

한국 재래돼지 브랜드 돈육 원산지 검증을 위한 유전자 감식 기법 활용 연구

최 봉 암** · 이 학 교**** · 전 광 주* · 오 재 돈* · 최 일 신* · 박 미 현*
공 홍 식* · 정 일 정** · 김 태 현** · 윤 두 학** · 조 병 욱***

Application of DNA Test for Individual Traceability in the Brand Marketing of Korean Native Pig.

Choi, Bong-Am · Lee, Hak-kyo · Jeon, Gwang-Joo · Oh, Jean-Don
Choi, Il-Sin · Park, Mi-Hyun, Kong, Hong-Sik · Jung, Il-Jung · Kim, Tae-Hun
Yoon, Doo-Hak · Cho, Byung-Wook

Identification of animals has been used with an ear tag with dummy code and blood typing has been used for paternity and individual identification in live animals. Various genetic markers are different for breeds of pig and hence, it is necessary to identify the discrete genetic marker in korean native pig. A total of 240 pigs were used to find korean native pig population specific markers that expressed in population of korean native pigs. To identify the individual traceability, 20 animals were randomly chosen and tested for a whole process from being live to slaughter stages. The candidate genetic marker used in the study were 18 DNA microsatellites which were identified in pig genome. The number of alleles of those DNA microsatellites ranged from a minimum of 3 to maximum of 6. The heterozygote frequency ranged from 0.44 to 0.69. Effective number of alleles for each DNA microsatellites were 2 to 4. By choosing 6 candidate genetic markers among all, the traceability of individual identification was estimated as accurate as 99.99% ($p > 0.0014$), nearly.

Key Words : Individual traceability Korean native pig, Brand marketing, DNA test

* 한경대학교 유전정보연구소

** 농촌진흥청 축산연구소

*** 밀양산업대

**** 대표저자, 한경대학교 유전정보연구소

I. 서 언

돈육은 현재 국내 전체 육류 소비의 50% 가까이 차지하는 주요 동물성 단백질 공급원으로써 매우 중요한 위치를 차지하고 있다. 그러나 이러한 양적 소비 구조에도 불구하고 최근 소비자의 육류소비 패턴이 저렴한 비용의 육류 선택에서 고품질화 차별화 육류에 대한 선호 경향이 뚜렷해짐과 동시에 가축 사육 과정에 존재하는 위해 요소(위해 미생물 오염, 항생제 오염)에 대한 우려로 육류를 선택함에 있어 안전성에 대한 관심이 급속히 확산되어 가고 있다.

이에 따라 돈육의 경우에도 예외 없이 소비자에게 생산 및 도축과정에 위해 요소가 존재하지 않는다는 신뢰를 제공하는 것은 역시 차별화된 브랜드 마케팅의 주요한 요건이 될 수 있다.

향후 돈육 소비 경향 예측을 위해서는 일본의 차별화 돈육시장의 예를 보면 특정지역에서 특정 품종을 기반으로 돈육을 생산하여 기존의 돈육과 매우 높은 차별성을 유도하는 시장구조를 형성시키고 있으며 특정 집단과 품종에서 고유하게 발견되는 DNA 마커를 유통과정의 브랜드 돈육 물류 흐름을 모니터링하여 유사 돈육의 유입을 원천적으로 차단하려는 노력을 기울이고 있다. 유럽의 경우에는 친환경(유기축산) 사육과정으로 안전하게 소규모 양돈을 통해 돈육을 생산하고 이들의 산물에 대한 이력이 확인된 상태로 소비자에게 공급하여 기존의 돈육보다 높은 차별성을 부각시켜 높은 가격을 받고 있다. 이러한 두 가지의 예에서 볼 때 국내의 돈육 시장 역시 질적 고급브랜드화가 확산되고 있으며 특히 재래 돼지를 활용한 고급돈육 브랜드화 및 친환경 사육조절에 의한 유기 돈육 생산이 도입될 것으로 생각된다. 이와 아울러 특정 품종(육질 중심의 고급육)을 기반으로 한 고부가가치 돈육 생산을 위해서는 생산(양돈장) 및 도축 과정과 이들 돈육의 유통과정까지의 정확한 물류 흐름의 모니터링은 생산자와 소비자 모두에게 매우 중요 할 수밖에 없다.

