KOREAN J. FOOD SCI. ANI. RESOUR. Vol. 24. No. 1, pp. 8~14(2004)

한우의 개체 추적 검증을 위한 유전자 감식 기법 활용 연구

이학교* · 전광주 · 공홍식 · 오재돈 · 최일신 · [1]김종대 · [1]조창연 · [1]윤두학 · [2]신형두 · [3]이준헌
한경대학교 유전정보연구소, [1]축산기술연구소, [2]SNP-Genctics, [3]충남대학교 동물자원학부

Application of DNA Test for Individual Traceability in Hanwoo (Korean Cattle)

Hak-Kyo Lee*, Gwang-Joo Jeon, Hong-Sik Kong, Jae-Don Oh, Il-Shin Choi, Chong-Dae Kim[1], Chang-Youn Jo[1], Du-Hak Yoon[1], Hyoung-Doo Shin[2] and Jun-Heon Lee[3]
Genomic Informatics Center, Hankyong National University
[1]National Livestock Research Institute
[2]SNP-Genctics Ins., [3]Division of Animal Science and Resources
College of Agriculture and Life Sciences, Chungnam National University

Abstract

Identification of animals has been made with an ear tag with dummy code, and blood typing has been used for paternity and individual identification in live animals. As various genetic markers are for different cattle breeds vary, the discrete genetic markers are necessary to identify Hanwoo. A total of 740 progeny testing Hanwoo were used to identify Hanwoo specific markers. To examine traceability of individuals by using breed specific genetic codes, four animal were randomly sampled, and traced from live animals to post-slaughter processing stages. The candidate genetic makers used in the study were 16 DNA microsatellites which were identified in romosomes 1 and 14. The number of alleles of those DNA microsatellites ranged from a minimum of 3 to maximum of 12. The heterozygote frequency ranged from 0.022 to 0.824. Effective number of alleles for each DNA microsatellites were 3 to 6. Six selected candidate genetic markers were able ti trace individual cattle with an 100% confidence level.

Key words : individual identification, microsatellite DNA, traceability, DNA fingerprint, bovine meat marketing

서 론

축산물이 종래의 단백질 공급원에서 최근에는 광우병 및 악성 전염병의 빈발 및 대규모의 밀집사육에 따른 생산 환경의 다양한 오염(항생제 오용 및 각종 중금속 등의 잔류 여부) 등으로 소비자의 구입선호 요건이 가격적인 면에서 안전성을 최우선적으로 생각하는 경향이 급속히 확산되어가고 있다. 또한 축산물에서 가장 큰 비중을 차지하고 있는 한우육의 경우 수입육과의 가격차가 매우 커서 소비자에게 원산지가 명확하지 않는 수입육 및 국내산 육우(젖소 비육우)가 둔갑되어 판매되는 현상이 심각한 상황이며 이에 따라 일부 유통단계에서 한우 및 젖소 구분을 위한 유전자 표지가 제한적으로 활용되고 있으나(Kim et al., 2001) 본질적으로 원산지의 이력 정보를 완벽하게 제공하기에는 현실적으로 많은 한계를 가지고 있다. 한우육과 기타 수입육간의 구분은 물론 송아지 생산단계의 사육정보와 도축과정의 위해 요소 검사정보 등이 연계된 안전성 여부가 확인된 한우육의 정보 제공을 통한 신뢰기반이 구축되지 않는 상태에서 소비자는 정보를 알 수 없는 한우육을 외면하게 되며 고급한우 브랜드화를 통한 차별화는 매우 요원할 수밖에 없다. 이러한 상황에서 과학적이고 체계적으로 축산물의 원산지 정보를 소비자에게 전달할 수 있는 기술요소를 도입하여 축산물 유통에 새로운 모형을 정립할 필요가 있다. 일반적으로 국내외의 경우 축산물(쇠고기)의 원산지 추적은 광우병, 구제역 등의 악성 질병의 전파

* **Corresponding author** : Hak-Kyo Lee, Genomic Informatics Center, Hankyong National University, 67 Sukjong-dong, Ansung-city, Kyongi-do 456-749, Korea. Tel: 82-31-670-5332, Fax: 82-31-675-5331, E-mail: Breedlee@empal.com

