

초위성체를 이용한 한국 재래닭의 원산지 추적 및 개체 식별 방법에 관한 연구*

박 미 현** · 오 재 돈** · 전 광 주** · 공 홍 식*** · 상 병 돈**** ·
최 철 환**** · 연 성 흠**** · 조 병 옥***** · 이 학 교*****

Method Discrimination for Product Traceability and Identification of Korean Native Chicken using Microsatellite DNA

Park, Mi-Hyun · Oh, Jea-Don · Jeon, Gwong-Joo · Kong, Hong-Sik ·
Yeon, Sung-Hum · Sang, Byong-Don · Choi, Chull-Hwan · Cho, Byong-Wok · Lee, Hak-Kyu

In an animals, identification system has been widely used by ear tag with dummy code and blood typing for parenty. Also, genotyping methods were using for useful mean of individual identification for live animals. In the case of genotyping estimation of gene in population of korean native chicken. In this study, we tested for development of genetic markers used it possible to determination of individual identification system. The candidate genetic markers were used already know 10 of microstatelite DNA sequence information in chromosome No. 1 and 14. Result of analysis for genotyping, the number of alleles of those microstatelites DNA was shown minimal 3 to 12 and the heterozygote expression frequency range was shown from 0.617 to 0.862. In our result, effective number of allele for each microsatellites DNA was shown 3~7, and the accuracy of individual identification was shown nearly 100%, when used with 6 genetic marker. This study was about genotyping method for identification used specific genetic marker form microsatellite DNA in the brand marketing of korean native chicken. Our results suggest

* 본 연구는 농촌진흥청 바이오그린 21사업의 과제 “한국 재래닭 경제형질 관련 OTL 탐색 및 표지 유전자 개발” 연구비 지원에 의해 수행된 연구이며 관계자들에게 깊은 감사를 드리는 바입니다.

** 환경대학교 유전정보연구소

*** 축산물등급판정소

**** 축산연구소

***** 밀양대학교

***** 대표저자, 환경대학교 유전정보연구소

that genotyping method used specific genetic marker from microsatellite DNA might be very useful for determination of individual identification.

Key words : Individual identification in live animals system, Microsatellite DNA, Individual traceability of origin, DNA test, Distribution of chicken

I. 서 언

재래가축은 1990년대 말인 합방이전까지는 우리민족의 중요한 축산물의 공급원이 되었으나 축산물 수요의 증가로 인해 생산성이 낮은 재래종가축은 생산성이 높은 개량종 가축에 비하여 경제성이 낮기 때문에 재래종 가축의 사육수가 급격히 감소되면서 사육지역도 교통이 불편한 산간벽지에 국한되고 이들 재래종가축은 한우를 제외하고 거의 멸종상태에 이르게 되었다. 그러나 1980년을 지나면서 국민소득이 증가함에 따라 개량종 가축에서 생산되는 축산물보다 우리국민 기호성에 맞는 재래종 고급축산물을 선호하게 되었으며, 닭의 경우 외국 수입품종에서 생산되는 값싼 닭고기보다는 지방이 적고 맛이 좋은 재래닭고기를 찾는 소비층이 증가하여 재래닭 사육이 새로운 양계산업으로 발전하기 시작하였고 이제 재래닭은 단순히 보존차원을 벗어나 하나의 소득 사업으로 자리를 잡아 나가고 있다.

근래에 오면서 질이 좋은 축산물을 선호하는 경향에 따라 외국의 개량종보다 우리 식성에 맞는 재래종을 찾는 소비층이 늘어나면서 재래닭 수요가 증가되고 그에 따라 사육수도 늘어나고 있는 추세에 있다. 그러나 이제까지의 재래닭은 품질의 균일성이 부족하고 생산형질에 대한 개량도가 낮으며 계통이 정립되지 않아 축산물의 규격화 및 산업화에 어려움이 있어 왔다. 그러므로 재래닭에 대한 과학적인 유지보존과 개량이 이루어지기 위해서는 재래닭 고유의 유전특성에 따른 재래닭 고유계통의 육성이 선행되어야 하며 경제적 부가가치를 증대시키는 육종체계가 마련되어야 할 것이다.

본 연구는 초위성체 유전자를 이용한 가금육 원산지 추적 및 개체식별 방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 재래닭 집단에서 높은 빈도로 출현하는 초위성체 유전자에서 유전자 표지를 선정하여, 유통시장의 도축물이 원산지에서 제공된 재래닭 개체인지의 진위여부를 판별하기 위한 유전자 검증 방법에 관한 것이다.

