

## 한우 비육기간 중 중성지방 생합성 관련 유전자의 발현양상

김남국\* · 김성곤\* · 허강녕\* · 윤두학\* · 이창수\*\* · 임석기\* · 박응우\*

농촌진흥청 축산과학원\*, 건국대학교 생명과학부 응용생화학전공\*\*

## Expression Profiles of Triacylglycerol Biosynthesis Genes on Fattening Stages in Hanwoo

Nam-Kuk Kim\*, Sung-Kon Kim\*, Kang-Nyeong Heo\*, Duhak Yoon\*, Chang-Soo Lee\*\*, Seok-Ki Im\* and Eung-Woo Park\*

National Institute of Animal Science, Rural Development Administration\*, Dept. of Applied Biochemistry, College of Biomedical & Health Science, Konkuk University, Chungju\*\*

### ABSTRACT

Muscle fat content including intramuscular fat content (IMF) is the most important parameter in meat quality of cattle. Triacylglycerol is the major component of fat and is found in adipocyte and skeletal muscle. In present study, we carried out the determined of triacylglycerol contents and mRNA expression patterns of genes related with triacylglycerol biosynthesis such as ACSS2, GPAT, MGAT and DGAT in Hanwoo *longissimus* muscle using the real-time PCR. The triacylglycerol contents were continuously increased during the fattening stages. Interestingly, the contents of triacylglycerol were 7.4 fold higher (0.34 vs. 2.51, P<0.01) in 27 months old group than 12 months old group. The mRNA levels of ACSS2, GPAT and DGAT genes were also increased during fattening stages, whereas that of MGAT gene did not show difference among the stages. Thus, these results suggested that increasing of the triacylglycerol contents in *longissimus* muscle during fattening stages may be related with increased expressions of triacylglycerol biosynthesis genes (ACSS2, GPAT and DGAT). These results will be helpful to understand the mechanism of muscle fat deposition in skeletal muscle.

(Key words : Triacylglycerol, Real-time PCR, Fattening, Hanwoo)

### I. 서 론

육질을 좌우하는 요인으로는 육색, 지방색, 연도 및 근내지방도 등이 있으며 (Hocquette 등, 2005; Geay 등, 2001), 이중 근내지방(intramuscular fat)은 육의 풍미와 연도를 증가시켜 등급결정에 있어 가장 중요한 요인으로 작용하고 있다(Hovenier 등, 1993; Tatum 등, 1982).

중성지방(triacylglycerol, TG)은 근육 내 근내지방을 구성하는 주요한 성분으로, 주로 근섬

유 사이 (intramuscular) 지방세포에 축적 되어진다 (Moody와 Cassens, 1968). 이러한 근내지방은 중성지방의 생합성과 분해 사이의 균형에 의해 조절되어지며, 많은 대사 시스템에 의해 지방 축적도의 능력 차이를 보인다. 근육 내 지방축적과 관련되어 후보 유전자로서 지방대사 관련 유전자에 대한 관심이 늘어나고 있다 (Kazala 등, 2003; Mercade 등, 2006; 이 등, 2006). 특히, 최근 연구에서는 유리 지방산을 근육 및 지방세포로 이동시키는 adipose fatty

Corresponding author : E. W. Park, Animal Genomics & Bioinformatics Division, National Institute of Animal Science, Rural Development Administration, Suwon, 441-706, Korea  
Tel : +82-31-290-1593, E-mail : pewkys@rda.go.kr

acid binding protein (FABP4)가 지방축적과 관련되어 있음이 보고되었고 (Jurie 등, 2007), 이러한 결과는 지방축적에 있어 지방산이 중요한 역할을 담당하고 있음을 보여주는 좋은 예라고 할 수 있다.

중성지방 생합성은 2가지 주요 경로를 통해 진행되어 진다 (Coleman과 Lee, 2004; Kiens, 2006). MAG (monoacylglycerol) 경로는 영양분의 흡수 및 흡수된 영양분을 이용한 중성지방 합성 경로로서, acyl-CoA를 이용하여 DAG (diacylglycerol)를 형성하고 TG (triacylglycerol) 생합성에 이용된다. 또 다른 glycerol-3-phosphate (G3P) 경로는 주로 지방세포와 간 조직에서의 중성지방 생합성 경로로 이용되며, G3P를 LPA (lysophosphatidic acid)로 전환하고, PA (phosphatidic acid)를 거쳐 DAG를 형성한다. 이러한 MAG 및 G3P 경로는 모두 공통된 형태의 DAG를 형성하고 이를 최종적으로 TG로 전환하여 축적하게 된다. 이러한 중성지방 생합성 과정에 있어 각 단계에 반응하는 효소인 GPAT (glycerol phosphate acyltransferase), MGAT (monoacylglycerol acyltransferase), DGAT (diacylglycerol acyltransferase) 및 ACS (acyl-CoA synthetase) 유전자는 중성지방 생합성에 있어 주요한 역할을 담당하고 있다.