를 사전에 차단하거나 사람으로의 전이를 원칙적으로 차단하기 위해 매우 중요하게 추진되고 있다. 유럽의 경우 원산지로부터 개체 식별이 된 소만이 도축되거나 이동될 수 있도록 의무적으로 이표(귀에 부착된 바코드 표식)를 달도록 제도화되어 있으며 도축 후에는 생축에서 확인된 바코드 번호가 연계되어 상품에 부착됨으로 인해 유통점에서 쇠고기의 원산지가 추적되는 시스템을 채택하고 있다(Seo et al., 2001). 그러나 일본과 한국 등에서는 외국산 쇠고기와 국내산 쇠고기의 가격차이가 매우 높아 의도적으로 도축 후에 원산지의 정보가 차단되는 한계를 가지고 있으며 유럽 등에서 조차 의도적이지 않는 경우에도 소의 개체 식별체계(귀표)의 오류 등의 원인으로 완벽한 원산지 정보가 연계가 어려움에 따라 유전자감식 기법의 도입을 통한 원산지 정보의 진위 여부 확인을 위한 제도적 추진을 검토하고 있다(Lee et al., 2003). 현재까지 가축의 개체식별체계에 활용되고 있는 생물학적 분석기법을 보면 1960년대 이후부터 우수혈통증명을 위해 친자확인 수단으로 가축의 혈액형을 개체식별방법으로 채택되어 혈통증명서에 병기하여 왔으나 개체의 유일한 식별체계로 활용하기에는 한계를 가지고 있어 최근에는 유전자수준의 염기변이에 근거를 둔 유전자 감식기법을 활용하고 있다 이를 위한 표지유전자로서 동물의 게놈해석 연구성과에 힘입어 특정유전자 내 단염기다형현상(SNPs:single nucleotide polymorphisms)을 활용한 개체식별 방법이 연구되고 있으며 현재 가장 보편적인 분석방법으로는 초위성체 DNA (MS: microsatellite genotyping)의 개체별 유전자형 발현 현상을 이용한 유전자 감식 방법이 미 연방수사국(FBI)에서 범인의 진위확인을 위한 DNA 방법으로 공식적으로 채택된 것을 기점으로 가축에서도 이러한 방법을 활용하여 생체의 개체 확인 및 친자확인을 위한 방법으로 활용하고 있다. 소의 경우 DNA 수준에서 개체 식별이 가능한 지역은 소의 품종에 따라 다양하게 나타나기 때문에 한우집단의 개체식별 체계도입을 위해서는 한우의 특이적인 유전양상에 근거한 표지유전자를 활용하여 유전자 감식 기법을 설정하는 것이 매우 중요하다. 국내에서는 한우 집단의 유전자원의 보존측면에서 품종간 유전적 다양성 분석과 아울러 젖소 친자확인용으로 이미 개발 검증되어 국제동물 유전학회(ISAG)로부터 추천된 유전자표지(초위성체 DNA:microsatellite)를 주로 활용하여 왔다 (Kim et al., 2001). 그러나 이들 유전자표지는 부분적으로 한우에서 유전자 감식방법으로 활용할 경우 유용성 및 개체 확인 정확도가 낮아질 수 있다. 또한 현재 개발된 일부의 유전자 표지를 친자확인을 위한 용도로 한정하여 사용하고 있어 좀더 유용한 유전자 표지에 의해 한우 개체 식별과 원산지 검증을 위한 유효성이 입증될 수 있도록 다양한 개체 확인 정확도를 확보할 수 있도록 한우의 개체식별을 위한 충분한 수의 유전자 표지가 개발될 필요가 있다. 따라서 본 연구는 한우집단에서 특이적으로 발현되는 초위성체 DNA의 유전자형 발현 양상을 분석하고 이들의 유용성을 확인하여 개체 확인 및 원산지 추적 검증을 위한 유전자 표지를 설정하고 이에 따른 분석 절차에 관련된 모델을 제시하고자 실시하였다.

재료 및 방법

공시재료로는 후보 유전자 표지의 광범위한 한우집단 발현특성의 분석을 위해 국가 후대검정 집단 740두(한우 개량을 위해 축산연구소에서 검정에 공시된 후대검정용 송아지)를 활용하였으며 도축되기 전 단계의 생축에서 분석된 유전자형과 도축 후 유통과정에서 분석된 유전자형을 이용한 개체 확인 여부의 검증을 위해 국내 브랜드한우 농가로부터 출하된 4두(축산진흥공사내 도축 한우)를 분석에 공시하였다. 이들 집단에서 특이적으로 발현되는 유전자 표지의 유전자형 분석을 위해 초위성체 DNA를 활용하였으며 이들의 유전자형을 얻기 위해 16종류의 대상 MS를 설정하고 이들의 유전자 표지 분석을 가능하도록 하는 유전자형 진단용 Primer를 국내 전문회사에서 주문 제작하였다(Table 1).

