

고양이의 개체식별을 위한 microsatellite marker 분석

조길재*

경북대학교 수의과대학

Received January 24, 2006 / Accepted March 17, 2006

Analysis of Microsatellite Markers for Forensic Identification in cats. Gil-Jae Cho*. College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea – A total number of 20 cat samples including 8 parentage testing and 12 individual identification were genotyped. Genomic DNA was extracted from buccal swab, and genotyped by using 10 microsatellite markers (FCA005, FCA26, FCA224, FCA240, FCA453, FCA293, FCA075, FCA105, FCA229, and FCA651). This method consisted of single PCR procedure and showed reasonable amplification of all PCR products. Genotypes were determined by genetic analyzer. The number of alleles per locus of cats varied from 3 to 8 with a mean value of 5.5. Expected heterozygosity was ranged from 0.390 to 0.827 (mean 0.639) and the total exclusion probability of 10 microsatellite loci was 0.9441. Of the 10 markers, FCA240 marker has relatively high PIC value (> 0.7). Of the 8 cats, 7 cats were qualified by compatibility according to the Mendelism. These results can give basic information for developing parentage verification and individual identification system in cat.

Key words – Cat, genotype, identification, microsatellite, parentage verification

서 론

고양이는 약 5,000년 전부터 가축화가 시작된 것으로 추정되나 그 기원에 관해서는 정확하게 알 수 없으며, 전 세계적으로 약 50여 품종이 사육되고 있는 것으로 알려져 있다[16]. 근래에 들어 국내에서도 고양이를 기르는 사람들이 증가하는 추세에 놓여 있다. 이는 고양이가 아파트나 작은 주택에서 사람과 같이 생활하는 데에 개보다는 장점이 많고 더 나은 적응력을 가지기 때문이다. 그래서 최근에 괄목할 만한 증가로 인해 현재는 약 50만두 이상이 사육되고 있는 것으로 추산되고 있다.

현대의 사람들은 노령화 혹은 학가족화 등으로 인해 고독함과 외로움에서 벗어나고 또한 개인의 삶의 질 향상을 도모하고자 하는 많은 사람들이 가족의 일원으로서 반려동물인 개와 고양이를 사육하고 있는 실정이다[12].

다른 동물과 마찬가지로 외국의 여러 나라에서는 개와 고양이의 혈통보존 및 개량을 목적으로 친자확인을 위한 유전자 감정을 행하거나 연구 중에 있다. 그러나 국내에서는 말을 제외한 다른 산업동물과 마찬가지로 애완동물의 유전자 감정은 상당히 미진한 실정이다. 미국애견협회(American Kennel Club)에서는 전 세계 개 품종의 절반인 151개 품종의 개를 등록하고 있으며, 1998년부터 전문적인 번식업자에 의해 혈통 등록되는 순종 개에 한해 의무적으로 유전자 검사를 반도록 규정하고 있다. 또한 최근 조사에서 고양이의 사육두

수는 약 6천 5백만 두 이상으로 알려져 있다[18]. 국제동물유전학회(International Society of Animal Genetics) 개 및 고양이 분과위원회에서는 국제간 비교동정시험을 통해서 감정기술의 표준화를 위해 노력한 결과 다른 동물과 마찬가지로 수백 개의 microsatellite marker 중에서 현재까지 개의 유전자 감정의 서비스를 위한 국제 marker는 29개 항목, 고양이는 20개 항목을 국제 panel로 선정·연구 중에 있다[9].

Microsatellite DNA는 non-code 부위에 다형성이 풍부하고 검출이 간편하여 소[8,23], 말[1,5,6,11,22], 개[2,3,4,7,9], 돼지[19], 고양이[13,18], 야생동물[21] 등의 다양한 동물에서 개체식별이나 친자판정에 응용하고 있다.

