

# 국내산 돼지고기의 원산지 검증을 위한 SNP Marker Set 개발

김상욱<sup>1</sup> · 이소평<sup>1</sup> · 이윤미<sup>2</sup> · 김종주<sup>2</sup> · 김태현<sup>3</sup> · 최봉환<sup>3</sup> · 김관석<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>충북대학교 농업생명환경대학 축산학과, <sup>2</sup>영남대학교 생명공학부, <sup>3</sup>농촌진흥청 국립축산과학원

## Development of SNP Markers for Domestic Pork Traceability

Sang-Wook Kim<sup>1</sup>, Xiaoping Li<sup>1</sup>, Yun-Mi Lee<sup>2</sup>, Jong-Joo Kim<sup>2</sup>, Tae-Hun Kim<sup>3</sup>, Bong-Hwan Choi<sup>3</sup> and Kwan-Suk Kim<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Animal Science, Chungbuk National University, <sup>2</sup>School of Biotechnology, Yeungnam University,

<sup>3</sup>National Institute of Animal Science, Rural Development Administration

### ABSTRACT

The purpose of the study was to develop an optimum SNP marker set to be utilized for domestic pork traceability. The study tested 51 SNP markers analyzed for origin of farm to be determined from genotypes of offspring and parents in pigs. With the simulation data through random mating population (PI), half sib mating population (PI<sub>half-sib</sub>) and full sib mating population (PI<sub>sibs</sub>), probability of identical genotypes were analyzed as  $5.63 \times 10^{-33}$ ,  $4.35 \times 10^{-15}$  and  $1.32 \times 10^{-15}$ , respectively. The 51 SNP markers also had 100% accuracy for parental determination. These results suggest that if the pig breeding stock is genotyped with the 51 SNP markers, the genotype information of individual offspring can be checked for farm origins by tracing parental sow and sire. Therefore, these SNP markers will be useful to trace the pork from production to consumption in pigs.

(Key words : Pig breeding, SNPs, Pork origin, Parentage analysis)

### 서 론

WTO 출범 이후 국제무역 환경 속에서 돼지고기의 수입량은 매년 늘어나고 국내시장의 수입산 돼지고기 유통량이 나날이 증가하고 있지만, 유통과정에서 원산지를 검증하기 어렵기 때문에 외국산 돼지고기를 국내산으로 판매하여 소비자 및 생산농가들에게 모두 피해를 발생하고 있다. 또한 원산지 표시 실태 및 단속현황 조사결과 돼지고기가 가장 위반건수가 높은 품목으로 조사되었다(농림수산식품부, 2008). 현재 돼지고기의 원산지를 판별 할 수 있는 방법은 관능적인 판별방법을 이용하고 있으나, 정확하게 원산지를 판별할 수 있는 체계적이고 과학적인 방법은 현재 미흡한 상황이다. 국내산 돼지고기들의 유통과정 검증은 국내산과 수입산의 원산지를 판별 할 수 있는 강력한 수단으로 활용될 수 있으며, 또한 종돈개량 및 양돈산업의 경쟁력 강화를 위하여 중요한 정보로 활용될 수 있다. 따라서 가계(혈통) 정보를 확인하거나 생산이력추적을 하기 위한 DNA marker에 대한 연구들이 활발히 이루어지고 왔다(Heaton 등, 2002; Werner 등, 2004; Dodds 등, 2005; Eenennaam 등, 2007; Gomez Raya 등, 2008).

최근 연구 결과에 따르면 단일염기다형(SNP) 마커들을 이용하여 유전자형을 적은 비용으로 대량 분석하는 것이 가능하여 이를 축산물에 이력추적이나 원산지 식별에 적용하고 있다(Anderson

와 Garza 등, 2006; Rohrer 등, 2007; Hill 등, 2008; Baruch와 Weller 등, 2008). 또한 Honda 등(2009) 등은 일본의 소의 품종을 이용하여 10개, 30개와 50개의 각각의 SNP 마커들의 조합(MAF:q,  $0.25 \leq q \leq 0.35$ )을 이용하여 친자감별력을 모의 실험한 결과 50개의 SNP 마커 조합일 때 거의 100%의 감별력을 수행할 수 있음을 보고 하였다. 따라서 본 연구는 국내산 돼지고기의 원산지 검증에 활용될 수 있는 SNP 마커들의 조건을 확립하고자 수행하였다.