축산물의 처리 공정이 소의 경우에는 개체별로 처리되어 상품화가 이루어지는 추세에 있으며 이 과정에서 고가의 브랜드 돈육이 저가의 국내산 돈육 및 수입육으로 둔갑되는 등 유통구조상의 심각한 문제가 야기되고 있는 실적이다. 최근에는 이러한 물류상의 오류 개연성 뿐 아니라 축산물 내 잔존하는 위해 요소(항생제 및 오염 미생물 잔류)와 악성 전염원 및 인수 공통 전염원의 차단시킬 수 있는 원산지 추적 기법이 요구되고 있다. 특히 돈육 시장에서 최종 상품으로부터 역으로 원산지 정보를 추적해내는 여러 요소기술(전자 귀표 활용기술, DAN동일성 검색기술)의 투입이 매우 현실적으로 활용될 가능성이 매우 높다(Lee et al., 2004; Lee, 2003; Seo et al., 2001).

그러나 돼지의 경우에는 개체별로 도축 및 품질 평가까지는 이루어지고 있으나 소포장 내지 소비자 단계에서는 개체 이력 정보의 연계가 어려운 유통구조를 가지고 있으며 농장 단위의 사육정보 정도가 유통점의 적절한 도움으로 연계될 수 있을 것으로 예측된다. 그러

나 브랜드화 돈육이 더욱 세분화 및 차별화가 진행되고 있는데 특히 각종 고부가가치 요소 기술(기능성 부가 등) 투여와 최근 웰빙에 대한 국민적 확산에 따라 슬로우 푸드에 대한 차별화 등이 진행되고 있는 것을 주목할 필요가 있다. 친환경 유기축산물에 의한 특정품종을 기반으로 한 축산물 생산시 소비자에게는 정확한 원산지의 검증결과를 제공하여 신뢰기반 제공이 주요한 사항으로 인식될 수 있으며 생산지 측면에서는 고가의 브랜드 축산물의 물류 흐름의 오류 개연성을 차단하며 건전한 생산 기반 보호를 위해서 가능한 다양하고 정확성이 높은 요소 기술의 도입이 매우 시급할 수 있다. 이러한 요소 기술로서 특정한 유전자 내 단연기 다형현상(SNP's : *Single nucleotide polymorphism*)을 활용한 개체식별 방법이 연구되고 있으며 현재 가장 보편적인 분석 방법으로 초위성체 DNA(MS : *microsatellite*)의 개체별 유전자형을 활용한 유전자감식 기법이 채택되고 있다(Vignal et al., 2002; Fries et al., 2001; SanCrostoval et al., 2000). 따라서 소규모 고부가가치 브랜드 돈육 생산과 유통 과정 내에서의 위해 요소에 대한 차별화된 돈육 진위여부에 대한 신뢰기반을 제공하는 것은 소비자의 지속적인 선택 유도란 측면에서 매우 중요할 수밖에 없으며 원산지 추적을 위한 검증 기술로서 DNA 검사를 통한 개체 동일성 분석 기법의 활용이 선택적 대안이 될 수 있다.

따라서 본 연구는 국내 재래돼지 집단에서 특이적으로 발현되는 DNA 마커의 발현 양상을 분석하여 이들 마커를 통해 생산단계에서의 돈육이 도축 및 유통과정에서 정상적으로 전달되는가의 여부를 확인 검증할 수 있는 모델을 제시하고자 실시하였다.

