

## 혈액형에 의한 제주말의 유전적 다형성 분석

조길재

경북대학교 수의과대학

Received August 20, 2005 / Accepted December 12, 2005

**Analysis of Genetic Polymorphism by Bloodtyping in Jeju Horse.** Gil-Jae Cho. College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea – The present study was carried out to investigate the blood markers of Jeju horses. The redcell types (blood groups) and blood protein types (biochemical polymorphisms) were tested from 102 Jeju horses by serological and electrophoretic procedure, and their phenotypes and gene frequencies were estimated. The blood group and biochemical polymorphism phenotypes observed with high frequency were A<sup>af</sup> (27.45%), C<sup>a</sup> (99.02%), K<sup>a</sup> (97.06%), U<sup>a</sup> (62.75%), P<sup>b</sup> (36.27%), Q<sup>c</sup> (47.06%), D<sup>cgm/dgmn</sup> (13.73%), D<sup>adn/cgm</sup> (9.80%), D<sup>ad/cgm</sup> (8.82%), D<sup>dghm/dgmn</sup> (7.84%), D<sup>cgm/cgm</sup> (7.84%), AL<sup>B</sup> (48.04%), GC<sup>F</sup> (99.02%), A1B<sup>K</sup> (97.06%), ES<sup>F1</sup> (36.27%), TF<sup>F2</sup> (25.49%), HB<sup>B1</sup> (45.10%) and PGD<sup>F</sup> (86.27%) in Jeju horses, respectively. Alleles observed with high gene frequency were A<sup>af</sup> (0.3726), A<sup>c</sup> (0.2647), C<sup>a</sup> (0.5050), K<sup>a</sup> (0.9853), U<sup>a</sup> (0.6863), P<sup>b</sup> (0.4657), Q<sup>c</sup> (0.5294), D<sup>cgm</sup> (0.3039), HB<sup>B1</sup> (0.6863), PGD<sup>F</sup> (0.9265), AL<sup>B</sup> (0.6912), A1B<sup>K</sup> (0.9852), GC<sup>F</sup> (0.9950), ES<sup>I</sup> (0.5000) and TF<sup>F2</sup> (0.4950) in Jeju horses, and specific alleles, D<sup>cgm(I)</sup> (0.0196), HB<sup>A</sup> (0.0147), HB<sup>A2</sup> (0.0196), ES<sup>G</sup> (0.0441), ES<sup>H</sup> (0.0098), TF<sup>E</sup> (0.0246), TF<sup>H2</sup> (0.0049) and PGD<sup>D</sup> (0.0098) were detected in Jeju horses. These preliminary results present basic information for detecting the genetic markers in Jeju horse, and developing a system for parentage verification and individuals identification in Jeju horses.

**Key words** – Allele, blood groups, biochemical polymorphism, Jeju horse.

가축의 혈액형에 대한 연구는 1940년대 미국의 Wisconsin 대학에서 최초로 친자확인을 위한 혈액형 검사를 시작한 이래 많은 나라에서 가축개량사업이 활발해지고 있다. 이에 따른 종축등록, 검정업무 등이 활성화 됨에 따라 정확한 혈통 관리의 중요성이 증대되고 이에 혈액형 검사가 결정적인 역할을 할 수 있다는 것이 인정되면서 더욱 발전하여 왔다.

가축의 혈액형은 좁은 의미로서 적혈구항원형에 국한하고 있으나 넓은 의미로서는 혈액단백질형도 포함하여 종축 등록시 개체식별 및 친자확인, 수혈시 부작용의 예방, 프리마틴의 조기판정, 집단간의 유전적 유연관계의 규명 등에 많이 이용되어 왔다. 그러나 최근에는 동물의 친자관계의 판정 효율을 높이고자 기존의 혈액형을 이용한 감정을 대신하여 DNA typing에 의한 방법을 도입하여 친자관계의 확인이나 개체식별에 이용되고 있는 실정이다[4].

말의 혈액형은 적혈구 표면에 위치한 항원에 대해 이종 및 동종면역항체(항혈청)를 가지고 사람의 ABO식 혈액형 검사법과 유사한 항원항체반응으로 검사하는 적혈구항원형과 전기영동법에 의한 혈액단백질형으로 분류된다. 말에서는 주로 혈통등록을 목적으로 친자확인 및 개체식별에 이용되고 있다[14]. 말의 적혈구항원형은 7개 시스템 34종의 혈액형 인자(Aa, Ab, Ac, Ad, Ae, Af, Ag, Ca, Da, Db, Dc, Dd, De, Df, Dg, Dh, Di, Dk, Dl, Dm, Dn, Do, Dp, Dq, Dr, Ka, Pa,