일반적으로 국외내의 경우 축산물(닭고기)의 원산지를 추적하는 것은 사스, 가금티푸스 등의 악성 질병이 사람이나 다른 지역의 가축, 동물 등으로 전파되는 것을 사전에 차단하기 위해 실시되고 있다. 이를 위해, 유럽의 경우 원산지로부터 개체 식별이 된 가축만이 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 축산물의 원산지가 추적되는 시스템을 채택 하고 있다. 최근에는 닭으로부터

터 매개되는 악성전염원의 차단을 위해 닭고기의 경우에는 원산지 추적 및 이물 물류 흐름을 통제 검증할 수 있는 개체체계 개발이 추진되고 있으며 원산지 검증 모니터링을 위한 BT 기술의 도입을 검토하고 있는 실정이다. 이러한 원산지 추적 검증 기술의 적용을 방역 차원에서 검토되고 있는 실정과 아울러 일본과 한국 등에서는 일반 외래 품종으로 사육 도축된 가축과 재래에 의해 사육된 계육의 가격차이가 매우 높기 때문에, 의도적으로 도축 후에 원산지의 정보가 차단되는 경향이 많이 있는 실정이다. 또한 의도적이지 않는 경우에도 재래 닭의 도축산물에 대한 물류 시스템의 오류 등의 원인으로 완벽한 원산지 정보가 연계되지 못하고 있다. 이와 아울러 재래 계육을 선택하고 있는 소비자에 대한 일정한 물류정보 차원에서 재래 닭을 산지 정보가 전달될 수 있는 시스템의 활용이 매우 중요한 상황이다. 이에 몇몇 나라에서는 유전자 감식 기법의 도입을 통한 원산지 정보의 진위 여부를 시도하고 있다.

하지만, 닭의 유전자 상에서 개체 식별이 가능한 도메인(domain)은 닭의 품종에 따라 다양하게 나타나기 때문에, 재래 닭의 개체 식별을 위해서는 재래 닭의 특이적인 유전양상에 근거한 표지 유전자를 선정하고, 이들을 활용한 유전자 감식 기법을 설정하는 것이 매우 중요하다. 한편, 국내에서는 대부분이 재래 닭 유전자의 보존 측면과 품종 간 유전적 다양성 연구와 친자 확인용으로 개발된 유전자 표지(초위성체 유전자: Microsatellite DNA)를 활용한 유전자 감식 기법이 사용되고 있다(Vignal et al., 2002; Fries et al., 2001; SanCristoval et al., 2000).

그러나, 상기 사용되고 있는 유전자 표지를 부분적으로 재래 닭의 유전자 감식용으로 활용할 경우, 유용성 및 정확도가 떨어지는 단점이 있다. 또한, 현재 개발된 일부의 유전자 표지는 친자확인을 위한 용도로 한정하여 사용하고 있는 실정이기 때문에, 좀더 유용한 유전자 표지를 선별하여 재래 닭 개체 식별과 원산지 검증의 유효성을 높이면서, 다양한 개체의 품종을 확인할 수 있도록 충분한 수의 유전자 표지(Genetic marker)를 개발할 필요가 있다.

II. 재료 및 방법

1. 공시재료 및 Genomic DNA 추출

재래 닭의 혈액 및 기타 조직 시료에서 개체 식별을 위한 유전자 표지로, 염색체 내의 고도 원심분리에 의해 주 염색체와 분리되는 초위성체 유전자(Microsatellite DNA)를 이용하였다. 국내 재래 닭 집단 중에서 300두, 동일성 검정을 위해 안성 지역에서 출하된 50두를 공시재료로 활용하였다. 유전자 중에서 실제(實在)하는 재래 닭에서 발현되고, 이론적으로 대립 유전자 크기의 다양성 및 이들 DNA의 증폭 온도 조건 등이 적합할 것으로 예상되는 유전자

표지를 최종적으로 선정하고, 상기 유전자 표지에 대한 유전자 진단용 Primer를 유전자 표지당 2종의 Primer를 제작하였다(Table 1). 채취한 혈액에서의 Genomic DNA 분리 및 정제는 Miller 등(1998)의 방법을 일부 변경하여 수행하였다(Miller et al., 1988). 분리 정제된 DNA는 TE buffer(10mM Tris-HCl pH 7.4 ; 1mM EDTA)에 용해하여 분석에 사용하였다.

