

Genetic Effects of Molecular Markers Related to Carcass Traits in Hanwoo Cattle

Sung-Chul Shin and Eui-Ryong Chung*

Department of Animal Biotechnology, College of Life Science, Sangji University, 83, Sangjidae-gil, Wonju-si, Gangwon-do 26339, Korea

Received October 15, 2019 / Revised March 2, 2020 / Accepted March 24, 2020

Carcass traits are the most economically important traits in Hanwoo (Korean cattle). Recently, the development of the field of genomics has made it possible to identify DNA markers for the genetic evaluation of carcass and meat quality traits in beef cattle. The objective of this study was to assess the genetic effects of single nucleotide polymorphism (SNP) markers related to carcass traits by field evaluations in a commercial Hanwoo population. We evaluated 15 SNP markers (*TG* g.371T>C, *APM1* g.1454G>A, *FABP4* g.2834C>G, *FABP4* g.3533T>A, *FABP4* g.3691G>A, *SCD* g.10153A>G, *SCD* g.10329T>C, *CPE* g.601T>C, *EDG1* g.166A>G, *NPY* g.4271T>C, *GPD1* g.2766C>T, *PDE1B* g.17122A>G, *PDE1B* g.17507A>C, *TNNT1* g.6650C>T, and *RORC* g.20152A>G) related to carcass traits in Hanwoo. Genotyping of these SNP markers was performed using PCR-RFLP analysis in Hanwoo steers (n = 1,536) to evaluate their association with carcass traits. Seven SNPs, *APM1* g.1454G>, *FABP4* g.3691G>A, *SCD* g.10153A>G, *CPE* g.601T>C, *PDE1B* g.17122A>G, *TNNT1* g.6650C>T, and *RORC* g.20152A>G, were significantly associated with carcass traits such as marbling score (MS), backfat thickness (BF), *musculus longissimus dorsi* area (LDA), carcass weight (CW), meat grade (MG), meat color (MC), and maturity score (MA). The results suggest that these SNPs may be used as DNA markers for the selection of Hanwoo with higher meat quality.

Key words : Carcass traits, DNA marker, genetic effect, Hanwoo, SNP

서 론

우리나라 한우산업은 경제적 부가가치가 가장 높은 동물자원으로 농가소득 및 농촌경제에 큰 영향을 미치는 기간산업이다. 한우산업의 발전과 수입쇠고기와의 경쟁력 강화를 위해서는 품질 균일화, 고급화 및 차별화 전략으로 사양관리 기술의 개선 및 사료자원의 적절한 이용도 중요하지만 근본적으로 가축육종의 원리를 적용하여 육질에 대한 유전적 개량을 통해 한우의 유전적 자질과 능력을 향상시키고 경제형질에 대한 유전적 차별화로 한우의 경제적 가치를 높이는 것이 매우 중요하다. 따라서, 한우의 경제형질과 관련된 육질 및 육량형질 등 도체형질을 보다 효율적으로 개량하기 위해서는 유전적 자질이 우수한 개체를 조기에 선발하여 육종하는 것이 무엇보다도 중요하다[6, 7].

최근 동물산업 선진국에서는 유전체 분석 연구를 통하여 도체형질과 관련된 유용유전자들에 대한 분자표지를 개발하고, 현장적용을 위한 검증과정을 거쳐 분자유종 기술로 활용

하고 있다. 특히, 육질 및 기호성에 가장 큰 영향을 미치는 근내지방도(marbling score)와 연관된 일부 유전자들의 분자표지의 경우 여러 생명공학 기업체에서 진단용 상품으로 상업적으로 시판하고 있는 실정이다. 이처럼 외국에서 개발된 분자표지들은 자국에서 사육되고 있는 시험축의 품종집단을 대상으로 충분한 농가현장적용 검증단계를 거쳐 그 유전적 효과가 입증된 것으로서, 품종이 다른 한우집단에 해당 분자표지를 직접 적용하기에는 분자표지의 유효성 및 적합성 여부가 아직 충분히 검증된 사례가 없고 한우에 직접 활용이 가능하더라도 산업재산권 등의 문제로 인해 그 사용이 극히 제한적일 수밖에 없는 실정이다. 국내에서도 그동안 한우의 육질 및 육량 등 주요 도체형질과 연관된 분자표지 개발에 관한 다양한 연구가 수행되어 왔다[1-5, 8-11, 13-18]. 그러나, 기존에 보고되어 있는 분자표지들의 경우 대부분 약 300두 이내의 소규모 국가 후대검정 한우(종모우) 집단을 대상으로 유효성이 검증된 분자표지들로서, 현재 국내 한우시장의 대부분을 차지하고 있는 거세우 집단에 대한 분자표지 유효성 검증 연구는 매우 미흡한 실정이다. 분자표지를 이용한 분자유종 기술의 현장 적용을 위해서는 대대위 상업축 한우 집단에 대한 현장 검증 연구가 반드시 필요하다.

이에 본 연구에서는 국가 후대검정 한우 집단을 대상으로 도체형질과의 연관성이 보고된 주요 분자표지들을 이용하여 대규모 상업축 한우 집단을 대상으로 이들 분자표지의 유효성을 검증하였다.

*Corresponding author

Tel : +82-33-730-0541, Fax : +82-33-730-0541

E-mail : erchung@sangji.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

재료 및 방법

공시재료

한우 도체형질 관련 주요 분자표지에 대한 현장 적용시험 및 검증을 위해 황성한우 브랜드 총 1,536두의 거세우를 대상으로 각 검정 대상 개체별 꼬리털 모근시료를 채취하여 본 연구의 공시재료로 이용하였다. 본 연구의 공시재료로 사용된 한우들은 황성축협 한우 브랜드에 소속되어 있는 총 56호의 한우 농가에서 사육된 개체들로서 비교적 동일한 형태의 사료 급여 및 사양관리를 받고 있고, 24~27개월령에 도축되어 도체형질이 평가된 개체들을 선발하여 공시재료로 사용하였다.