최근 근내지방 축적과 관련되어 유전자 발현 연구는 특이발현 유전자 탐색 (Sasaki 등, 2005; Lee 등, 2007) 및 microarray 기법 등을 활용한 근내지방 축적관련 표지인자 탐색 및 생화학적 메카니즘 연구가 진행되고 있다 (Wang 등, 2005). 이러한 연구는 지방축적 관련 후보 유전자군 선발 및 메카니즘의 규명뿐만 아니라 유전자내 존재하는 SNP (single nucleotide polymorphism) 탐색 연구의 후보유전자로써 DNA marker 개발에 중요한 자료로 활용되고 있다. 그러나 중성지방 생합성 관련 유전자의 발현과 근내지방 축적에 대한 연구는 미흡한 실정이다.

본 연구는 비육기간 중 근육 내 중성지방 함량의 변화를 관찰하고, 중성지방 생합성에 관련된 유전자의 발현분석을 통해 중성지방 축적 및 유전자발현 양상의 변화를 확인하고자 수행

하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 공시재료

비육기간 동안 근육 내 변화되는 총 지방, 중성지방 함량 및 유전자 발현양상 분석을 위하여 축산과학원 한우시험장에서 사양한 12, 20, 27 및 30개월령 거세우 각 3두를 공시하였다. 시료는 도축 후 30분 이내에 채취하여 액체질소를 이용 즉시 동결하고, 사용 전까지  $-70^{\circ}\text{C}$ 에 보관하면서 실험에 이용하였다.

### 2. 총 지방 및 중성지방 함량 측정

한우 등심조직 내 지방함량 측정은 시료 1g을 이용 Folch 등 (1957)의 방법에 기초하여 수행하였고, 중성지방 함량은 추출된 총 지방을 이용하여 Wako TG 측정용 kit (TG IE kit, Wako, Japan)를 활용하여 측정하였다. 등심 육 1g에서 추출된 총 지방 (1 ml)에 발색시약 3 ml를 첨가한 후  $37^{\circ}\text{C}$ 에서 5분간 반응시켜 발색반응을 유도하고 600 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도는 기준액 (triglyceride)을 이용한 표준곡선을 통하여 중성지방 함량을 계산하였다.

### 3. 총 RNA 추출 및 cDNA 합성

등심 육으로부터 총 RNA는 TRIzol을 이용하여 다음과 같이 진행하였다. 액체질소를 이용하여 곱게 마쇄한 시료 0.1g에 TRIzol reagent 1 ml를 첨가하여 잘 혼합한 후 10분간 13,000 rpm에서 원심분리한 후 상등액을 취하였다. 얻어진 상등액에 chloroform 0.2ml를 첨가하고 혼합한 후 13,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 다시 상등액을 취하고, 상등액에 동량의 isopropanol 첨가 후 원심분리하여 RNA pellet를 획득하였다. 획득된 RNA pellet은 70% 에탄올을 이용하여 세척한 후 건조하고, DEPC를 처리한 멸균증류수에 녹여 사용하였다. 유전자

발현분석을 위하여 추출된 총 RNA는 RNeasy MiniElute cleanup kit (Qiagen, USA)을 이용하여 정제 후 cDNA 합성에 이용하였다.

조직으로부터 추출된 총 RNA는 유전자 발현 분석을 위한 cDNA 합성에 이용하였다. 총 RNA 2 µg에 random primer (Promega, USA) 1 µl, 2.5 mM dNTP 1 µl를 첨가하고, DEPC를 처리한 증류수로 총 12 µl가 되도록 하였다. 65°C에서 5분간 변성 후 즉시 얼음 위에서 냉각한 후 5X buffer 4 µl, 0.1M DTT 2 µl, RNase inhibitor (Promega) 0.5U 및 reverse transcriptase (SuperScript II Reverse Transcriptase, Invitrogen, USA) 1 µl를 첨가하여 42°C에서 60분간 반응시킨 후, 70°C에서 15분간 반응시켜 reverse transcriptase를 불활성화 시킨 후 real-time PCR의 주형으로 사용하였다.

