

< Original Article >

## Holstein 젖소의 호흡기 질병 백신에 대한 면역반응성과 전장 유전체 연관 분석 연구

하승민<sup>1</sup> · 이동희<sup>2</sup> · 이상명<sup>3</sup> · 채정일<sup>4</sup> · 서강석<sup>2\*</sup>

농촌진흥청 국립축산과학원<sup>1</sup>, 순천대학교 동물자원과학과<sup>2</sup>, 전북대학교 생명공학부<sup>3</sup>, 전북대학교 치과대학<sup>4</sup>

### Genome-wide association study on immune-response for improving healthiness in Holstein dairy cattle

Seungmin Ha<sup>1</sup>, Donghui Lee<sup>2</sup>, Sangmyeong Lee<sup>3</sup>, Jungil Chae<sup>4</sup>, Kangseok Seo<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>National Institute of Animal Science, Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea

<sup>2</sup>Department of Animal Science & Technology, Suncheon National University, Suncheon 57922, Korea

<sup>3</sup>Division of Biotechnology, Chonbuk National University, Iksan 54896, Korea

<sup>4</sup>Department of Dental Pharmacology, School of Dentistry, Chonbuk National University, Iksan 54896, Korea

(Received 6 November 2019; revised 13 December 2019; accepted 18 December 2019)

#### Abstract

To detect Single nucleotide polymorphisms (SNP) markers associated with Bovine viral diarrhea virus (BVDV) and Bovine respiratory syncytial virus (BRSV) S/P ratio in Korean Holstein dairy cattle, Genome-wide association study (GWAS) was performed using Illumina BovineSNP50 Beadchip. The number of phenotype data and genotype data were 107, and 294, respectively. Phenotype data were collected for four periods (0 week, 1 week, 4 week, 24 week) after having vaccinated (0 week no vaccinated period). A total of 36,257 SNPs was remained after quality control had been done by PLINK. The result of GWAS showed 6 SNP markers (BTB-01704243, BTB-01594395, ARS-BFGL-NGS-118070, ARS-BFGL-NGS-111365, BTA-65410-no-rs, Hapmap38331-BTA-61256) under BVDV and 4 SNP markers (ARS-BFGL-NGS-109861, Hapmap53701-rs29017064, ARS-BFGL-NGS-71055, BTA-11232-no-rs) under BRSV. And also, 10 candidate genes found through 10 SNP markers (TBX18, CEP162, PFAH1B1, METTL16, BRCA1, RND2, POLK, ENSBTAG0000051724, ADAM18, NRG3).

**Key words** : BVDV, BRSV, SNP, GWAS, Holstein

## 서 론

우리나라 낙농 산업은 1902년 Holstein의 국내 첫 도입 이후 시작되었으며, 이후 성장기를 거쳐 1980년 부터 안정기에 접어들었다(황, 2019). 이러한 낙농 산업은 경제 형질인 유량과 유성분(유지방, 유단백, 무 지고형분량)에 대해 중점적으로 개량을 실시해왔으며 젖소의 경제적 가치 역시 이를 통해서 결정이 되었으

며 이 외에도 젖소의 가치를 판단하는데 있어 젖소의 체형, 번식능력 등이 제시되어왔다(이, 2017). 그러나 소의 경제적 가치를 판단하는 기준에는 생산 능력뿐만 아니라 강건성과 같이 중요하게 고려될 요인들이 존재한다. 여기서 말하는 강건성은 환경에 대한 적응 능력, 질병에 대한 저항 능력을 말하는 것으로 현재 젖소의 체형심사에서 앞다리 사이의 가슴 바닥의 너비를 측정하여 나타내는 강건성과는 다른 개념을 의미한다.

강건성이 중요시되어야 하는 이유는 질병과 관련이 깊다. 현재 문제가 되고 있는 질병 중 하나인 소 바이

\*Corresponding author: Kangseok Seo, Tel. +82-61-750-3232, Fax. +82-61-750-3232, E-mail. [sks@scnu.ac.kr](mailto:sks@scnu.ac.kr)  
These first two authors contributed equally to this work.