2. PCR 증폭

PCR 증폭 반응은 형광 염색된 microsatellites의 색상과 대립 유전자의 크기별 분포 등을 고려하여 주로 multiplex PCR을 수행하였고, 일부의 microsatellites는 단일 marker로서 PCR을 수행하였다. GeneAmp 9700(Applied Biosystems)에서 각 반응액의 총량을 10 μ l PCR reaction으로 하고 약 50ng template DNA, 20ng each primer, 1.25mM each of dNTP, 0.5U, of Taq DNA polymerases(Promega)과 1 μ l 10X PCR buffer mM(100mM Tris-HCl, pH 8.3, 500mM KCl, 0.01% gelatin, 0.25% nonidet P40 and 20mM MgCl₂). 95 $^{\circ}$ C에서 5분간 첫 반응을 시작하여, 94 $^{\circ}$ C에서 30초, microsatellites marker에 따라 53~55 $^{\circ}$ C에서 1분간, 72 $^{\circ}$ C에서 1분으로 35회 반복반응을 실시하고 마지막으로 신장 반응은 72 $^{\circ}$ C에서 10분간 실시하여 종료하였다.

3. Microsatellite

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)을 이용하여 microsatellites loci별 대립유전자들의 정확한 크기를 결정하였다. 대립 유전자의 크기가 MS marker에 따른 입력영역, 관측된 이형질성(Observed heterozygosity) 및 대립 유전자 빈도는 MS toolkit s/w (Park, 2000)를 이용하였으며 분석된 MS 좌위별 집단에 대한 전체 이형질성(HT)은 Nei(1972, 1978)의 방법을 통해 SAS Package을 사용하였다.

Table 1. DNA amplification primers used in the study.

Primer	Location on Chromosome	DNA Product (bp)	Analysis Temperature($^{\circ}$ C)	Reference
ADL268		104-116	48	Cheng et al., 1995
LEI094		248-284		Gibbs et al., 1997
MCW216		137-148		Crooijmans et al., 1996

Primer	Location on Chromosome	DNA Product (bp)	Analysis Temperature(°C)	Reference
MCW295		91-103	55	Crooijmans et al., 1996
MCW330		269-289	55	Crooijmans et al., 1996
MCW67		177-183	55	Crooijmans et al., 1996
ADL278		138-146	48	Cheng H. H et al., 1995
ADL158	un	183-199	52	Cheng H. H et al., 1995
ADL181	2	174-180	50	Cheng H. H et al., 1995
ADL176		183-199	54	Cheng H. H et al., 1995

Ⅲ. 결과 및 고찰

Table 2. Characterization of 10 microsatellite loci analyzed in Korean chicken.

Marker	Alleles No. ^a	Allele size(bp)		Effect allele No. ^b		Heterozygocyte (%)
		Min	Max	10%<	5%<	
ADL268(M1)	5	104	116	5	5	0.764
LEI094(M2)	9	248	284	5	6	0.862
MCW216(M3)	6	137	148	3	5	0.710
MCW295(M4)	5	91	103	4	4	0.751
MCW330(M5)	3	269	289	3	3	0.637
MCW67(M6)	3	177	183	2	2	0.617
ADL78(M7)	9	113	125	2	6	0.687
ADL158(M8)	8	183	199	2	4	0.632
ADL181(M9)	4	174	180	3	3	0.670
ADL176(M10)	5	183	199	4	4	0.756
Average	5.71	162.71	178.29	3.43	4.43	0.72

a : the no. of alleles identified in different breeds(<http://www.NCBI.nlm.nih.gov>)

b : the no. of effective alleles are based on the average frequencies(5% <, and 10% <) of alleles.

