한국 재래말의 적혈구 항원형 D 시스템에서 특이 유전인자 탐색

조 길 재*

경북대학교 수의과대학

Received August 14, 2006 / Accepted August 29, 2006

Detection of Unusual Allele in D System of Red Cell Alloantigens Found in the Korean Native 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 the Korean native horse. A total number of 158 horses were tested using microhaemagglutination with 11 D system reagents (Da, Db, Dc, Dd, De, Df, Dg, Dh, Dk, Dm and Dn). Of the 158 horses, 3 horses showed an unusual D system phenogroups; these phenogroups may be silent (null) alleles, De or Dk and Dc, respectively. Dacdfgm, Dacdfgmn, and Ddegmn phenogroups were recognized. These results present basic information for detecting the genetic markers among the Korean native and alien horses.

Key words – Blood marker, Korean native horse, reagent, silent allele

동물의 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 개체식별 및 친자판정의 경제성과 효율성을 높이고자 기존의 혈액형 감정을 대신하여 microsatellite DNA typing에 의한 방법으로 사람을 비롯한 동물의 친자확인이나 개체식별에 많이 이용하고 있는 실정이다[2,9].

말의 혈액형은 적혈구 표면에 위치한 항원에 대해 이종 및 동종면역항체(항혈청)를 이용하여 사람의 ABO식 혈액형 검사법과 유사한 항원항체반응으로 검사하는 적혈구항원형과 전기영동법에 의한 혈액단백질형으로 분류하고 있다. 말에서는 주로 혈통등록을 목적으로 친자확인 및 개체식별에 이용되고 있다[9]. 특히 전세계 대부분의 경마시행국에서 사용중인 더러브렛종 말은 자연교배로 태어나 혈통서(Stud book)에 등재되어야만 경주말로 이용할 수 있다. 혈통서에 등재되기 위해서는 반드시 혈액형이나 microsatellite DNA 형 감정에 의해서 친자관계가 확인되어야만 한다[3]. 말의 적혈구항원형 검사는 적혈구 표면에 존재하는 항원을 혈청학적으로 검사하는 방법을 이용하고 있으며 이를 위해서는 하나의 항원에만 반응하는 항체를 지닌 항혈청이 필요하다. 항혈청은 동종 및 이종면역에 의해 생산된 polyantibody에서 흡착시험을 통해 monoantibody로 정제하여 사용하고 있다. 현재까지 말의 적혈구항원형은 7개(A,C,D,K,P,Q,U) 시스템 34종의 혈액인자가 보고되어 있다[9]. 그 중에서 D 시스템은 응집반응을 이용하여 17개 혈액인자(Da, Db, Dc, Dd, De, Df, Dg, Dh, Di, Dk, Dl, Dm, Dn, Do, Dp, Dq, Dr)에 의한 25개의 대립유전자 즉, D^{adl}, D^{adlnr}, D^{adlr}, D^{bcmq}, D^{cefgmq}, $D^{cegimnq}$, D^{cfgkm}, D^{cfmqr}, D^{cgm}, D^{cgmp}, D^{cgmq}, D^{cgmqr}, D^{cgmr}, D^{deklr}, D^{delop}, D^{delq}, D^{dfklr}, D^{dghmp}, D^{dghmq}, D^{dghmqr}, D^{dkl}, D^{dlnq}, D^{dlnqr}, D^{dlqr}, D^{q}가 알려져 있다[1,5,7].

국내에서 사육되고 있는 말은 주로 더러브렛종 말과 제주말이며 경마, 승마, 관광레저, 식육 등에 이용하고 있다. 최근에는 레저문화의 괄목할 만한 성장에 힘입어 말의 사육 두수가 지속적으로 증가되고 있는 실정이다. 특히, 제주말은 경주마로 활용시 우대에 따른 부가가치의 증가로 인해 생산농가에서 많은 관심을 가지고 있다. 제주말은 천연기념물 제347호로 지정된 우리나라 유일의 현존하는 재래마로 문화적 가치가 높은 유전자원이다. 그러나 최근들어 더러브렛종 말과의 교잡이나 몽고말의 유입 등으로 인한 제주말의 유전자원이 없어질 가능성이 높아 제주말의 혈통관리 및 보존을 위해서는 제주말의 유전자 은행의 구축이 시급히 요구되고 있다. 그래서 현재 등록된 제주말 600여두를 잘 보존하여 제주말을 국적있는 품종으로 확립하고 제주말 이용가치를 높이기 위한 유용 유전자를 발굴함으로써 미래 동물 유전자원 시장에 무한한 부가가치 창출 및 축산 농가의 새로운 소득원으로 자리매김할 수 있도록 제주말의 기원을 규명함과 동시에 제주말의 혈통보존을 위한 기초자료를 마련할 목적으로 본 연구를 수행하였다.

