

Holstein의 유량과 유지방 생산에 미치는 Mitochondrial DNA D-loop 영역의 염기 서열 변이 효과

오재돈 · 공홍식 · 이학교 · 전광주[†]

국립한경대학교 유전정보연구소

초 록

본 연구는 젃소(Holstein종)의 mtDNA D-loop 영역 염기변이가 다형성과 경제형질간의 관련성을 분석하기 위하여 수행하였다. 젃소의 mtDNA D-loop 영역에서 단일염기의 치환에 의해 총 35개의 polymorphic site가 확인되었다. 그중 주요 Polymorphic site의 염기변이 빈도는 106, 169, 16057, 16231 및 16255 지역에서 높은 빈도의 염기치환이 검출되었다. 169 지역은 A가 G로 염기치환이 일어났고 그 빈도는 0.555로 높게 나타났으며 염기치환에 의한 산유량 효과는 1259.6 kg($P < 0.05$)로 나타났다. 유지방과의 관계를 분석한 결과 16118 지역은 A가 G로 치환되는 빈도가 0.02로 검출되었으며, 16135 지역은 T가 C로 치환되는 빈도가 0.02로 검출되었고, 16302 지역은 G가 A로 치환되는 빈도가 0.04로 검출되었다. 이 지역들이 유지방에 미치는 변이 효과는 -156, -118.15 및 -67.77 kg($P < 0.1$)으로 나타났다. 본 연구에서 검출한 젃소 mtDNA내 D-loop 영역의 염기서열 변이 빈도와 유량, 유지방과의 연관성 분석 결과 등은 젃소집단의 유전적 변이성 추정과 좀 더 다양한 경제형질과의 관련성 분석으로 다양한 유전적 지표인자 발굴에 도움이 될 것이며 이를 통해 분자유전학적 기법을 이용한 젃소의 육종전략을 확립하는데 기초 자료가 되는 것은 물론 분자유종학적인 연구에 기초 자료로서 유용하게 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

(주제어 : mtDNA, D-loop region, Sequence variation, Holstein)

서 론

유우의 번식과 유생산능력을 개량하기 위해선 철저하고 정확한 육종 프로그램에 따른 진행은 매우 중요하다. 멘델의 유전법칙과 통계학적 방법론을 이용하여 부모들을 선발하는데 이는 육종적 가치가 높은 개체들을 다음 세대에서 얻기 위함이다. 여기에 핵 내 유전적 변이효과를 추가하여 사용함으로써 개체의 선발에 있어 보다 높은 정확도와 시간적, 물질적 절약을 더해주고 있다.

산유량과 번식에 있어 세포질 유전효과의 존재를 여러 연구들을 통해 증명되었다. Bell 등(1985)은 암소에서 산유량과 유지방 및 유지율에서 세포질 유전효과를 분석을 통하여 설명하였으며, 또 다른 보고에서는 유량과 유조성분의 변이가 모성의 영향을 받는다고 보고하였다(Huizinga et al., 1986; and Schutz et al., 1992). 젃소에서의 에너지결핍은 낮은 수태율을 초래한다는 것은 잘 알려진 사실이다(Harrison et al., 1990). 미토콘드리아와 세포의 신진대사에너지와는 매우 밀접한 관계에 있기 때문이다. 여러 연구를 통해 번식능력 평가에서 출산 후 다음 임신주기 시 수태율에 미치는 세포질 유전효과가 보고된 바 있다(Bell et al., 1985; Huizinga et al., 1986; Faust et al., 1989).

Mitochondrial DNA (mtDNA)는 핵 DNA 보다 염기치환의 진화 속도가 빠르고(Brown 등, 1979), 핵 DNA의 유전방식과는 다른 모계 유전을 한다는 특성이 보고(Hutchinson 등, 1974)되어 인류를 비롯한 많은 포유동물에서 종내 및 근연종 사이의 유전학적 관계를 연구하는데 매우 유용한 도구로 활용되고 있다.

포유동물의 미토콘드리아 DNA는 약 16.5 kb 크기를 가지는 이중 환상 구조의 분자로서 모계 유전되며, 핵 DNA와는 독립적으로 복제하는 genome이다(Anderson 등, 1981).