러스성 설사(Bovine viral diarrhea; BVD)의 경우 소화기 질환과 호흡기 질환을 일으키고(Fulton 등, 2000; 노인순, 2009), 어미소에서는 유산과 송아지에서는 선천성 기형(Rezaeisaber 등, 2013) 등을 유발한다. 또한 그 원인체인 소 바이러스성 설사병 바이러스(Bovine viral diarrhea virus; BVDV)는 단일 가닥의 RNA 바이러스로(Shin 등, 2001), 이 바이러스에 감염 시 태반을 통한 태아 감염이 일어나기 때문에 감염된 어미소로부터 태어난 송아지는 지속 감염(Persistent infection) 상태가 되어 일생동안 바이러스를 배출하게 된다(Rezaeisaber 등, 2013). 이러한 증상들로 인해 BVD는 전 세계적으로 소 산업에서 경제적 피해가 큰 질병 중 하나로 중요시되고 있다(Bachofen 등, 2010; 김 등, 2015). 또한 호흡기 관련 질병의 원인이 되는 소 합포체성 폐렴 바이러스(Bovine respiratory syncytial virus; BRSV)의 경우 임상 증상으로는 발열, 기침, 호흡곤란 등을 나타내며, 심한 경우 폐사에 이르기기도 한다(김 등, 2010). 또한 이러한 BRSV는 소의 나이와 상관없이 발병할 수 있으나 그 중에서도 특히 어린 송아지에서 증상이 심하고 감염이 잘 일어나기 때문에(Paccaud 등, 1970; Elvander 등, 1996) BVDV와 마찬가지로 농가에 경제적 피해를 입힐 수 있는 요인이다.

이러한 문제를 해결하기 위해서 원인체의 전파를 막기 위한 조사가 진행되어왔다. 예를 들면 BVD의 전파를 막기 위해서 국내에서도 젖소 및 한우에 대해 여러 해에 걸쳐 실태 조사, 항원 양성률 조사 등을 실시해오고 있다(배 등, 2007; 조 등, 2013; 최 등, 2016). 하지만 이러한 조사는 ELISA, PCR 등 실험을 통해 확인을 하고 있으며 시료 채취 역시 조직과 혈액을 이용하기 때문에 일반 농가에서 활용하기에는 제한적이다. 따라서 BVD에 대한 다른 대처 방안도 고려되어야 할 필요가 있다.

그 대처 방안 중 하나로 질병에 대한 저항성에 대한 유전적 능력을 찾는 방향이 제시되고 있다. 유전적 능력을 개량함으로써 근본적으로 질병에 대한 저항성 즉 강건성을 향상시키고자 하는 것이다. 다만 이것을 위해서는 먼저 관련된 유전자에 대해서 파악할 필요가 있다. 이는 본래 어려운 문제였으나 최근 단일 염기 다형성(Single nucleotide polymorphism; SNP)과 같은 Marker를 이용한 유전체 분석이 가능해지고 컴퓨터 프로그램을 이용한 전장 유전체 연관분석(Genome-wide association study; GWAS)이 가능해지면서 다양한 질병들에 대해 시도되고 있다. 국내에서는 Holstein에서 산후 자궁염, 유방염 등을 유발하는 원인인 Ketosis

의 지표 형질들에 대해 전장 유전체 연관 분석이 실시된 바가 있으며(이, 2017), 최근 해외에서도 Chinese-Holstein에서 소 요네병의 원인균(*Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis*)과의 전장 유전체 연관 분석에 대한 연구(Gao 등, 2018)가 있다.