검정 대상 개체들에 대한 도축 후 육질 및 육량형질 관련 도체형질 측정치는 축산물품질평가원으로부터 자료를 제공받아 분자표지와 도체형질과의 연관성 통계 분석에 활용하였다.

으며, 한국축육개량협회로부터 혈통정보를 수집하여 통계 분석자료로 활용하였다.

Genomic DNA 추출 및 정제

각 검정 대상 개체별 모근 시료로부터 genomic DNA 추출 및 정제는 E-prep kit (Prepgene, Korea)를 이용하여 해당 회사에서 제공하는 추출 절차에 따라 genomic DNA를 추출 및 정제하였다. 추출된 각 개체별 genomic DNA는 농도와 순도를 측정 후 -70℃ 냉동고에 보존하고, 공시재료로 이용하였다.

한우 도체형질 관련 분자표지 선정

본 연구에서 현장 검증을 위한 한우 도체형질 관련 분자표지는 총 15종으로서 이들은 주로 국가 후대검정우 한우 집단을 대상으로 도체형질과의 연관성이 보고된 분자표지들로서

Table 1. SNP markers related to carcass traits in Hanwoo (Korean cattle)

SNP	Gene	Related trait	Reference
TG g.371T>C	Thyroglobulin	MS	Cahyadi et al. (2012)[3] Shin and Chung (2007a)[14]
APM1 g.1454G>A	Adiponectin	LDA, BF	Kwon et al. (2016)[10] Shin and Chung (2013)[18]
FABP4 g.2834C>G	Fatty acid binding protein 4, adipocyte	MS, CW	Avilés et al. (2013)[1]
FABP4 g.3533T>A			Lee et al. (2010)[11] Shin et al. (2012b)[17]
FABP4 g.3691G>A			
SCD g.10153A>G	Stearoyl-CoA desaturase	MS, BF	Kim et al. (2017)[8]
SCD g.10329T>C			Avilés et al. (2013)[1] Cho et al. [4]
CPE g.601T>C	Carboxypeptidase E	MS, BF	Shin and Chung (2007b)[15]
NPY g.4271T>C	Neuropeptide Y	MS, DG	Chung et al. (2011)[5]
EDG1 g.166A>G	Endothelial differentiation G-protein coupled receptor 1	MS, BF	Cahyadi et al. (2012)[3] Chung et al. (2010)[5]
PDE1B g.17122A>G	Phosphodiesterase 1B, calmodulin-dependent	TD, DG, CW	Shin et al. (2012a)[16]
PDE1B g.17507A>C			
RORC g.20152A>G	RAR-related orphan receptor C	MS, BF	Avilés et al. (2013)[1] Barendse et al. (2007)[2]
GPD1 g.2766C>T	Glycerol-3-phosphate dehydrogenase 1	MS, CW	Kim et al. (2016)[9]
TNNT1 g.6650C>T	Troponin T type 1	LDA, CW	Shin (2010)[13]

CW: carcass weight, BF: backfat thickness, DG: dairy gain, LDA: musculus *longissimus dorsi* area, MS: marbling score, TD: tenderness.

이들의 선행연구 결과에 대한 SNP 정보와 관련 형질 및 참고 문헌은 Table 1에 제시하였다. 본 연구에서는 *TG* g.371T>C, *APM1* g.1454G>A, *FABP4* g.2834C>G, *FABP4* g.3533T>A, *FABP4* g.3691G>A, *SCD* g.10153A>G, *SCD* g.10329T>C, *CPE* g.601T>C, *EDG1* g.166A>G, *NPY* g.4271T>C, *GPD1* g.2766C>T, *PDE1B* g.17122A>G, *PDE1B* g.17507A>C, *TNNT1* g.6650C>T 및 *RORC* g.20152A>G 등 총 15개 분자표지를 대상으로 농가현장에서 사육 및 생산된 브랜드한우 검정 대상 개체 총 1,536두에 대한 각 분자표지별 SNP genotyping을 수행함으로써 농가 현장의 상업축 집단에서 이들 분자표지의 유효성을 확인하기 위해 검증 시험을 수행하였다.

PCR-RFLP 분석을 통한 분자표지의 SNP genotyping

각 검정대상 개체별 분자표지의 SNP genotyping을 위해

PCR-RFLP (restriction enzyme fragment length polymorphism) 기법을 이용하여 SNP marker를 분석하였다. Primer 3 software program (<http://www.bioneer.co.kr/tools/>)을 이용하여 Table 2에 제시한 primer를 설계 및 합성하고, PCR 증폭반응을 통해 각 분자표지의 DNA 단편을 검출하였다. PCR 증폭을 위한 반응액 조성은 genomic DNA 약 50 ng에 F, R-primer 각 10 pmols, dNTP 0.2 mM, Tap DNA polymerase 0.5 U (Solgent, Korea), 10X buffer를 첨가하여 총 20 µl로 혼합한 후 각 증폭산물의 크기 및 annealing 온도를 고려하여 최초 94°C에서 5분 1회, 94°C에서 30초, 55~64°C에서 30초, 72°C에서 30초~1분의 조건으로 30~35회, 마지막으로 72°C에서 5분을 가열하여 PCR 증폭반응을 종료하였다. 증폭반응이 완료된 PCR 증폭 산물은 2% agarose gel에 전기영동하여 증폭 성공 여부를 판단하였다. 각 분자표지별 증폭산물에 Table 3에 제시