최근에 와서는 mtDNA D-loop 영역의 염기 서열 차이를 분석하여 종 및 품종간 진화와 계통 분류 연구(Bradley 등, 1996; Mannen 등, 1998b; Kim 등 1999), 그리고 산유량과 유 조성분 등 경제형질(Ron 등, 1993; Schutz 등, 1993; Boettcher 등, 1996)과 관련된 새로운 유전정보로서 활용이 시도되고 있다. 특히, 세포질 유전효과는 재조합(recombination) 현상 없이 모성유전하기 때문에 mtDNA D-loop 변이에 따라 모계를 분류하기 쉽고 핵과 세포질 효과에서 바람직한 유전적 잠재능력을 갖는 모계계통의 검색이 가능하다(Mannen 등, 1998a).

국내에서 사육되고 있는 소 집단들을 대상으로 모계계통을 중심으로 한 mtDNA D-loop 지역의 연구는 아직까지 미흡한 수준에 있다(정 등, 1996; 이 등, 1998). 본 연구는

* 본 연구는 농림부 농림기술개발사업의 과제인 "세포질 유전효과를 고려한 젃소의 유전능력평가 모델 및 선발지수개발"의 지원에 의해 이루어진 것임.

[†] Corresponding author : G. J. Jeon, Department of Genomic Engineering, Genomic Informatics Center, Hankyong National University, Ansong 456-749, Korea. TEL : +82-31-670-5330, FAX : +82-31-675-5331, E-mail: gjjeon@hnu.hankyong.ac.kr

국내의 젖소 집단을 대상으로 한 분자유전학적 선발 지표의 기초 자료를 얻고자 mt DNA의 D-loop 영역의 변이와 경제형질간의 연관성을 규명하기 위해 수행하였다.

재료 및 방법

공시축

본 연구에서 이용한 공시 재료는 유생산 성적을 보유하고 있는 젖소 집단 200두를 선발하여 5~10 ml의 혈액을 EDTA가 함유된 tube에 채혈하였다.

1) Genomic DNA의 분리 및 정제

공시축의 혈액으로부터 DNA의 분리 및 정제는 Genomic DNA Extraction Kit(Bioneer™)으로 제작사의 지침서에 따라 분리 정제하였고, 분리된 DNA는 TE buffer (10mM Tris-HCl pH 7.4 : 1mM EDTA)에 용해하였다.

2) mtDNA D-loop 영역의 primer 합성 및 PCR 증폭

소 mtDNA의 D-loop 영역을 증폭 및 염기 서열 결정을 위한 primer들은 Anderson 등(1982)의 보고를 토대로 하여 15758번과 383번 사이를 지정하는 염기 서열 부위에서 Table 1과 같이 제작하였다.

PCR 증폭은 template DNA 약 200 ng, 10 pmol primer 각 0.5 μ l, dNTP 5 μ l, 10X PCR Buffer 2.5 μ l, Taq DNA polymerase (IBS) 1 unit의 구성에 D.W.를 첨가하여 총 부피를 25 μ l로 하였으며, GeneAmp PCR System 2700 (Applied biosystems)을 이용하였다. PCR 조건은 최초 94 $^{\circ}$ C에서 5분간 denaturation을 실시하고, 94 $^{\circ}$ C에서 1분, 56 $^{\circ}$ C에서 1분, 그리고 72 $^{\circ}$ C에서 2분간 총 30회 반복한 후 최종적으로 72 $^{\circ}$ C에서 10분간 반응시킨 후 종료하였다. PCR 증폭산물은 1% TBE agarose gel을 이용하여 전기영동한 결과 964 bp 크기의 mtDNA D-loop 지역의 증폭 산물을 확인하였다.

3) mt DNA D-loop 영역의 염기서열 분석

PCR product 5 μ l에 ExoSAP-IT(Amersham Biosciences, USA) 2 μ l을 첨가하여 총 부피를 7 μ l로 하여 37 $^{\circ}$ C에서 20분간 반응시켜 증폭된 산물 이외의 것들을 제거하여 준 다음 E.T terminator dye(Amersham Biosciences, USA)을 제작사의 지침서에 따라 Table 1의 primer와 함께 Ge-

neAmp PCR System 2700 (Applied Biosystems)을 이용하여 재증폭 과정을 수행하였다.

전처리되어진 PCR product를 다시 한 번 AutoSap (Amersham Biosciences, USA)을 이용하여 purification한 후 염기서열 결정은 MegaBACE DNA Analysis systems (Amersham Biosciences, USA)를 이용하여 수행하였으며, SeqMan™ II (DNASTAR Inc)을 이용하여 개체간의 DNA 염기서열 변이 여부를 분석하였다.