Table 2에 따르면 각각의 염색체별 초위성체 DNA(유전자 표지)에 대한 재래닭 집단에 개체별 유전자형 출현 특성을 볼 수 있다. 증폭된 각 유전자표지 유전자형 분석에서 대립 유전자는 평균 7~8개가 나타났으며 각 표지유전자들로부터 발현되는 대립유전자의 이형접

합체율(heterozygosity)은 0.617~0.862를 보였으며 이는 재래닭 집단에서는 이들 표지유전자의 발현 양상이 매우 다양하다는 것을 보여주고 있다. 일반적으로 개체의 식별을 위한 유전자 표지의 유용성을 판단할 때 기준 이상의 발현빈도를 가진 유전자 표지의 발현 특성인 이형접합도를 기준으로 한다(Lee et al., 2004). 유전자 감식용 대상 유전자 표지로서는 0.6 이상의 이형 접합율을 보이는 유전자표지(MS)를 선발 대상으로 제안될 수 있다. 또한 개체 확인 정확도를 높이기 위해 재래닭 집단에서 분석된 결과를 기준으로 전체 출현되는 대립 유전자 중에서 유효 대립유전자가 상대적으로 많은 경우에 재래닭의 유전자 분석에 적합한 유전자 표지로 설정 될 수 있을 것으로 생각된다. 제시된 결과(Table 2)에서 보면 약 7종의 primer에 의해 재래닭 집단에서 유전자 감식을 위한 유전자 표지로 설정될 수 있을 것으로 판단된다.

Table 3. Estimated incidental probabilities of same genotypes for two different animals.

	Genetic marker(MS)						
	ADL268	LEI094	MCW216	MCW295	MCW330	ADL181	ADL176
No. of alleles	5	9	6	5	3	4	5
No. of effective alleles							
(10%>)	5	5	3	4	3	3	4
(5%>)	5	6	5	4	3	3	4
Allele frequency							
(10%>)	0.20	0.20	0.33	0.25	0.33	0.33	0.25
(5%>)	0.20	0.17	0.20	0.25	0.33	0.33	0.25
Provability of Individual identification ^a (All of genetic markers)	0.07 (0.7×10^{-1})	0.05 (3.5×10^{-3})	0.07 (2.5×10^{-5})	0.1 (2.5×10^{-6})	0.17 (4.3×10^{-7})	0.17 (7.3×10^{-8})	0.1 (7.3×10^{-9})

a : Type II error rate

Table 4. Results of DNA tests between tissue samples at postmortem and live animals.

Live animal (Tissue sample)	Genetics markers (Allele type of Genotype) ^a														Test for Individual Identification
	ADL268		LEI094		MCW216		MCW295		MCW330		ADL181		ADL176		
ID-01	104	110	248	250	137	141	97	93	269	271	172	174	191	193	○
Sample 1	104	110	248	250	137	141	97	93	269	271	172	174	191	193	

Live animal (Tissue sample)	Genetics markers (Allele type of Genotype) ^a														Test for Individual Identification
	ADL268		LEI094		MCW216		MCW295		MCW330		ADL181		ADL176		
ID-02	104	112	248	250	133	141	91	101	267	277	174	176	193	193	○
Sample 2	104	112	248	250	133	141	91	101	267	277	174	176	193	193	
ID-03	104	112	246	250	137	143	91	93	269	277	178	176	197	197	○
Sample 3	104	112	246	250	137	143	91	93	269	277	178	176	197	197	
ID-04	104	110	248	250	133	143	97	101	269	277	174	174	191	193	○
Sample 4	104	110	248	250	133	143	97	101	269	277	174	174	191	193	
ID-05	108	112	248	252	137	143	91	93	269	277	178	176	191	191	○
Sample 5	108	112	248	252	137	143	91	93	269	277	178	176	191	191	
ID-06	104	110	248	250	137	141	91	93	267	279	174	176	191	193	○
Sample 6	104	110	248	250	137	141	91	93	267	279	174	176	191	193	
ID-07	104	112	248	252	137	141	97	105	269	277	176	176	193	193	○
Sample 7	104	112	248	252	137	141	97	105	269	277	176	176	193	193	
ID-08	108	110	246	250	133	142	91	93	269	277	174	178	191	193	○
Sample 8	108	110	246	250	133	142	91	93	269	277	174	178	191	193	
ID-09	104	118	248	268	145	147	91	105	275	273	174	178	191	199	×
Sample 9	108	110	246	258	137	147	95	97	269	277	176	176	191	199	
ID-10	106	110	246	258	137	141	91	97	269	277	176	176	199	199	○
Sample 10	106	110	246	258	137	141	91	97	269	277	176	176	199	199	