### 재료 및 방법

#### 1. 공시재료, DNA 추출 및 농도측정

충북 청원군에 소재한 농장에서 사육중인 모돈(n=180)으로부터 생산된 비육돈(n=400)의 이표정보와 교배정보를 본 실험에 이용하였다. 비육돈 생산에 이용된 총 F0, F1과 F2 총 437두의 조직 300g으로부터 DNeasy Tissue kit(QIAGEN, Co., Ltd, USA)를 이용하여 genomic DNA를 분리하여 이용하였다. DNA 정량 분석은 spectrophotometer(Pharmacia Biotech, England)를 이용하여 260 nm~280 nm에서 흡광도를 측정하여 DNA의 농도와 순도를 확인하였다.

\* Corresponding author : Kwan-Suk Kim, Department of Animal Science, Chungbuk National University, Cheongju, Chungbuk, 361-763 Korea. Tel: 82-043-261-2547, Fax: 82-043-273-2240, E-mail: kwanskim@chungbuk.ac.kr

## 2. SNP marker의 선발

본 실험에 사용된 SNP marker는 Li 등(2008)의 보고에 의해 확인된 총 1787 개의 SNP중 162개를 기초로 하여, 상업색채상의 위치와 다형성 정보가 높은 51개의 SNP 마커들을 선정하여 이용하였다(Table 1).

## 3. Multiplex-PCR에 의한 DNA 증폭 및 MassARRAY method에 의한 유전자형 분석

MassARRAY Design Software(Sequenom Inc, San Diego, USA)를 이용하여 51개의 SNP들의 분석을 위한 Multiplex PCR primer들과 4개의 SNP genotyping panel 고안하였다. PCR Primer를 이용하여 Multiplex PCR을 수행하여 증폭한 후 4개 panel들의 extension primer를 이용하여 MassARRAY method로 유전자형 분석을 하였다(Storm 등, 2003; Tang 등, 2003)

첫 번째, multiplex-PCR 반응액 조성은 PCR reaction buffer 10 mM(Tris-HCl, pH8.3, 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>)와 2.5mM dNTPs, 10 pmol first and second primer pairs, 10ng의 template DNA, 0.5 U h-Taq DNA polymerase(Bioneer Co., Ltd)와 Nanopure H<sub>2</sub>O를 사용하여 총 반응액은 10 $\mu$ l로 하였다. PCR 반응에는 ABI GeneAmp PCR System 9700(Perkin-Elmer Co., USA)를 사용하였고, PCR 조건은 95 $^{\circ}$ C에서 15분간 pre denaturation 한 후 95 $^{\circ}$ C에서 20초간 denatruation, 56 $^{\circ}$ C에서 30초간 annealing, 그리고 72 $^{\circ}$ C에서 1분간 extention을 45 cycles 수행한 후 마지막으로 72 $^{\circ}$ C에서 3분간 최종 extention 과정을 수행하였다. PCR 증폭 산물은 증폭된 단편의 크기가 예상된 allele size 범위 내에 존재하는지, PCR 조건의 적정성 여부를 확인하기 위하여 EtBr(ethidium bromide)이 포함된 2% agarose gel에 전기영동하고 UV상에서 관찰하였다.

두 번째, dNTP를 제거하기 위해 SAP treatment 과정을 실시하였다. SAP treatment 반응액 조성은 10 $\times$  SAP buffer 0.170 $\mu$ l, SAP enzyme 0.4U와 Nanopure H<sub>2</sub>O를 사용하여 총 반응액 2  $\mu$ l로 하였다. SAP treatment 조건은 37 $^{\circ}$ C에서 20분간 수행 후 85 $^{\circ}$ C에서 5분간 반응을 시켰다.