Pb, Pc, Pd, Qa, Qb, Qc, Ua)에 의한 59개의 대립유전자 즉, A<sup>a</sup>, A<sup>af</sup>, A<sup>adg</sup>, A<sup>abdf</sup>, A<sup>abdg</sup>, A<sup>b</sup>, A<sup>bc</sup>, A<sup>bce</sup>, A<sup>c</sup>, A<sup>ce</sup>, A<sup>e</sup>, A<sup>-</sup>, C<sup>a</sup>, C<sup>-</sup>, D<sup>adl</sup>, D<sup>adlnr</sup>, D<sup>adl</sup>, D<sup>bcmq</sup>, D<sup>cefgmnq</sup>, D<sup>cegimnq</sup>, D<sup>cfgkm</sup>, D<sup>cfmnr</sup>, D<sup>cgm</sup>, D<sup>cgmq</sup>, D<sup>cgmqr</sup>, D<sup>cgmqr</sup>, D<sup>deklr</sup>, D<sup>delop</sup>, D<sup>delq</sup>, D<sup>dfklr</sup>, D<sup>dghmp</sup>, D<sup>dghmq</sup>, D<sup>dghmqr</sup>, D<sup>dkl</sup>, D<sup>dlnq</sup>, D<sup>dlnqr</sup>, D<sup>dlnqr</sup>, D<sup>dq</sup>, D<sup>q</sup>, (D), K<sup>a</sup>, K<sup>-</sup>, P<sup>a</sup>, P<sup>ac</sup>, P<sup>acd</sup>, P<sup>ad</sup>, P<sup>b</sup>, P<sup>bd</sup>, P<sup>d</sup>, P<sup>-</sup>, Q<sup>bc</sup>, Q<sup>ac</sup>, Q<sup>a</sup>, Q<sup>b</sup>, Q<sup>c</sup>, Q<sup>-</sup>, U<sup>a</sup>, U<sup>-</sup>와 혈액단백질형은 16개 시스템의 다형좌위(A1B glycoprotein : A1B, Albumin : AL, Acid phosphatase : AP, Carbonic anhydrase : CA, Catalase : CAT, NADH-diaphorase : DIA, Carboxylesterase : ES, Vitamin D binding protein : GC, Glucose phosphate isomerase : GPI, Hemoglobin-a : HB, Peptidase A : PEPA, 6-phosphogluconate dehydrogenase : PGD, Phosphoglucomutase : PGM, Protease inhibitor : PI, Plasminogen : PLG, Transferrin : TF) 82개의 대립유전자 즉, A1B<sup>E,K,S</sup>, AL<sup>A,B,I</sup>, AP<sup>F,S</sup>, CA<sup>E,F,I,L,O,S</sup>, CAT<sup>F,S</sup>, DIA<sup>F,S</sup>, PLG<sup>I,2</sup>, GC<sup>F,S</sup>, ES<sup>F,G,H,I,L,(M),(N),O,R,S</sup>, HB<sup>A,A2,B1,B2,(C),N,V</sup>, PEPA<sup>F,S</sup>, PGD<sup>D,F,S</sup>, PGM<sup>F,S,V</sup>, GPI<sup>F,I,L,S</sup>, TF<sup>D,D2,E,F1,F2,F3,G,H1,H2,J,M,O,R,P,I<sup>F,G,H,I,K,L,L2,N,O,P,Q,R,S,T,U,V,W,Z</sup></sup>

으로 알려져 있다[2,6,14].

말의 적혈구항원형은 항원과 항체, 보체를 이용한 응집반응과 용혈반응에 의해서 분류할 수 있다. 혈액단백질형은 전분이나 폴리아크릴아마이드 겔 지지체를 이용한 전기영동법에 의해서 혈액내의 특정 단백질 및 효소를 지배하는 유전자 좌위에 존재하는 대립유전자를 단백질 및 효소의 분자량에 의한 전하차이에 의해서 분리하고 전기적 이동거리의 순서에 따라 약정된 국제적 명명법에 준하여 분류한 것으로서 말

\*Corresponding author

Tel : +82-53-950-5978, Fax : +82-53-950-5955

E-mail: chogj@mail.knu.ac.kr

에서는 주로 친자감정 및 개체식별에 이용하고 있다[3].

국내에서 말의 사육은 경마, 승마, 관광레저 등을 목적으로 사육 두수가 지속적으로 증가되고 있다. 특히, 제주말은 경마시 우대에 따른 부가가치의 증가로 인해 사육농가에서 많은 관심을 가지고 있다. 제주말은 1985년 천연기념물 제347호로 지정된 우리나라 유일의 현존하는 향마로 문화적 가치가 높은 유전자원이지만 최근들어 더러브렉과의 교잡으로 인한 제주말의 혈통관리 및 보존을 위해서 유전자 은행의 구축이 시급히 요구되고 있다.

그래서 현재 등록된 제주말 450여두를 잘 보존하여 제주말을 국적있는 품종으로 확립하고 제주말 이용가치를 높이기 위한 유용 유전자를 발굴함으로서 미래 동물 유전자원 시장에 무한한 부가가치 창출 및 축산 농가의 새로운 소득원으로 자리매김할 수 있도록 제주말의 기원을 구명함과 동시에 제주말의 혈통보존을 위한 기초자료를 마련할 목적으로 먼저 혈액형에 의한 제주말의 유전적 다양성에 대한 분석 결과를 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 공시재료

제주말로 등록되어 제주경마장에서 경주말로 활용중인 제주말 46두를 포함 총 102두를 대상으로 하였다. 재료는 말의 경정맥으로부터 Heparin 및 Plain tube (Becton Dickinson, USA)로 채혈한 혈액을 3000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 혈구는 적혈구항원형과 혈구효소형, 혈청은 혈청단백질형의 분석에 이용하였다.

### 표준항혈청 및 보체

호주 퀸스랜드대학 말 유전학 연구소(Brisban, Queensland)로부터 구입한 표준항혈청 7개 시스템 23개 혈액인자(Aa, Ab, Ac, Af, Ca, Da, Db, Dc, Dd, De, Df, Dg, Dh, Dk, Dm, Dn, Ka, Pa, Pb, Qa, Qb, Qc, Ua) 및 보체를 이용하였다.

### 적혈구항원형 분석

Stormont 등[20]의 방법을 응용한 96 well microplate(녹

십자)를 이용하여 응집반응 및 용혈반응으로 적혈구항원형 검사를 실시하였다. 응집반응은 표준항혈청 40 u1와 0.9% NaCl 용액으로 3회 세척한 2% 적혈구 부유액 20 u1를 가하여 혼합한 후 37°C에서 15분간 반응 후 다시 혼합 30분과 60분에 응집유무를 판독한 후 4°C에서 overnight시킨 후 최종적으로 확인하였다. 용혈반응은 상기의 용량에 20 u1의 보체(흡착 토키혈청)를 혼합한 후 60분과 120분에 용혈상태를 판독하였다.

### 혈액단백질의 유전적 다양성 분석

혈청단백질인 A1B, ES, GC, TF의 유전적 다양성은 Yokohama 등[22]의 방법에 준하여 폴리아크릴아마이드 젤(Horizontal polyacrylamide gel electrophoresis : HPAGE)로 전기영동하여 염색 후 건조시켜 결과를 판독하였다. 혈구단백질인 HB좌우는 Yokohama와 Mogi [23]의 방법에 따라 등전점 전기 영동 후 염색치 않은 상태로 결과를 판독하였고, PGD와 AL의 유전적 다양성은 Sandberg [19]의 방법을 응용하여 전분 젤로 전기영동한 후 염색하여 결과를 판독하였다. 각각의 다양성검출에 사용한 염색액의 조성을 Table 1에서 보는 바와 같다.