#### 4. Real-time PCR을 통한 유전자 발현분석

중성지방 생합성 관련 유전자의 발현양상을 분석하기 위하여 real-time RT-PCR법을 이용하였다. 시료로부터 추출된 총 RNA를 이용하여 cDNA를 합성하고, 합성된 cDNA 0.2 µg을 주형으로 2X Power SYBR Green PCR Master mix (Applied Biosystems, UK)와 각각의 primer set (Table 1)을 이용하여 7500 Real time PCR system (Applied Biosystems)을 통하여 분석하였다. 각 PCR 반응은 95°C에서 10분간 예비 변성한 후 95°C에서 15초, 60°C에서 1분간 40회 반복하여 수행하였다. PCR 반응 종결 후 melting curve 작성을 통하여 유전자 증폭의 정확성을 재확인하였다. 유전자 발현량의 내부 보정을 위하여 house keeping 유전자인 GAPDH (gly-

Table 1. Primer sequences for real-time PCR of the specific genes

Gene	Primer sequences (5' -3')	Size (bp)	GenBank Accession No.	
PPAR $\gamma$	Forward	CGATATCGACCAACTGAACC	142	BC116098
	Reverse	ACCGGTGATTTGTCTGTCTGT		
C/EBP $\alpha$	Forward	TGGACAAGAACAGCAACGAG	130	NM_176784
	Reverse	TTGTCACTGGTCAGCTCCAG		
ACSS2	Forward	ACTGCTTTGTACCTTGTGCGATG	114	DQ489534
	Reverse	TCTGGATGTAATCCGGTGTGGCAA		
GPAT	Forward	TGGTTAAAGCTGCGACTGAGACGA	129	NM_001012282
	Reverse	CTGAAGCAATGTACGGCGCTTTGA		
MGAT	Forward	TGGGCCAGTCTCAGTTTCCAAGAA	129	NM_001001153
	Reverse	AGAGTGAACCTTCCAGGATGGGCA		
DGAT	Forward	AGCCCTTCAAGGACATGGACTACT	87	NM_174693
	Reverse	AGAAGATGAGCCAGATGAGGTGGT		
GAPDH	Forward	GGGTCATCATCTCTGCACCT	176	BC102589
	Reverse	GGTCATAAGTCCCTCCACGA		

PPAR $\gamma$ , peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ ; C/EBP $\alpha$ , CCAAT/enhancer binding protein  $\alpha$ ; ACSS2, acyl-CoA synthetase short-chain family member 2; GPAT, glycerol phosphate acyltransferase; MGAT, monoacylglycerol acyltransferase; DGAT, diacylglycerol acyltransferase; GAPDH, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase.

eraldehyde-3-phosphate dehydrogenase)를 이용하였고, 상대적 유전자 발현량은  $\Delta\Delta Ct$  방법을 통하여 분석하였다. 위 실험은 3회 반복 수행하였다.

## 5. 통계분석

비육기간 중 변화되는 지방 및 중성지방 함량, 유전자발현량은 SAS package (SAS Institute Inc., USA)의 일반선형모형 (General linear model) 을 통해 통계적 유의성을 검증하였다.

## III. 결과 및 고찰

### 1. 비육기간 중 총 지방 및 중성지방 함량 변화

비육기간 중 한우 등심 내 지방축적 정도를 확인하기 위하여 총 지방 및 중성지방 함량을 측정하였다. 채취된 시료 각 1g을 기준으로 근육 내 함유된 총 지방량을 측정한 결과 Table 2에서 보는바와 같이 12, 20개월령에서 평균 1.8과 3.26%로 낮은 함량이 관찰되었으며, 27 및 30개월령에서는 평균 15% 정도의 함량을 보였다. 이는 일본 흑모화우를 대상으로 한 Nishimura 등 (1999)의 연구와 유사한 결과로, 등심 육 (*longissimus doris*) 내 총 지방 함량이 20개월 이후 급속히 증가되어 27, 30개월에서 최고를 보인 결과와 동일한 양상임을 확인할 수 있었다. 또한, 총 지방 함량의 증가와 함께 지방의 저장형태인 중성지방 (TG) 함량 또한 27, 30개월령에서 12, 20개월령 보다 약 6배 이

