a* 유전자의 intron 6의 249번째 염기 상에 위치하며, T/C로 이루어진 2가지 allele을 가지게 된다.

rs731246957 SNP는 한국재래계 내에서 TT 유전자형이 TC 및 CC 유전자형에 비해 사육 초기부터 40주령까지 증체량이 높게 나타났으며, TT형이 CC형에 비해 약 1.5배 가량 높은 체중 증가치를 보인다고 보고된 바 있다(Choi 등, 2016). 이러한 연구결과는 rs731246957 SNP가 외래육계뿐만 아니라, 한국재래계를 대상으로 한 체중관련 분자마커로서 활용될 수 있음을 시사하는 바이며, 시퀀싱을 통하여 분석한 본 연구결과에서도 선행연구와 유사한 유전자형 빈도 및 체중과의 연관성을 얻어내 선행 실험의 연구재현성을 입증할 수 있었다(Fig. 1, Table 3).

Silva 등(2012, 2013)과 Choi 등(2016)에 의해 외래육계 및 한국재래계의 육량형질과의 연관성이 보고되었던 rs731249757과 223 bp 거리에 위치한 rs736159604 SNP는 선행논문들에서 닭의 경제형질과의 어떠한 연관성도 밝혀지지 않았던 SNP로 발현 양상이 Choi 등(2016)이 한국재래계 대상의 성장형질 증진 마커로 보고하였던 rs731246957 SNP와 유사하게 나타났다(Table 3).

또한 rs736159604 SNP의 유전자형에 따라 생시체중부터 40주령 체중까지 재래계의 전체 성장기간 동안 닭의 체중에 통계적으로 유의미한 차이가 나타나는 것을 확인하였다

Table 3. Genotype frequencies of SNPs on *HNF4a* gene in Korean native chickens

SNP	Genotype frequency			Allele frequency	
	TT	TC	CC	T	C
rs734433865	0.74	0.25	0.01	0.86	0.14
rs313256932	0.66	0.31	0.04	0.81	0.19
rs31564442	0.51	0.42	0.07	0.72	0.28
rs318172626	0.74	0.23	0.03	0.86	0.14
rs312877379	0.74	0.24	0.02	0.86	0.14

Table 3. Continued

SNP	Genotype frequency			Allele frequency	
rs314530843	GG	GA	AA	G	A
	0.49	0.35	0.16	0.66	0.34
rs735947670	AA	AG	GG	A	G
	0.82	0.16	0.02	0.90	0.10
rs738818760	GG	GA	AA	G	A
	0.74	0.23	0.03	0.86	0.14
rs731246957	TT	TC	CC	T	C
	0.57	0.17	0.26	0.65	0.35
intron 6 (249)	CC	CT	TT	C	T
	0.95	0.05	-	0.97	0.03
rs736159604	GG	GA	AA	G	A
	0.57	0.17	0.26	0.65	0.35
rs313590611	AA	AG	GG	A	G
	0.33	0.51	0.16	0.58	0.42
rs314257469	CC	CT	TT	C	T
	0.46	0.27	0.27	0.59	0.41
rs740179062	CC	CT	TT	C	T
	0.95	0.05	-	0.97	0.03

($P < 0.001$)(Table 4). rs736159604 SNP의 GG 유전자형 그룹의 체중이 GA, AA 유전자형 그룹에 비해 생시체중부터 40 주령 체중까지 유의하게 높은 관측치를 유지하며, 전체 사육기간 중 약 6 g에서 최대 1,700 g까지 높게 나타났다. 특히 40주령 체중에서는 GG 유전자형 그룹이 AA 유전자형 그룹보다 약 1.8배 높은 체중 관측치를 보이며, 사육기간이 길어질수록 rs736159604 SNP의 유전자형에 따른 체중이 차이가 커지는 것을 확인할 수 있었다(Table 4). 이러한 결과는 기존의 선행연구들에서 체중과의 연관성이 밝혀지지 않은 rs726159604 SNP가 기존에 연구되었던 rs731246957 SNP와 함께 한국재래계에 있어서 생시체중 및 증체와 같은 산육 특성 마커로 활용할 수 있을 것이며, 재래계의 시장 경제성을 높이기 위한 선발 및 육종에 적합한 유전자 마커로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

본 연구에서 최초로 발견한 novel SNP은 닭의 20번 염색체 상의 5,567,012 bp의 염기에 존재하며, 이는 *HNF4a* 유전자의 intron 6상의 249번째 염기에 해당한다. 따라서 신규 발견한 해당 SNP을 'intron 6(249)'라고 명명하였다. NCBI

의 데이터베이스의 reference 종으로 제시된 적색야계에 존재하지 않는다. 새로 발견된 SNP는 발현 빈도가 낮고 실험에 사용된 계군내에서는 hetero형(GT)만 확인되었으나(Table 3), 두 개의 유전자형간의 통계적인 유의미함을 확인할 수 있었다(Fig. 2). 이러한 새로운 SNP에 대한 정보는 한국재래계의 유전적 기초 자료로서의 의미를 가지며, 보다 많은 실험 개체를 추가하여 후속실험을 진행할 필요가 있다고 사료된다.