### 유전자 빈도의 추정

적혈구항원형 및 혈액단백질형의 각 좌위에 대한 유전자 빈도의 산출은 Pirchner [17]의 simple gene counting 및 Andersson [1]의 방법에 따라서 추정하였다.

### 혈액형에 의한 친자감정

적혈구항원형 및 혈액단백질형의 각 좌위의 결과를 토대로 멘델의 유전양식에 준해 제주목장에서 사육중인 망아지 4두에 대한 친자감정을 실시하였다.

## 결 과

### 적혈구항원형 분석

제주말 102두의 적혈구항원형 A, C, K, P, Q, U 시스템에 대한 표현형을 나타낸 결과는 Table 2에서 보는 바와 같다.

Table 1. Lists of staining reagents for blood protein polymorphisms

Blood protein polymorphisms	Staining reagents
AL	Amidoblack 1g make up to 1,000 ml with destain sol. (Acetic acid : Methanol : D.W = 1 : 5 : 5)
PGD	0.2 g agar, NADP 4 mg, PMS 6 mg, MTT 8 mg and 6-PG 10 ml make up to 0.1 M Tris buffer 40 ml
A1B, GC, TF	Coomassie brilliant blue G 1 g and 60% Perchloric acid 60 ml make up to 1,000 ml with D.W
ES	0.19 M Trisaminomethane 200 ml, Fast blue B salt 30 mg, 0.05 M Citric acidmonohydrate 150 ml and 1% α-Naphthyl acetate 8 ml mixed

Table 2. Frequencies of blood groups in 102 Jeju horses

System	Phenotype	No.(%) of horse	System	Phenotype	No.(%) of horse
A	a	8 (7.84)	K	a	3 (2.94)
a/b		1 (0.98)	-		99 (97.06)
a/c		10 (9.80)	U	a	64 (62.75)
ab		2 (1.96)	-		38 (37.25)
ab/c		2 (1.96)	P	a/b	23 (22.55)
abf		3 (2.94)	-	a	27 (26.47)
abf/c		5 (4.90)	b		36 (35.29)
af		28 (27.45)	-		16 (15.69)
af/c		20 (19.61)	Q	a	1 (0.98)
b		3 (2.94)	abc		4 (3.92)
b/c		5 (4.90)	b		11 (10.78)
c		6 (5.88)	b/c		12 (11.76)
-		9 (8.82)	c		48 (47.06)
C	a	101 (99.02)	-		26 (25.49)
-		1 (0.98)			

표현형 A<sup>af</sup> 28두(27.45%), C<sup>a</sup> 101두(99.02%), K<sup>a</sup> 99두(97.06%), U<sup>a</sup> 64두(62.75%), P<sup>b</sup> 37두(36.27%), Q<sup>c</sup> 48두(47.06%)에서 높은 빈도를 나타냈으며, Table 3은 부모로부터 유전되는 적혈구 항원형 D시스템의 양식, 즉 유전자형을 나타낸 것으로 31개의 대립유전자 중 D<sup>cgm/dghm</sup> 14두(13.73%), D<sup>adn/cgm</sup> 10두(9.80%), D<sup>ad/cgm</sup> 9두(8.82%), D<sup>dghm/dghm</sup> 8두(7.84%), D<sup>cgm/cgm</sup> 8두(7.84%), D<sup>cgm/de</sup> 6두(5.88%), D<sup>bcm/dghm</sup> 5두(4.90%), D<sup>bcm/cgm</sup> 5두(4.90%), D<sup>de/de</sup> 4두(3.92%), D<sup>adn/adn</sup> 3두(2.94%), D<sup>adn/dghm</sup> 3두(2.94%), D<sup>de/dghm</sup> 3두(2.94%), D<sup>c(e)fgm/dghm</sup> 2두(1.96%), D<sup>ad/dghm</sup> 2두(1.96%), D<sup>adn/bcm</sup> 2두(1.96%), D<sup>adn/de</sup> 2두(1.96%), D<sup>dek/dn</sup> 2두(1.96%) 그리고 D<sup>adn/c(e)fgm</sup>, D<sup>ad/c(e)fgm</sup>, D<sup>ad/de</sup>,

D<sup>adn/dk</sup>, D<sup>adn/dk</sup>, D<sup>bcm/de</sup>, D<sup>bcm/bcm</sup>, D<sup>cgm/de</sup>, D<sup>cgm/dfk</sup>, D<sup>cgm/dek</sup>, D<sup>de/dk</sup>, D<sup>de/dghm</sup>, D<sup>dghm/de</sup>, D<sup>dghm/dk</sup> 가 각각 1두(0.98%)의 순으로 높은 빈도의 유전자형이 관찰되었다. 또한 null allele로 추정되는 D<sup>ad/c(e)fgm</sup>, D<sup>adn/c(e)fgm</sup>, D<sup>c(e)fgm/dghm</sup> 대립유전자가 4두에서 관찰되었다.