Table 2. Primer sequence for PCR amplification of candidate genes

SNP marker	Primer sequences (5' - 3')	Product size (bp)	Annealing temperature (°C)	GenBank accession no.
<i>TG</i> g.371T>C	F-GGGGATGACTACGAGTATGACTG R-GTGAAATCTTGTGGAGGCTGTA	545	55°C	AY615525
<i>APM1</i> g.1454G>A	F-CGCTGTTGTAAGAGGCAAAGAT R-TTGAATCAGTCGTCCTTACCCT	323	61°C	DQ156119
<i>FABP4</i> g.2834C>G	F-GCTGCTCTCATGGTTAAGATGG R-CCTTGACTTTCCTGTCATCTGG	591	55°C	
<i>FABP4</i> g.3533T>A	F-ACTGCTGCCTATAGCAAACCAT R-TACGATGCTCTGTGGGATAAT	555	60°C	NC_007312
<i>FABP4</i> g.3691G>A	F-ACCCCTATGATGCTATTCCACA R-ATACGGTTCACATTGAGAGGGA	565	55°C	
<i>SCD</i> g.10153A>G	F-GATGAAACATTCCAGTCCTTGC R-GGAGAGGGGTCATAAAACAGGT	600	55°C	AY241932
<i>SCD</i> g.10329T>C	F-TTATGACAAGACCATCAACCCC R-AGCAAGACTACCACCCAGATCA	363	55°C	
<i>CPE</i> g.601T>C	F-CCTTACTGTCTTCCCAAGTCCA R-GTCGTTCTTCTACAAAGCTGC	450	55°C	AY970663
<i>EDG1</i> g.166A>G	F-GTAAAGAAGCCACTCAGCCTCA R-GTGAATTCTCAAGACCACAGC	691	60	AC_000160
<i>NPY</i> g.4271T>C	F-CCCCAGGGTGATTCTAACATCT R-GGTGAGTGAGGACATGGTCTGT	713	58	NC_007302
<i>GPD1</i> g.2766C>T	F-CTCAGTTGGGGTAAAAGGCAC R-GAGTGATCCTGGCTTTGCTTC	699	64	
<i>PDE1B</i> g.17122A>G	F-AGCAAAAGAAAGTCAAGGGAGG R-ACACATGGGAAGCAGGAAAATA	800	55	NC_007303
<i>PDE1B</i> g.17507A>C	F-AGCAAAAGAAAGTCAAGGGAGG R-ACACATGGGAAGCAGGAAAATA	800	55	
<i>TNNT1</i> g.6650C>T	F-GGGTTATCTGGTCAAGGTGAGTT R-CTCTTCTCCCATGTGGTTCGAT	235	55	NC_007316
<i>RORC</i> g.20152A>G	F-CTCACCGAGGCCATTCAGTA R-AGTACCTTTTGTGTTTTTAC	719	55	NC_007301

한 제한효소를 각각 처리하여 DNA 단편을 절단하고, 2% agarose gel에 전기영동하여 PCR-RFLP 분석을 수행하였다. 분석이 완료된 각 분자표지에 대해 direct sequencing 분석을 수행하여 SNP 유전자형별 염기서열을 분석하여 검증을 수행하였다. Direct-sequencing 분석은 정제된 PCR 증폭산물을

forward 및 reverse primer를 각각 다른 tube에 분주하고, BigDye Ver. 3.1 sequencing kit (Applied Biosystems, USA)을 이용하여 양방향으로 direct sequencing 반응을 수행하였다. PCR 증폭산물을 ZR DNA Sequencing Clean-UP kit (ZYMO RESEARCH, Irvine, CA, USA)을 이용하여 BigDye 및 primer

Table 3. Restriction enzyme and reaction temperature for PCR-RFLP analysis of SNP markers related to economic traits in Hanwoo

SNP	Restriction enzyme	Reaction temp. (°C)	SNP marker	
			genotype	DNA fragment size (bp)
TG g.371T>C	<i>Mbo I</i> ↓GATC	37°C	TT	72, 195, 278
			TC	17, 72, 178, 195, 278
			CC	17, 72, 178, 278
APM1 g.1454G>A	<i>Pas I</i> CC↓CWGGG	55°C	GG	105, 218
			GA	105, 218, 323
			AA	323
FABP4 g.2834C>G	<i>Hpy188 I</i> TCN↓GA	37°C	CC	3, 86, 131, 372
			CG	3, 86, 98, 131, 274, 372
			GG	3, 86, 98, 131, 274
FABP4 g.3533T>A	<i>Csp6 I</i> G↓TAC	37°C	TT	86, 469
			TA	86, 469, 555
			AA	555
FABP4 g.3691G>A	<i>NlaIII</i> CATG↓	37°C	GG	31, 71, 463
			GA	31, 71, 230, 233, 463
			AA	31, 71, 230, 233
SCD g.10153A>G	<i>Nco I</i> C↓CATGG	37°C	AA	284, 316
			AG	284, 316, 600
			GG	600
SCD g.10329T>C	<i>Aci I</i> C↓CGC	37°C	TT	53, 310
			TC	53, 310, 363
CPE g.601T>C	<i>BspH I</i> T↓CATGA	37°C	TT	143, 307
			TC	143, 307, 450
			CC	450
EDG1 g.166A>G	<i>MlsI (Msc I)</i> 5'-TGG↓CCA-3'	37°C	AA	79, 612
			AG	79, 612, 691
			GG	691
NPY g.4271T>C	<i>Hinf I</i> 5'-G↓ANTC-3'	37°C	TT	10, 295, 406
			TC	10, 295, 406, 701
			CC	10, 701
GPD1 g.2766C>T	<i>BsuRI (HaeIII)</i> 5'..GG↓CC..3'	37°C	CC	61, 62, 74, 106, 396
			CT	61, 62, 74, 106, 396, 457
			TT	62, 74, 106, 457
PDE1B g.17122A>G	<i>Mbi I (BsrBI)</i> 5'-GAG↓CGG-3'	55°C	GG	62, 130, 133, 475
			AG	62, 130, 133, 263, 475
			AA	62, 263, 475
PDE1B g.17507A>C	<i>Kpn2 I</i> 5'-T↓CCGGA-3'	55°C	CC	231, 282, 287
			AC	231, 282, 287, 518
			AA	282, 518
TNNT1 g.6650C>T	<i>Bsp1286 I</i> 5'-GDGCH↓C-3'	37°C	CC	117, 118
			CT	117, 118, 235
			TT	235
RORC g.20152A>G	<i>Hinf I</i> 5'-G↓ANTC-3'	37°C	GG	186, 211, 322
			AG	186, 211, 322, 508
			AA	211, 508

를 제거한 다음 70% ethanol로 세척하여 sequencing 반응물을 정제하였다. 그 다음 10 µl의 formamide로 반응물을 현탁하고, 95°C에서 2분간 변성 및 급속 냉각 과정을 거쳐 ABI 3130xl DNA analyzer (Applied Biosystems, USA)을 이용하여 염기 서열을 분석하여 각 분자표지별 SNP 유전자형을 결정하였다.