상 증가된 것을 확인하였다. 이러한 결과는 한우에 있어 등심 내 지방의 축적은 20개월령 이후 급속히 진행됨을 나타내는 결과로 한우 비육에 있어 중요한 기초 자료로 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

### 2. 비육기간 중 중성지방 생합성 관련 유전자 발현양상

C/EBP $\alpha$  (CCAAT/enhancer binding protein  $\alpha$ ) 및 PPAR $\gamma$  (peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ ) 유전자는 전사조절인자로서 지방생합성과 관련되어 중요한 indicator로 사용되고 있다 (Rosen, 2005). 본 연구에서도 비육기간 중 중성지방 생합성 관련 유전자 발현분석에 앞서 중요 indicator로 활용되고 있는 2가지 유전자의 발현량을 분석하였다. Real-time PCR법을 통해 분석한 두 유전자 (C/EBP $\alpha$ , PPAR $\gamma$ )의 발현양상은 12개월령을 기준으로 하여 20개월령의 경우 큰 차이가 관찰되지 않았으나, 이후 27개월령에서 증가됨이 관찰되었으며 (3.2, 2.9배) 30개월령에서는 9.6배 및 5.3배 높은 발현을 보였다 (Fig. 1). 이러한 결과는 총 지방 함량 및 중성지방 함량 측정 결과와도 유사한 형태를 보임을 확인 할 수 있으며, 유전자의 발현 증가는 27, 30개월령에 있어 지방 생합성 반응이 증가되었음을 나타낸다고 할 수 있다.

지방세포와 근육 내 중성지방 생합성에 관여하는 ACS2, GPAT, MGAT 및 DGAT 유전자에 대하여, 비육기간 중 유전자 발현양상을 분석한 결과 모든 유전자에서 12개월과 20개월령 사이에는 큰 변화가 관찰되지 않았으나, MGAT

Table 2. Total fat and triacylglycerol(TG) contents in Hanwoo longissimus muscle

Age (months)	Fat content (%)	TG content (mg/ml)
12	1.87 $\pm$ 0.004 <sup>a</sup>	0.34 $\pm$ 0.070 <sup>a</sup>
20	3.26 $\pm$ 0.015 <sup>a</sup>	0.41 $\pm$ 0.015 <sup>a</sup>
27	14.86 $\pm$ 0.030 <sup>b</sup>	2.51 $\pm$ 0.024 <sup>b</sup>
30	15.86 $\pm$ 0.040 <sup>b</sup>	2.77 $\pm$ 0.330 <sup>b</sup>

<sup>a, b</sup> Means with different superscripts are significantly different (P<0.05). (Mean  $\pm$  S.D.)

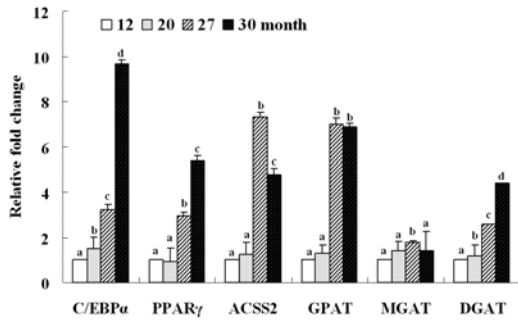


Fig. 1. Relative mRNA level of C/EBP $\alpha$ , PPAR $\gamma$  and triacylglycerol biosynthesis genes using real-time PCR in Hanwoo *longissimus* muscle among the fattening stages. Data are shown as mean  $\pm$  standard error of three replicate runs. The data represent the relative fold change in mRNA expression relative to the control (12 months), which is arbitrarily defined as 1. PPAR $\gamma$ , peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ ; C/EBP $\alpha$ , CCAAT/enhancer binding protein  $\alpha$ ; ACSS2, acyl-CoA synthetase short-chain family member 2; GPAT, glycerol phosphate acyltransferase; MGAT, monoacylglycerol acyltransferase; DGAT, diacylglycerol acyltransferase; GAPDH, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase.

<sup>a,b,c,d</sup> Means with different superscripts are significantly different ( $P < 0.05$ ).