II. 재료 및 방법

공시재료로는 후보 유전자표지의 재래돼지집단 발현특성의 분석을 위해 32두의 재래돼지를 분석에 공시하였다 또한 도축되기 전 단계의 생축에서 분석된 유전자형과 도축 후 유통과정에서 채취된 시료에서 분석된 유전자형을 이용한 개체 확인여부(동일성 검증)의 검증을 위해 안성 지역 농장으로부터 출하된 100두를 분석에 공시하여 농장단계의 개체와 도축 부분육으로 되어 처리된 돈육과의 동일성 여부를 최종 확인하였다. 원산지 돼지의 유전자와 초종 돈육과의 동일성 여부검사 정확도를 검증하기 위해 동일 개체에서 채취한 2종의 시료와 다른 개체에서 채취한 1종의 시료에서 분석한 유전자형을 비교하였다. 재래돼지 집단에서 특이적으로 발현되는 유전자 표지의 유전자형 분석을 위해 초위성체 DNA(*Microsatellite* : MS)를 활용하였다. 이들의 유전자형 얻기 위해 18종류의 대상 MS를 설정하고 이들의 유전자표지분석을 가능하도록 하는 유전자형 진단용 Primer를 국내 전문 회사에서 주문 제작하였다<Table 1>.

돼지 시료 개체별로 발현되는 초위성체 DNA의 유전자형 분석 과정은 3단계로 이루어지는데 첫째 개체별 DNA를 분리하는 과정, 둘째로 개체별 genomic DNA에서 개체별 다형을

나타내는 초위성체 DNA 지역을 증폭시키고 증폭된 DNA 산물을 자동 염기서열 장치를 통해 유전자형을 분석하고 마지막으로 분석된 아날로그형 정보를 디지털 정보로 전환하여 개체의 고유번호를 부여하는 과정으로 이루어진다. 돼지 혈액 및 조직시료에서의 genomic DNA의 분리와 정제는 Miller의 방법을 준용하여 수행하였다(Miller et al., 1988).

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)을 이용하여 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. PCR 수행 후 증폭 산물들을 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/w를 이용하였으며 분석된 MS 좌위별 집단에 대한 전체 이형질성(HT)은 Nei (1972, 1978)의 방법을 통해 SAS Package을 사용하였다.

Table 1. List of microsatellite markers used in this experiment.

Locus	Location of chromosome	Size range (bp)	Annealing temp ($^{\circ}$ C)	Reference
S0036	2	114-132	56	Brown et al., 1994
SW1695	2	160-210	58	Alexander et al., 1996
SW902	3	188-210	64	Rohrer et al., 1994
S0301	4	246-258	55	Archibald et al., 1995
SW2409	4	77-93	51	Alexander et al., 1996
SW445	4	184-208	58	Rohrer et al., 1994
SW2	5	83-119	57	Rohrer et al., 1994

Locus	Location of chromosome	Size range (bp)	Annealing temp (°C)	Reference
SW71	6	81-121	54	Rohrer et al., 1994
SW205	8	144-160	56	Rohrer et al., 1994
SW61	8	227-259	60	Rohrer et al., 1994
SW0070	10	260-294	54	Ellegren et al., 1994
SW1377	11	200-226	57	Rohrer et al., 1994
SW874	12	189-217	54	Rohrer et al., 1994
SW225	13	80-112	56	Rohrer et al., 1994
SW2616	14	150-172	60	Rohrer et al., 1994
SW510	14	148-158	54	Ellegren et al., 1994
SW1119	15	144-184	64	Rohrer et al., 1994
SW936	15	85-133	55	Archibald et al., 1995

Ⅲ. 결과 및 고찰

18종의 초위성체 DNA 지역에서 개체별 다형 현상을 나타내는 대립유전자 발현 양상을 보면(Table 2) 국내 돈육 생산에 주로 활용되고 있는 외래 품종이 포함된 돼지 집단에서는 전체적으로 평균 12여 개의 대립유전자가 나타나는 것으로 확인되고 있으며 분석에 공시된 한국 재래돼지 집단에서는 평균 4개가 발현되고 있는 것으로 분석되었다.

따라서 개체의 확인을 위한 유전자 표지를 활용하기 위해 보다 다양한 대립 유전자가 발현될 수 있는 초위성체 DNA 지역에 대한 분석이 추가로 요구된다.