소 혈액 및 조직시료에서의 genomic DNA의 분리와 정제는 Miller의 방법을 준용하여 수행하였다(Miller et al., 1988).

PCR증폭 반응은 형광 염색된 microsatellites의 색상과 대립유전자의 크기별 분포 등을 고려하여 주로 multiplex PCR을 수행하였고, 일부의 microsatellites는 단일 marker로서 PCR을 수행하였다. GeneAmp 9700(Applied Biosystems)에서 각 반응액의 총량을 10 μL PCR reaction으로 하고 약 50 ng template DNA, 20 ng each primer, 1.25 mM each of dNTP, 0.5U, of Taq DNA polymerases(Promega)과 1 μL 10X PCR buffer mM(100 mM Tris-HCl, pH 8.3, 500 mM KCl, 0.01% gelatin, 0.25% nonidet P40 and 20 mM $MgCl_2$)을 이용하여 95℃에서 5분간 첫 반응을 시작하여, 94℃에서 30초, microsatellites marker에 따라 53~55℃에서 1분간, 72℃에서 1분으로 35회 반복반응을 실시하고 마지막으로 신장 반응은 72℃에서 10분간 실시하여 종료하였다. PCR 수행 후 증폭산물들을 deionized formamide, loading buffer 및 Genescan 350-TAMRA internal size standard와 잘 혼합하여, 5% polyacrylamide genaturing gel 제조한 후 ABI PRISM 377 DNA sequencer(Applied Biosystems)를 사용하였다. Genescan analysis software(version 3.1)을 이용하여 각 PCR 단편들의 크기를 3차원 최소자승법(Third order least squares method)으로 분석하였고, Genotyper analysis software(version 2.0)를 이용하여 microsatellites loci별 대립유전자들의 정확한 크기를 결정하였다. 대립 유전자형에 따라 관측

Table 1. DNA amplification primers used in the study

Primers	Primer sequence	Location on chromosome
BM6438	TTGAGCACAGACACAGACTGG ACTGAATGCCTCCTTTGTGC	1
BMS711	AGCTTCTTATGGCAACACCTG TGAAATCGCAGAGTTGTACATG	1
MCM130	AAACTTTGTGCTGTTGGGTGTATC CTCACCTCTGCCTTTCTATCTCTCT	1
BMS4032	CGGACACAACTGAGCAACTC AGATGGCCAACAAACACATG	1
BMS4049	GATCAAGTTGTCAACACACACAC TCTCATTTCTCTCCCTGTGC	1
BMS2263	AACCCAGTCAACCAGCAAAG CACCCCAGCCATCACTTC	1
URBO14	CATTGGTAGGTGGGTTCTTTCC GCAACCTAAGTGTCCATCAACAG	1
BM1508	CAGGTGTACAGCAAACTGAATC CGTCAAAACATTCGTTCAGG	1
BMS1747	TCTAAGCTCCTTGAAGACAGGC GGCTTTGTATTCCCCTCTCC	1
ILSTS011	GCTTGCTACATGGAAAGTGC CTAAAATGCAGAGCCCTACC	14
RM180	TGGCCAAGACATCTGCCATTCC GGAGTCTGGTGGGTTACAGTCC	14
BL1009	TCTGTGTCAAAGTCCTGAGGG CCTGGCATTCTGCAGTCC	14
BL1029	CAAATCAGCCTCTCCTCTTCC GTGCTTCCAGAGACAATAAAGG	14
BM4305	CCAAGACATGAAAGCAATCTG CTCTAGGTACATCCATGTTGCA	14
BMS2055	ATGCTAAGTGAAGAACAAATCATTC CTGGCAACTCTTCCTTAATACATT	14
BM6425	AGTTGAACCTGGGTCTCCTG TGCAATGGCAGTGAAAAAAG	14

된 이형질성(Observed heterozygosity) 및 대립 유전자 빈도는 MS toolkit s/w(Park et al., 2000)를 이용하였으며 분석된 MS 좌위별 집단에 대한 전체 이형질성(HT)은 Nei(1972, 1978)의 방법을 통해 SAS Package을 사용하였다.