따라서 본 연구에서는 Holstein에서 BVDV와 BRSV 백신에 대한 면역형성능력과 전장 유전체 연관 분석을 실시, 관련된 SNP들을 발굴하고 이를 토대로 후보 유전자들을 찾음으로써 향후 젖소의 질병에 대한 저항성을 높이고 강건성 향상에 기여하기 위한 자료를 제시하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 백신 처리에 대한 면역반응 분석

국내 사육 중이며 2013년부터 2016년까지 태어난 107두의 성우 Holstein에 대해 면역반응 자료를 수집하였다. 해당 자료를 수집하기 위해 BVDV가 젖소의 수태율이 미치는 영향에 관련된 연구(Muñoz-Zanzi 등, 2004)에서도 활용되었던 Elite-4HS (Boehringer Ingelheim) 백신을 사용하였다. Elite-4HS는 BVDV와 BRSV를 포함하는 5종의 혼합 백신(Infectious bovine Rhinotracheitis virus; Bovine viral Diarrhea type 1; Myxovirus parainfluenza 3 virus; Bovine respiratory syncytial virus; *Histophilus somnus*)으로 이를 5 mL 근육 주사 후 해당 개체로부터 혈액 샘플을 채취하였다. 혈액 채취는 4회에 걸쳐 진행되었으며 채취 시기는 백신 투여 전(0 week), 백신 투여 후 1주 후(1 week), 4주 후(4 week), 24주 후(24 week)에 실시하였다. 이후 채취된 혈액 샘플에 대해 BVDV와 BRSV의 항체를 구하기 위한 ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) 분석을 하였다. 분석에 사용된 Kits는 VPro BVDV AB ELISA (Median Diagnostics Inc., Republic of Korea) kit와 INGEZIM BRSV COMPAC, (Ingenasa, INMUNOLOGIA Y GENETICA APLICADA, S.A., Madrid, Spain) kit이었으며 흡광도 450 nm 파장에서 BioTek ELISA reader와 Gen5 2.07 software를 이용하여 optical density (OD)를 측정하였다.

$$S/P = (\text{Sample OD} - \text{Negative OD}) / (\text{Positive OD} - \text{Negative OD})$$

측정된 OD value는 위의 식에 대입한 후, S/P ratio

값을 구하여 이를 표현형 자료로서 활용하였다.

### 유전자형 결정

국내에서 사육 중인 젖소 Holstein 중 면역 반응 자료를 수집한 107두를 포함한 294두를 대상으로 유전체 정보를 얻어 유전자형을 결정하였다. 유전체 정보는 Illumina BovineSNP50 BeadChip v3 (Illumina, USA)를 이용하여 수집하였다. 수집에 이용된 SNP chip은 한우와 Holstein 품종 간의 유전적 차이 연구(Melka 등, 2011), Holstein의 유전 능력 평가 연구(VanRaden 등, 2013), 중국 Holstein에서 조형결핵균(*Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*)의 GWAS 연구(Gao 등, 2018) 등 다양한 연구에서 사용되어 그 신뢰도가 높다. 이 연구에서는 해당 SNP chip을 이용해 총 53,218개의 SNPs를 확보하였으며 데이터를 분석에 활용하기 위해 Genome studio software (Illumina Inc.)를 사용하였다.

### 기초통계량 분석 및 상관분석

BVDV의 S/P ratio 값에 대해 SAS 9.4 software (SAS Inc., 2015)를 이용하여 기초통계 분석과 상관분석을 실시하였다. 기초통계량 분석은 각 혈액 시기에 대해 Procedure Means를 이용하여 나타내었다. 상관분석의 경우 Pearson의 상관분석 방법을 이용하기 위해 Procedure Corr를 이용하여 분석을 진행하였다.

### Quality control (QC)

Illumina BovineSNP50 BeadChip을 이용해 수집한 53,218개의 SNP에 대해 Quality Control를 실시하였다. Quality control (QC)를 위해 PLINK software version 1.9 (Purcell 등, 2007)를 사용하였다. PLINK를 이용하기 전 Genmoe studio software에서 제공하는 Custom report 기능을 이용해 MAP 파일과 PED 파일 생성하였고 이 파일들을 이용 PLINK에서 QC를 진행하였다. QC는 다음의 4가지 조건에 대해 진행하였으며 각각 ① 개체에 대한 missingness > 0.02, ② SNP에 대한 missingness > 0.02, ③ Minor allege frequency(MAF) < 0.05, ④ Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) < 0.01 인 SNP에 대한 제거를 실시하였다. 최종적으로 QC 후 36,257개의 SNP 마커를 활용하였다.