a : 6 microsatellite, selected on the basis of effective alleles

일반적으로 분석에 활용되는 유전자 표지마다 각각의 소 품종별(Yoon et al., 2002), 돼지 품종별(Choi et al., 2003) 특성을 보이게 된다. 소와 돼지 품종과 비슷하게 재래닭 집단에서 원산지 추적에 따른 유전자 감식 기법의 적용을 위해 특성 품종 수준에서 가장 적합한 유전자 표지를 설정하는 것이 중요하다. 이를 위해 본 연구에서는 발현 빈도가 5% 및 10% 이상의 대립유전자를 보이는 유전자표지를 유효한 것으로 제시하였으며 각각의 표지 유전자를 적용하였을 때 서로 다른 개체가 우연히 동일한 유전자형을 나타 낼 수 있는 확률을 추정하였다(Table 3). Table 3에서 유전자 표지를 활용하여 원산지 재래 닭 생체에서 채취된 시료의 유전자 감식 결과와 유통단계에서 채취된 시료의 유전자 감식 결과를 비교하여, 유효성을 평가하였다. 재래 계 동일성 판별에 대한 유효성의 평가는 10set(원산지 개체 + 도계축 개체)의 시료를 가지고 분석하였는데, 원산지로부터 출하된 표준 시료로 하고, 상기 재래계가 도계되어 개체식별로 5g 내외의 조직을 채취하여 원산지 생체상태와 도계된 후

의 상태의 시료를 1set로 하고 임의로 다른 개체를 무작위로 선택하여 1set를 구성하여 선택한 후, Table 3의 방법에 따라 유전자 판별 검사를 실시하여 비교하였다. 이때, 사용된 유전자 표지는 ADL268, LEI094, MCW216, MCW295, MCW330, ADL181, ADL176를 사용하였다. 발현되는 대립 유전자들이 3개부터 약 6개까지 보이는 유전자표지가 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 유전자 표지를 설정하여 유전자 감식을 할 경우 서로 다른 개체에서 분석한 유전자형 분석 결과가 동일하게 나타날 확률은 0.05%(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.

Table 4에서는 본 연구에서 제시된 유전자 표지를 활용하여 재래닭 생체에서 채취된 시료를 분석한 유전자 감식 결과와 도축후의 1차 가공을 거쳐 이미 개체의 이력을 확인 할 수 없는 상태에서 채취된 시료의 유전자감식 결과를 비교한 결과이다. 1집단의 재래닭을 분석하였으며 이들로부터 도축된 후 각각 개체로부터 부분육 상태로 해체된 계육 고기시료를 동일개체의 2개소에서 채취한 후 분석한 결과를 비교하였으며 각각 개체마다 시료들 분석에 사용된 닭과 무관한 닭으로부터 채취된 시료를 다른 개체의 시료를 무작위로 선택하여 비교를 실시하였다.

분석 결과에서 보면 개체별 9개의 시료는 유전자분석 결과가 서로 완벽하게 일치하고 있다는 것을 보여주고 있으며 다른 하나에 대한 분석한 결과는 생체상태에서 분석한 결과와 다르게 나타난 것을 알 수가 있다. 따라서 생체 상태의 유전자검사 결과와 DNA의 채취가 가능한 도축 후 어느 단계에서 조차 분석한 유전자형 정보가 비교됨으로써 개체의 진위여부를 확인할 수 있는 것으로 판단된다.

재래 닭 집단에서 높은 빈도로 출현하는 유전자 표지(초위성체 DNA)를 유전자 분석하는 기법으로 활용함으로써 개체의 생체상에 나타나는 유전자지문을 디지털 정보화하여, 원산지 재래 닭 시료로부터 분석된 유전자 감식정보로 유통단계의 부분육과 원산지 재래 닭 시료의 동일 개체 여부를 100% 판별할 수 있는 유효성이 높은 유전자 감식기법을 제공하게 되었다.