결과 및 고찰

Table 2에 따르면 각각의 염색체별 초위성체 DNA(유전자 표지)에 대한 한우 집단에 개체별 유전자형 출현 특성을 볼 수 있다. 증폭된 각 유전자 표지 유전자형 분석에서 대립유전자는 평균 7~8개가 나타냈으며 각 표지유전자들로부터 발현되는 대립유전자의 이형 접합체율(heterozygosity)은 0.20~0.85를 보였으며 이는 한우 집단에서는 이들 표지유전자의 발현 양상이 매우 다양하다는 것을 보여주고 있다. 유전자 감식용 대상 유전자 표지로서는 0.6이상의 이형 접합율을 보이는 유전자 표지(MS)를 선발 대상으로 제안될 수 있다. 또한 개체 확인 정확도를 높이기 위해 한우 집단에서 분석된 결과를 기준으로 전체 출현되는 대립유전자중에서 유효 대립유전자가 상대적으로 많은 경우에 한우의 유전자 분석에 적합한 유전자 표지로 설정될 수 있을 것으로 생각된다. 제시된 결과(Table 2)에서 보면 약 7종(MCM130(M3), BM1508(M8), BMS1747(M9), BL1009(M12), RM180(M11), BM4305(M14), BM6425(M16))의 primer에 의해 한우 집단에서 유전자 감식을 위한 유전자 표지로 설정될 수 있을 것으로 판단된다.

Table 3에서는 각각의 유전자 표지에서 출현되는 대립유전자 종류를 나타내었다. 이는 실제 유전자감식방법을 적용하기 위해 유용한 대립유전자의 선별을 통해 multiplex PCR 수행 등 분석 효율을 높이기 위해 다양한 크기의 대립유전자가 발현되는 유전자 표지가 선정되는 것이 바람직하다. 본 연구에서 분석된 한우 집단의 경우 발현되는 대립유전자수가 최소 2종 내에서 13종까지 다양하게 발현되었다. 유전자 감식을 통해 한우 개체를 확인하기 위해서 6~7개의 대립유전자 발현될 경우 분석의 효율성 면에서 가장 바람직한 것으로 판단된다.

일반적으로 분석에 활용되는 유전자 표지마다 각각의 품종별 발현 특성을 보임에 따라(Yoon et al., 2002) 한우집단에서 원산지 추적에 따른 유전자 감식 기법의 적용을 위해 가장 적합한 유전자 표지를 설정하는 것이 중요하다. 이를 위해 본 연구에서는 발현 빈도가 5% 및 10% 이상의 대립유전자를 보이는 유전자 표지를 유효한 것으로 제시하였으며 각각의 표지 유전자를 적용하였을 때 서로 다른 개체가 우연히 동일한 유전자형을 나타낼 수 있는 확률을 추정하였다. Table 4에서 보면 발현되는 대립 유전자들이 3개부터 약 6개까지 보이는 유전자 표지가 매우 유효하게 활용될 수 있는 것으로 판단된다. 또한 유전자 감식을 위해 몇 종류의 유전자 표지를 사용할 것인가 하는 여부는 분석 비용과 분석에 소요되는 시간에 좌우됨으로 적정 개체 확인 정확도 설정을 통한 활용 유전자 표지 결정은 매우 중요하다. 본 분석에서 보면 3종(M3, M8, M9)의 유전자 표지를 설정하여 유전자 감식을 할 경우 서로 다른 개체에서 분석한 유전자형 분석 결과가 동일하게 나타날 확률은 0.05%(p=0.0005)정도로 추정된다. 원산지 여부와 관련된 보다 정밀한 검증을 위해서는 개체 확인 정확도를 더욱 높여 오류 확률을 원천적으로 0% 가까이 할 경우 본 연구에서 제시된 6~7종의 유전자 표지와 더불어 3~4개 내외의 유전자 표지가 추가로 분석될 경우 가능할 것으로 보여진다. 개체 확인 분석을 위해 동원 전 시료 740두를 검증한 결과 개체 인식 정확도를 제시하였다(Table 4).