결론적으로 *HNF4a* 유전자는 한국재래계의 성장과 연관된 후보유전자로써 rs731246957과 rs736159604 SNP, 새로이 발견된 SNP인 intron 6(249)의 특정 유전자형이 재래계의 생시체중 및 주차별 체중에 유의적 연관성을 보인 바, 한국재래계의 경제형질 개량을 위한 선발 육종에 유용한 유전적 마커로서 활용 가능할 것이며, 본 실험 결과를 적용하여 재래계의 계통 선발에 이용한다면 산육결용종으로 이용되는 한국재래계를 외래계와 같이 산란 또는 산육에 특화된 실용계 개발 및 우수한 종계 개발에 도움이 될 것이라 판단된다.

Table 4. Body weights of Korean native chickens according to genotypes of rs736159604 SNP

Genotype	Body weight (g)			
	Birth weight	2 W	4 W	6 W
GG	45.38±4.97 ^a	199.52±31.40 ^a	461.86±74.04 ^a	835.49±139.94 ^a
GA	39.36±3.25 ^b	133.47±13.65 ^b	296.47±39.69 ^b	494.37±53.00 ^b
AA	38.95±3.89 ^b	132.60±11.23 ^b	289.30±34.68 ^b	483.20±41.44 ^b
	8 W	10 W	12 W	14 W
GG	1,164.88±182.77 ^a	1,527.47±235.93 ^a	1,952.65±276.75 ^a	2,217.63±321.62 ^a
GA	688.00±66.60 ^b	938.95±68.84 ^b	1,163.26±80.68 ^b	1,280.95±93.36 ^b
AA	649.70±51.48 ^b	907.60±70.58 ^b	1,137.00±71.94 ^b	1,265.60±80.58 ^b
	16 W	18 W	20 W	24 W
GG	2,346.20±361.48 ^a	2,555.21±400.85 ^a	2,798.33±447.83 ^a	3,175.31±448.04 ^a
GA	1,404.21±116.64 ^b	1,533.00±115.71 ^b	1,536.32±217.82 ^b	1,876.37±198.69 ^b
AA	1,403.30±128.75 ^b	1,503.60±117.69 ^b	1,549.30±126.51 ^b	1,849.90±148.59 ^b
	28 W	32 W	36 W	40 W
GG	3,235.63±427.70 ^a	3,243.39±476.47 ^a	3,303.27±521.93 ^a	3,796.73±605.96 ^a
GA	2,005.68±176.01 ^b	1,968.53±79.08 ^b	1,919.79±144.23 ^b	2,166.63±18.09 ^b
AA	1,940.50±104.13 ^b	1,910.40±76.82 ^b	1,876.40±64.00 ^b	2,071.90±31.31 ^b

Values are mean±SD.

W = Weeks.

^{a,b} Different superscripts within columns are significantly different ($P<0.01$).

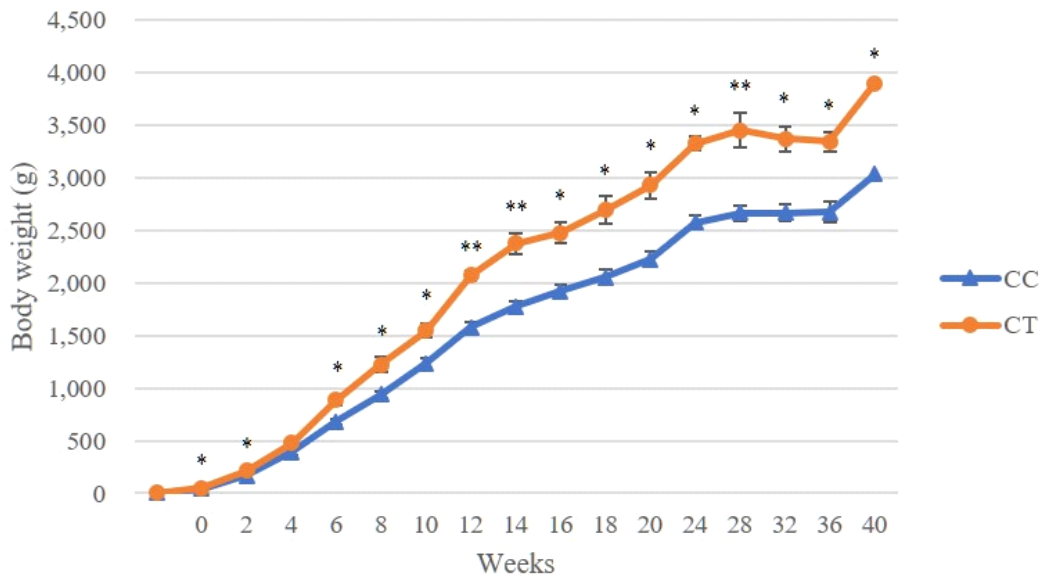


Fig. 2. Variation of mean body weight according to genotype of intron 6 (249) SNP.