을 제외한 유전자에서 27개월 및 30개월령에서 발현이 증가됨을 확인하였다 (Fig. 1).

지방의 축적은 주로 adipocyte의 부피성장으로 초래되며, 이는 저장형 지방의 증가를 의미한다. ACS (acyl-CoA synthetase)는 지방산을 acyl-CoA로 전환하는 효소로 중성지방 합성 시 acyl-group을 제공하는 역할을 담당하고 있다 (Coleman 등, 2002). ACS는 short-, medium-, long-, very long-chain 등 그 특성 및 조직 내 분포에 따라 다양하게 구별되어지며, 현재까지 인간의 경우 26종이 존재하는 것으로 보고되었다 (Watkins 등, 2007). 특히, Sone 등 (2001)은 ACS family 중 ACSS2 (acyl-CoA synthetase short-chain family member 2)가 지방생합성 관련 조절유전자인 SREBP (sterol regulatory element-

binding protein)-1에 의해 조절되어 지방생합성 (lipogenesis)에 관련함을 확인하였다. 본 연구에서는 다양한 ACS family 중에서 지방생합성과 관련되어 있다고 보고된 ACSS2 유전자를 대상으로, 비육 단계에 따른 유전자 발현양상을 비교 하여 ACSS2 유전자가 12개월령에 비해 비육 후기인 27개월령에서 7.3배 증가됨을 확인할 수 있었다. 비육후기 조사료와 농후사료의 급여 비율은 반추위의 미생물성장 및 각종 분해산물에 크게 영향을 미치게 되는데, 농후사료의 급여는 휘발성 지방산의 증가를 유도하게 된다 (이 등, 1991). 근육 내 지방산의 증가는 인슐린 저항성을 유도하여 인슐린에 의한 glycogen 합성 및 glucose의 산화를 감소시키는 데, 이는 glucose 이용성의 감소를 의미한다 (Griffin 등, 1999). 또한 이 등 (2006)은 비육 전·후기 등심육 내 지방합성 관련 유전자의 발현양상 분석을 통하여 비육 후기 지방합성에 glucose 보다는 지방산을 더 많이 이용할 것으로 예측하였다. 이러한 결과로 볼 때 농후사료의 급여로 근육 내 지방산이 증가되고, 이러한 지방산의 이용성이 증가되어, 이들의 축적형태인 중성지방 합성에 이용되는 것으로 판단된다. 이때 지방산을 acyl-CoA로 전환하는 효소인 ACSS2가 활성화되어 지방축적을 유도하는 것으로 생각되어진다.

중성지방 합성에 있어 GPAT (glycerol-3-phosphate acyltransferase) 효소는 glycerol-3-phosphate를 이용하여 LPA (lysophosphatidic acid)로 전환 후 중성지방을 합성하는 처음 단계에 관여하고 있다 (Coleman과 Lee, 2004). GPAT 단백질 발현과 지방 생합성과의 관련성을 분석한 Linden 등 (2004)의 연구를 통해 GPAT의 과발현이 rat hepatocyte에서 중성지방의 생합성을 증가시킴을 확인하였다. 또한 Hammond 등 (2005)은 GPAT가 acyl-CoA의  $\beta$ -oxidation과 중성지방 생합성 경로로의 분배 역할을 담당한다고 보고하였다. 이러한 결과는 GPAT가 중성지방 생합성에 있어 중요한 역할을 담당하고 있음을 시사한다고 할 수 있다. 본 연구에서도 비육 후기인 27개월 및 30개월령에서 GPAT 유전자의 발현이 7배 증가되었으며 (Fig. 1), 근육

내 중성지방함량 또한 2.51 및 2.77 mg/ml로 12개월령에 비해 7.3 및 8.1배 증가됨을 확인할 수 있었다 (Table 2). 이러한 결과는 근육 내 중성지방 합성에 있어 GPAT를 이용한 glycerol phosphate 경로가 주요한 역할을 담당하고 있음을 보여주는 결과라 할 수 있다.