통계분석

검출된 mtDNA의 D-loop 영역내 염기변이와 한우 경제형질과의 관련성을 검증하기 위하여 SAS (Ver.8.2)를 이용하여 아래의 다중 회귀식을 이용하여 분석하였다. 회귀식에서 mtDNA D-loop영역내 polymorphism site는 dummy 변수 (1=original, 2=mutation)로 이용하였다.

$$Y_{ijk} = \mu + Y_i + S_j + Pm_k + Par_l + b_1G_1 + \dots + b_{12}G_{12} +$$

위 식에서

Y_{ijk} = 산유량, 유지방, 유지율,

μ = 전체 평균,

Y_i = 출생 년도,

S_j = 분만 계절,

Pm_k = 분만 월령,

Par_l = 분만 산차,

$b's$ = 회귀계수,

G_s = mtDNA의 D-loop 영역 내 polymorphism site (dummy 변수; 1=original, 2=mutation),

e_{ijk} = 임의 오차.

결과 및 고찰

소 mt DNA의 D-loop 영역을 포함하고 있는 15758번과 383번 사이를 지정하는 염기서열 부위의 964 bp 단편을 특정 염기서열을 갖고 있는 primer를 이용하여 PCR 증폭하여 PCR 산물을 1.5% agarose gel 전기영동법으로 확인한 결과 Fig. 1의 결과를 얻었다. 이는 예상했던 결과인 964 bp 크기의 band만이 Fig. 1에서와 같이 검출되었고 그 밖의 다른 band는 검출되지 않아 PCR 증폭이 성공적으로 수행되었음을 알 수 있었다.

mtDNA D-loop 영역내 염기서열 변이를 조사하고 관련

Table 1. Primer sequences and positions used for mtDNA D-loop analysis

Primer	Sequences	Position*	Usage
mtU3	5'-CCCAAAGCTGAAGTTCTATT-3'	15758 ~ 15777	PCR
mtL1	5'-TTGGGTTAAGCTACATCAAC-3'	364 ~ 383	"
bDL1	5'-TCAACACAGAATTTGCACCC-3'	15863 ~ 15882	Sequencing
bDL2	5'-TAAATTATATGCCCCATGC-3'	16012 ~ 16030	"

* The nucleotide in positions based on Anderson et al. (1982).

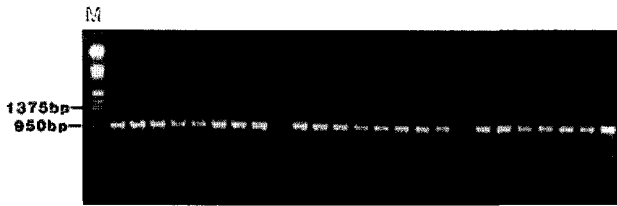


Fig. 1. Electrophoresis of PCR products of bovine mtDNA D-loop region for Hanwoo. M: λ DNA/EcoR I+Hind III size standard marker (Promega).

성 분석을 실시하고자 젖소 집단 200두의 정제된 PCR 증폭산물을 직접 염기서열 결정법을 이용하여 염기서열 변이를 조사하였다.

Table 2에서는 Holstein종 200두의 mtDNA D-loop 영역 내 염기변이가 일어난 지역과 빈도를 나타낸 것이다. Schutz 등(1994)의 보고에서는 17개 지역에서 염기변이가 검출되었고 본 연구의 염기서열분석 결과 총 35개의 지역에서 염기변이가 검출되었다. 변이 지역이 넓게 분포하여 있는 것이 특징이기는 하지만 그 빈도가 상대적으로 낮은 수준으로 검출되었다. 본 연구의 106, 169, 16057, 16231 및 16255 지역에서 비교적 높은 빈도의 염기치환이 검출되었으며 젖소에서의 보고(Shutz 등, 1994)와 비교하였을 때 106, 169, 16057 및 16231 bp 지역에서 양쪽 모두에서 비교적 높은 변이빈도가 검출되었다. 한우의 D-loop 지역 변이(정 등, 2002; 윤, 2002)와의 비교에서는 106, 169, 16057 및 16255 bp 지역들이 양쪽 모두에서 비교적 높은 변이빈도가 검출되었다.

Table 3은 산차별 305일 보정 산유량, 유지방 생산량과 유지율의 평균과 생산량의 총 평균을 제시한 것이다.