* Indicates significant difference between genotypes (* $P<0.05$; ** $P<0.01$).

적 요

HNF4a 유전자는 인간의 지질 수송 및 대사에 관여하는 간 전사인자로써, 닭의 지방 축적에 관련된 잠재적 후보유전자로 선정하였다. 선행연구에서 보고된 *HNF4a* 유전자 내 A543G SNP은 외래 육계뿐만 아니라, 외래 육계와 유전적 차이를 가지는 한국 재래계의 생시체중과 생체중에 유의적 연관성을 보인 바 있으나, 해당 SNP의 정확한 위치는 보고된 바 없다. 따라서 본 연구에서는 sequencing을 통하여 A543G SNP의 정확한 위치를 파악하고, A543G SNP의 주변 부위의 한국 재래계의 산육형질에 유의적 연관성이 있는 SNP을 파악하고자 하였다. Genomic DNA는 128수의 한국 재래계의 혈액을 이용하여 추출하였으며, PCR 뒤 sequencing에 사용되었다. Sequencing 결과, 증폭범위 내에서 총 14개의 SNP가 탐색되었으며, 이 중 *HNF4a* 유전자의 intron 4 상에서 기존에 보고되지 않은 1개의 새로운 SNP를 발견하였다. 확인된 14개의 SNP 중 rs731246957과 rs736159604가 재래계의 생시체중 및 생체중에 유의적 연관성($P < 0.001$)을 보였다. rs731246957은 닭의 20번 염색체의 5,566,970번째에 위치하며, 선행논문에서 체중과의 연관성이 보고된 A543G SNP인 것으로 확인되었으며, 기존의 연구결과와 유사한 결과를 얻을 수 있었다. 반면에 선행논문에서 닭의 성장형질과의 연관성이 보고된 적 없는 rs736159604 SNP는 GG 유전자형 그룹이 GA, AA 유전자형 그룹에 비해 꾸준히 높은 체중 관측치를 보였으며, 특히 40주령의 체중은 다른 유전자형 그룹에 비해 약 1.8배 높게 관측되었다. 뿐만 아니라 신규 발견한 SNP의 T allele을 가지는 계군이 G allele을 가지는 계군보다 성장면에서 고능력을 보이는 것을 확인하였다. 따라서 본 연구결과는 한국재래계의 산육형질과 연관된 후보유전자로써 *HNF4a* 유전자의 기초정보를 제공하며, 해당 유전자내 특정 단일염기의 변이가 재래계의 체중 관련 유전자 마커로 유용하게 활용 가능할 것을 시사한다.

사 사

본 논문은 Golden Seed Project 종축사업(과제 번호: PJ0099252016)과 2017년도 강원대학교 대학회계 학술연구조성비로 수행되었습니다.