본 연구에서는 말의 적혈구항원형 중에서 효율성이 가장 높고 유전양식이 특이하고 복잡한 D 시스템을 표준항혈청을 이용한 응집반응으로 분석하였다. 재료는 한국의 재래말인 제주마 158두를 대상으로 Heparin tube (Becton Dickson, USA)를 이용하여 말의 경정맥으로부터 채혈한 혈액을 3000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 0.9% NaCl 용액으로 3회 세척한 혈구와 호주 퀸스랜드 대학 말 혈액형 연구소로부터 구입한 항혈청 11종(Da,Db,Dc,Dd,De,Df,Dg,Dh,Dk,Dm,Dn)을

*Corresponding author
Tel : +82-53-950-5978, Fax : +82-53-950-5955
E-mail : chogj@knu.ac.kr

사용하였다.

적혈구항원형 검사는 Stormont 등[8,10]의 방법을 응용한 96 well microplate(녹십자, 한국)를 이용하여 응집반응으로 실시하였다. 응집반응은 표준항혈청 40 ul와 2% 적혈구 부유액 20 ul를 혼합한 후 37℃에서 15분간 반응시킨 다음 다시 혼합하여 30분과 60분 후에 응집유무를 2회 판독한 후 4℃에서 overnight시킨 다음 최종적인 결과를 판정하였고, 적혈구항원형 D 시스템의 유전양식에 따라 유전자형을 분석하였다.

혈액형에 의한 한국의 재래말인 제주말의 유전인자를 알아보고자 적혈구항원형 D 시스템을 연구한 결과, 총 158두중 Table 1에서 보는 바와 같이 씨암말과 망아지 각각에서 De 혹은 Dk 대립유전자가 숨은 Dacdfgm와 Dacdfgmn 표현형이 관찰되었는데 이는 각각 Dad/c(e)fgm, Dadn/c(e)fgm 또는 Dad/cfg(k)m, Dadn/cfg(k)m 유전자형 일 것으로 판단된다. 표준항혈청 17개(a,b,c,d,e,f,g,h,i,k,l,m,n,o,p,q,r)를 이용하여 말의 적혈구항원형 D 시스템을 분석시 D^{adl}, D^{adlnr}, D^{adlr}, D^{bcmq}, D^{cefgmq}, $D^{cegimnq}$, D^{cfgkm}, D^{cfmqr}, D^{cgm}, D^{cgmp}, D^{cgmq}, D^{cgmqr}, D^{cgmr}, D^{deklr}, D^{delop}, D^{delq}, D^{dfklr}, D^{dghmp}, D^{dghmq}, D^{dghmqr}, D^{dkl}, D^{dlnq}, D^{dlnqr}, D^{dlqr}, D^{q} 등의 대립유전자를 관찰할 수 있다[1,5,7]. 씨수말의 표현형과 유전자형은 각각 Dadghmn과 Dadn/dghm으로 나타나 비록 씨암말과 망아지에서 silent allele가 관찰되었지만 망아지의 유전자형 Dadn/c(e)fgm 또는 Dadn/cfg(k)m은 씨수말의 유전자형 Dadn, 씨암말의 유전자형 Dc(e)fgm 또는 Dcfg(k)m을 각각 물려받아 친자관계가 성립되었다. 또 다른 말 1두에서는 Dc 대립유전자가 숨은 Ddegmn 표현형이 관찰되었는데 이는 Dde/(c)egmn 유전자형 일 것으로 사료된다. Kakoi 등[7]은 Anglo-Arab종 말에서 Dc, Di, Dn 특이 유전인자가 숨은 D(c)eg 유전자형을 보고한 바 있는데 이는 40,000두 이상의 경종마 중에서 매우 드물게 관찰하였다. 국내에서는 더러브렛종 말을 포함해서 여타의 말에서도 적혈구항원형 D 시스템의 특이 유전인자인 silent allele가 보고된 바가 없다[3,4].