### GWAS 분석

GWAS 분석은 PLINK software의 선형 회귀 분석을 이용하여 진행하였다. GWAS 분석은 일반적으로 대량의 마커를 이용하기 때문에 다중비교(Multiple comparison) 문제가 발생하며 SNP에 대한 과대평가가 일어날 수 있다. 따라서 이에 대한 보정 방법으로 False Discovery Rate (FDR)로 보정된 P-value 등을 이용하지만 본 논문에서는 제한된 표현형 자료와 유전자형 자료 문제, 기존의 연구에서 발달된 형태가 아닌 새로운 형질에 대해 GWAS 분석을 진행하고 있기 때문에 각 SNP의 효과의 크기에 대해 입증되지 않았다. 따라서 반대로 SNP에 대한 과소평가가 일어날 수 있다고 판단되어 보정되지 않은 일반적인 P-value로 분석을 진행하였다.

또한 연구에 이용된 Holstein이 모두 2013~2107년 태생의 성우이기 때문에 연구에 이용되기 전 예방접종을 실시했던 개체들이 포함된다. 따라서 이 부분에 대한 보정을 하기 위해 각 혈액 샘플 채취 시기별(0, 1, 4 and 24 week)에 대한 분석이 아닌 0 week에서 1 week까지의 변화량 그리고 0 week에서 4 week까지의 변화량을 분석 대상으로 삼았다. 변화량을 알기 위해서 1 week와 4 week의 값에 대해 0 week의 값으로 각각 빼 계산하였다. 다만 0 week에서 24 week까지의 변화량은 시기 간의 간격이 크기 때문에 대상에서 제외하였다.

## 결 과

### 유전자형 결정혈액 채취 시기별 면역반응(S/P ratio)의 기초통계량 분석

107두의 Holstein으로부터 수집한 BVDV와 BRSV의 S/P ratio 값에 대한 기초통계량을 혈액 채취 시기별로 구분하여 Table 1에 제시하였다. 백신 접종 전인 0 week 때는  $0.57 \pm 0.378$ 로 가장 낮은 수치를 보였다. 그 다음으로 1 week가  $0.63 \pm 0.351$ 으로 조사되었으며, 이는 4 week ( $0.77 \pm 0.256$ )와 24 week ( $0.78 \pm 0.534$ )에 비해서는 낮은 것으로 확인되었다. 이러한 결과에 대해 백신 투여 후 항체 생성이 진행되는 과정에서 S/P ratio 값 역시 높아진 것으로 고려되었다. 다만 0 week 일 때도 그 값이 다른 채취 시기에 비해 상대적으로 적을 뿐 일시적 감염우에 대해 조사한 박 등(2013)의 연구

**Table 1.** Basic statistics of BVDV and BRSV by blood sampling period

| Trait | Period  | N   | Mean±SD    | Minimum | Maximum |
|-------|---------|-----|------------|---------|---------|
| BVDV  | 0 week  | 107 | 0.57±0.378 | -0.23   | 1.01    |
|       | 1 week  | 107 | 0.63±0.351 | -0.25   | 1.01    |
|       | 4 week  | 107 | 0.77±0.256 | -0.30   | 1.01    |
|       | 24 week | 107 | 0.78±0.534 | -0.08   | 1.68    |
| BRSV  | 0 week  | 106 | 0.61±0.301 | -0.43   | 1.00    |
|       | 1 week  | 107 | 0.69±0.276 | -0.49   | 1.00    |
|       | 4 week  | 107 | 0.82±0.178 | 0.31    | 1.02    |
|       | 24 week | 107 | 0.78±0.201 | 0.00    | 1.01    |

**Table 2.** The correlation of BVDV among blood sampling period

|        | 1 week        | 4 week        | 24 week       |
|--------|---------------|---------------|---------------|
| 0 week | 0.87 (<.0001) | 0.70 (<.0001) | 0.72 (<.0001) |
| 1 week |               | 0.73 (<.0001) | 0.76 (<.0001) |
| 4 week |               |               | 0.72 (<.0001) |