REFERENCES

Ahmed AA, Musa HH, Sifaldin AZ, Musa TH, Fedail JF

- 2015 Hepatocyte nuclear factor 4- α , glucocorticoid receptor and heat shock protein 70 mRNA expression during embryonic development in chickens. *J Anim Health Prod* 3(3):54-58.
- Argyrokastritis A, Kamakari S, Kapsetaki M, Kritis A, Talianidis I, Moschonas NK 1997 Human hepatocyte nuclear factor-4 (*hHNF-4*) gene maps to 20q12-q13. 1 between PLCG1 and D20S17. *Human Genetics* 99(2): 233-236.
- Choe JH, Nam KC, Jung S, Kim BN, Yun HJ, Jo CR 2010 Differences in the quality characteristics between commercial Korean native chickens and broilers. *Korean J Food Sci Anim Resour* 30(1):13-19.
- Choi CH 2000 Feeding and management of Korean native commercial chickens that increased the meat productivity. *Korean Poult J* 32(10):87-92.
- Choi SY, Yang SY, Hong MW, Sohn SW, Jeong DK, Hong YH, Lee SJ 2016 Effect of SNP within *HNF4a* associated with growth performance in Korean native chickens. *Ann Anim Resour Sci* 27(2):81-86.
- Ellard S, Colclough K 2006 Mutations in the genes encoding the transcription factors hepatocyte nuclear factor 1 alpha (*HNF1A*) and 4 alpha (*HNF4A*) in maturity onset diabetes of the young. *Human Mutation* 27(9):854-869.
- Handschin C, Gnerre C, Fraser DJ, Martinez-Jimenez C, Jover R, Meyer UA 2005 Species-specific mechanisms for cholesterol 7 α -hydroxylase (CYP7A1) regulation by drugs and bile acids. *Arch Biochem Biophys* 434(1):75-85.
- Jayasena DD, Jung S, Kim HJ, Bae YS, Yong HI, Lee JH, Jo C 2013 Comparison of quality traits of meat from Korean native chickens and broilers used in two different traditional Korean cuisines. *Asian-Australas J Anim Sci* 26(7):1038.
- Jayasena DD, Kim SH, Lee HJ, Jung S, Lee JH, Park HB, Jo C 2014 Comparison of the amounts of taste-related compounds in raw and cooked meats from broilers and Korean native chickens. *Poult Sci* 93(12):3163-3170.
- Jeon HJ, Choe JH, Jung YK, Kruk ZA, Lim DG, Jo CR 2010 Comparison of the chemical composition, textural characteristics, and sensory properties of North and South Korean native chickens and commercial broilers. *Korean J Food*

- Sci Anim Resour 30(2):171-178.
- Kim SW, Yoo M 2009 Association of hepatocyte nuclear factor-4 α polymorphisms with type 2 diabetes in Koreans. J Life Sci 19(3):362-365.
- Kim YS, Byun MJ, Kim JH, Suh SW, Kim H, Do YJ, Kim JD, Choi SB 2013 Comparison of reproductive ability by age in weeks and body weights of Korean native chicken cock. Ann Anim Resour Sci 24(2):97-101.
- Kwon EJ, Lee AA, You Y, Park H, Cho SJ, Ha EH, Kim YJ 2016 DNA methylations of MC4R and *HNF4a* are associated with increased triglyceride levels in cord blood of preterm infants. Medicine 95(35):e4590.
- Lee SS, Cha EY, Jung HJ, Shon JH, Kim EY, Yeo CW, Shin JG 2008 Genetic polymorphism of hepatocyte nuclear factor 4 α influences human cytochrome P450 2D6 activity. Hepatol 48(2):635-645.
- Nam KC, Jo C, Lee M 2010 Meat products and consumption culture in the East. Meat Sci 86(1):95-102.
- Pearson ER, Boj SF, Steele AM, Barrett T, Stals K, Shield JP, Hattersley AT 2007 Macrosomia and hyperinsulinaemic hypoglycaemia in patients with heterozygous mutations in the HNF4A gene. PLoS Med 4(4):e118.
- Silva VH, Pandolfi JRC, Godoy TF, Peixoto JO, Tessmann AL, Ledur MC 2012 A SNP in the hepatocyte nuclear factor 4 gene associated with carcass traits in males from a paternal broiler line. Worlds Poult Sci J, suppl. 1. GB_2012sp96_1.
- Silva VH, Pandolfi JRC, Godoy TF, Peixoto JO, Tessmann AL, Cantão ME, Ledur MC 2013 Hepatocyte nuclear factor 4 gene associated with bone traits and birth weight in male chickens. Page 27 In: Proceeding of Brazilian-International Congress of Genetics, Brazil.
- Wang S, Lan F, Huang L, Dong L, Zhu Z, Li Z, Fu J 2005 Suppression of hLRH-1 mediated by a DNA vector-based RNA interference results in cell cycle arrest and induction of apoptosis in hepatocellular carcinoma cell BEL-7402. Biochem Biophys Res Commun 333(3):917-924.
- Wang ZQ, Lu FE, Leng SH, Fang XS, Chen G, Wang ZS, Yan ZQ 2008 Facilitating effects of berberine on rat pancreatic islets through modulating hepatic nuclear factor 4 alpha expression and glucokinase activity. World J Gastroenterol 14(39):6004.
- Woodfint RM, Chen PR, Ahn J, Suh Y, Hwang S, Lee SS, Lee K 2017 Identification of the MUC2 promoter as a strong promoter for intestinal gene expression through generation of transgenic quail expressing GFP in gut epithelial cells. Int J Mol Sci 18(1):196.
- Yang Q, Tang S, Dong L, Chen Q, Liu X, Jiang J, Deng Y 2014 Transcriptional regulation of chicken cytochrome P450 2D49 basal expression by CCAAT/enhancer binding protein α and hepatocyte nuclear factor 4 α . FEBS J 281(5):1379-1392.

Received Jul. 10, 2018, Revised Oct. 19, 2018, Accepted Nov. 7, 2018