세 번째, iPLEX 반응을 하기 위해 10 $\times$  iPLEX buffer 0.755 $\mu$ l, iPLEX termination mix 0.200 $\mu$ l, extension primer 7uM, iPLEX enzyme 0.0041 $\mu$ l와 Nanopure H<sub>2</sub>O를 사용하여 반응액은 2 $\mu$ l로 하였다. iPLEX 반응조건은 95 $^{\circ}$ C에서 30초간, 95 $^{\circ}$ C에서 5초간, 52 $^{\circ}$ C에서 5초간, 80 $^{\circ}$ C에서 5초간 수행한 후, 세 번째 step에서 5 cycle 수행, 그리고 두 번째 step 에서 다시 40 cycle 수행한 후 72 $^{\circ}$ C에서 3분간 처리하였다. 384 well에서 SpectroCHIP(Sequenom SpectroCHIP<sup>®</sup>)으로 sample 이동 후 MALDI-TOF mass spectrometry(Sequenom Compact System)를 이용하여 유전자형을 관찰하였으며, 유전자형은 Sequenom의 SNP 분석 프로그램인 Typer 4.0(또는 3.0)을 이용하여 결과 확인 및 오류 분석

을 수행하였고, 마이크로소프트 Excel 프로그램을 이용하여 최종 데이터를 정리하였다.

## 4. SNP 마커들의 다형성 및 독립성 검증 및 친자감별력 통계분석

가축의 원산지(부모) 추정에 이용할 효율적인 DNA 마커를 선택하기 위한 마커들 간의 다형성 정보 분석을 위해 Barrett 등(2005)의 Likelihood method 적용하였고, Stephens과 Donnelly(2003)의 마커들 간의 독립성을 측정하는 방법을 이용하였다. 유전자형 정보를 이용하여 원산지 추정은 친자감별 프로그램인 CERVUS version 3.0 프로그램(www.fieldgenetics.com)를 이용하였는데, 친자감별시 확실적인 표현은 John 등(2005)의 방법을 이용하여 paternity index (PI) 및 probability of paternity (PP)를 사용하였고 계산방법은 다음과 같다.

1) Statistical frequency (SF):  $\delta$

2) Paternity Index (PI) or Likelyhood Ratio (LR):  $\beta/\delta$

3) Probability of Paternity (PP):  $[\beta/(\beta+\delta)] \times 100$  (%)

이 경우 SF는 전체 집단에서 무작위로 개체를 선택했을 때 부모이 될 수 있는 확률( $\delta$ )이다. PI 혹은 LR 은 무작위로 선택한 개체가 부모일 확률( $\beta$ )에 대하여 생물학적 부모으로 추정되고 있는 개체가 친부일 확률( $\beta$ )의 비이다( $\beta/\delta$ ). PP는 PI를 백분율로 표현한 것이다.

## 결과 및 고찰

본 연구는 국내산 돼지고기 원산지 검증의 수단으로 DNA 검사 방법에 활용 가능한 SNP Marker의 선발과 marker set의 구축을 위해 수행되었다. Li 등(2008)은 NCBI 돼지 SNP 데이터베이스(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>)에 등재되어 있는 5450 개의 염기서열을 재분석 하였으며, 이를 통해 확인된 총 1787개의 SNP들을 보고하였다. 그 중 염색체 별로 돼지개체식별을 위한 SNP 유전자형 분석을 실시하였으며, 돼지품종식별과 유전능력에 지표가 될 수 있는 SNP 마커(data not shown)를 고려하면서, 높은 다형성 지수 및 독립성을 검증하여 최종 51개의 SNP들을 선발하였다(Table 1). CERVUS version 3.0 프로그램을 이용하여 분석된 SNP marker 별 기대 이형접합성(expected heterozygosity), 관측 이형접합성(observed heterozygosity)와 마커다형정보 지수(PIC: Polymorphism Information Content) 등의 추정치는 Table 1에 나타내었다. 총 51개의 SNP 마커들의 평균 기대 이형접합성은 0.476으로 나타났으며, 평균 관측 이형접합성은 0.435로 나타났다. 또한 선발된 51개의 SNP 마커들의 평균 Minor allele frequency는 0.344로 나타났으며 또한 모두 하디와인버그 평형의 조건을 만족하였다. 또한 독립성 검증 분석을 위해 Stephens method 적용하여 계산된 D' 및  $r^2$  값을 이용하였다(Stephens와 Donnelly, 2003). 각 마커 별 평균 D' 값은 0.337 나타났으며 평