진핵세포의 DNA는 한 개 혹은 여러 개의 nucleotide가 일정한 규칙에 의해서 반복적으로 배열된 형태의 satellite DNA가 존재하는데 이를 satellite DNA 중 1~4개의 nucleotide가 반복적으로 배열된 형태를 microsatellite 혹은 short tandem repeat (STR)이라고 하며 이를 microsatellite가 각 개체 간에 아주 높은 빈도의 유전적 다형성을 가지고 있는 것으로 알려져 있다[10,15]. Microsatellite는 크기가 100~400 bp 정도로서 심한 손상을 입은 DNA 시료에서도 증폭이 가능하고 적은 양의 DNA로도 유전자 검사를 할 수 있으나 Variable Number of Tandem Repeat (VNTR)의 경우 대립유전자의 수가 많아서 정확한 크기를 측정하기 어렵지만 microsatellite는 VNTR보다 대립유전자의 수가 적어서 정확하게 확인이 가능한 것으로 알려져 있어 사람을 포함한 동물의 개체식별이나 친자확인에 microsatellite marker를 많이 이용하고 있는 실정이다[20].

현재까지 microsatellite의 기능에 관해서 정확하게 알려진

*Corresponding author

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

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

바는 없지만 모든 척추동물의 유전자 내에 공통적으로 나타나는 부위로 반복횟수에 따른 염기서열의 길이가 다양하며, 각 marker마다 많은 대립유전자가 존재하는 것으로 보고되어 있다[14]. 이러한 길이 다형성은 맨델의 유전법칙에 따라 부와 모로부터 자손에게 유전되어 염색체 상에 대립유전자의 형태로 존재하여 각 개체마다 유전적인 다형성을 나타내고 있다[11]. 친자감정에 있어서 microsatellite와 minisatellite를 동시에 사용할 수 있으나 국제적인 유전자지도 작성 시 표준적으로 이용되고 있는 microsatellite를 이용하면 손쉽게 증폭 primer를 확보할 수 있을 뿐 아니라, 다양한 유전자형을 관찰 할 수 있고 개체의 독특한 유전적 특성을 점검할 수 있으므로 개체식별 및 친자감정을 통한 혈통등록을 위한 표지인자로 유용하게 사용하고 있다. Microsatellite marker의 돌연변이는 다른 암호 유전자들보다 자주 발생하여 주의를 요한다. 그래서 미국 학술원에서는 적어도 2개 이상의 marker에서 불일치가 되었을 때 최종적으로 모순(불일치)의 판정을 하도록 권고하고 있다. 또한 최근에는 혈액보다도 누구나 간편하게 채취할 수 있는 피모나 구강상피의 DNA를 검사시료로 이용하고 있다.

고양이의 개체식별 및 친자확인은 이제 막 시작하는 단계로서 본 연구는 향후 국내에서 사육중인 고양이의 혈통등록을 위한 개체식별 및 친자확인에 활용할 기초자료를 마련할 목적으로 국제비교동정시험 참가 시료를 대상으로 유전자 감정 연구를 실시하였다.

재료 및 방법

공시재료

국제동물유전학회에서 주관한 2004년 고양이 비교동정시험 시료 20두(8두의 친자확인과 12두의 개체확인 시료)를 대상으로 하였다. 재료는 구강에서 채취한 buccal swab로부터 추출한 DNA를 사용하였다.

DNA marker 선정 및 PCR

고양이의 genotyping을 위한 microsatellite marker는 국

제동물유전학회 개(고양이 포함) 분과위원회에서 권고하는 marker 중에서 비교적 PCR과 genotyping이 용이한 marker를 선택하였다(Table 1). PCR은 총 25 ul(40 ng의 genomic DNA 2 ul, 1.5 pmol의 primer mix 1 ul, ABgene PCR reaction buffer 12.5 ul, D.W 9.5 ul)의 량으로 조정하여 95°C에서 5분 간 가열하여 변성을 유도하고 95°C에서 1분 간 denaturation, 58°C에서 30초 간의 annealing, 그리고 72°C에서 30초간의 extension의 3단계로 총 35회 반복한 후 72°C에서 30분 간 extension을 실시하였다. PCR 증폭산물은 2.5% agarose gel을 이용하여 확인하였다.