한우 경제형질과 분자표지와의 연관성 분석

형성한우 브랜드 한우를 대상으로 선발된 시험축군 총 1,536두의 도체형질별 성적측정 자료와 도체형질 관련 분자표지와의 연관성 분석을 수행하였다. 각 분자표지별 대립유전자 및 유전자형 출현빈도를 분석하고, SNP 유전자형에 대한 이형접합체율(He)과 다형정보량(PIC)을 분석하여 각 분자표지별 유전적 다형성을 비교 분석하였다. 또한, 각 분자표지별 χ^2 통계검정을 수행하여 검정 집단에 대한 하디-와인버그 평형 여부를

를 분석하고, 최종적으로 SNP 유전자형과 한우 도체형질 표현형 측정치와의 연관성 분석을 통해 분자표지의 유효성을 검증하였다. 각 SNP 유전자형과 한우 육량 및 육질형질 관련 도체 성적 표현형 측정치와의 통계분석은 SAS 9.2 Package/PC를 이용하여 아래에 제시한 통계 모형으로 ANOCVA (analysis of covariance, 공분산분석)을 수행하였다.

$$Y_{ijkl} = \mu + S_i + YS_j + P_k + G_l + e_{ijkl}$$

여기에서, Y_{ijkl} 는 도체형질에 대한 표현형 관측치, μ 는 전체 평균, S_i 는 종모우에 대한 임의효과, YS_j 는 분만 년도 및 계절에 대한 고정효과, P_k 는 분만 장소에 대한 고정효과, G_l 은 SNP genotype 효과를 나타낸다. 각 분자표지별로 SNP 유전자형 효과의 유의성이 나타난 형질들에 대해서는 던컨의 다중검정을 수행하여 유전자형별 유의성을 검정하였다.

Table 4. Frequencies of genotype and allele for the SNP markers (n=1,536)

DNA marker	Frequencies (%)			He	PIC	χ^2 test			
	SNP genotype					Allele		χ^2	p-value
TG g.371T>C	TT 5.8	TC 40.9	CC 53.3	T 26.2	C 73.8	0.545	0.447	2.57	0.276
APM1 g.1454G>A	GG 43.6	GA 50.0	AA 6.4	G 68.6	A 31.4	0.555	0.457	20.50	0.000
FABP4 g.2834C>G	CC 34.2	CG 50.0	GG 15.8	C 59.2	G 40.8	0.608	0.531	0.92	0.628
FABP4 g.3533T>A	TT 17.3	TA 49.4	AA 33.3	T 42.1	A 57.9	0.615	0.539	0.17	0.915
FABP4 g.3691G>A	GG 60.9	GA 36.0	AA 3.1	G 78.9	A 21.1	0.498	0.401	5.33	0.069
SCD g.10153A>G	AA 10.9	AG 58.2	GG 30.9	A 39.9	G 60.1	0.553	0.478	36.77	0.000
SCD g.10329T>C	TT 42.3	TC 57.7	CC 0.0	T 71.0	C 29.0	0.488	0.369	28.63	0.000
CPE g.601 T>C	TT 26.9	TC 55.3	CC 17.8	T 54.6	C 45.4	0.590	0.521	10.59	0.005
GPD1 g.2766C>T	TT 22.6	TC 59.1	CC 18.3	T 52.1	C 47.9	0.566	0.503	24.87	0.000
EDG1 g.166A>G	AA 68.8	AG 29.8	GG 1.4	A 83.7	G 16.3	0.437	0.353	6.395	0.040
NPY g.4271T>C	TT 27.1	TC 58.9	CC 14.0	T 56.5	C 43.5	0.560	0.492	28.42	0.000
PDE1B g.17122A>G	AA 25.6	AG 50.2	GG 24.2	A 50.7	G 49.3	0.623	0.553	0.014	0.992
PDE1B g.17507A>C	AA 41.3	AC 42.6	CC 16.1	A 62.6	C 37.4	0.622	0.541	5.817	0.054
TNNT1 g.6650C>T	CC 33.0	CT 49.9	TT 17.1	C 58.0	T 42.0	0.612	0.537	0.443	0.801
RORC g.20152A>G	AA 6.6	AG 39.8	GG 53.6	A 26.5	G 73.5	0.549	0.455	0.325	0.849

He: heterozygosity, PIC: polymorphic information content.

결과 및 고찰

PCR-RFLP 분석을 통한 SNP genotyping

PCR-RFLP 분석기법을 이용하여 한우 도체형질 관련 총 15개 SNP에 대한 genotyping을 각각 수행하였다. PCR-RFLP 분석을 위한 제한효소 정보와 각 SNP 유전자형별 DNA 단편의 크기는 Table 3에 제시하였으며, 각 분자표지별 PCR-RFLP 분석결과와 SNP 유전자형별 sequence chromatogram은 Fig. S1~S15에 제시하였다. 각 SNP marker별 대립유전자 및 유전자형 출현빈도를 분석하고, SNP 유전자형에 대한 이형접합체율과 다형정보량을 분석하여 각 분자표지별 다형성을 비교 분석하여 Table 4에 제시하였다. 이형접합율은 최저 0.437(*EDG1* g.166A>G)에서 최대 0.623(*PDE1B* g.17122A>G)으로 나타났으며, 다형정보량은 최저 0.353(*EDG1* g.166A>G)에서 최대 0.553(*PDE1B* g.17122A>G)으로서 분석된 총 15개 SNP 좌위 모두 비교적 높고 고른 유전적 다형성 분포를 나타냈다.