Table 1. List of SNP markers used in this study

SNP name	Chromosome	N	Alleles	MAF	Ob H	Ex H	PIC	HWE P-value
NP001006642	1	402	C:T	0.220	0.369	0.346	0.284	0.7804
NP005609	1	405	C:T	0.321	0.476	0.439	0.341	0.5973
NP1162552	1	406	A:G	0.331	0.398	0.446	0.345	0.4531
NP937895	1	399	G:A	0.290	0.309	0.414	0.327	0.0432
NP002550	2	402	G:C	0.321	0.476	0.439	0.341	0.5973
NP003137	2	397	C:T	0.372	0.500	0.470	0.358	0.7341
NP003784	2	407	C:T	0.250	0.310	0.377	0.305	0.1744
NP004508	2	404	G:A	0.202	0.333	0.325	0.271	1.0000
NP054905	2	400	A:C	0.380	0.470	0.474	0.360	1.0000
NP775908	2	396	C:T	0.220	0.369	0.346	0.284	0.7804
NP001002811	4	403	A:G	0.375	0.464	0.472	0.359	1.0000
NP006173	4	406	G:C	0.393	0.571	0.480	0.363	0.1228
NP001003681	5	405	G:T	0.262	0.405	0.389	0.312	0.9435
NP079105	5	401	T:C	0.200	0.253	0.320	0.268	0.1197
NP054722	6	406	A:C	0.351	0.607	0.458	0.352	0.0530
NP892028	6	390	C:T	0.446	0.655	0.497	0.372	0.0520
NP001008844	7	391	A:G	0.429	0.500	0.493	0.370	1.0000
NP005266	7	384	G:A	0.416	0.590	0.489	0.368	0.0903
NP005893	7	403	C:G	0.411	0.583	0.487	0.367	0.1070
NP055595	7	401	T:C	0.458	0.583	0.500	0.373	0.1825
NP057660	7	404	C:T	0.287	0.500	0.411	0.325	0.0804
NP071350	7	405	T:G	0.458	0.560	0.500	0.373	0.3732
NP258261	7	397	T:C	0.375	0.583	0.472	0.359	0.0472
NP079182	8	404	C:T	0.209	0.313	0.282	0.241	0.5608
NP653247	8	405	A:G	0.463	0.561	0.500	0.374	0.3768
NP036233	9	404	T:C	0.392	0.566	0.479	0.363	0.1492
NP056076	9	406	A:G	0.190	0.310	0.310	0.261	1.0000
NP003168	10	401	C:T	0.392	0.422	0.479	0.363	0.3808
NP004437	10	400	A:T	0.369	0.548	0.468	0.357	0.1822
NP002461	12	407	G:C	0.274	0.381	0.400	0.319	0.8529
NP055914	12	407	G:C	0.202	0.310	0.325	0.271	0.8906
NP068758	12	404	G:T	0.357	0.548	0.462	0.354	0.1363
NP789839	12	404	T:A	0.292	0.464	0.416	0.328	0.4166
NP001097	13	400	C:A	0.399	0.488	0.482	0.365	1.0000
NP006216	13	404	T:A	0.410	0.506	0.487	0.367	0.8913
NP0559181	13	404	A:G	0.452	0.500	0.498	0.373	1.0000
NP006149	14	400	C:T	0.207	0.390	0.331	0.275	0.1741
NP0383471	14	407	G:C	0.440	0.619	0.496	0.371	0.0569
NP055118	14	401	T:C	0.202	0.316	0.268	0.231	0.2087
NP003460	15	402	G:A	0.482	0.651	0.502	0.375	0.0122
NP055407	16	405	T:G	0.355	0.446	0.461	0.353	0.9446
NP115976	16	406	A:G	0.315	0.440	0.434	0.339	1.0000
NP000836	18	406	C:T	0.280	0.464	0.405	0.322	0.2811
NP003778	6	405	G:A	0.451	0.439	0.498	0.373	0.3881
NP005332	6	404	T:C	0.439	0.585	0.496	0.371	0.1516
NP005520	6	405	G:A	0.274	0.405	0.400	0.319	1.0000
NP005539	6	406	T:G	0.435	0.560	0.494	0.371	0.3191
NP055542	6	398	T:C	0.429	0.571	0.493	0.370	0.2093
NP002301	16	362	T:C	0.452	0.614	0.498	0.373	0.0539
NP004073	3	402	G:T	0.393	0.602	0.477	0.362	0.0540
NP937895	1	404	C:T	0.200	0.400	0.322	0.269	0.0505
Total average	—	—	—	0.344	0.476	0.435	0.377	0.4524