Microsatellite marker의 DNA형 및 통계분석

증폭된 DNA는 유전자형 자동분석기(ABI Prism 3100 Genetic Analyzer, USA)에 의해 전기영동하고 검출된 각 유전자좌위의 대립유전자는 GeneScan Ver.3.7과 Genotyper Ver.3.7을 이용하여 각 marker별 대립유전자의 크기(bp)를 결정하였다.

또한 microsatellite DNA 다형 좌위의 대립유전자 출현빈도를 추정하고 이를 토대로 heterozygosity (Het), polymorphic information contents (PIC) 그리고 exclusion probability (PE)를 CERVUS Ver.2.0 program[17] 을 이용하여 산출하였다.

Microsatellite DNA형에 의한 친자확인

8두의 고양이를 대상으로 10개의 microsatellite DNA다형 좌위에 대해서 친자판정을 실시하였다.

결 과

Microsatellite DNA형의 유전자 빈도

고양이 20두에 대한 microsatellite DNA형의 유전자 빈도를 조사한 결과는 Table 2와 Figure 1에서 보는 바와 같이 관찰된 대립유전자의 수는 3~8개(평균 5.5개)로 나타났다. Marker별 대립유전자는 FCA005 142 bp (0.3750), FCA026 148 bp (0.5500), FCA075 136 bp (0.5000), FCA105 191 bp

Table 1. Characteristics of 14 microsatellite loci used in this study

Marker	Chromosome		Primer sequences	Allele size (bp)
FCA005	E1	CCTAAGGAAACAGTAATCCTGGC	TGGCAGGCATACCGAGGAT	130-154
FCA026	D3	GGAGCCCTTAGAGTCATGCA	TGTACACGCACCAAAACAA	128-160
FCA075	E2	ATGCTTAATCAGTCCCATTGG	GAACAAAAATTCCAGACGTGC	104-146
FCA105	A2	TTGACCCCTCATACCTTCTTG	TGGGAGAATAAATTGCAAAGC	173-205
FCA224	A3	CTGGGTGCTGACAGCATAGA	TGCCAGACTGTATGAAAGGG	148-180
FCA229	A1	CAAAC TGACAAGCTAGAGGGC	GCAGAACTCCAATCTCAAAGTC	150-176
FCA240	X	TCTTTAAGATGGCCGGACTG	TCCCCCTCAAATATGCAAAGG	152-174
FCA293	C1	GATGGCCAAAAGCACAC	CCACACATCTGTCAACAAACG	179-201
FCA453	A1	AATTCTGAGAACAGCTGAGGG	ATCCTCTATGGCAGGACTTTG	184-208
FCA651	X	CAGGGGCCCTGATTCAAG	GGCCTACAAATTGGCAAAGA	135-141