Table 4에서는 mtDNA D-loop 영역내 염기변이를 조사한 결과를 토대로 하여 젖소집단 200두의 유생산량 및 유지방과 주요 변이부위들(Table 2)과의 관계를 통계적 분석을 통하여 관련성을 분석하여 제시하였다.

본 연구에서 8 bp 지역의 염기 G가 A로 치환된 빈도는 0.015이며 유지율에 미치는 변이효과는 0.66 %($P < 0.1$)로 유의한 경향이 나타났다. Schutz 등(1994)은 169 bp 지역에서 A가 G로 치환되는 빈도가 0.80이며 유량과 유지방, SNF 및 Lactation energy에서의 변이 효과가 유의하게 도출되었다고 보고하였다. 본 연구에서 이 지역의 염기치환 변이

Table 2. Polymorphic event and frequency of sequence polymorphic location of mt DNA D-loop region in herd of Holstein

Location in D-loop*	Polymorphic event	Frequency
8	G → A	0.015
106	T → C	0.090
169	A → G	0.555
173	A → G	0.020
16042	T → C	0.030
16049	C → T	0.020
16053	T → C	0.005
16057	G → C	0.055
16062	A → G	0.005
16069	A → G	0.005
16074	T → C	0.015
16085	T → C	0.005
16086	G → A	0.005
16087	T → C	0.010
16093	G → A	0.005
16108	T → C	0.005
16116	T → C	0.005
16118	A → G	0.020
16119	T → C	0.015
16121	G → A	0.005
16122	T → C	0.020
16126	T → C	0.005
16127	C → A	0.010
16135	T → C	0.020
16138	T → C	0.005
16139	C → T	0.010
16141	T → C	0.005
16143	A → G	0.015
16185	G → A	0.020
16231	C → T	0.090
16247	C → T	0.020
16250	A → G	0.040
16255	T → C	0.050
16260	C → T	0.035
16302	G → A	0.040

Table 3. Means of classified by parity on production of Holstein

Parity	Milk yield ^a (kg)	Milk fat ^b (kg)	Milk fat percentage ^c (%)
1	6757.40±1833.3	248.26± 74.3	3.67±0.5
2	7549.63±1976.9	280.13± 69.0	3.75±0.6
3	7948.08±2359.8	301.01±102.5	3.81±0.4
4	7545.10± 853.0	275.28± 14.7	3.69±0.5
5-over	6670.04± 214.4	273.28± 8.8	4.10±0.1
Average	7117.94±1866.1	263.19± 73.6	3.71±0.5

^{a,b,c} : 305 day corrected yield.

* Nucleotide in position based on Anderson et al.(1982).

Table 4. The effect of mtDNA D-loop region variation on production of Holstein

Site	Polymorphic event	Milk yield ^a (kg)	Milk fat ^b (kg)	Milk fat percentage ^c (%)
8	G → A	- 413.29	34.00	0.66 [*]
106	T → C	84.43	30.28	0.42
169	A → G	1529.67 [*]	25.29	- 0.32 [*]
173	A → G	720.10	796.49	1.04
16042	T → C	2139.37	34.64	- 0.04
16053	T → C	- 4057.34	- 156.09	0.14
16118	A → G	1843.64	166.15 [*]	1.65 [*]
16119	T → C	2174.20	110.10	0.21
16135	T → C	- 2023.92	- 118.45 [*]	- 0.28
16231	C → T	701.60	21.492	0.22
16250	A → G	1633.07	51.57	- 0.15
16260	C → T	- 755.10	23.58	0.61 [*]
16302	G → A	- 1817.03	- 67.77 [*]	- 0.30

^{ab} : 305 day corrected yield.^{*}: $p < 0.05$, [†]: $p < 0.1$.