이에 따라, 본 연구는 닭고기 유통 시장에서 원산지로부터 특정 유통점으로 유입된 닭고기의 동일 개체 여부를 검증하는데 활용하여, 계육 여부를 판별하는 종래의 유전자 감식 차원을 뛰어넘어 원산지의 재래 닭 정보를 유통단계의 한우 정보와 연계시킬 수 있는 수단과 안전성 여부를 추적할 수 있는 검증 수단 확보의 효과를 동시에 얻을 수 있다. 본 연구 결과를 통해 보면 한국 재래닭 집단에서 특이적으로 발현되는 유전자 표지(일명 : 초위성

체 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 재래닭 등 특정 경로를 통해 유통되는 물류시스템에 적용하여 원산지의 정보에 대한 검증 수단을 제공함으로써 일본 등의 축산물 안심 시스템과 유사한 기능이 수행 될 수 있을 것으로 생각 된다. 따라서 이러한 분석과정은 살아 있는 닭에서 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 재래닭 유통 시장에서 원산지에서 특정 유통점으로 유입된 계육 여부를 검증하는데 활용함으로써 기존의 계육 여부를 검사하는 차원을 떠나 원산지의 정보를 연계시키는 수단으로서의 확보는 물론 안전성 여부를 추적 시키는 검증수단으로서의 효과를 얻을 수 있다.

IV. 적 요

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 유전자표지는 재래닭의 품종에 따라 매우 다양하게 발현 되어 개체 확인 정확도를 높이기 위해 재래닭 집단에서 대상 유전자표지의 유전자형 발현 양상을 분석하여 최적의 표지 유전자표지를 설정하는 것이 필요하다. 따라서 본 연구는 한국 재래닭의 원산지 추적 및 개체식별 검증 시스템에서 절절히 사용할 수 있도록 생체 유전자 감식 기법에 소요되는 유전자표지(genetic marker)를 개발하기 위해 수행되었다. 공시재료로는 국내 재래 닭 집단 중 300수와 동일성 검정을 위해 안성 지역에서 출하된 50수로 도축되기 전단계의 생축에서 분석된 유전자형과 도축 후 유통과정에서 분석된 유전자형을 이용한 개체 확인여부의 검증을 위해 국내 재래닭 농가로부터 출하된 10수를 분석에 공시하였다. 후보 유전자표지는 염색체 1번과 14번에서 확인되어 보고 된 10종의 초위성체 DNA(Microsatellite :MS)의 염기 서열 정보를 이용하였다. 재래닭 집단에서 나타난 각각의 대상 유전자표지의 유전자형 분석결과를 보면 대립유전자는 최소 3개에서 최대 12였으며 이형접합체 발현률은 0.617-0.862 였다. 유효대립유전자수는 각각의 대상 유전자마다 3-7의 범위를 보였으며 이들 중 6개의 유전자표지를 설정하여 개체 확인을 실시할 경우 100%에 가까운 정확도가 나타난 것으로 추정되었다.

본 연구는 재래닭에서 높은 빈도로 출현하는 초위성체 유전자에서 유전자 표지를 선정 하여, 유통시장의 도축물로부터 원산지 재래닭 개체와의 진위여부를 판별하기 위한 유전자

검증 방법에 관한 것이다.

재래닭의 초위성체 유전자로부터 선정된 유전자 표지의 수와 크기를 측정하여, 닭 시료의 개체 식별 유전자를 분석하고, 재래닭의 원산지 정보와 비교하여 동일 개체 여부를 판별할 수 있는 유효성이 높은 유전자 감식기법을 제공할 수 있게 되었다.

[논문접수일 : 2004. 10. 11. 최종논문접수일 : 2004. 12. 5.]

참 고 문 헌

1. 이학교. 2003. 생물공학(BT) 및 정보 공학적(IT) 기법활용을 통한 한우의 원산지 추적. 월간 한우 통권 45호 86-97.
2. Archibald, A. L., Halet, C. S., Brown, J. F., Couperwhite, S., McQueen. H. A., Nicholson, D., Coppieters, W., Vandeweghe, A., Stratil, A., Wintero, A. K., Fredholm, M., Larsen, N. J., Nielsen, V. H., Milan, D, Woloszyn, N., Robic, A., Dalens, M., Riquet, J., Gellin, J., Caritez, J. C., Burgaud, G., Ollivier, I., Bidanel, J. P., Vaiman, M., Renard, C., Genldermann, H., Davoli, R., Ruyter, D., Verstege, E. J. M., Groenen, M. A. M., Davies, W., Hoyheim, B., Keiserud, A., Andersson, L., Ellegren, H., Johansson, M., Marklund, L., Miller, J. R., Dear, D. V. R., Signer, E., Jeffreys, A. J., Moran, C., Letissier, P., Rothschild, M. F., Tuggle, C. K., Vaske, D., Helm, J., Liu, H. C., Rahman, A., Yu, T. P., Larson, R. G., and Schmitz, C. B. 1995. The Pigmap Consortium linkage map of the pig(*Sus scrofa*). *Mamm Genome* 6: 157-175
3. Alexander, L. J., G. A. Rohrer, and C. W. Beattie. 1996. Cloning and characterization of 414 polymorphic porcine microsatellites. *Anim. Genet.*, 27: 137-148
4. Brown, J. F., T. Hardge, G. Rettenberger, and A. L. Archibald. 1994. Four new porcine olymorphic microsatellite loci(S0032, S0034, S0036 and S0037). *Anim. Genetics*, 25: 365
5. D. H. Yoon. 2002. Molecular Genetic Diversity and Development of Genetic Markers in Association with Meat Quality for Hanwoo(Korean Cattle). Ph. Dr Thesis.
6. Ellegren, H., B. P. Chowdhary, M. Johansson. L. Marklund, M. Fredholm, I. Gustavsson, and L. Andersson. 1994. A primary linkage map of the porcine genome reveals a low rate of genetic recombination. *Genetics*, 137: 1089-1100
7. Fries, R. and Durstewitz, G. 2001. Digital DNA signatures: SNPs for animal tagging. *Nat. Biotechnol.* V19(6), 508.