말의 적혈구항원형 D 시스템은 적혈구항원형 7개 시스템 중에서 가장 다양성이 높은 유전적 시스템중의 하나로서 1991년 국제동물유전학회 말비교동정시험 분과위원회에서 17개 factor 25개 phenogroup으로 분류한 바 있다[5,7]. 말에서 특이 유전인자인 숨은 대립유전자(null allele 혹은 silent allele)는 혈액단백질형의 모든 좌위와 적혈구항원형 D 시스템에서 알려져 있다[11]. 특이 유전인자인 숨은 대립유전자(silent allele)는 탐색할 수 없는 gene product를 가지거나 gene product가 없는 gene을 말한다. 그래서 말의 혈액단백질형 좌위에서 homozygous로 관찰될 때 실제는 heterozygous나 혹은 silent allele일 가능성도 있다. 이런 경우에는 전기영동 시간을 늘림으로써 silent allele를 포함한 homozygous 혹은 heterozygous임을 정확하게 밝힐 수 있을 것이다. Silent allele의 출현빈도는 검사 항목과 말 품종에 따라서 차이가 있으며 만일 친자판정시 silent allele가 관찰되었다면 검사 대상마의 형제자매도 동시에 검사해서 최종적인 판단을 내려야 한다[6,11]. 또한 이런 경우 microsatellite DNA 분석 기법 등 다른 방법도 동시에 분석하여 결과에 대한 오류를 최소화 하여야 할 것이다.

Table 1. Detection of an unusual allele in D system of red cell alloantigens found in the Korean native horse

Redcell type (phenotype)			Genotyping interpretation
Case 1	Sire	Dadghmn	Dadn/dghm
	Dam	Dacdfgm	Dad/c(e)fgm, Dad/cfg(k)m
	Foal	Dacdfgmn	Dadn/c(e)fgm, Dadn/cfg(k)m
Case 2	Foal	Ddegmn	Dde/(c)egmn

향후 제주말의 혈통등록을 위한 개체식별 및 친자판정이나 제주말의 기원 규명을 목적으로 한반도 주변국가 재래마의 유전특성 연구시 silent allele의 특이 유전인자에 대한 세심한 주의를 기울여야 할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 바이오그린21사업(과제번호: 2005 0401034715)의 지원에 의해 수행된 연구결과의 일부이며, 연구비 지원에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. Bowling, A.T. and M. J. Williams. 1991. Expansion of the D system of horse red cell alloantigens. *Anim. Genet.* 22, 361-367.
2. Cho, G. J. 2004. Parentage testing for Thoroughbred horse by microsatelolite DNA typing. *J. Anim. Sci. Technol. (Kor.)* 46, 129-136.
3. Cho, G. J. and B. H. Kim. 2000. Studies on blood types in Thoroughbred horses. *Kor. J. Vet. Res.* 40, 683-689.
4. Cho, G. J. and B. W. Cho. 2004. Genetic studies of redcell types for individual identification and parentage verification in horse breeds. *J. Life Sci.* 14, 696-701.
5. Cothran, E. G. and Y. G. Long. 1994. A new phenogroup in the horse D system of red cell alloantigens found in the Caspian pony. *Anim. Genet.* 25, 49-50.
6. Gahne, B. 1966. Studies on the inheritance of electrophoretic forms of transferrins, albumins, prealbumins and plasma esterases of horses. *Genet.* 53, 681-694.
7. Kakoi, H., H. Gawahara and N. Miura. 1995. Unusual D system inheritance in Anglo-Arab horse. *Anim. Genet.* 26, 53-54.
8. Leong, S. W. and P. I. Terasaki. 1985. Microtest for red cell typing. *Transfusion* 25, 149-151.
9. Miura, N. 1994. Blood typing service in light breed

horses. *Jpn. J. Equine Sci.* 4, 187-190.
10. Stormont, C., Y. Suzuki and E. A. Rhode. 1964. Serology of horse blood groups. *Cornell Vet.* 54, 439-452.
11. Yokohama, M., M. Kuwazima, N. Miura, M. Inoue, K. Mogi, T. Hosoda and T. Nakajima. 1980. On existence of a silent gene in equine transferring system. *Jap. J. Zootech. Sci.* 15, 331-335.