### 혈액단백질의 유전적 다형 분석

공시재료 102두에 대한 혈액단백질의 유전적 다형을 분석한 결과는 Table 4와 Figure 1-2에서 보는 바와 같다. 혈청단

Table 4. Frequencies of blood protein polymorphisms in 102 Jeju horses

Locus	Phenotype	No.(%) of horse	Locus	Phenotype	No.(%) of horse
AL	A	10 (9.80)	TF	D	1 (0.98)
	AB	43 (42.16)		DF <sub>2</sub>	5 (4.90)
	B	49 (48.04)		DO	2 (1.96)
GC	F	101 (99.02)	DR	2 (1.96)	
	FS	1 (0.98)		EF <sub>2</sub>	5 (4.90)
A1B	K	99 (97.06)	F <sub>2</sub>	26 (25.49)	
	KS	3 (2.94)		F <sub>2</sub> O	17 (16.67)
ES	F	24 (23.53)	F <sub>2</sub> R	22 (21.57)	
	FG	2 (1.96)		H <sub>2</sub> O	1 (0.98)
	FI	37 (36.27)		O	1 (0.98)
	G	2 (1.96)		OR	10 (9.80)
	GI	3 (2.94)		R	10 (9.80)
	HI	2 (1.96)		HB	AB1
	I	30 (29.41)		AB2	1 (0.98)
	S	2 (1.96)		A2B1	4 (3.92)
	D	1 (0.98)		B1	46 (45.10)
	F	88 (86.27)		B1B2	42 (41.18)
	FS	13 (12.75)		B2	7 (6.86)

Table 3. Frequencies of D blood groups in 102 Jeju horses

Genotype	No.(%) of horse	Genotype	No.(%) of horse
ad/cgm	9 (8.82)	bcm/dghm	5 (4.90)
ad/cgm(f)	1 (0.98)	cegmn/de	1 (0.98)
ad/de	1 (0.98)	cgm	8 (7.84)
ad/dghm	2 (1.96)	cgm(f)/dghm	2 (1.96)
adn	3 (2.94)	cgm/de	6 (5.88)
adn/bcm	2 (1.96)	cgm/dek	1 (0.98)
adn/cgm	10 (9.80)	cgm/dfk	1 (0.98)
adn/cgm(f)	1 (0.98)	cgm/dghm	14 (13.73)
adn/de	2 (1.96)	de/dghm	3 (2.94)
adn/dfk	1 (0.98)	dek	1 (0.98)
adn/dghm	3 (2.94)	dek/dghm	1 (0.98)
adn/dk	1 (0.98)	dek/dn	2 (1.96)
bcm	1 (0.98)	dghm	8 (7.84)
bcm/cgm	5 (4.90)	dghm/de	1 (0.98)
bcm/de	4 (3.92)	dghm/dk	1 (0.98)
bcm/dek	1 (0.98)		

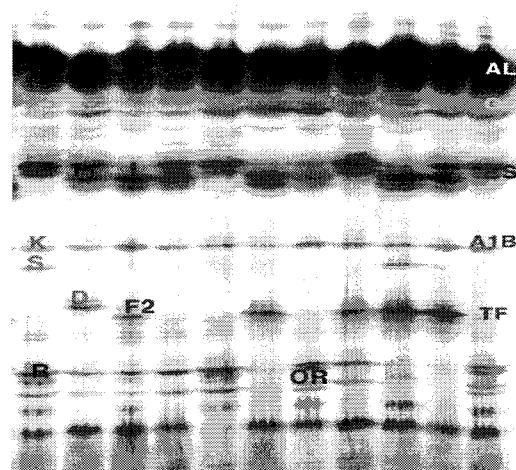


Fig. 1. Serum protein banding patterns for A1B, ES, GC, TF by horizontal polyacrylamide gel electrophoresis (HPAGE) in Jeju horse.

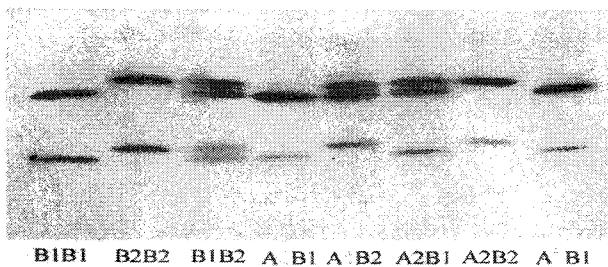


Fig. 2. Blood protein banding patterns for  $\alpha$ -hemoglobin (HB) polymorphism by isoelectric focusing(IEF) in Jeju horse.

백질형 AL좌위는  $AL^B$  표현형이 49두(48.04%), GC좌위는  $GC^F$  표현형이 101두(99.02%), A1B좌위는  $A1B^K$  표현형이 99두(97.06%), ES좌위는  $ES^{F1}$  표현형이 37두(36.27%), TF좌위는  $TF^{F2}$  표현형이 26두(25.49%)로 높은 빈도를 보였다. 또한 HB좌위는  $HB^{B1}$  표현형이 46두(45.10%), PGD좌위는  $PGD^F$  표현형이 88두(86.27%)로 높은 빈도를 보였으며, HB좌위는  $HB^{A2B1}$  표현형이 4두(3.92%),  $HB^{AB1}$  표현형이 2두(1.96%),  $HB^{AB2}$  표현형이 1두(0.98%), PGD좌위는  $PGD^D$  표현형이 1두(0.98%)로 특이하게 관찰되었다.

#### 적혈구항원형의 유전자 빈도

적혈구항원형의 유전자 빈도를 조사한 결과는 Table 5에서 보는 바와 같다. A 시스템은  $A^a(0.1324)$ ,  $A^{ab}(0.0294)$ ,  $A^{abf}(0.0539)$ ,  $A^{af}(0.3726)$ ,  $A^b(0.0588)$ ,  $A^c(0.2647)$ ,  $A^-(0.0882)$ 로 7개의 대립유전자가 관찰되었으며 C, K, U 시스템에서는 C 대립유전자(0.5050), K 대립유전자(0.9853), U 대립유전자(0.6863)가 높은 빈도를 나타내었다. P시스템은  $P^a(0.3775)$ ,  $P^b(0.4657)$ ,  $P^-(0.1568)$  대립유전자가 관찰되었다. Q 시스템은 Q<sup>c</sup> 대립유

Table 5. Gene frequencies of blood groups in 102 Jeju horses

System	Allele	Gene frequency	System	Allele	Gene frequency
A	Aa	0.1324	Q	Qa	0.0098
	Aab	0.0294		Qb	0.1667
	Aabf	0.0539		Qc	0.5294
	Aaf	0.3726		Qabc	0.0392
	Ab	0.0588		-	0.2549
	Ac	0.2647		Dad	0.0637
	A-	0.0882		Dadn	0.1275
	Ca	0.4950		Dbcm	0.0931
	C-	0.5050		Dcegmn	0.0049
	Ka	0.0147		Dcgm	0.3039
K	K-	0.9853		Dcgm(f)	0.0196
	Pa	0.3775	D	Dde	0.0883
	Pb	0.4657		Ddek	0.0343
P	P-	0.1568		Ddfk	0.0098
	Ua	0.3137		Ddghm	0.2353
	U-	0.6863		Ddk	0.0098
				Ddn	0.0098