한우 도체형질 관련 분자표지의 유효성 검증

각 분자표지의 SNP 유전자형과 한우 검정집단의 도체형질 측정치와의 연관성 통계 분석 결과는 Table 5에 제시하였다. *APM1* g.1454G>A 분자표지의 경우, 육질형질 가운데 육색(MC)과의 유의적 연관성이 입증되었고, 육량형질 중에서는 등지방두께(BF), 배최장근단면적(LDA), 도체중(CW), 육량지수(MI) 및 육량등급(QG) 등 모든 항목에서 유의적 연관성이 입증되었다($p < 0.01$). *FABP4* g.3691G>A 분자표지의 경우, 육질형질에서는 근내지방도(MS) 및 육질등급(MG)과의 유의적 연관성이 입증되었고, 육량형질 중에서는 도체중(CW) 및 육량지수(MI)와의 유의적 연관성이 입증되었다. 근내지방도 형질에서 GG형을 가진 개체들이 AA 및 GA형에 비해 유의적으로 높게 나타났으며, 육질등급에서도 GG형을 가진 개체들이 가장 높은 값을 나타냈다. *SCD* g.10153A>G 분자표지의 경우, 육질형질에서 근내지방도(MS), 육색(MC) 및 육질등급(MG)과의 유의적 연관성이 입증되었다. 특히, 근내지방도 및 육질등급에서 GG형을 가진 개체들이 AA형을 가진 개체들에 비해 유의적으로 높게 나타났다. *CPE* g.601T>C 분자표지의 경우, 육질형질에서 근내지방도(MS), 육색(MC) 및 육질등급(MG)과의 유의적 연관성이 입증되었으며, 육량형질 중에서는 배최장근단면적(LDA)과의 유의적 연관성이 입증되었다. 근내지방도 및 육질등급에서 CC형을 가진 개체들이 TT형을 가진 개체들에 비해 유의적으로 높게 나타났다. *PDE1B* g.17122A>G 분자표지의 경우, 육질형질에서는 근내지방도(MS) 및 육질등급(MG)과의 유의적 연관성이 입증되었고, 육량형질 중에서는 도체중(CW)과의 유의적 연관성이 입증되었다. 근내지방도 및 육질등급에서 AA형을 가진 개체들이 GG형을 가진 개체들에 비해 유의적으로 높게 나타났다. *TNNT1* g.6650C>T 분자표지의 경우, 육질형질에서는 근내지방도(MS) 및 육질등급(MG)

과의 유의적 연관성이 입증되었으며, CC형을 가진 개체들이 CT 및 TT형을 가진 개체들에 비해 유의적으로 높게 나타났다. *RORC* g.20152A>G 분자표지의 경우, 육질형질에서는 근내지방도(MS), 조직감(MA) 및 육질등급(MG)과의 유의적 연관성이 입증되었으며, 육량형질에서는 배최장근단면적(LDA) 및 도체중과 유의적 연관성이 입증되었다. 근내지방도 및 육질등급에서 CC형을 가진 개체들이 CT 및 TT형을 가진 개체들에 비해 유의적으로 높게 나타났다. 선행연구에서 국가후대검정우 검정 집단을 대상으로 유의적 연관성이 입증되었던 도체형질들과 본 연구의 현장 검정 집단을 대상으로 유의적 연관성이 입증된 형질들을 비교한 결과, *APM1* g.1454G>A [10, 18], *FABP4* g.3691G>A [17], *SCD* g.10153A>G [8], *CPE* g.601T>C [15], *PDE1B* g.17122A>G [16], *TNNT1* g.6650C>T [13] 및 *RORC* g.20152A>G [1, 2] 분자표지들의 경우, 동일한 형질에서 분자표지의 유의성이 입증되었다. 특히, *FABP4* g.3691G>A, *SCD* g.10153A>G, *CPE* g.601T>C, *PDE1B* g.17122A>G, *TNNT1* g.6650C>T 및 *RORC* g.20152A>G SNP 들은 모두 공통적으로 근내지방도 형질과 밀접하게 연관되어 있음이 확인되었다. 반면, *TG* g.371T>C, *FABP4* g.2834C>G, *FABP4* g.3533T>A, *GPD1* g.2766C>T, *EDG1* g.166A>G, *NPY* g.4271T>C 및 *PDE1B* g.17507A>C SNP에서는 어떤 형질과도 유의적 연관성이 없는 것으로 분석되었다. Lee 등(2014)[12]이 보고한 한우 도체형질 연관 분자표지의 현장 검증 연구에서 *FABP4* g.3691G>A와 *SCD* g.10153A>G 분자표지는 도체형질과의 연관성이 입증되지 않았으나, 본 연구에서는 두 분자표지 모두 공통적으로 근내지방도 형질과 육질등급과의 연관성이 있는 것으로 분석되었다. 이와 같은 결과의 차이점은 선행연구에서 사용된 현장 검정 대상 집단(총 768두)은 전국에서 출하된 임의의 한우를 대상으로 분석된 결과이고, 본 연구에서 사용된 현장 검정 대상 개체들은 대규모 횡성축협한우브랜드 상업축 한우 집단(총 1,536두)을 이용하여 분석된 결과로서 검정 대상 개체 집단의 종류와 규모의 차이에 의한 결과의 차이인 것으로 사료된다.