대립 유전자의 크기는 81bp에서 최대 280bp로 확인되었으며 10% 이상의 발현 빈도를 가진 대립유전자들은 전체 초위성체 유전자표지들에서 평균 2.5개 그리고 5% 이상을 보이는 경우는 2.9개 정도로 나타났다. 일반적으로 개체의 식별을 위한 유전자 표지의 유용성을 판단할 때 기준 이상의 발현빈도를 가진 유전자 표지의 발현 특성인 이형접합도를 기준으로 한다(Lee et al., 2004). 한국 재래돼지 집단에서 분석된 18종의 초위성체 DNA 유전자 표지의 이형접합도는 0.54-0.68를 나타냈으며 비교적 높은 이형접합도를 보여주고 있다. 0.60 이상의 이형접합도를 보이는 유전자 표지(MS)를 선발할 경우 S0036 등 10여종이 선발대상으로 제안될 수 있는 것으로 보여진다. 또한 이들 중 유효 대립유전자가 3개 이상인 경우는 S0036, SW1695, SW902, S0301, SW2409, SW61, SW225 및 SW1119였다. 따라서 이들 8종의

유전자 표지(MS)를 통해 개체 유전자형 분석을 수행할 경우 재래돼지의 개체 식별을 위해 적절한 정확도가 확보될 수 있을 것으로 생각된다.

실제 유전자 감식 방법을 적용하기 위해 유용한 대립 유전자를 선별하여 Multiplex PCR 수행 등 분석 효율을 높일 수 있도록 다양한 크기의 대립유전자가 발현되는 유전자 표지가 설정되는 것이 바람직하다. 본 연구에서 분석된 재래돼지 집단에서 발현되는 대립 유전자수가 최소 2종에서 6종까지 다양하게 발현되었다. 유전자 감식을 통해 재래돼지를 확인하기 위해서 4~6개의 대립 유전자가 발현될 경우 분석의 효율성 면에서 가장 바람직한 것으로 판단된다.

일반적으로 분석에 활용되는 유전자 표지마다 각각의 소 품종별 발현 특성을 보이게 된다(Yoon et al., 2002). 소 품종과 비슷하게 재래돼지 집단에서 원산지 추적에 따른 유전자 감식 기법의 적용을 위해 특정 품종 수준에서 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 3에서 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 2종(M1, M2)의 유전자 표지를 설정하여 유전자 감식을 할 경우 서로 다른 개체에서 분석한 유전자형 분석 결과가 동일하게 나타날 확률은 1%($p=0.01$) 정도로 추정된다. 원산지 여부와 관련된 보다 정밀한 검증을 위해서는 개체 확인정확도를 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.

또한 실제의 원산지 재래돼지 유전자 정보와 도축 후 과정을 거친 도축 산물간의 동일성 검증을 위한 실험을 실시하였다(Table 4). 분석 전 대상 공시축 중에서 4마리의 재래 돼지(ID-1,2,3,4)는 생체 상태에서 분석된 정보를 나타내었으며 분석한 개체들로부터 도축된 후 각각 개체로부터 부분육 상태로 해체된 돼지 고기시료를 동일 개체당 2개의 시료로 채취하였으며 이 개체와 무관한 다른 개체의 시료를 임의로 선정하여 분석한 결과를 비교하였으며 각각 개체마다 시료들 분석에 동일 여부를 검사하였다.

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 진위여부를 확인할 수 있는 것으로 판단된다.

본 연구 결과를 통해 보면 재래돼지 집단에서 특이적으로 발견되는 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 돼지 등 특정 경로를 통해 유통되는 축산 물류시스템에 적용하여 원산지의 정보에 대한 검증 수단을 제공함으로써 일본 등의 원산지 추적을 위한 축산물 안심 시스템과 유사한 기능이 수행될 수 있을 것으로 생각된다. 따라서 이러한 분석 과정은 살아 있는 재래돼지에서 혈액이나 모근(털뿌리 부분이 포함된 세포)으로부터 분석된 유전자 감식정보와 도축 후 고기 시료로부터 분석된 유전자감식 정보를 비교할 경우 동일한 개체로부터 유래된 경우에는 거의 동일한 유전자형 분석 결과를 얻게 된다. 따라서 이러한 분석시스템을 도입할 경우에 돼지고기 유통 시장에서 원산지에서 특정 유통점으로 유입된 돼지고기 여부를 검증하는데 활용될 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.

Table 2. Characterization of the 18 microsatellite loci analyzed in population of korean native pig.