MAF: Minor allele frequency (&gt;0.200).

Ob H is the marker's observed heterozygosity.

Ex H is the marker's predicted heterozygosity (i.e.  $2*MAF*(1-MAF)$ )

PIC is the marker's polymorphic information contents.

HWE P-value is the Hardy-Weinberg equilibrium p value.

Table 2. Correlations between 51 SNP Markers of pig

SNP marker 1	SNP marker 2 (n=50)	Chromosome	N	D' (average score)	r-square (average score)
NP001006642	each marker (n=50)	1	402	0.309	0.029
NP005609	each marker (n=50)	1	405	0.303	0.044
NP1162552	each marker (n=50)	1	406	0.242	0.045
NP937895	each marker (n=50)	1	399	0.270	0.039
NP002550	each marker (n=50)	2	402	0.336	0.051
NP003137	each marker (n=50)	2	397	0.286	0.042
NP003784	each marker (n=50)	2	407	0.265	0.029
NP004508	each marker (n=50)	2	404	0.365	0.045
NP054905	each marker (n=50)	2	400	0.265	0.037
NP775908	each marker (n=50)	2	396	0.283	0.027
NP001002811	each marker (n=50)	4	403	0.258	0.039
NP006173	each marker (n=50)	4	406	0.386	0.097
NP001003681	each marker (n=50)	5	405	0.314	0.053
NP079105	each marker (n=50)	5	401	0.232	0.017
NP054722	each marker (n=50)	6	406	0.364	0.071
NP892028	each marker (n=50)	6	390	0.345	0.084
NP001008844	each marker (n=50)	7	391	0.304	0.070
NP005266	each marker (n=50)	7	384	0.299	0.056
NP005893	each marker (n=50)	7	403	0.399	0.109
NP055595	each marker (n=50)	7	401	0.342	0.087
NP057660	each marker (n=50)	7	404	0.413	0.087
NP071350	each marker (n=50)	7	405	0.406	0.099
NP258261	each marker (n=50)	7	397	0.502	0.137
NP079182	each marker (n=50)	8	404	0.531	0.106
NP653247	each marker (n=50)	8	405	0.378	0.053
NP036233	each marker (n=50)	9	404	0.247	0.045
NP056076	each marker (n=50)	9	406	0.262	0.033
NP003168	each marker (n=50)	10	401	0.281	0.033
NP004437	each marker (n=50)	10	400	0.252	0.033
NP002461	each marker (n=50)	12	407	0.254	0.038
NP055914	each marker (n=50)	12	407	0.341	0.048
NP068758	each marker (n=50)	12	404	0.312	0.040
NP789839	each marker (n=50)	12	404	0.340	0.069
NP001097	each marker (n=50)	13	400	0.350	0.075
NP006216	each marker (n=50)	13	404	0.400	0.068
NP0559181	each marker (n=50)	13	404	0.374	0.061
NP006149	each marker (n=50)	14	400	0.444	0.063
NP0383471	each marker (n=50)	14	407	0.446	0.078
NP055118	each marker (n=50)	14	401	0.371	0.065
NP003460	each marker (n=50)	15	402	0.374	0.067
NP055407	each marker (n=50)	16	405	0.358	0.068
NP115976	each marker (n=50)	16	406	0.335	0.073
NP000836	each marker (n=50)	18	406	0.301	0.052
NP003778	each marker (n=50)	6	405	0.329	0.060
NP005332	each marker (n=50)	6	404	0.330	0.065
NP005520	each marker (n=50)	6	405	0.333	0.060
NP005539	each marker (n=50)	6	406	0.315	0.061
NP055542	each marker (n=50)	6	398	0.336	0.077
NP002301	each marker (n=50)	16	362	0.356	0.075
NP004073	each marker (n=50)	3	402	0.369	0.080
NP937895	each marker (n=50)	1	404	0.379	0.081
Total average	—	—	—	0.337	0.061