8. Falconer, D. S., 1981. Introduction to quantitative genetics. 2nd ed. Longman Inc. New York.
9. H. K. Lee., G. J. Jeon., H. S. Kong., J. D. Oh., I. S. Choi., C. D. Kim., C. Y. Jo., D. H. Yoon., H. D. Shin., J. H. Lee. 2004. Application of DNA Test for Individual Traceability in Hanwoo(Korean Cattle). *KOREAN J. FOOD SCI. ANI. RESOUR.* V24(1): 8-14
10. B. A. Choi, H. K. Lee, G. J. Jeon, J. D. Oh, I. S. Choi, M. H. Park, T. H. Kim, D. H. Yoon, I. C. Cheong. 2003. Application of DNA Test for Individual Traceability in the Brand Marketing of Korean Native Pig. *Korean Journal of Organic Agriculture.* 12(2): 197-207
11. K. S. Kim, J. H. Eum and C. B. Choi. 2001. Genetic Diversity of Korean Cattle using Microsatellite Analysis. *Anim. Sci. & Technol. (Kor.)* 43(5): 599-608
12. K. S. Seo, Y. M. Cho and H. K. Lee. 2000. Development of Network System for the Application of HACCP in Livestock Production Stage. *Agroinformatics J.* 1(2): 1-4.
13. Loftus, R. T., Ertugrul, O, Harba, A, H., El-Barody, M. A. A., MacHugh, D. E., Pa rk. S. D. E. and Bradley, D. G. 1999. A microsatellite survey of cattle from a centre of origin : the Near East. *Molecular Ecology* 8, 2015-2022
14. 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.(Abstract)
15. Nei, M . 1972. Genetics distance between populations, *Am. Nat.* 106: 283-292.
16. Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583-590.
17. Nordskog. A. W., H. S. Tolman, D. W. Casey, and C. Y. Lin, 1974. Selection in small populations of chickens. *Poultry Sci.* 53: 1188-1219.
18. Rohrer, G. A., Alexander, L. J., Keele, J., W., Smith, T. P., and Beattie, C. W. 1994. A microsatellite linkage map of the porcine genome. *Genetics* 136: 231-245
19. SanCrostoval, M., Renald, G. and Amigues, Y. 2000. Tracabilite individuelle des viandes bovine a l'aide de marqueuse genetiques. *INRA Prod. Anim.* V13(4): 269-276.
20. SAS(2002), SAS/STAT User's guide, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
21. Syvanen, A. C. 2001. Accessing genetic variation, Genotyping single nucleotide polymorphisms. *Genetics* V(2): 930-942.
22. T. H. Kim, D. H. Yoon, E. W. Park, H. Y. Lee, S. J. Oh, I. C. Cheong, T. Y. Thak, K. N. Kim nd . Y. Han. 2000. A Study on Genotype Frequencies of the Bovine Melanocortin Receptor 1 (MC1R) in cattle Breeds. *J. Anim. Sci. & Technol. (Kor.)* 42(6): 735-744.
23. Vignal, A., Milan, D., SanCrostobal, M., and Eggen, A. 2002. A review on SNP and their use in animal genetics. *Geenet. Sel. Evol.* 34: 275-305.