전자와 Q<sup>c</sup> 대립유전자가 각각 0.5294, 0.2549로 높은 빈도를 보였고, Q<sup>abc</sup>(0.0392), Q<sup>a</sup>(0.0098), Q<sup>b</sup>(0.1667) 대립유전자가 관찰되었다. D 시스템은 D<sup>ad</sup>, D<sup>adn</sup>, D<sup>bcm</sup>, D<sup>cegmn</sup>, D<sup>cgm</sup>, D<sup>cgm(f)</sup>, D<sup>de</sup>, D<sup>dek</sup>, D<sup>d<sup>fgm</sup>, D<sup>dk</sup>, D<sup>dn</sup> 등 12종류의 대립유전자가 관찰되었다. 이들 중 D<sup>cgm</sup>(0.3039) 대립유전자가 가장 높은 빈도를 나타내었고, D<sup>cgm(f)</sup>(0.0196) 대립유전자가 특이하게 관찰되었는데 이는 D<sup>c<sup>fgm</sup> 혹은 D<sup>c(e)f<sup>gm</sup> 대립유전자의 null allele로 판단된다.</sup></sup></sup>

#### 혈액단백질형의 유전자 빈도

혈액단백질형의 유전자 빈도는 Table 6에서 보는 바와 같다. 혈액단백질형 7개 좌위에 대해서 유전자 빈도를 조사한 결과  $HB^{B1}(0.6863)$ ,  $PGD^F(0.9265)$ ,  $AL^B(0.6912)$ ,  $A1B^K(0.9852)$ ,  $GC^F(0.9950)$  대립유전자가 높은 빈도로 관찰되었으며, ES좌위는  $ES^F$ ,  $ES^G$ ,  $ES^H$ ,  $ES^I$ ,  $ES^S$  5개의 대립유전자 중  $ES^I(0.5000)$  가 가장 높은 빈도를 보였다. 또 TF좌위는  $TF^D$ ,  $TF^E$ ,  $TF^{F2}$ ,  $TF^{H2}$ ,  $TF^O$ ,  $TF^R$  6개의 대립유전자 중  $TF^{F2}(0.4950)$ ,  $TF^R(0.2647)$  대립유전자가 높은 빈도를 보였다. 또한  $HB^A(0.0147)$ ,  $HB^{A2}(0.0196)$ ,  $ES^G(0.0441)$ ,  $ES^H(0.0098)$ ,  $TF^E(0.0246)$ ,  $TF^{H2}(0.0049)$ ,  $PGD^D(0.0098)$ 의 대립유전자가 제주 말에서 특이하게 관찰되었다.

#### 혈액형에 의한 친자감정

적혈구항원형 및 혈액단백질형의 각 좌위의 결과를 토대로 망아지 4두에 대한 친자감정을 실시한 결과는 Table 7에서 보는 바와 같이 부모로부터 유전인자를 반반씩 물려받은 멘델의 유전양식에 부합되어 4두 모두에서 친자관계가 성립되었다. Foal I의 HB 좌위의 경우, 부의 대립유전자 표현형은 B2/B2, 모의 대립유전자 표현형은 B1/B1이다. 그래서 멘델의 유전양식에 따라 망아지는 부의 B2, 모의 B1을 물려받아 대립유전자가 B1/B2로 나타남으로서 친자관계가 성립되었다.

Table 6. Gene frequencies of blood protein polymorphisms in 102 Jeju horses

System	Allele	Gene frequency	System	Allele	Gene frequency
HB	A	0.0147	ES	G	0.0441
	A2	0.0196		H	0.0098
	B1	0.6863		I	0.5000
	B2	0.2794		S	0.0196
PGD	D	0.0098	GC	F	0.9950
	F	0.9265		S	0.0050
	S	0.0637		TF	0.0539
AL	A	0.3088		D	0.0246
	B	0.6912		E	0.0246
	F2	0.4950		F2	0.4950
A1B	K	0.9852		H2	0.0049
	S	0.0148		O	0.1569
	ES	0.4265		R	0.2647

Table 7. A case of parentage testing by red cell type and blood protein polymorphisms in 4 Jeju horse

Samples	Red cell type (system)							Blood protein type (locus)						Parentage testing	
	A	C	D	K	P	Q	U	AL	A1B	ES	GC	HB	TF	PGD	
Sire	a/c	a	adn/dghm	-	a	b/c	a	AB	K	FI	F	B2	F2R	F	
Dam	a/c	a	adn/cgm	-	a	c	a	B	K	FI	F	B1	DF2	F	Inclusion
Foal I	a/c	a	adn/cgm	-	a	c	a	AB	K	FI	F	B1B2	DF2	F	
Sire	a/c	a	adn/dghm	-	a	b/c	a	AB	K	FI	F	B2	F2R	F	
Dam	b/c	a	ad/cgm(f)	-	a	b	a	AB	K	FI	F	AB1	F2	F	Inclusion
Foal II	b/c	a	adn/cgm(f)	-	a	b	-	AB	K	FI	F	B1B2	F2R	F	
Sire	a/c	a	adn/dghm	-	a	b/c	a	AB	K	FI	F	B2	F2R	F	
Dam	af/c	a	adn/cgm	a	-	abc	a	B	K	F	F	B1	R	F	Inclusion
Foal III	a/c	a	adn	-	a	b/c	a	AB	K	FI	F	B1B2	F2R	F	
Sire	a/c	a	adn/dghm	-	a	b/c	a	AB	K	FI	F	B2	F2R	F	
Dam	a	-	bcm	-	-	b/c	a	B	K	FI	F	B1B2	F2R	F	Inclusion
Foal IV	a/c	a	adn/bcm	-	a	b/c	a	AB	K	F	F	B1B2	F2	F	

## 고 찰

제주말의 특성에 관한 혈청학적, 면역학적, 분자생물학적 및 형태학적 방법으로 많은 연구가 수행되었으나 제주말 고유의 유전적 특이인자 발굴은 상당히 미진한 실정이다. 그래서 제주말과 개량말인 더러브레트파의 교잡을 예방하고 제주말의 순수성을 보존함과 동시에 과학적이고 체계적인 관리와 유전자원의 보호를 목적으로 우선 혈액형에 의한 제주말의 유전적 다양성을 분석하였다.