MGAT (monoacylglycerol acyltransferase)는 monoacylglycerol과 acyl-CoA를 이용하여 diacylglycerol을 합성하는데 이용되는 효소로, 주로 intestinal mucosa에서 중성지방 합성에 관여한다고 알려져 있다 (Coleman과 Lee, 2004). 비육기간 중 유전자 발현양상을 분석한 결과에서 MGAT 유전자의 발현의 변화는 관찰되지 않았다 (Fig. 1). 이러한 이유로는 MG (monoacylglycerol)을 이용한 중성지방 합성경로가 일부 adipocyte에서 유도되어 지는 것으로 알려져 있으나 (Jamdar와 Cao, 1992), 근육 내 중성지방 합성에 있어 주요한 경로로는 이용되지 않기 때문인 것으로 판단되어 진다.

DGAT (diacylglycerol acyltransferase)는 diacylglycerol를 최종 산물인 중성지방 (TG)으로 합성하는 마지막 단계에 관여하는 효소이다 (Yu와 Ginsberg, 2004). DGAT 유전자의 활성은 acyl-CoA와 diacylglycerol에 의존적으로 나타나며, mRNA의 발현은 adipocyte에서 가장 높게 나타나고 heart, skeletal muscle 등 다양한 조직에서도 확인되었다 (Cases 등, 2001). 특히, Chen 등 (2002)은 DGAT 유전자 knockout mice 연구를 통해 adipocyte와 skeletal muscle에서 지방 축적이 30~40% 감소됨을 확인하여 DGAT 유전자가 지방 축적에 있어 주요한 역할을 담당하고 있음을 보고 하였다. 또한 소를 이용한 연구에서도 DGAT의 활성 및 유전자 내 SNP가 근내지방과 관련되어 있음이 보고된 바 있다 (Middleton 등, 1998; Thaller 등, 2003). 이러한 선행 연구결과와 같이 본 실험에서도 중성지방량의 증가와 함께 DGAT 유전자의 발현도 증가됨을 확인하였다 (Table 2, Fig. 1). DGAT의 증가는 비육 후기에 나타나는 acyl-CoA의 증가로 중성지방 생합성 경로의 활성화가 촉진되어 유전자의 발현량에도 영향을 미치는 것으로 판단되어 진다.

본 연구를 통해 비육 후기인 20개월령 이후 근육 내 중성지방의 축적이 급속히 진행되어지며, 지방의 증가와 함께 중성지방 생합성 관련 유전자의 (ACSS2, GPAT 및 DGAT) 발현도 증가됨을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 비육 후기에 있어 고 에너지 사료의 급여가 혈중 내 지방산 함량의 증가를 유도하고, 지방산 이용성의 증가로 인해 축적형태인 중성지방 생합성 경로의 활성화가 촉진되는 것으로 판단된다. 이러한 중성지방 생합성 관련 유전자의 발현증가가 직접적으로 근육 내 지방 축적을 유도하는지는 아직 명확하지 않다. 그러나 근육 내 지방 축적과 관련되어 주요한 후보 유전자로서의 가치는 충분한 것으로 판단되어 진다. 또한 추후 각 유전자에 대한 구조분석 연구를 통하여 유전자변이(SNP)와 형질과의 연관성 연구가 지속되어야 할 것으로 판단된다.

#### IV. 요약

비육 기간 중 근육 내 지방 축적 및 관련 유전자 발현 양상을 확인하기 위하여, 등심 내 지방 및 중성지방 함량을 측정하고 중성지방 생합성 관련 유전자인 ACSS2, GPAT, MGAT 및 DGAT의 유전자 발현량을 real-time PCR법을 통하여 분석하였다. 근육 내 중성지방 함량은 20개월령 이후 급속히 증가됨을 보였고, 중성지방 함량의 증가와 함께 ACSS2, GPAT 및 DGAT 유전자의 발현이 증가됨을 확인하였다. 특히, 12개월령과 비교하여 ACSS2 유전자의 발현은 비육후기인 27개월령에서 7.3배, GPAT는 6.9배 증가되었다. 이러한 중성지방 함량의 증가와 중성지방 생합성 관련 유전자의 발현량 증가는 비육후기에 있어 고 에너지 사료 급여로 인한 지방산의 증가와, 증가된 지방산의 이용성 증대로 축적 형태인 중성지방 합성이 증가되는 것으로 판단되어 진다. 또한 중성지방 생합성 관련 유전자인 ACSS2, GPAT 및 DGAT 유전자의 발현증가는 근육 내 지방 축적과 밀접히 관련되어 있으며, 근내지방 축적과 관련되어 주요한 후보 유전자로 생각되어 진다.