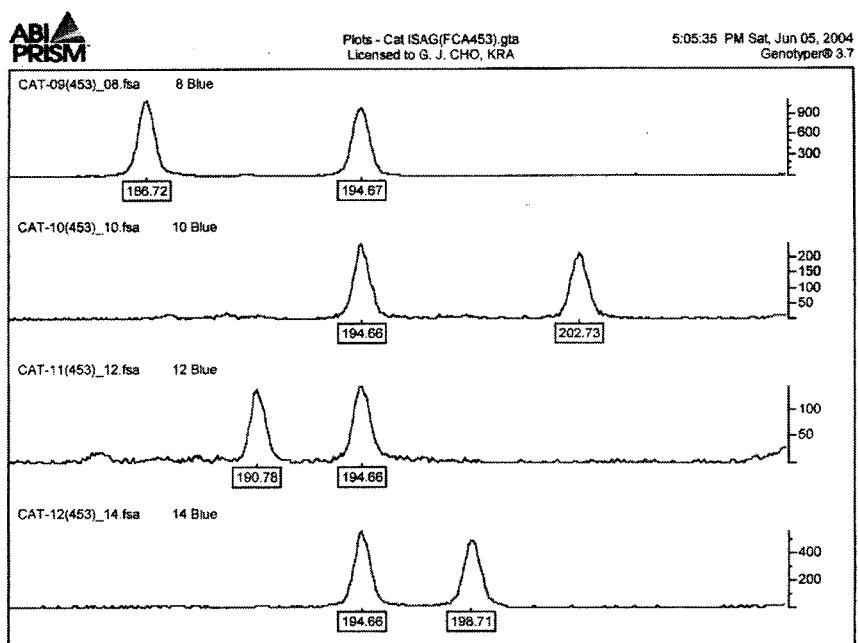


Fig. 1. Electropherogram of FCA453 microsatellite marker in cat using the ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer.

(0.4250), FCA224 156 bp (0.7750), FCA229 166 bp (0.6500), FCA240 163 bp (0.3000), FCA293 185 bp (0.5000), FCA453 186 bp (0.5500), 그리고 FCA651 134 bp (0.6750) 대립유전자 가 높은 빈도로 관찰되었다.

Heterozygosity, PIC, PE 분석

Microsatellite DNA형의 유전자 빈도에 기초하여 heterozygosity, PIC, 그리고 PE를 분석한 결과는 Table 2와 같다. Expected heterozygosity와 PIC는 각각 0.390~0.827(평균

0.639), 0.357~0.780(평균 0.581)으로 나타났고 FCA240의 marker는 PIC value가 0.70 이상이었다. 또한 PE는 0.076~0.444으로서 10개 marker를 조합시 total PE는 0.9441로 관찰되었다.

Microsatellite DNA형에 의한 친자확인

8두의 고양이를 대상으로 10개의 microsatellite DNA다형 좌위를 가지고 친자관계를 분석한 결과는 Table 3에서와 같이 8두 중에서 1두(12.50%)가 FCA005, FCA105, FCA240, FCA453,

Table 2. Allelic frequencies, number of alleles, observed heterozygosity (H_o), heterozygosity (H_E), polymorphic information contents (PIC), and exclusion probability (PE) of microsatellite loci in cat

Loci	Allelic frequency					No. of alleles	H _O	H _E	PIC	PE
FCA005	136 (0.1000)	140 (0.2500)	142 (0.3750)	144 (0.0500)	146 (0.2250)	5	0.550	0.753	0.689	0.321
FCA026	132 (0.0250)	136 (0.0500)	144 (0.0750)	146 (0.2000)	148 (0.5500)	8	0.400	0.662	0.612	0.253
	152 (0.0500)	154 (0.0250)	158 (0.0250)							
FCA075	130 (0.2000)	132 (0.1250)	134 (0.1000)	136 (0.5000)	138 (0.0750)	5	0.650	0.698	0.640	0.273
FCA105	191 (0.4250)	193 (0.3000)	195 (0.1000)	197 (0.0500)	199 (0.1250)	5	0.750	0.719	0.653	0.288
FCA224	148 (0.0250)	150 (0.0250)	152 (0.0500)	156 (0.7750)	170 (0.1250)	5	0.250	0.390	0.357	0.076
FCA229	160 (0.0250)	162 (0.0250)	164 (0.1750)	166 (0.6500)	168 (0.1250)	5	0.550	0.544	0.489	0.151
FCA240	153 (0.0500)	155 (0.2000)	157 (0.1750)	163 (0.3000)	171 (0.1500)	7	0.300	0.827	0.780	0.444
	173 (0.0750)	175 (0.0500)								
FCA293	177 (0.1000)	179 (0.0750)	183 (0.0500)	185 (0.5000)	187 (0.1000)	7	0.650	0.724	0.683	0.325
	189 (0.1000)	191 (0.0750)								
FCA453	186 (0.5500)	190 (0.0500)	194 (0.3000)	198 (0.0750)	202 (0.0250)	5	0.500	0.614	0.537	0.194
FCA651	134 (0.6750)	136 (0.3000)	138 (0.0250)			3	0.300	0.465	0.371	0.103
Mean						5.50	0.490	0.639	0.581	0.9441**