본 연구를 통해 한우 도체형질 관련 분자표지의 현장 유효성을 검증한 결과, *FABP4* g.3691G>A, *SCD* g.10153A>G, *CPE* g.601T>C, *PDE1B* g.17122A>G, *TNNT1* g.6650C>T 및 *RORC* g.20152A>G 등 6개 SNP들은 근내지방도 및 육질등급에서 모두 공통적으로 유의적 연관성을 갖는 것으로 분석되었다. 특히, *APM1* g.1454G>A 분자표지의 경우에는 본 연구에서 검증한 육량형질 관련 세부형질에서 모두에서 유의적 연관성이 입증되었다. 따라서, 이들 분자표지들은 국가후대검정우 검정 집단 뿐 만 아니라, 대규모 현장 검정 상업축 집단에서도 동일한 형질에서 유효성이 검증되었기 때문에 한우 육질형질 진단용 분자표지로서 활용 가능성이 매우 높을 것으로 사료된다.

Table 5. Association analysis between SNP markers and carcass traits in Hanwoo

SNP marker	Carcass trait	Least square means \pm SD of SNP genotypes			p-value		
		GG	GA	AA			
<i>APM1</i> g.1454G>A	Meat quality	MS	5.987 \pm 0.086	5.884 \pm 0.072	5.575 \pm 0.191	0.137	
		MC	4.893 \pm 0.017 ^{ab}	4.948 \pm 0.014 ^b	4.875 \pm 0.038 ^a	0.023	
		FC	2.994 \pm 0.004	3.007 \pm 0.003	3.000 \pm 0.009	0.105	
		MT	1.096 \pm 0.014	1.094 \pm 0.012	1.112 \pm 0.033	0.873	
		MA	2.048 \pm 0.012	2.067 \pm 0.010	2.087 \pm 0.027	0.297	
		MG	3.751 \pm 0.044	3.696 \pm 0.037	3.562 \pm 0.099	0.204	
	Meat quantity	BF	12.354 \pm 0.217 ^a	12.625 \pm 0.181 ^a	14.187 \pm 0.482 ^b	0.002	
		EMA	89.210 \pm 0.484 ^b	91.287 \pm 0.405 ^{ab}	92.275 \pm 1.076 ^a	0.001	
		CW	427.906 \pm 3.410 ^b	429.015 \pm 2.019 ^b	449.812 \pm 5.356 ^a	0.0007	
		MI	65.015 \pm 0.163 ^a	65.089 \pm 0.137 ^a	63.742 \pm 0.363 ^b	0.002	
		QG	2.098 \pm 0.030 ^a	2.078 \pm 0.025 ^a	1.862 \pm 0.668 ^b	0.006	
		<i>FABP4</i> g.3691G>A	Meat quality	MS	6.018 \pm 0.067 ^a	5.703 \pm 0.090 ^b	5.688 \pm 0.253 ^b
	MC			4.917 \pm 0.013	4.926 \pm 0.018	5.000 \pm 0.051	0.299
	FC			3.003 \pm 0.003	3.000 \pm 0.004	3.000 \pm 0.013	0.856
MT	1.086 \pm 0.011			1.121 \pm 0.015	0.066 \pm 0.044	0.147	
MA	2.051 \pm 0.009			2.081 \pm 0.012	2.044 \pm 0.036	0.150	
MG	3.764 \pm 0.035 ^S			3.612 \pm 0.047 ^{ab}	3.577 \pm 0.132 ^B	0.022	
Meat quantity	BF		12.445 \pm 0.170	12.878 \pm 0.229	13.644 \pm 0.645	0.091	
	EMA		90.637 \pm 0.381	90.259 \pm 0.514	91.822 \pm 1.422	0.563	
	CW		427.566 \pm 1.895 ^b	432.677 \pm 2.552 ^b	447.355 \pm 7.160 ^a	0.013	
	MI		65.152 \pm 0.128 ^a	64.710 \pm 0.173 ^b	64.087 \pm 0.485 ^b	0.022	
	QG		2.099 \pm 0.024	2.019 \pm 0.032	2.022 \pm 0.091	0.125	
	<i>SCD</i> g.10153A>G		Meat quality	MS	5.626 \pm 0.135 ^b	5.863 \pm 0.070 ^{ab}	6.101 \pm 0.097 ^a
MC				4.873 \pm 0.027 ^b	4.946 \pm 0.014 ^a	4.908 \pm 0.019 ^{ab}	0.041
FC				2.993 \pm 0.006	3.000 \pm 0.003	3.009 \pm 0.005	0.125
MT		1.145 \pm 0.023 ^a		1.097 \pm 0.01 ^{ab}	1.078 \pm 0.016 ^b	0.039	
MA		2.056 \pm 0.019		2.062 \pm 0.010	2.062 \pm 0.013	0.968	
MG		3.575 \pm 0.070 ^b		3.684 \pm 0.037 ^{ab}	3.810 \pm 0.050 ^a	0.019	
Meat quantity		BF	13.221 \pm 0.344	12.561 \pm 0.180	12.503 \pm 0.247	0.188	
		EMA	90.544 \pm 0.770	90.519 \pm 0.403	90.643 \pm 0.553	0.983	
		CW	436.601 \pm 3.830	428.724 \pm 2.004	429.542 \pm 2.752	0.184	
		MI	64.438 \pm 0.259	65.036 \pm 0.135	65.069 \pm 0.186	0.095	
		QG	1.955 \pm 0.048	3.088 \pm 0.025	2.091 \pm 0.034	0.062	
		<i>CPE</i> g.601T>C	Meat quality	MS	5.664 \pm 0.121 ^b	5.886 \pm 0.066 ^{ab}	6.170 \pm 0.122 ^a
MC				4.949 \pm 0.024	4.930 \pm 0.013	4.875 \pm 0.024	0.079
FC				3.010 \pm 0.006	3.001 \pm 0.003	2.994 \pm 0.006	0.221
MT	1.106 \pm 0.021			1.099 \pm 0.011	1.077 \pm 0.021	0.581	
MA	2.045 \pm 0.017			2.062 \pm 0.009	2.072 \pm 0.017	0.537	
MG	3.593 \pm 0.063 ^b			3.698 \pm 0.034 ^{ab}	3.839 \pm 0.064 ^a	0.023	
Meat quantity	BF		12.598 \pm 0.308	12.617 \pm 0.169	12.782 \pm 0.312	0.886	
	EMA		89.015 \pm 0.687 ^b	91.147 \pm 0.378 ^a	90.155 \pm 0.694 ^{ab}	0.020	
	CW		433.822 \pm 3.430	430.529 \pm 1.887	425.176 \pm 3.466	0.197	
	MI		64.695 \pm 0.232	65.040 \pm 0.128	64.936 \pm 0.235	0.430	
	QG		2.055 \pm 0.043	2.061 \pm 0.024	2.108 \pm 0.044	0.606	