평균  $r^2$  값은 0.061로 매우 낮게 나타났다. 이러한 결과는 51개의 SNP 마커들의 조합은 독립적이며 연관성이 전혀 없음을 의미한다 (Table 2). MassARRAY 방법은 실험적인 에러율이 낮으며 정확한 유전자형 분석방법으로 보고되고 있다 (Rohrer 등, 2007; Hill 등, 2008).

51개의 SNP 마커들의 농장원산지 식별력을 추정하기 위한 모의 실험을 실시하였는데 추정된 통계량을 이용하여 무작위교배집단, 반형매 교배집단 그리고 전형매 교배집단으로 가정하여, 동일한 SNP 유전자형의 출현확률 (probability that two randomly chosen individuals have identical genotypes; PI, probability of identify from half sib;  $PI_{\text{half-sibs}}$ , and probability of identity from sibs;  $PI_{\text{sibs}}$ )과 부돈과 모돈의 친자감정률 (exclusion probability: first parent; NE-1P and exclusion probability: second parent; PE)을 CERVUS version 3.0을 이용하여 분석하였으며, 그 결과는 Table 3에 정리하였다. 51개의 SNP marker set 을 이용하여 친자를 추정한 결과 무작위 교배집단의 PI는  $5.63 \times 10^{-33}$ 으로 나타났으며, 반형매 교배집단의  $PI_{\text{half-sib}}$  값은  $4.35 \times 10^{-15}$ 로 관찰되었고, 나머지 전형매 교배집단  $PI_{\text{sibs}}$ 는  $1.32 \times 10^{-15}$ 으로 분석되었다. 또한 부돈이나 모돈중 하나의 부모만 모를 경우 부돈을 찾을 확률은 0.99997780으로 나타났고, 모돈을 찾을 확률은 >0.99999999으로 모두 100%에 가까운 친자확인 확률값을 나타냈다. 이 결과는 최근 13개의 microsatellite 마커를 조합하여 돼지의 친자를 추정한 보고들 보다 높은 친자감별 확률을 나타내었다 (Kaul 등, 2001; Lim 등, 2009). 초위성체 (Microsatellite) 마커는 높은 다형성을 가지고 있어서 집단의 linkage 분석과 소규모 친자감별에 효과적으로 활용되어 왔지만, 최근에는 분석비용이 낮고, 대량분석과 자동화된 판독이 가능한 SNP 마커의 분석이 증가하고 있다 (Ulgen 등, 2005; Thompson 등, 2005; Hill 등,

2008).

본 연구에서 확립한 51개 SNP 마커의 조합으로 나온 결과는 최근 60개의 SNP marker set 을 이용하여 보고된 미국의 듀록, 햄프셔, 랜드레이스와 요크셔 4 품종의 순수 웅돈으로부터 교배되어 생산된 자돈을 이용하여 모의실험 결과  $4.6 \times 10^{-23}$  보다 높은 품종 식별 및 개체식별력으로 나타났다 (Rohere 등, 2007). 이러한 결과는 사용된 분석집단의 차이뿐만 아니라 사용되어진 SNP 마커의 다형성과 마커간의 연관성의 차이에 따른 것으로 사료된다.

이상의 결과를 국내산 돈육의 원산지 식별에 적용되기 위해서는 다양한 농장의 규모 및 부돈과 모돈의 교배기록을 이용하여 추가적인 연구를 수행하여야 하지만, 본 연구에서 개발한 SNP panel별로 생성된 유전자형 지문정보를 이용할 경우 국내에서 생산된 돼지개체의 농장원산지 식별 할 수 있는 수단이 될 수 있을 것으로 사료된다.