* Allele size (bp), ** Total exclusion probability

Table 3. Two cases of parentage testing by 10 microsatellite loci in cats

Samples	Loci										Parentage testing
	FCA005	FCA026	FCA075	FCA105	FCA224	FCA229	FCA240	FCA293	FCA453	FCA651	
Case 1	Sire	140/142*	148/148	130/136	191/193	156/156	164/166	163/163	177/183	186/186	134/134
	Dam	146/146	148/148	130/136	195/199	156/156	164/166	175/175	185/185	194/202	136/136
	Kitten	140/140	148/148	136/136	193/193	156/156	166/166	163/163	183/185	186/186	134/134
Case 2	Sire	140/142*	148/148	130/136	191/193	156/156	164/166	163/163	177/183	186/186	134/134
	Dam	146/146	148/148	130/136	195/199	156/156	164/166	175/175	185/185	194/202	136/136
	Kitten	140/146	148/148	136/136	191/199	156/156	164/164	163/175	177/185	186/202	134/136

* Allele size (bp), ** Ex: Exclusion, In: Inclusion

FCA651 등의 5개 marekr에서 각각 140 bp/140 bp, 163 bp/163 bp, 186 bp/186 bp, 193 bp/193 bp, 134 bp/134 bp의 대립유전자가 나타나 친자관계에서 모순으로 판정되었다.

고 찰

최근 들어 많은 사람들이 애완동물을 하나의 가족으로 인식하면서 국내 애완동물 산업은 활목하게 성장하였다. 이러한 애완동물 산업은 영국, 뉴질랜드, 미국에서는 총 가구 중 50% 이상이 애완동물을 사육하고 있으며 우리나라에서도 2000년 이후 총 가구 중 15~20%의 가구에서 애완견을 사육하고 있고 품종도 점차 다양해져 가고 있는 추세이다[12]. 그러나 애완동물의 국제간 이동 증가, 혈통과 유전형질이 우수한 품종 선호 및 사육두수 증가에 따른 사육 시 분실과 순수 혈통의 진위여부를 둘러싼 분쟁 등 종래에 비해서 애완동물의 개체식별이나 친자감정의 중요성이 대두됨에 따라 신속하고 정확하며 경제적인 감정기법을 요구하고 있다.

동물의 개체식별이나 친자판정에 유용한 DNA marker로서는 allele의 수가 많고 heterozygosity가 높으며 다형성을 보이는 염기수가 적은 것, 즉 PCR 증폭이 가능하며 정확한 염기 수나 반복배열 수가 용이하게 산출되는 범위의 것으로서 돌연변이율이 낮은 것이어야 한다. 다른 동물과 마찬가지로 개를 포함하여 고양이의 원활한 DNA형 감정 서비스를 위해 국제간 공통 DNA marker 사용 및 검사법의 표준화를 확립하고자 과학자 상호간 기술 및 정보 교류와 국제비교동정시험 등 부단하게 노력하고 있는 실정이다.

국내·외에서 고양이의 개체식별 및 친자감정을 위해 RFLPs, sequencing, pyrosequencing, dHPLC 등 다양한 연구[16]가 진행되어지고 있으나 다른 동물에 비해 상당히 미진한 실정이다. Menotti-Raymond 등[18]은 10개의 STR marker를 사용하여 고양이를 분석한 결과 대립유전자의 수는 5~10개로 보고하였고, 11개 tetranucleotide STR marker로 분석한 결과 모든 marker가 Mendelian inheritance를 보였고 heterozygosity는 평균 0.71로 보고하였다. 또 Lecis 등[13]은 27개의 microsatellite marker를 사용하여 wild와 do-

mestic cat를 분석한 결과 대립유전자의 수는 F85 marker를 제외하고는 7~19개로 관찰하였고, 많은 수의 marker가 다양한 품종이 혼합된 고양이의 개체식별에 유용한 것으로 보고하였다. 본 연구의 결과 대립유전자의 수와 부권부정율이 Menotti-Raymond 등[18], Lecis 등[13]의 결과보다는 낮게 나타났다. 이는 사용한 microsatellite marker 및 적은 검사 개체 수에 기인된 것으로 생각되지만 고양이의 개체식별 및 친자확인에는 적용할 수 있을 것으로 사료된다.