빈도는 0.555로 검출되었으며 염기치환에 의한 산유량 효과는 1259.6 kg($P < 0.05$)로 나타났으며 유지율에서는 - 0.32 %($P < 0.1$)로 유의한 경향을 보이고 있다. 16118 bp 지역은 A가 G로 치환되는 빈도가 0.02로 검출되었는데, Schutz 등(1994)의 보고에서는 변이가 나타나지 않았으며 한우(정 등, 2002; 윤, 2002)와 일본화우(Mannen, 1998b)에서도 나타나지 않았다. 이 지역이 유지방에 미치는 변이 효과는 - 156 kg($P < 0.1$)으로 나타났으며 유지율에서의 변이 효과는 1.65 %($P < 0.05$)로 고도의 유의성이 도출되었다. 16135 bp 지역은 T가 C로 치환되는 빈도가 0.02로 검출되었지만 Schutz 등(1994)의 보고와 한우(정 등, 2002; 윤, 2002), 일본화우(Mannen, 1998b)에서는 변이가 나타나지 않았다. 이 지역이 유지방에 미치는 변이 효과는 - 118.15 kg($P < 0.1$)으로 나타났다. 16260 bp 지역은 C가 T로 치환되는 빈도가 0.035로 검출되었으며 유지율에 미치는 변이 효과가 0.61 %($P < 0.05$)로 고도의 유의성이 도출되었다. 이 지역은 Schutz 등(1994)의 보고와 한우(정 등, 2002; 윤, 2002), 그리고 일본화우(Mannen, 1998b)에서도 변이가 검출되지 않은 지역이다. 16302 bp 지역은 G가 A로 치환되는 빈도가 0.04로 검출되었고 Schutz 등(1994)의 보고에서는 나타나지 않았으며 한우(정 등, 2002; 윤, 2002)와 일본화우(Mannen, 1998b)에서는 비교적 높은 변이가 검출되었다. 이 지역이 유지방에 미치는 변이 효과는 - 67.77 kg($P < 0.1$)으로 나타났다. 유지방 생산과의 연관성에 유의한 경향을 보이는 16118, 16135 bp 지역이 다른 품종은 물론 같은 품종에서도 변이가 보고되지 않은 것은 모계유전을 하는 mtDNA가 유동성이 적은 집단 내에서 계속적인 모계유전을 통해

집단 간의 유전적 차이가 일어남을 알 수 있다. Schutz 등(1993)의 보고에 따르면 169 bp 지역에서 유지방과의 연관성이 나타났으나 본 실험에서는 유생산량과 유지율에서는 연관성이 있으나 유지방 생산량에서는 유의한 결과가 도출되지 않았다.

본 연구에서 검출한 35개 mtDNA내 D-loop 영역의 염기서열 변이 빈도와 유량, 유지방과의 연관성분석 결과 등은 35개 집단의 유전적 변이성 추정과 좀 더 다양한 경제형질과의 관련성 분석은 다양한 유전적 지표인자 발굴을 통해 분자유전학적 기법을 이용한 35개의 육종전략을 확립하는데 기초 자료가 되는 것은 물론 분자유종학적인 연구에 기초 자료로서 유용하게 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

Effect of Sequence Variation in Mitochondrial DNA D-loop Region on Milk and Milk Fat Production in Holstein Cows

Oh, J. D., H. S. Kong, H. K. Lee and G. J. Jeon

Genomic Informatics Center, Hankyong National University,

ABSTRACT

This study was performed to analyze the sequence variation in mtDNA D-loop and their effects on milk and milk fat production in Holstein cows. The analyzed sequences were compared with previously published sequences from other cattle breeds (GenBank J01394). PCR was performed to amplify a total of 964 bp between nucleotide 15758 and 383 within D-loop region of mtDNA using specific primers. Thirty five polymorphic sites by nucleotide substitution were found in mtDNA. The frequencies of positions at 106, 169, 16057, 16231 and 16255 nt with high levels of sequence polymorphism were 0.090, 0.555, 0.055, 0.090 and 0.050, respectively. The substitution effect at 169 nt was found significant on milk production, and substitution effect at 16118, 16139 and 16302 nt was highly significant ($p < 0.1$) on milk fat production. Polymorphism of mtDNA sequence in D-loop region might be useful for the analysis of cytoplasmic genetic variation and associations with the other economically important traits and maternal lineage analysis in Holstein cows.

(Key words : mtDNA, D-loop region, Sequence variation, Holstein)

사 사

농림기술관리센터 관계자들과 시료를 제공한 축산기술연구소 관계자들에게 깊은 감사를 드리는 바입니다.