### 요 약

본 연구는 돼지고기 원산지 식별에 활용될 수 있는 최적의 SNP marker set을 개발 및 확립하기 위해 수행되었다. 선발된 51개의 SNP marker들의 효율성, 다형성 및 독립성 검증을 실시하였으며 51개의 SNP marker set은 MassARRAY method에 의해서 Multiplex-PCR panel 4개로 디자인 되었으며, 농장별, 생산조합별, 모돈별, 웅돈별로 효과적으로 고유 유전자형 지문분석이 가능하게 제작되었고, 다른형태의 SNP 유전자형 분석 플랫폼에 적용될 수 있는 적절한 마커 갯수이다. 또한 51개의 SNP marker set을 적용하여 모의 실험 및 친자감별확률을 계산하였을 때 무작위 교배 집단 (PI), 반형매 교배집단 ( $PI_{\text{half-sib}}$ )과 전형매 교배집단 ( $PI_{\text{sibs}}$ )을 통해 모의 실험을 한 결과  $5.63 \times 10^{-33}$ ,  $4.35 \times 10^{-15}$  그리고  $1.32 \times$

Table 3. The cumulative probability of exclusion and Multi-locus probability of identity estimations for 51 SNP marker set

	Overall probability of identity <sup>1)</sup>			Cumulative probability of exclusion <sup>2)</sup>	
	PI	$PI_{\text{half-sib}}$	$PI_{\text{sibs}}$	NE-1P	NE-2P
11 marker set (panel-1)	$1.00 \times 10^{-7}$	$3.48 \times 10^{-4}$	$8.54 \times 10^{-4}$	0.92376620	0.99038472
29 marker set (panel-1+2)	$7.82 \times 10^{-15}$	$4.20 \times 10^{-7}$	$3.40 \times 10^{-7}$	0.99161113	0.99984415
40 marker set (panel-1+2+3)	$4.76 \times 10^{-27}$	$1.79 \times 10^{-12}$	$7.31 \times 10^{-13}$	0.99985549	0.99999992
51 marker set (All panel)	$5.63 \times 10^{-33}$	$4.35 \times 10^{-15}$	$1.32 \times 10^{-15}$	0.99997780	>0.99999999

<sup>1)</sup> PI, probability that two randomly chosen individuals have identical genotypes,  $PI_{\text{half-sib}}$ , probability of identity (only one parent is known);  $PI_{\text{sibs}}$ , probability of identity (both parents known, exclude two putative parents). NE-1P = exclusion probability (first parent). NE-2P = exclusion probability (second parent).

$10^{-15}$ 로 분석되었으며 친자확인률에서도 모두 100%에 가까운 확률값을 나타내었다. 따라서 본 연구에서 개발된 SNP marker set을 이용하여 돈육제품의 원산지를 추적에 이용한다면 개별돼지의 고유한 DNA 지문 정보를 생성할 뿐만 아니라, 이를 통하여 모돈과 웅돈을 식별하여 농장원산지를 확인이 가능할 수 있을 것으로 사료된다. 따라서 국내산 돼지의 생산에서부터 돈육제품으로의 소비까지 이력추적이 가능한 도구로 제공 될 것이다.

## 사 사

본 연구는 2010년 농림수산물식품기술기획평가원의 지원(과제명: 돼지고기 원산지 판별기술 개발)에 의하여 수행되었으며, 김상욱은 2단계 BK21 사업의 장학금 수혜를 받았습니다. 본 논문의 완성도와 질적 수준 향상에 도움을 주신 익명의 검토위원님들께 감사 드립니다.