Microsatellite DNA형에 의한 개 및 고양이의 친자확인에 관한 국제 가이드라인 및 국제 panel은 아직까지 정립되지 않은 상태이나 통상적으로 말의 경우 9개의 국제최소검사항목 중 2개 marker 이상에서 멘델의 유전양식에 일치하지 않을 경우 모순으로 판정하도록 권장하고 부권부정율은 99.95% 이상을 요구하고 있어 고양이의 경우도 이에 준하여 판정하면 될 것으로 사료된다. 본 연구를 통해 microsatellite marker를 이용하여 국내에서 사육중인 고양이의 개체식별 및 친자감정에 적용할 수 있는 기초자료로 활용될 수 있을 것으로 생각되며, 앞으로 더 많은 microsatellite marker 수와 개체 수를 대상으로 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다.

요 약

고양이의 혈통 등록을 위한 개체식별 및 친자판정을 목적으로 microsatellite DNA다형을 조사한 결과 다음과 같은 성적을 얻었다. 고양이 20두를 대상으로 microsatellite DNA다형의 대립유전자를 조사한 본 연구에서는 관찰된 대립유전자의 수는 3~8개(평균 5.5개)이며 marker별 대립유전자는 FCA005 142 bp (0.3750), FCA026 148 bp (0.5500), FCA075 136 bp (0.5000), FCA105 191 bp (0.4250), FCA224 156 bp (0.7750), FCA229 166 bp (0.6500), FCA240 163 bp (0.3000), FCA293 185 bp (0.5000), FCA453 186 bp (0.5500), FCA651 134 bp (0.6750) 대립유전자가 높은 빈도로 관찰되었다. Expected heterozygosity와 PIC는 각각 0.390~0.827(평균 0.639), 0.357~0.780(평균 0.581)으로 나타났고 FCA240의 marker는 PIC value가 0.70 이상이었다. 또한 PE는 0.076~0.444으로서 10개 marker를 조합시 total PE는

0.9441로 관찰되었다.