조 등[2,6]은 제주말 73두를 대상으로 적혈구항원형과 혈액단백질형의 유전자 빈도를 분석한 결과 대립유전자  $A^b$ (0.128),  $A^c$ (0.169),  $D^{ad}$ (0.103),  $D^{adn}$ (0.075),  $D^{dghm}$ (0.226),  $P^b$ (0.316),  $Q^c$ (0.494),  $A1B^K$ (0.986),  $AL^B$ (0.616),  $ES^I$ (0.479),  $GC^F$ (0.938),  $HB^{B1}$ (0.685),  $PGD^F$ (0.993),  $TF^{F2}$ (0.404)에서 높은 빈도를 보였다고 보고하였고, 정 등[8,9]은 제주말 116두의 혈액단백질형의 대립유전자 빈도를 조사한 결과 대립유전자  $AL^A$ 는 0.358,  $AL^B$ 는 0.642,  $TF^D$ ,  $TF^F$ ,  $TF^H$ ,  $TF^O$ ,  $TF^R$ 이 각각 0.065, 0.496, 0.034, 0.060, 0.345, 그리고  $A1B^F$ (0.034),  $A1B^K$ (0.996)의 빈도를 보고한 바 있다.

한 등[10]은 제주마 114두를 대상으로  $HB$ 좌위의 유전자 빈도를 조사한 결과 대립유전자  $HB^{A1}$ (0.1097),  $HB^{B1}$ (0.6096),  $HB^{B2}$ (0.2087)의 빈도를 보고하였고, Oh 등[16]은 제주마 269두를 대상으로 유전자 빈도를 조사한 결과  $AL^A$ (0.398),  $AL^B$ (0.602),  $ES^F$ (0.266),  $ES^I$ (0.712),  $ES^S$ (0.022)를 보고하였고, 211두 제주마에서  $HB$ 좌위의 유전자 빈도를 분석한 결과  $HB^A$ (0.102),  $HB^{B1}$ (0.620),  $HB^{B2}$ (0.260)로 나타났으며 212두를 대상으로 한 PGD좌위의 유전자 빈도는  $PGD^F$ (0.823),  $PGD^S$ (0.566)로 보고한 바 있다.

또 조[5]는 몽고말 19두를 대상으로 적혈구항원형 및 혈액단백질형의 유전자 빈도를 조사한 결과 대립유전자  $A^a$ (0.4211),  $C^a$ (0.8947),  $K^a$ (0.8421),  $U^a$ (0.6316),  $P^a$ (0.4474),  $Q^c$ (0.4474),  $D^{dghm}$ (0.4211),  $AL^B$ (0.6579),  $A1B^K$ (0.9211),  $ES^I$ (0.7895),  $GC^F$ (0.8947),

$HB^{B1}$ (0.7895),  $PGD^F$ (0.8421),  $TF^R$ (0.3421)가 높은 빈도로 관찰되었다고 보고한 바 있다.

조 등[2]은 적혈구항원형의 대립유전자  $D^{dghm}$ , 정 등[8,9]은 혈액단백질형  $HB^{B1}$  대립유전자,  $A1B^K$  대립유전자에서 제주말과 몽고말이 유사하게 높은 빈도를 보였으며,  $ES^I$  대립유전자,  $PGD^F$  대립유전자,  $HB^{B1}$  대립유전자 등에서 한 등[10], Oh 등[16]의 성적과 유사한 결과를 보였고, 몽고말의 혈액단백질형에서 특이하게도  $HB^{A2B2}$ (5.3%),  $PGD^{DS}$ (5.3%) 대립유전자가 관찰되었다고 보고한 바 있다[5].

제주말 102두를 대상으로 7개 시스템 23개의 혈액인자와 7개 좌위에 대한 유전적 다양성을 조사한 본 연구에서는  $A^{af}$ (0.3726),  $A^c$ (0.2647),  $C^c$ (0.5050),  $K^c$ (0.9853),  $U^c$ (0.6863),  $P^b$ (0.4657),  $Q^c$ (0.5294),  $D^{cgm}$ (0.3039),  $HB^{B1}$ (0.6863),  $PGD^F$ (0.9265),  $AL^B$ (0.6912),  $A1B^K$ (0.9852),  $GC^F$ (0.9950),  $ES^I$ (0.5000),  $TF^{F2}$ (0.4950) 대립유전자가 가장 높은 빈도를 나타내었고

$D^{cgm(f)}$ (0.0196) 대립유전자가 특이하게 관찰되었는데 이는  $D^{cfg(k)m}$  혹은  $D^{c(e)f}gm$  대립유전자의 null allele로 사료된다[12]. 또한  $HB^A$ (0.0147),  $HB^{A2}$ (0.0196),  $ES^C$ (0.0441),  $ES^H$ (0.0098),  $TF^E$ (0.0246),  $TF^{H2}$ (0.0049),  $PGD^D$ (0.0098)의 대립유전자가 제주말에서 특이하게 관찰되었다.

또한 한 등[10]이 보고한  $HB^{A1}$  대립유전자는 본 실험의  $HB^A$ , 정 등[8]이 보고한  $TF^F$  대립유전자는  $TF^{F2}$ 와 동일한 대립유전자 일 것으로 사료된다.