## V. 사 사

본 연구는 2007년 농촌진흥청(축산과학원) 박사후연수과정지원사업 및 축산과학원 경상과제(2007139066800001)에 의해 이루어진 것임.

## VI. 인 용 문 헌

- Cases, S., Stone, S. J., Zhou, P., Yen, E., Tow, B., Lardizabal, K. D., Voelker, T. and Farese, R. V. Jr. 2001. Cloning of DGAT2, second mammalian diacylglycerol acyltransferase, and related family members. *J. Biol. Chem.* 276: 38870-38876.
- Chen, H. C., Smith, S. J., Ladha, Z., Jensen, D. R., Ferreira, L. D., Pulawa, L. K., McGuire, J. G., Pitas, R. E., Eckdl, R. H. and Farese, R. V. Jr. 2002. Increased insulin and leptin sensitivity in mice lacking acyl CoA: diacylglycerol acyltransferase 1. *J. Clin. Invest.* 109:1049-55.
- Coleman, R. A., Lewin, T. M., Van Horn, C. G. and Gonzalez-Baro, M. R. 2002. Do long-chain acyl-Coa synthetases regulate fatty acid entry into synthetic versus degradative pathways? *J. Nutr.* 132:2123-2126.
- Coleman, R. A. and Lee, D. P. 2004. Enzymes of triacylglycerol synthesis and their regulation. *Prog. Lipid Res.* 43:134-176.
- Folch, J., Lees, M. and Stanley, G. H. S. 1957. A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226:497-508.
- Geay, Y., Bauchart, D., Hocquette, J. F. and Culioli, J. 2001. Effect of nutritional factors on biochemical, structural and metabolic characteristics of muscles in ruminants, consequences on dietetic value and sensorial qualities of meat. *Reprod. Nutr. Dev.* 41:1-26.
- Griffin, M. E., Marcucci, M. J., Cline, G. W., Bell, K., Barucci, N., Lee, D., Goodyear, L. J., Kraegen, E. W., White, M. F. and Shulman, G. I. 1999. Free fatty acid-induced insulin resistance is associated with activation of protein kinase C  $\Theta$  and alterations in the insulin signaling cascade. *Diabetes* 48:1270-1274.
- Hammond, L. E., Neschen, S., Romanelli, A. J., Cline, G. W., Ilkayeva, O. R., Shulman, G. I., Muoio, D. M. and Coleman, R. A. 2005. Mitochondrial glycerol-3-phosphate acyltransferase-1 is essential in liver for the metabolism of excess acyl-CoAs. *J. Biol. Chem.* 280:25629-25636.
- Hocquette, J. F., Richardson, R. I., Prache, S., Medale, F., Duffy, G. and Scollan, N. D. 2005. The future trends for research on quality and safety of animal products. *Italian J. Anim. Sci.* 4:49-72.
- Hovenier, R., Kanis, E., Van Asseldink, T. and Westerink, N. G. 1993. Breeding for pig meat quality in halothane negative populations-a review. *Pig News and Information*, 14:17N-35N.
- Jamdar, S. C. and Cao, W. F. 1992. Properties of monoglycerol acyltransferase in rat adipocytes. *Arch. Biochem. Biophys.* 296:419-425.
- Jurie, C., Cassar-Malek, I., Bonnet, M., Leroux, C., Bauchart, D., Boulesteix, P., Pethick, D. W. and Hocquette, J. F. 2007. Adipocyte fatty acid-binding protein and mitochondrial enzyme activities in muscles as relevant indicators of marbling in cattle. *J. Anim. Sci.* 85:2660-2669.
- Kazala, E. C., Petrak, J. L., Lozeman, F. J., Mir, P. S., Laroche, A., Deng, J. and Weselake, R. J. 2003. Hormone-sensitive lipase activity in relation to fat content of muscle in Wagyu hybrid cattle. *Livest. Prod. Sci.* 79:87-96.
- Kiens, B. 2006. Skeletal muscle lipid metabolism in exercise and insulin resistance. *Physiol. Rev.* 86:205-243.
- Lee, S. H., Park, E. W., Cho, Y. M., Kim, S. K., Lee, J. H., Jeon, J. T., Lee, C. S., Im, S. K., Oh, S. J., Thompson, J. M. and Yoon, D. H. 2007. Identification of differentially expressed genes related to intramuscular fat development in the early and late fattening stages of Hanwoo steers. *J. Biochem. Mol. Biol.* 40:757-764.