10개의 microsatellite DNA다형 좌위를 가지고 친자관계를 분석한 결과 8두 중에서 1두(12.50%)가 모순으로 판정되었다. 또한 국내에서 사육중인 고양이의 개체식별 및 친자판정에 microsatellite marker를 활용할 수 있을 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Bowling, A. T., M. L. Eggleston-Scott, G. Byrns, R. S. Clark, S. Dileanis and E. Wictum. 1997. Validation of microsatellite markers for routine horse parentage testing. *Anim. Genet.* **28**, 247-252.
2. Cho, G. J. 2005. Microsatellite polymorphism and genetic relationship in dog breeds in Korea. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* **18**, 1071-1074.
3. Cho, G. J. and B. W. Cho. 2003. Validation of microsatellite markers for routine canine parentage testing in Korea. *Korean J. Genet.* **25**, 103-108.
4. Cho, G. J., B. W. Cho, S. K. Kim, K. W. Lee and Y. K. Kim. 2003. Analysis of microsatellite DNA polymorphism for parentage testing in dog breeds. *J. Anim. Sci. & Technol. (Kor.)* **45**, 191-198.
5. Cho, G. J., Y. J. Yang, K. S. Kang and B. W. Cho. 2002. Genetic diversity and validation of microsatellite markers for Jeju native horse parentage testing. *Korean J. Genet.* **24**, 359-365.
6. Dimsoski, P. 2003. Development of a 17-plex microsatellite polymerase chain reaction kit for genotyping horses. *Croatian Medical J.* **44**, 332-335.
7. Fredhol, M. and Wintero, A. K. 1996. Efficient resolution of parentage in dogs by amplification of microsatellites. *Anim. Genet.* **27**, 19-23.
8. Glowatzki-Mullis, M. L., C. Gaillard, G. Wigger and R. Feies. 1995. Microsatellite-based parentage control in cattle. *Anim. Genet.* **26**, 7-12.
9. Halverson, J. L. and J. W. Edwards. 2000. Microsatellite polymorphism in dog breeds-the AKC parent club study. Proc. 27th ISAG Conf. *Anim. Genet.* pp 19.
10. Jeffreys, A. J., V. Wilson and S. L. Thein. 1985. Hypervariable minisatellite regions in human DNA. *Nature* **314**, 67-73.
11. Kakoi, H., S. Nagata and M. Kurosawa. 2000. Microsatellite DNA testing for parentage verification of Thoroughbreds. Pros. 27th ISAG Conf. *Anim. Genet.* pp. 90.
12. Kim, G. W., J. W. Lee, T. S. Park, K. S. Cho, Y. H. Shin, S. E. Kim and J. Y. Yoo. 2004. A survey on the current situation and prospect of pet raising by socio-economic status. *Korean J. Comp. Anim. Sci.* **1**, 89-101.
13. Lesic, R., M. Pierpaoli, Z. S. Biro, L. Szemethy, B. Ragni, F. Vercillo and E. Randi. 2006. Bayesian analyses of admixture in wild and domestic cats(*Felis silvestris*) using linked microsatellite loci. *Mol. Ecol.* **15**, 119-131.
14. Leland, H. H. and H. Leroy. 2000. Genetics. International edition, McGrawhill.
15. Litt, M. and J. A. Luty. 1989. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *Am. J. Hum. Genet.* **44**, 397-401.
16. Lyons, L. A., A. E. Young, R. F. Grahn and H. R. Roberts. 2002. Genetic diversity of the domestic cat breeds. Proc. 28th ISAG Conf. *Anim. Genet.* pp 156.
17. Marshall, T. C., J. Slate, L. Kruuk and J. M. Pemberton. 1998. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Mol. Ecol.* **7**, 639-655.
18. Menotti-Raymond, M., V. A. David, J. C. Stephens, L. A. Lyons and S. J. O'Brien. 1997. Genetic individualization of domestic cats using feline STR loci for forensic applications. *J. Forensic Sci.* **42**, 1039-1051.
19. Putnova, L., A. Knoll, V. Dvorak and J. Dvorak. 2003. A novel porcine microsatellite panel for the identification of individuals and parentage control in the Czech Republic. *Czech. J. Anim. Sci.* **48**, 307-314.
20. Shin, K. J., J. H. Choi and C. Y. Kim. 1999. Forensic odontology and DNA typing in individual identification. *Korean J. Oral Med.* **24**, 479-487.
21. Singh, A., A. Gaur, K. Shailaja, B. S. Bala and L. Singh. 2004. A novel microsatellite (STR) marker for forensic identification of big cats in India. *Forensic Sci. Int.* **141**, 143-147.
22. Tozaki, T., H. Kakoi, S. Mashima, K. L. Hirota, T. Hasegawa, N. Ishida, N. Miura, N. H. Choi-Miura and M. Tomita. 2001. Population study and validation of paternity testing for Thoroughbred horses by 15 microsatellite loci. *J. Vet. Med. Sci.* **63**, 1191-1197.
23. Yoon, D. H., J. D. Oh, J. H. Lee, H. S. Kong, B. W. Cho, J. D. Kim, K. J. Jeon, C. Y. Jo, G. J. Jeon and H. K. Lee. 2005. Establishment of individual identification system based on microsatellite polymorphism in Hanwoo. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* **18**, 762-766.