인용문헌

1. Anderson S, Bamkier AT, Barrell BG, De Bruijn, MH

- L, Coulson AR, Drouin J, Eperon IC, Nierlich DP, Roe BA, Sanger F, Schreier PH, Smith AJH, Staden R, Young IG (1981): Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature* 290:457-465.
2. Anderson S, De Bruljin MHL, Coulson AR (1982): Complete sequence of bovine mitochondrial DNA. conserved features of the mammalian mitochondrial genome. *J Mol Biol* 156:683-717.
 3. Bell BR, McDaniel BT, Robison OW (1985): Effects of cytoplasmic inheritance on production traits of dairy cattle. *J Dairy Sci* 68:2038-2051.
 4. Boettcher PJ, Freeman AE, Johnston SD, Smith RK, Beitz DC, McDaniel BT (1996): Relationships between polymorphism for mitochondrial deoxyribo nucleic acid and yield traits of Holstein cows. *J Dairy Sci* 79:647-654.
 5. Brown WM, George M, Wilson AC (1979): Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 67:1967-1971.
 6. Bradly DG, Machugh DE, Cunningham P, Loftus RT (1996): Mitochondrial diversity and the origins of African and European cattle. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:5131-5135.
 7. Faust MA, Robison OW, McDaniel BT (1990): Animal model estimates of cytoplasmic line constants for yield in Holsteins. *J Anim Breed Genet* 107:401-410.
 8. Harrison RO, Ford SP, Young JW, Conley AJ, Freeman AE (1990): Increased milk production versus reproductive and energy status of high producing dairy cows. *J Dairy Sci* 73:2749-2758.
 9. Huizinga HA, Korver S, McDaniel BT, Politiek R (1986): Maternal effect due to cytoplasmic inheritance in dairy cattle. Influence on milk production and reproduction traits. *Livest Prod Sci* 15:11-26.
 10. Hutchison III CA, Newbold JE, Potter SS, Edgell M H (1974): Maternal inheritance of mammalian mitochondrial DNA. *Nature* 251:536-538.
 11. Kim KI, Yang YH, Lee SS, Park C, Ma R, Bouzat J L, Lewin HA (1999): Phylogenetic relationships of Cheju horses to other horse breeds as determined by mtDNA D-loop sequence polymorphism. *Anim Genet* 30:102.
 12. Kim KI, Lee JH, Lee SS, Yang YH (2003): Phylogenetic relationships of Northeast Asian Cattle to other cattle populations determined using mitochondrial DNA D-loop sequence polymorphism. *Biochemical Genetics* 41(3/4):91.
 13. Mannen H, Kojima T, Oyama K, Mukai F, Ishida T, Tsuji S (1998a): Effect of mitochondrial DNA variation on carcass traits of Japanese black cattle. *J Anim Sci* 76:36-41.
 14. Mannen H, Tsuji S, Loftus RT, Bradley DG (1998b): Mitochondrial DNA variation and evolution of Japanese black cattle (*Bos taurus*). *Genetics* 150:1169-1175.
 15. Mannen H, Kawasaki J, Ishida T, Mukai F, Tsuji S (2000): Mitochondrial DNA Diversity of Japanese Black Cattle. *Anim Sci* 71:J470.
 16. Ron M, Yoffe O, Wellet JL (1993): Sequence variation in D-loop DNA of cow lineages selected for high and low maternal effects on milk production. *Anim Genet* 24:183-186.
 17. Schutz MM, Freeman AE, Beitz DC, Mayfield JE. (1992): The importance of maternal lineage on milk production of dairy cattle. *J Dairy Sci* 75:1331-1341.
 18. Schutz MM, Freeman AE, Lindberg GL, Beitz DC. (1993): Effect of maternal lineages grouped by mitochondrial genotypes on milk yield and composition. *J Dairy Sci* 76:621-629.
 19. Schutz MM, Freeman AE, Lindberg GL, Koehler CM, Beitz DC (1994): The effect of mitochondrial DNA on milk production and health of dairy cattle. *Livestock Production Science* 37:283-295.
 20. 윤두학 (2002): 한우의 분자유전학적 특성 구명을 위한 유전적 다양성 분석과 육질관련 표지유전자 개발. 고려대학교 박사학위 논문.
 21. 이성수, 고서봉, 오운용, 양영훈, 김규일, 조병옥 (1998): 미토콘드리아 DNA D-loop Region의 PCR-RFLP를 이용한 한우, 제주 재래한우와 타 품종과의 유전적 관계 분석. *한국축산학회지* 40:335
 22. 정의룡, 박정준, 한상기 (1996): PCR 기법을 이용한 소 mtDNA의 RFLP 분석에 관한 연구. *한축지* 38:307.
 23. 정의룡, 김우태, 김연수, 이정구, 한상기 (2002): 한우 Mitochondrial DNA D-loop 영역의 염기서열 및 유전 변이. *한국동물자원과학지* 44:181-190.
- (접수일자: 2004. 9. 10. / 채택일자: 2004. 12. 20.)