본 연구를 통해서 그 동안 제주말을 연구한 여러 연구자들[2,6,8,9,16]의 성적과 거의 동일한 결과를 얻을 수 있었으며, 혈액형에 의한 제주말의 유전적 다양은  $A^{af}$ ,  $A^c$ ,  $C^c$ ,  $K^c$ ,  $U^c$ ,  $P^b$ ,  $Q^c$ ,  $D^{cgm}$ ,  $D^{dghm}$ ,  $D^{adn}$ ,  $HB^{B1}$ ,  $PGD^F$ ,  $AL^B$ ,  $A1B^K$ ,  $GC^F$ ,  $ES^I$ ,  $TF^{F2}$  대립유전자의 빈도가 비교적 높은 것으로 관찰되었고  $A^{ab}$ ,  $A^{abf}$ ,  $D^{cgm(f)}$ ( $D^{cfg(k)m}$  혹은  $D^{c(e)f}gm$ ),  $HB^A$ ,  $HB^{A2}$ ,  $ES^G$ ,  $ES^H$ ,  $TF^E$ ,  $TF^{H2}$ ,  $PGD^D$ 의 대립유전자가 제주말에서 특이하게 관찰되었다.

적혈구항원형 및 혈액단백질형의 각 좌위의 결과를 토대

로 망아지 4두에 대한 친자감정을 실시한 결과 멘델의 유전 양식에 부합되어 4두 모두에서 친자관계가 성립되었다. 현재 제주말의 혈통등록을 위한 친자판정은 주로 microsatellite markers [7,21]를 이용하고 있으나 돌연변이 등의 문제로 인해 친자판정이 곤란할 경우 본 연구의 혈액형 감정방법을 이용할 수 있는 유용한 자료로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

제주말과 유사한 체격에 외모가 격칠고 지구력이 있으며 번식력이 강한 종으로 중국대륙의 북부와 동부에 걸쳐 넓은 초원지대의 척박한 환경에서 생활하는 유목민에게 이동수단과 식량자원으로 이용되는 중요한 가축인 몽고말(Mongolian horse)은 아시아의 다른 품종들에 많은 영향을 준 것으로 알려져 있다[11,15]. 이는 13-14세기 몽고족인 원나라가 중국 본토를 중심으로 동아시아를 침략하고 지배하면서 많은 말을 탈취, 사육했던 몽고 유목민의 전투적인 기질에 기인한 것으로 추측된다. 제주말은 본래 소형마로 추정되나 원나라가 통치하던 시기에 몽고말에 의해 혼혈되었고 이러한 몽고말의 유전적 유입이 지금의 제주말에 큰 영향을 미친 것으로 알려져 있다[13].

일본의 Tozaki 등[21]은 몽고마 30두, 제주마 21두, 일본말 135두에 대해서 microsatellite DNA 다형을 조사한 결과 몽고마가 제주마에 유전적 영향을 미쳤으며 일본말의 기원이 됐다고 보고한 바 있다.

이상의 적혈구항원형 및 혈액단백질형 분석 결과를 토대로 제주마의 기원을 부분적으로 추정할 수 있으나 더욱더 정확한 결과를 얻기 위해서는 더 많은 시료와 검사항목, 그리고 한반도 주변 국가의 재래종 말과 연관시켜 microsatellite DNA형을 포함한 SNP marker [18] 등 다양한 좌위 및 계통 분류학적 분석 등으로 연관성을 구명하여야 할 것으로 사료된다.

## 요 약

제주말의 혈통보존을 위한 기초자료를 마련할 목적으로 국내에서 사육중인 제주말 102두를 대상으로 적혈구항원형 및 혈액단백질형의 유전적 다형성을 조사한 결과는 다음과 같다. 적혈구항원형의 표현형 빈도는 A<sup>af</sup> 28두(27.45%), C<sup>a</sup> 101두(99.02%), K<sup>c</sup> 99두(97.06%), U<sup>a</sup> 64두(62.75%), P<sup>b</sup> 37두(36.27%), Q<sup>c</sup> 48두(47.06%)에서 높은 빈도를 나타냈으며, D시스템의 31개의 대립유전자 중 D<sup>cgm/dghm</sup> 14두(13.73%), D<sup>adn/cgm</sup> 10두(9.80%), D<sup>ad/cgm</sup> 9두(8.82%), D<sup>dghm/dghm</sup> 8두(7.84%), D<sup>cgm/cgm</sup> 8두(7.84%)에서 높은 빈도의 유전자형이 관찰되었다. 또한 null allele로 추정되는 D<sup>ad/c(e)fgm</sup>, D<sup>adn/c(e)fgm</sup>, D<sup>c(e)fgm/dghm</sup> 대립유전자가 4두에서 관찰되었다. 혈액단백질형은 AL<sup>B</sup> 49두(48.04%), GC<sup>F</sup> 101두(99.02%), A1B<sup>K</sup> 99두(97.06%), ES<sup>Fl</sup> 37두(36.27%), TF<sup>F2</sup> 26두(25.49%), HB<sup>B1</sup> 46두(45.10%), PGD<sup>F</sup> 88두(86.27%)로 높은 빈도를 보였으며,

HB<sup>A2B1</sup> 4두(3.92%), HB<sup>AB1</sup> 2두(1.96%), HB<sup>AB2</sup> 1두(0.98%), PGD<sup>D</sup> 1두(0.98%)가 특이하게 관찰되었다. 유전자 빈도는 A<sup>af</sup>(0.3726), A<sup>c</sup>(0.2647), C<sup>a</sup>(0.5050), K<sup>c</sup>(0.9853), U<sup>a</sup>(0.6863), P<sup>b</sup>(0.4657), Q<sup>c</sup>(0.5294), D<sup>cgm</sup>(0.3039), HB<sup>B1</sup>(0.6863), PGD<sup>F</sup>(0.9265), AL<sup>B</sup>(0.6912), A1B<sup>K</sup>(0.9852), GC<sup>F</sup>(0.9950), ES<sup>Fl</sup>(0.5000), TF<sup>F2</sup>(0.4950) 대립유전자가 가장 높은 빈도를 나타내었고 D<sup>cgm(f)</sup>(0.0196), HB<sup>A</sup>(0.0147), HB<sup>A2</sup>(0.0196), ES<sup>G</sup>(0.0441), ES<sup>H</sup>(0.0098), TF<sup>E</sup>(0.0246), TF<sup>H2</sup>(0.0049), PGD<sup>D</sup>(0.0098)의 대립유전자가 제주말에서 특이하게 관찰되었다. 결론적으로 혈액형에 의한 제주말의 유전적 다형은 A<sup>af</sup>, A<sup>c</sup>, C<sup>a</sup>, K<sup>c</sup>, U<sup>a</sup>, P<sup>b</sup>, Q<sup>c</sup>, D<sup>cgm</sup>, D<sup>dghm</sup>, D<sup>adn</sup>, HB<sup>B1</sup>, PGD<sup>F</sup>, AL<sup>B</sup>, A1B<sup>K</sup>, GC<sup>F</sup>, ES<sup>Fl</sup>, TF<sup>F2</sup> 대립유전자의 빈도가 비교적 높은 것으로 관찰되었고 A<sup>ab</sup>, A<sup>abf</sup>, D<sup>cgm(f)</sup>(D<sup>cfg(k)jm</sup> 혹은 D<sup>c(e)fgm</sup>), HB<sup>A</sup>, HB<sup>A2</sup>, ES<sup>G</sup>, ES<sup>H</sup>, TF<sup>E</sup>, TF<sup>H2</sup>, PGD<sup>D</sup>의 대립유전자가 제주말에서 특이하게 관찰되었다.