16. Linden, D., William-Olsson, L., Rhedin, M., Asztely, A.-K., Clapham, J. C. and Schreyer, S. 2004. Overexpression of mitochondrial GPAT in rat hepatocytes leads to decreased fatty acid oxidation and increased glycerolipid biosynthesis. *J. Lipid Res.* 45:1279-1288.
  17. Mercade, A., Estelle, J., Perez-Enciso, M., Varona, L., Sillio, L., Noguera, J. L., Sanchez, A. and Folch, J. M. 2006. Characterization of the porcine acyl-CoA synthetase long-chain 4 gene and its association with growth and meat quality traits. *Amin. Genet.* 37:219-224.
  18. Middleton, C. K., Kazala, E. C., Lozeman, F. J. Hurly, T. A., Mir, P. S., Bailey, D. R. C., Jones, S. D. M. and Weselake, R. J. 1998. Evaluation of diacylglycerol acyltransferase as an indicator of intramuscular fat content in beef cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 78:265-270.
  19. Moody, W. G. and Cassens, R. G. 1968. Histochemical differentiation of red white muscle fibers. *J. Anim. Sci.* 27:961-968.
  20. Nishimura, T., Hattori, A. and Takahashi, K. 1999. Structural changes in intramuscular connective tissue during the fattening of Japanese black cattle: effect of marbling on beef tenderization. *J. Anim. Sci.* 77:93 - 104.
  21. Resen, E. D. 2005. The transcriptional basis of adipocyte development. *Prostag. Leukotr. Ess.* 73: 31-34.
  22. Sone, H., Shimano, H., Sakakura, Y., Inoue, N., Amemiya-Kudo, M., Yahagi, N., Osawa, M., Suzuki, H., Yokoo, T., Takahashi, A., Iida, K., Toyoshima, H., Iwama, A. and Yamada, N. 2001. Acetyl-coenzyme A synthetase is a lipogenic enzyme controlled by SREBP-1 and energy status. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 282:E222-230.
  23. Ssaki, Y., Nagai, K., Nagata, Y., Doronbekov, K., Nishimura, S., Yoshioka, S., Fujita, T., Shiga, K., Miyake, T., Taniguchi, Y. and Yamada, T. 2005. Exploration of genes showing intramuscular fat deposition-associated expression changes in musculus longissimus muscle. *Anim. Genet.* 37:40-46.
  24. Tatum, J. D., Simth, G. C. and Carpenter, Z. L. 1982. Interrelationships between marbling, subcutaneous fat thickness, and cooked beef palatability. *J. Anim. Sci.* 34:777-784.
  25. Thaller, G., Kühn, C., Winter, A., Ewald, G., Bellmann, O., Wegner, J., Zühlke, H. and Fries, R. 2003. DGAT1, a new positional and functional candidate gene for intramuscular fat deposition in cattle. *Anim. Genet.* 34:354-357.
  26. Wang, Y. H., Byrne, K. A., Reverter, A., Harper, G. S., Taniguchi, M., McWilliam, S. M., Mannen, H., Oyama, K. and Lehnert, S. A. 2005. Transcriptional profiling of skeletal muscle tissue from two breeds of cattle. *Mamm. Genome* 16: 201-210.
  27. Watkins, P. A., Maiguel, D., Jia, Z. and Pevsner, J. 2007. Evidence for 26 distinct acyl-coenzyme A synthetase genes in the human genome. *J. Lipid Res.* 48:2736-2750.
  28. Yu, Y. H. and Ginsberg, H. N. 2004. The role of acyl-CoA:diacylglycerol acyltransferase (DGAT) in energy metabolism. *Ann. Med.* 36:252-261.
  29. 이돈우, 김병기, 이상철. 1991. 조사료와 농후사료의 급여비율에 따른 반추위내 성장 및 소화율 변화. *한국영양사료학회지.* 15:85-91.
  30. 이승환, 박응우, 조용민, 김경훈, 오영균, 이지혜, 이창수, 오성종, 윤두학. 2006. 한우 비육 전·후기의 등심조직에 있어서 지방합성 유전자 발현. *한국동물자원과학회지.* 48:345-352.
- (접수일자 : 2008. 1. 30. / 수정일자 : 2008. 5. 26. / 채택일자 : 2008. 6. 9.)