Locus (Marker ID)	No. of alleles () ^a	Alleles size(bp)		No. of effective allele ^b		Heterozygosity (%)
		Min	Max	10% <	5% <	
S0036(M ₁)	5(9)	114	130	3	4	0.65
SW1695(M ₂)	6(17)	160	204	3	4	0.67
SW902(M ₃)	3(12)	196	202	3	3	0.64
S0301(M ₄)	3(6)	250	254	3	3	0.62
SW2409(M ₅)	4(9)	79	91	4	4	0.60
SW445(M ₆)	3(11)	184	200	3	3	0.56
SW2(M ₇)	3(13)	99	109	3	3	0.57
SW71(M ₈)	4(13)	81	117	2	3	0.59
SW205(M ₉)	3(9)	144	150	2	2	0.57
SW61(M ₁₀)	4(16)	235	257	3	3	0.69
SW0070(M ₁₁)	3(16)	262	280	2	2	0.59
SW1377(M ₁₂)	3(8)	206	210	3	3	0.54

Locus (Marker ID)	No. of alleles () ^a	Alleles size(bp)		No. of effective allele ^b		Heterozygosity (%)
		Min	Max	10% <	5% <	
SW874(M ₁₃)	2(13)	205	215	2	2	0.64
SW225(M ₁₄)	4(14)	96	112	2	3	0.68
SW2616(M ₁₅)	3(9)	156	168	2	3	0.55
SW510(M ₁₆)	4(6)	148	156	2	2	0.44
SW1119(M ₁₇)	4(14)	150	172	2	3	0.61
SW936(M ₁₈)	2(13)	107	111	1	2	0.63
Average	4(12)	159.56	174.33	2.50	2.89	0.60

^a The number of alleles identified in different breeds.(Landrace, Yorkshire, Duroc, etc)

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

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

	Genetic marker(MS)						
	M ₁	M ₂	M ₃	M ₄	M ₅	M ₁₀	M ₁₄
No. of alleles	5	6	3	3	4	4	4
No. of effective alleles							
(>10%)	3	3	3	3	4	3	2
(> 5%)	4	4	3	3	4	3	3
Average allele frequency							
(>10%)	0.34	0.33	0.33	0.33	0.25	0.33	0.48
(> 5%)	0.25	0.25	0.33	0.33	0.25	0.33	0.32
Provability of Individual identification ^a (Single markers) (마커의 누적확률)	0.1 (1.0×10 ⁻¹)	0.1 (1.0×10 ⁻²)	0.17 (1.7×10 ⁻³)	0.17 (2.9×10 ⁻⁴)	0.1 (2.9×10 ⁻⁵)	0.17 (5.0×10 ⁻⁶)	0.17 (8.4×10 ⁻⁷)

^a Type I error rate (Under the basics of 5% allele frequency).

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

Live animal (Tissue sample)	Genetics markers (Allele type of Genotype) ^a												Test for Individual Identification
	M ₁		M ₂		M ₃		M ₄		M ₅		M ₁₀		
ID-1	114	120	160	174	196	198	250	252	79	81	235	249	
(1-1)	114	120	160	174	196	198	250	252	79	81	235	249	○
(1-2)	114	120	160	174	196	198	250	252	79	81	235	249	○
(1-3)	114	124	160	174	196	202	250	252	79	81	235	249	×
ID-2	124	126	182	184	198	202	250	254	85	91	253	257	
(2-1)	124	126	182	184	198	202	250	254	85	91	253	257	○
(2-2)	124	126	182	184	198	202	250	254	85	91	253	257	○
(2-3)	124	126	182	186	198	202	250	252	85	91	253	257	×
ID-3	126	130	186	204	196	202	252	254	79	85	235	253	
(3-1)	126	130	186	204	196	202	252	254	79	85	235	253	○
(3-2)	126	130	186	204	196	202	252	254	79	85	235	253	○
(3-3)	126	126	186	204	196	202	252	254	81	85	235	253	×
ID-4	114	124	160	182	198	202	250	252	81	91	249	257	
(4-1)	114	124	160	182	198	202	250	252	81	91	249	257	○
(4-2)	114	124	160	182	198	202	250	252	81	91	249	257	○
(4-3)	114	120	160	182	198	202	252	252	81	91	249	257	×