Table 5. Continued

SNP marker	Carcass trait	Least square means ± SD of SNP genotypes			p-value		
		AA	AG	GG			
PDE1B g.17122A>G	Meat quality	MS	6.123±0.101 ^a	5.816±0.078 ^{ab}	5.660±0.133 ^b	0.010	
		MC	4.916±0.020	4.922±0.016	4.918±0.027	0.972	
		FC	3.000±0.004	3.004±0.003	3.006±0.005	0.645	
		MT	1.072±0.017	1.103±0.013	1.113±0.023	0.278	
		MA	2.058±0.015	2.058±0.011	2.094±0.019	0.256	
		MG	3.832±0.053 ^a	3.655±0.040 ^{ab}	3.578±0.070 ^b	0.005	
	Meat quantity	BF	12.621±0.264	12.782±0.203	13.037±0.347	0.635	
		EMA	91.407±0.583	89.918±0.448	90.654±0.766	0.126	
		CW	433.661±2.922 ^{ab}	436.659±2.249 ^b	441.748±3.843 ^a	0.002	
		MI	64.996±0.198	64.869±0.153	64.444±0.261	0.230	
		QG	2.069±0.037	2.049±0.028	2.012±0.049	0.659	
		TNNT1 g.6650C>T	Meat quality	MS	6.154±0.097 ^a	5.753±0.071 ^b	5.743±0.154 ^b
	MC			4.911±0.019	4.919±0.014	4.983±0.031	0.131
	FC			2.993±0.005	3.007±0.003	3.000±0.008	0.098
MT	1.065±0.016			1.105±0.012	1.132±0.026	0.061	
MA	2.049±0.014			2.064±0.010	2.090±0.022	0.288	
MG	3.828±0.051 ^a			3.639±0.037 ^b	3.636±0.080 ^b	0.008	
Meat quantity	BF		12.500±0.250	12758±0.184	12793±0.397	0.677	
	EMA		90.065±0.550	90.558±0.405	91462±0.971	0.394	
	CW		425.582±2.764	433.298±2.036	430.818±4.381	0.080	
	MI		65.091±0.187	64.808±0.138	64.963±0.297	0.473	
	QG		2.065±0.035	2.050±0.025	2.099±0.055	0.716	
	RORC g.20152A>G		Meat quality	MS	5.725±0.237 ^{ab}	5.674±0.088 ^b	5.998±0.073 ^a
MC				4.960±0.046	4.913±0.017	4.929±0.014	0.562
FC				3.000±0.011	3.000±0.004	3.003±0.003	0.767
MT		1.156±0.042		1.116±0.015	1.083±0.013	0.101	
MA		2.019±0.035 ^b		2.089±0.013 ^a	2.053±0.010 ^b	0.042	
MG		3.607±0.124 ^{ab}		3.593±0.046 ^b	3.757±0.038 ^a	0.021	
Meat quantity		BF	13.470±0.612	12.756±0.227	12.575±0.190	0.355	
		EMA	93.980±1.348 ^a	91.715±0.501 ^{ab}	89.643±0.419 ^b	0.0003	
		CW	438.490±6.808 ^a	436.241±2.531 ^a	426.839±2.116 ^b	0.009	
		MI	64.684±0.426	64.890±0.171	64.959±1.143	0.833	
		QG	2.039±0.087	2.054±0.032	2.070±0.027	0.897	

MS, marbling score; MC, Meat color; FC, fat color; MT, Meat texture; MA, maturity score; MG, grade of Meat quality; BF, backfat thickness; LDA, musculus longissimus dorsi area; CW, carcass weight; MI, Meat quantity index; QG, grade of Meat quantity.
^{a,b} Within a row, means with different superscript letter differ (*p*<0.05).

감사의 글

이 논문은 2018년도 상지대학교 교내연구비 지원에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

References

1. Avilés, C., Polvillo, O., Peña, F., Juárez, M., Martínez, A. L. and Molina, A. 2013. Associations between *DGAT1*, *FABP4*, *LEP*, *RORC*, and *SCD1* gene polymorphisms and fat deposition in Spanish commercial beef. *J. Anim. Sci.* **91**, 4571-4577.
2. Barendse, W., Bunch, R. J., Kijas, J. W. and Thomas, M. B. 2007. The effect of genetic variation of the retinoic acid receptor-related orphan receptor C gene on fatness in cattle. *Genetics* **175**, 843-853.