## 인 용 문 헌

- Anderson, E. C. and Garza, J. C. 2006. The power of single-nucleotide polymorphisms for large-scale parentage inference. *Genetics* 172:2567-2582.
- Barrett, J. C., Fry, B., Maller, J. and Daly, M. J. 2005. Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics*. 15:263-265.
- Baruch, E. and Weller, J. I. 2008. Estimation of the number of SNP genetic markers required for parentage verification. *Anim. Genet.* 39:474-479.
- Dodds, K. G., Tate, M. L. and Sise, J. A. 2005. Genetic evaluation using parentage information from genetic markers. *J. Anim. Sci.* 83:2271-2279.
- Eenennaam, A. L. V., Weaber, R. L., Drake, D. J., Penedo, M. C. T., Quaas, R. L., Garrick, D. J. and Pollak, E. J. 2007. DNA-based paternity analysis and genetic evaluation in a large, commercial cattle ranch setting. *J. Anim. Sci.* 85:3159-3169.
- Gomez-Raya, L., Priest, K., Rauw, W. M., Okomo-Adhiambo, M., Thain, D., Bruce, B., Rink, A., Torell, R., Grellman, L., Narayanan, R. and Beattie, C. W. 2008. The value of DNA paternity identification in beef cattle: Examples from Nevada's free-range ranches. *J. Anim. Sci.* 86:17-24.
- Heaton, M. P., Harhay, G. P., Bennett, G. L., Stone, R. T., Grosse, W. M., Casas, E., Keele, J. W., Smith, T. P. L., Chitko-McKown, C. G. and Laegreid, W. W. 2002. Selection and use of SNP markers for animal identification and paternity analysis in US beef cattle. *Mamm. Genome* 13:272-281.
- Hill, W. G., Salisbury, B. A. and Webb, A. J. 2008. Parentage identification using SNP genotypes: application to product tracing. *J. Anim. Sci.* 86:2508-2517.
- Honda, T., Katsuta, T. and Mukai, F. 2009. Simulation Study on Parentage Analysis with SNPs in the Japanese Black Cattle Population. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 10:1351-1358.
- Jones, A. G. 2005. GERUD2.0: A computer program for the reconstruction of parental genotypes from half-sib progeny arrays with known or unknown parents. *Mol. Ecol. Notes.* 5:708.
- Kaul, R., Singh, A., Vijn, R. K., Tania, M. S. and Behl, R. 2001. Evaluation of the genetic variability of 13 microsatellite markers in native Indian pigs. *J. Genet.* 80:149-153.
- Li, X. P., Hu, Z. L., Moon, S. J., Do, K. T., Ha, Y. K., Kim, H., Byun, M. J., Choi, B. H., Rothschild, M. F., Reecy, J. M. and Kim, K. S. 2008. Development of an in silico coding gene SNP map in pigs. *Anim. Genet.* 10:1365-2052.
- Lim, H. T., Seo, B. Y., Jung, E. J., Yoo, C. K., Zhong T., Cho, I. C., Yoon, D. H., Lee, J. G. and Jeon, J. T. 2009. Establishment of a microsatellite marker set for individual, pork brand and product origin identification in pigs. *K. J. Anim Sci & Tech.* 3:201-206.
- Rohrer, G. A., Freking, B. A. and Nonneman, D. 2007. Single nucleotide polymorphisms for pig identification and parentage exclusion. *Anim. Genet.* 38:253-258.
- Stephens, M. and Donnelly, P. 2003. A comparison of Bayesian methods for haplotype reconstruction from population genotype data. *Am. J. Hum. Genet.* 73:1162-1169.
- Storm, N. 2003. MALDI-TOF mass spectrometry-based SNP genotyping. *Methods Mol. Biol.* 212:241-262.
- Tang, K. 2003. Single nucleotide polymorphism analyses by MALDI-TOF MS. *Int. J. Mass. Spec.* 226:37-54.
- Thompson, C. L., Baechle, D., Lu, Q., Mathew, G., Song, Y., Iyengar, S. K., Gray McGuire, C. and Goddard, K. A. 2005. Effect of genotyping error in model-free linkage analysis using microsatellite or single-nucleotide polymorphism marker maps. *BMC. Genet.* 6:S153.
- Ugen, A. and Li, W. 2005. Comparing single-nucleotide polymorphism marker-based and microsatellite marker-based linkage analyses. *BMC. Genet.* 10:1471-2156.
- Werner, F. A. O., Durstewitz, G., Habermann, F. A., Thaller, G., Krämer, W., Kollers, S., Buitkamp, J., Georges, M., Brem, G., Mosner, J. and Fries, R. 2004. Detection and characterization of SNPs useful for identity control and parentage testing in major European dairy breeds. *Anim. Genet.* 35:44-49.
- 농림수산물식품부. 2008. 농림수산물 식품 통계연보 (접수일자: 2009. 11. 9 / 수정일자: 2010. 2. 9 / 채택일자: 2010. 2. 11)