Table 2. Characterization of 16 microsatellite loci analyzed in Hanwoo

Markers	Location on chromosome	Alleles no.[a]	Allele size(bp)		Heterozygocyte (%)	Effect allele no. [b]	
			Min.	Max.		10% <	5%<
BM6438(M1)	1	3(5)	258	268	0.022	1	1
BMS711(M2)	1	9(9)	106	124	0.641	2	4
MCM130(M3)	1	8(6)	105	127	0.768	4	5
BMS4032(M4)	1	10(11)	92	110	0.700	3	5
BMS4049(M5)	1	5(7)	92	106	0.572	2	4
BMS2263(M6)	1	8(6)	152	166	0.520	2	2
URBO14(M7)	1	6(8)	113	125	0.603	3	4
BM1508(M8)	14	7(8)	102	116	0.680	3	4
BMS1747(M9)	14	7(9)	85	97	0.702	4	5
ILSTS011(M10)	14	4(6)	266	272	0.621	3	3
RM180(M11)	14	9(10)	119	139	0.740	3	3
BL1009(M12)	14	10(9)	155	179	0.824	4	6
BL1029(M13)	14	12(16)	144	172	0.768	3	5
BM4305(M14)	14	11(10)	147	169	0.784	5	6
BMS2055(M15)	14	9(9)	149	167	0.592	3	3
BM6425(M16)	14	12(13)	165	193	0.823	4	6

[a] The number of alleles identified in different breeds. (http//www.thearkdb.org)

[b] The number of effective alleles are based on the average frequencies(5% <, and 10% <) of alleles.

Table 3. Size of alleles of 16 microsatellite loci for Hanwoo

Markers	Allele type	Size of alleles											
BM6438(M1)	2	258	268										
BMS711(M2)	9	106	108	110	112	114	116	120	122	124			
MCM130(M3)	8	105	113	115	117	119	121	123	127				
BMS4032(M4)	10	100	102	104	106	108	110	92	94	96	98		
BMS4049(M5)	5	100	102	104	106	92							
BMS2263(M6)	8	152	154	156	158	160	162	164	166				
URBO14(M7)	6	113	115	117	121	123	125						
BM1508(M8)	7	102	106	108	110	112	114	116					
BMS1747(M9)	7	85	87	89	91	93	95	97					
ILSTS01(M10)	4	266	268	270	272								
RM180(M11)	9	119	123	125	127	129	131	133	137	139			
BL1009(M12)	10	155	161	165	167	169	171	173	175	177	179		
BL1029(M13)	12	144	148	150	152	154	160	162	164	166	168	170	172
BM4305(M14)	11	147	149	151	153	155	157	159	161	163	165	169	
BMS2055(M15)	9	149	151	153	157	159	161	163	165	167			
BM6425(M16)	12	165	167	169	175	177	179	181	183	187	189	191	193

또한 실제의 원산지 소 유전자 정보와 도축 후 과정을 거친 도축 산물간의 동일성 검증을 위한 실험을 실시하였다 (Table 5). 4마리의 한우(ID-1,2,3,4)는 생축상태에서 분석된 정보를 나타내었으며 분석한 이들로부터 도축된 후 각각 개체로부터 부분육 상태로 해체된 한우 고기시료를 동일 개체당 2개의 시료로 채취였으며 이 개체와 무관한 다른 개체의 시료를 임의로 선정하여 분석한 결과를 비교하였으며 각각 개체마다 시료들 분석에 동일 여부를 검사하였다.

Table 4. Estimated incidental probabilities of same genotypes for two different animals

	Genetic marker(MS)						
	M_3	M_8	M_9	M_{11}	M_{12}	M_{14}	M_{16}
No. of alleles	8	7	7	9	10	11	12
No. of effective alleles							
(>10%)	4	3	4	3	4	3	3
(>5%)	5	4	5	3	6	5	3
Allele frequency							
(>10%)	0.22	0.29	0.24	0.29	0.13	0.18	0.20
(>5%)	0.19	0.24	0.20	0.23	0.10	0.16	0.16
Provability of individual identification[a] (All of genetic markers)	0.07 (7×10^{-2})	0.1 (7×10^{-3})	0.07 (4.9×10^{-4})	0.17 (8.3×10^{-5})	0.05 (4.2×10^{-6})	0.07 (2.9×10^{-7})	0.17 (5.0×10^{-8})

[a] Type Ⅱ error rate.