3. Cahyadi, M., Maharani, D., Ryoo, S. H., Lee, S. H. and Lee, J. H. 2012. Identification of SNPs in *TG* and *EDG1* genes and their relationships with carcass traits in Korean cattle (Hanwoo). *CNU J. Agri. Sci.* **39**, 349-355.
4. Cho, Y., M., Lee, S. H., Park, E. W., Kim, N. K., Lim, D., Kim, K. H., Park, B. Y., Lee, C. S., Oh, S. J., Kim, T. H. and Yoon, D. H. 2010. Association of -867GC, -877Gdel and exon 5GT polymorphism in the stearoyl-coa desaturase gene with fatty acid composition in the muscle of Hanwoo (Korean cattle). *Kor. J. Food Sci. Anim. Res.* **4**, 655-660.
5. Chung, E. R., Shin, S. C. and Heo, J. P. 2011. Association analysis between SNP marker in Neuropeptide Y (*NPY*) gene and carcass and meat quality traits in Korean Cattle. *Kor. J. Food Sci. Anim. Res.* DOI: 10.5851/kosfa.2011.31.4.537.
6. Dekkers, J. C. M. 2004. Commercial application of marker- and gene assisted selection in livestock: Strategies and lessons. *J. Anim. Sci.* **82**, E313-E328.
7. Gutierrez-Gil, B., Wiener, P., Nute, G. R., Burton, D., Gil, J. L., Wood, J. D. and Williams, J. L. 2008. Detection of quantitative trait loci for meat quality traits in cattle. *Anim. Genet.* **39**, 51-61.
8. Kim, H. J., Sharma, A., Lee, S. H., Lee, D. H., Lim, D. J., Cho, Y. M., Yang, B. S. and Lee, S. H. 2017. Genetic association of *PLAG1*, *SCD*, *CYP7B1* and *FASN* SNPs and their effects on carcass weight, intramuscular fat and fatty acid composition in Hanwoo steers (Korean cattle). *Anim. Genet.* **48**, 251-252.
9. Kim, J. S., Bang, J. H., Shin, S. H. and Chung, E. R. 2016. Association between the single nucleotide polymorphism of glycerol-3-phosphate dehydrogenase 1 gene and meat yield and quality traits in Hanwoo (Korean Cattle). *An. Anim. Res. Sci.* **27**, 133-142.
10. Kwon, A., Srikanth, K., Lee, E., Kim, S. and Chung, H. 2016. Confirmation of genotypic effects for the bovine *APM1* gene on marbling in Hanwoo cattle. *J. Anim. Sci. Technol.* **58**, 15.
11. Lee, S. H., Van Der Werf, J. H. J., Lee, S. H., Park, E. W., Oh, S. J., Gibson, J. P. and Thompson, J. M. 2010. Genetic polymorphisms of the bovine fatty acid binding protein 4 gene are significantly associated with marbling and carcass weight in Hanwoo (Korean Cattle). *Anim. Genet.* **41**, 442-444.
12. Lee, S. H., Cho, Y. M. and Yoon, D. 2014. Validation of DNA markers for carcass traits with commercial Hanwoo population. *J. Agr. Life Sci.* **48**, 133-141.
13. Shin, S. C. 2010. Identification of differentially expressed genes between meat quality grade and DNA markers related to economic traits in Hanwoo. Ph.D. Thesis, *Sangji University, Wonju, Korea.*
14. Shin, S. C. and Chung, E. R. 2007a. Association of SNP marker in the thyroglobulin gene with carcass and meat quality traits in Korean Cattle. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* **20**, 172-177.
15. Shin, S. C. and Chung, E. R. 2007b. SNP Detection of carboxypeptidase E gene and its association with meat quality and carcass traits in Korean cattle. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* **20**, 328-333.
16. Shin, S., Heo, J., Yeo, J., Lee, C. and Chung, E. R. 2012a. Genetic association of Phosphodiesterase 1B (*PDE1B*) with carcass traits in Korean cattle. *Mol. Biol. Rep.* **39**, 4869-4874.
17. Shin, S. C., Heo, J. P. and Chung, E. R. 2012b. Genetic variants of the *FABP4* gene are associated with marbling scores and meat quality grades in Hanwoo (Korean cattle). *Mol. Biol. Rep.* **39**, 5323-5330.
18. Shin, S. C. and Chung, E. R. 2013. Novel SNPs in the bovine *ADIPOQ* and *PPARGC1A* genes are associated with carcass traits in Hanwoo (Korean cattle). *Mol. Biol. Rep.* **40**, 4651-4660.

초록 : 한우 도체형질 관련 분자표지의 유전적 효과

신성철 · 정의룡*

(상지대학교 동물생명공학과)

한우에서의 도체형질은 경제적으로 가장 중요한 형질이다. 최근 유전체학의 발달로 인해 DNA 표지인자 이용하여 소의 도체 및 육질형질을 규명하고 선발하는 방법이 주목 받고 있다. 본 연구는 한우의 도체형질 관련 분자표지의 현장 검증에 의한 유전적 효과를 평가하기 위해 수행하였다. *TG* g.371T>C, *APM1* g.1454G>A, *FABP4* g.2834C>G, *FABP4* g.3533T>A, *FABP4* g.3691G>A, *SCD* g.10153A>G, *SCD* g.10329T>C, *CPE* g.601T>C, *EDG1* g.166A>G, *NPY* g.4271T>C, *GPD1* g.2766C>T, *PDE1B* g.17122A>G, *PDE1B* g.17507A>C, *TNNT1* g.6650C>T 및 *RORC* g.20152A>G 등 총 15개의 도체형질 관련 분자표지들에 대해 대규모 상업축 한우 집단(총 1,536두)을 대상으로 SNP 유전자형 분석을 수행하고, 분자표지와 도체형질과의 연관성을 조사하였다. PCR-RFLP 분석을 통해 SNP 유전자형과 도체형질과의 연관성을 분석한 결과 *APM1* g.1454G>, *FABP4* g.3691G>A, *SCD* g.10153A>G, *CPE* g.601T>C, *PDE1B* g.17122A>G, *TNNT1* g.6650C>T 및 *RORC* g.20152A>G 등 총 7개의 SNP가 한우의 도체형질 가운데 근내 지방도, 등지방두께, 배최장근단면적, 도체중, 육질등급, 육색 및 성숙도 등과 유의적으로 연관되어 있음을 확인하였다. 본 연구 결과는 이들 SNP가 육질이 우수한 한우 선발을 위한 분자표지로 활용될 수 있음을 시사한다.