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

IV. 적 요

가축의 개체식별은 일반적으로 암호화된 코드를 부여한 이 표를 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 재래 돼지의 품종에 따라 매우 다양하게 발현되어 개체 확인 정확도를 높이기 위해 재래 돼지 집단에서 대상 유전자 표지의 유전자형 발현 양상을 분석하여

최적의 표지 유전자 표지를 설정하는 것이 필요하다. 따라서 본 연구는 재래 돼지의 원산지 추적 및 개체식별 검증 시스템에서 절절히 사용할 수 있도록 생체 유전자 감식법에 소요되는 유전자 표지(genetic marker)를 선정하고 이들 유전자 표지의 활용 가능성 모색을 위해 수행되었다. 공시재료로는 후보 유전자 표지의 광범위한 재래 돼지 집단 발현특성의 분석을 위해 재래 돼지 32두(축산연구소 보유)를 활용하였으며 도축되기 전 단계의 생축에서 분석된 유전자형과 도축 후 유통과정에서 분석된 유전자형을 이용한 개체 확인 여부의 검증에 위해 국내 돼지 농가로부터 출하된 20두를 분석에 공시하였다. 후보 유전자 표지는 돼지 유전체(Genome) 확인되어 보고된 18종의 초위성체 DNA(Microsatellite : MS)의 염기서열 정보를 이용하였다. 재래 돼지집단에서 나타난 각각의 대상 유전자 표지의 유전자형 분석결과를 보면 대립유전자는 최소 3개에서 최대 6개였으며 이형접합체 발현율은 0.44~0.69였다. 유효대립유전자수는 각각의 대상 유전자마다 2~4의 범위를 보였으며 이들 중 6개의 유전자 표지를 설정하여 개체 확인을 실시할 경우 매우 높은 정확도($p>0.01$)가 나타난 것으로 추정되었다.

[논문접수일 : 2004. 3. 20. 최종논문접수일 : 2004. 6. 1.]

참 고 문 헌

1. 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 Pixmap Consortium linkage map of the pig(*Sus scrofa*). *Mamm Genome* 6 : 157-175.
2. Alexander, L. J., G. A. Rohrer, and C. W. Beattie. 1996. Cloning and characterization of 414 polymorphic porcine microsatellites. *Anim. Genet.*, 27 : 137-148.
3. Brown, J. F., T. Hardge, G. Rettenberger, and A. L. Archibald. 1994. Four new porcine polymorphic microsatellite loci(S0032, S0034, S0036 and S0037). *Anim. Genetics*, 25 : 365.

4. D. H. Yoon. 2002. Molecular Genetic Diversity and Development of Genetic Markers in Association with Meat Quality for Hanwoo(Korean Cattle). Ph. Dr Thesis.
5. 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.
6. Fries, R. and Durstewitz, G. 2001. Digital DNA signatures: SNPs for animal tagging. *Nat. Biotechnol.* V19(6) : 508.
7. 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.
8. 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.
9. 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.
10. 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 : 12-15(Abstract).
11. Nei, M. 1972. Genetics distance between populations, *Am. Nat.* 106 : 283-292.
12. Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89 : 583-590.
13. 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.
14. SanCristobal, M., Renald. G. and Amigues, Y. 2000. Tracabilite individuelle des viandes bovines a l'aide de marqueuse genetiques. *INRA Prod. Anim.* V13(4) : 269-276.
15. SAS. 2002. SAS/STAT User's guide, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
16. T. H. Kim, D. H. Yoon, E. W. Park, H. Y. Lee, S. J. Oh, I. C. Cheong, T. Y. Thak, K. N. Kim and J. 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.
17. Vignal, A., Milan, D., SanCristobal, M., and Eggen, A.. 2002. A review on SNP and their use in animal genetics. *Genet. Sel. Evol.* 34 : 275-305.
18. 이학교. 2003. 생물공학(BT) 및 정보 공학(IT) 기법활용을 통한 한우의 원산지 추적. 월간 한우 통권 45호 86-97.