Table 5. Results of DNA tests between tissue samples at postmortem and live animals

Live animal (Tissue sample)	Genetics markers(Allele type of genotype)[a]												Result[b]
	M_3		M_8		M_9		M_{11}		M_{12}		M_{14}		
ID - 1	115	121	108	110	85	93	123	125	155	169	153	159	
(1-1)	115	121	108	110	85	93	123	125	155	169	153	159	O
(1-2)	115	121	108	110	85	93	123	125	155	169	153	159	O
(1-3)	115	121	106	110	85	95	123	123	167	169	159	159	×
ID - 2	117	119	108	112	91	95	123	129	167	173	153	161	
(2-1)	117	119	108	112	91	95	123	129	167	173	153	161	O
(2-2)	115	121	108	110	85	93	123	125	155	169	153	159	×
(2-3)	117	119	108	112	91	95	123	129	169	173	153	161	O
ID - 3	117	121	106	112	85	85	123	131	155	175	155	159	
(3-1)	115	121	108	110	85	93	123	125	155	169	153	159	×
(3-2)	117	121	106	112	85	85	123	131	155	175	155	159	O
(3-3)	117	121	106	112	85	85	123	131	155	175	155	159	O
ID - 4	115	127	108	108	85	93	123	123	167	175	159	159	
(4-1)	115	127	108	108	85	95	123	123	157	175	159	159	O
(4-2)	115	127	108	108	85	95	123	123	157	175	159	159	O
(4-3)	115	121	108	110	85	93	123	123	155	169	153	159	×

[a] 6 microsatellite, selected on the basis of effective alleles.

[b] The comparative results of the information in origin and distribution store correct(O), incorrect(×)

분석 결과에서 보면 개체별 2개의 시료는 유전자분석 결과가 서로 완벽하게 일치하고 있다는 것(O)을 보여주고 있으며 다른 하나에 대한 분석한 결과는 전혀 다른 개체임을 보였는데 생체 상태에서 분석한 결과와 다르게 나타난 것(X)을 알 수가 있다. 따라서 생체 상태의 유전자검사 결과와 DNA의 채취가 가능한 도축 후 어느 단계에서조차 분석한 유전자형 정보가 비교됨으로써 개체의 진위 여부를 확인할 수 있는 것으로 판단된다.

본 연구 결과를 통해 보면 한우 집단에서 특이적으로 발현되는 유전자 표지(일명:초위성체 DNA(microsatellite))를 통한 유전자분석 기법을 활용함으로써 개체의 생체 상에 나타나는 유전자형 관련 프로파일을 디지털정보로 전환하여 D/B로 저장할 수 있다. 또한 이러한 시스템은 국내의 브랜드 한우 등 특정 경로를 통해 유통되는 축산 물류시스템에 적용하여 원산지의 정보에 대한 검증 수단을 제공함으로서 일본 등의 축산물 안심 시스템과 유사한 기능이 수행될 수 있을 것으로 생각된다. 따라서 이러한 분석 과정은 살아 있는 소에서 혈액이나 모근(털뿌리 부분이 포함된 세포)으로부터 분석된 유전자 감식정보와 도축 후 고기 시료로부터 분석된 유전자감식 정보를 비교할 경우 동일한 개체로부터 유래된 경우에는 100% 동일한 결과를 얻게 된다. 따라서 이러한 분석시스템을 도입할 경우에 쇠고기 유통 시장에서 원산지에서 특정 유통점으로 유입된 한우고기 여부를 검증하는데 활용함으로서 기존의 한우육 여부를 검사하는 차원을 떠나 원산지의 정보를 연계시키는 수단으로서의 확보는 물론 안전성 여부를 추적시키는 검증수단으로서의 효과를 얻을 수 있다. 그러나 본 연구 결과를 통해서 보면 시료를 이동하고 분석하는 과정상의 오류 개연성과 분석 기자재마다 유전자형 분석 결과의 변이성 등의 한계를 가질 수 있어 검증 기관의 국가 차원의 표준화 및 공인 분석 가능 기관의 선정 조건이 이루어져야 공신력 있는 활용이 이루어질 수 있을 것으로 생각된다.