## 감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 바이오그린21사업(과제번호: 20050401034715)의 지원에 의해 수행된 연구결과의 일부이며, 연구비 지원에 감사드립니다.

## 문 헌

1. Andersson, L. 1985. The estimation of blood group gene frequencies: a note on the allocation method. *Anim. Blood Grps. Biochem. Genet.* **16**, 1-7.
2. Cho, G. J., T. S. Kim, Y. H. Um, B. H. Kim and J. S. You. 1999. Genetic studies of blood markers in Cheju horses. I. Red blood cell types. *Korean J. Vet. Res.* **39**, 1066-1072.
3. Cho, G. J. and B. H. Kim. 2000a. Studies on blood types in Thoroughbred horses. *Korean J. Vet. Res.* **40**, 683-689.
4. Cho, G. J. 2004a. Parentage testing for Thoroughbred horse by microsatellite DNA typing. *J. Anim. Sci. & Technol. (Kor.)* **46**, 129-136.
5. Cho, G. J. and B. W. Cho. 2004b. Analysis of redcell and blood protein typing in Mongolian horse. *J. Anim. Sci. & Technol. (Kor.)* **46**, 887-896.
6. Cho, G. J., B. H. Kim, D. S. Lee and K. K. Lee. 2000b. Genetic studies of blood markers in Cheju horses. II. Blood protein types. *Korean J. Vet. Res.* **40**, 283-290.
7. Cho, G. J. and B. W. Cho. 2004. Microsatellite DNA Typing using 16 markers for parentage verification of the Korean native horse. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* **17**, 750-754.
8. Chung, E. Y., S. K. Han and Y. C. Shin. 1990a. Studies on the biochemical polymorphism of blood protein and enzyme in Cheju native horses. I. Genetic polymorphism of serum protein. *Korean J. Anim. Sci.* **32**, 298-308.
9. Chung, E. Y., S. K. Han and Y. C. Shin. 1990b. Studies on the biochemical polymorphism of blood protein and enzyme in Cheju native horses. II. Genetic polymorphism of blood enzyme. *Korean J. Anim. Sci.* **32**, 581-587.
10. Han, S. K., E. Y. Chung and Y. C. Shin. 1992. Studies on

- genetic polymorphism of Hb in Cheju native horse by isoelectric focusing. the biochemical Korean J. Anim. Sci. **34**, 338-342.
11. Ishida, N., T. Oyunsuren., S. Mashima., H. Mukoyama and N. Saitou. 1995. Mitochondrial DNA sequence of various species of the genus *Equus* with special reference to the phylogenetic relationship between Przewalski's wild horse and domestic horse. J. Mol. Evol. **41**, 180-188.
  12. Kakoi, H., H. Kawahara and N. Miura. 1995. Unusual D system inheritance in Anglo-Arab horse. Anim. Genet. **26**, 53-54.
  13. Kang, M. H. 1969. Historical and morphological studies on the Korean native horse. Korean J. Anim. Sci. **11**, 351-379.
  14. Miura, N. 1994. Blood typing service in light-breed horses. Jpn. J. Equine Sci. **4**, 187-190.
  15. Nozawa, K. 1992. Origin and ancestry of Native horse in eastern Asia and Japan. Jpn. J. Equine Sci. **3**, 1-18.
  16. Oh, M. U., M. H. Ko and G. O. Kim. 1992. Genetic variations of the blood protein in Cheju native horses. Korean J. Genet. **14**, 39-50.
  17. Pirchner, F. 1983. Population genetics in animal breeding. Freeman Company, San Fransisco.
  18. Shubitowski, D. M., P. J. Venta., C. L. Douglass., R. X. Zhou and S. L. Ewart. 2001. Polymorphism identification within 50 equine gene-specific sequence tagged sites. Anim. Genet. **32**, 78-88.
  19. Sandberg, K. 1973. Phosphohexose isomerase polymorphism in horse erythrocytes. Anim. Blood Grps. Biochem. Genet. **4**, 79-82.
  20. Stormont, C., Y. Suzuki and E. A. Rhode. 1964. Serology of horse blood groups. Cornell Vet. **54**, 439-452.
  21. Tozaki, T., N. Takezaki., T. Hasegawa., N. Ishida., M. Kurosawa., M. Tomita., N. Saitou and H. Mukoyama. 2003. Microsatellite variation in Japanese and Asian horses and their phylogenetic relationship using a European horse out group. J. Heredity **94**, 374-380.
  22. Yokohama, M., Y. Watanabe and H. Kawahara. 1987. Horizontal polyacrylamide gel electrophoresis for equine serum protein types. J. Anim. Genet. **15**, 22-27.
  23. Yokohama, M. and K. Mogi. 1983. Polymorphism of equine hemoglobin by the isoelectric focusing method. Jpn. J. Zootech. Sci. **54**, 794-797.