요 약

가축의 개체식별은 일반적으로 암호화된 코드를 부여한 이표를 활용하고 있으며 또한 생체에서 친자확인 검증을 위해 개체 혈액형 등이 활용되어 왔다. 그러나 생체 상태에서의 완벽한 개체 확인을 위한 수단으로 최근 유전자감식 기법이 널리 활용되고 있다. 이때 사용되는 유전자 표지는 소의 품종에 따라 매우 다양하게 발현되어 개체 확인 정확도를 높이기 위해 한우 집단에서 대상 유전자 표지의 유전자형 발현 양상을 분석하여 최적의 표지 유전자 표지를 설정하는 것이 필요하다. 따라서 본 연구는 한우의 원산지 추적 및 개체식별 검증 시스템에서 절절히 사용할 수 있도록 생체 유전자 감식 기법에 소요되는 유전자 표지(genetic marker)를 개발하기 위해 수행되었다. 공시재료로는 후보 유전자 표지의 광범위한 한우집단 발현특성의 분석을 위해 국가 후대검정 집단 740두를 활용하였으며 도축되기 전 단계의 생축에서 분석된 유전자형과 도축 후 유통과정에서 분석된 유전자형을 이용한 개체 확인 여부의 검증을 위해 국내 브랜드한우 농가로부터 출하된 4두를 분석에 공시하였다. 후보 유전자 표지는 염색체 1번과 14번에서 확인되어 보고된 16종의 초위성체 DNA의 염기서열 정보를 이용하였다. 한우집단에서 나타난 각각의 대상 유전자 표지의 유전자형 분석결과를 보면 대립유전자는 최소 3개에서 최대 12였으며 이형접합체 발현율은 0.022~0.824였다. 유효대립유전자수는 각각의 대상 유전자마다 3~7의 범위를 보였으며 이들 중 6개의 유전자 표지를 설정하여 개체 확인을 실시할 경우 100%에 가까운 정확도가 나타난 것으로 추정되었다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 바이오 그린 21사업의 2003년도 과제인 "한우 경제형질 QTL 탐색 및 응용기술개발"의 일환으로 수행되었다. 농촌진흥청 바이오 그린21사업단 관계자들과 시료를 제공한 축산연구소 및 한우개량사업부 관계자들에게 깊은 감사를 드리는 바입니다.

참고문헌

1. Seo, K. S., Cho, Y. M., and Lee, H. K. (2000) Development of network system for the application of HACCP in livestock production stage. *Agrolnformatics J.* **1(2),** 1-4.
2. Kim, T. H., Yoon, D. H., Park, E. W., Lee, H. Y., Oh, S. J., Cheong, I. C., Thak, T. Y., Kim, K. N., and Han, J. Y. (2000) A Study on genotype frequencies of the bovine melanocortin receptor 1(MC1R) in cattle breeds. *J. Anim. Sci. & Technol.* **42(6),** 735-744.
3. Kim, K. S., Eum, J. H., and Choi, C. B. (2001) Genetic diversity of Korean cattle using microsatellite analysis. *Anim. Sci. & Technol.* **43(5),** 599-608(in Korean).
4. Yoon, D. H. (2002) Molecular genetic diversity and development of genetic markers in association with meat quality for Hanwoo(Korean cattle), Ph.D. thesis.
5. Syvanen, A. C. (2001) Accessing genetic variation, Genotyping single nucleotide polymorphisms. *Genetics* **V(2),**

930-942.

6. Vignal, A., Milan, D., SanCrostobal, M., and Eggen, A. (2002) A review on SNP and their use in animal genetics. *Geeenet. Sel. Evol.* **34,** 275-305.
7. Fries, R. and Durstewitz, G. (2001) Digital DNA signatures: SNPs for animal tagging. *Nat. Biotechnol.* **V19(6),** 508-511.
8. Miller, S. A., Dykes, D. D., and Polesky, H. F. (1988) A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cell. *Nucleic Acids Research* **16,** 1215-1218.
9. Nei, M. (1972) Genetics distance between populations, *Am. Nat.* **106,** 283-292.
10. Nei, M. (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* **89,** 583-590.
11. SanCrostoval, M., Renald, G. and Amigues, Y. (2000) Tracabilite individuelle des viandes bovinew a l'aide de marqueurse genetiques. *INRA Prod. Anim.* **V13(4),** 269-276.
12. SAS (2002) *SAS/STAT User's guide*, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
13. 이학교 (2003) 생물공학(BT) 및 정보 공학적(IT) 기법활용을 통한 한우의 원산지 추적. 월간 한우, 45호, 86-97. (in Korean)

(2004. 1. 6. 접수 ; 2004. 3. 10. 채택)