의 0.549와 유사하게 나타났다. 백신 접종 전의 상태에서도 감염우와 비슷하게 높은 수치로 나타난 것은 해당 표현형 자료의 대상이 성우로서 실험 참여 전 예방접종을 실시했기 때문에 나타난 것으로 사료된다. BRSV의 경우 가장 높은 수치를 나타낸 것은 4 week로 0.82±0.178로 나타났다. 반면 가장 낮았던 시기는 0 week로 0.61±0.301로 나타나 BVDV와 유사한 경향을 나타내었다.

### 혈액 샘플 채취 시기 간의 상관분석

BVDV의 혈액 채취 시기 간의 상관계수를 Table 2에 나타내었다. 모든 결과에서 고도의 유의성을 나타냈다. 가장 낮은 상관을 나타낸 0 week와 4 week의 값이 0.70, 반대로 가장 높은 상관을 나타낸 0 week와 1 week 간에는 0.87로 나타나 샘플 시기에 상관없이 모두 높은 수치를 보였다. 백신 투여 전인 0 week를 기준으로 하였을 때 24 week와의 0.72, 4 week와의 0.70보다 1 week와 상관분석을 한 결과가 0.87로 가장 높게 나타났다. 이 결과로 미루어보아 개체별 면역 반응이 다르게 나타났음을 알 수 있었다.

Table 3에는 BRSV의 혈액 샘플 채취 시기 간의 상관분석 결과를 표시하였다. 모두 고도의 유의성으로 확인되었으며 가장 낮은 상관을 보인 것은 0 week와 4 week로 0.62로 나타났다. 또한 가장 높은 상관을 나타낸 것은 0 week와 1 week (0.78)이었다. BVDV (Table 2)와 마찬가지로 0 week와 1 week 간의 상관이 가장 높

**Table 3.** The correlation of BRSV among blood sampling period

|        | 1 week        | 4 week        | 24 week       |
|--------|---------------|---------------|---------------|
| 0 week | 0.78 (<.0001) | 0.62 (<.0001) | 0.76 (<.0001) |
| 1 week |               | 0.69 (<.0001) | 0.73 (<.0001) |
| 4 week |               |               | 0.73 (<.0001) |

게 나타난 것은 시기로 보았을 때 가장 가깝기 때문인 것으로 사료된다.

### Manhattan Plot과 Q-Q Plot

GWAS 분석 결과로부터 도출된  $P$ -value의 값을  $-\log_{10}$  ( $P$ -value)로 전환한 후 결과치들을 Manhattan Plot과 Q-Q Plot 형태로 도식화하여 Fig. 1~Fig. 8에 나타내었다.  $-\log_{10}$  ( $P$ -value) 5 이상인 SNP marker 들을 유의한 효과가 있다고 보았으며 그 결과 1 week에서 0 week의 값을 빼 계산한 0 week에서 1 week까지의 변화량에 대한 GWAS 분석에서는 유의한 SNP marker 들을 발견할 수 없었다(Figs. 1, 2, 5, 6). 이는 BVDV와 BRSV에서 동일하게 나타난 결과였다. 반면 0 week에서 4 week까지의 변화량을 계산한 결과에서는 BVDV는 6개의 SNP marker들을, BRSV에서는 4개의 SNP marker들을 발견할 수 있었다(Figs. 3, 4, 7, 8).

### 후보 유전자 발굴

Table 4에는 BVDV와 BRSV의 S/P ratio 변화량에 대해 GWAS를 실시한 후 발굴된 SNP들을 나타내었다. 분석된 다수의 SNP 중에서  $-\log$  ( $P$ -value)의 값이 5 이상인 SNP들을 선별하였으며 그 결과 0 week에서 1 week까지의 변화량에 대한 분석 결과에서 SNP marker들은 기준치를 만족하지 못하였다. 이는 BVDV와 BRSV 모두 마찬가지였다. 반면 0 week에서 4 week까

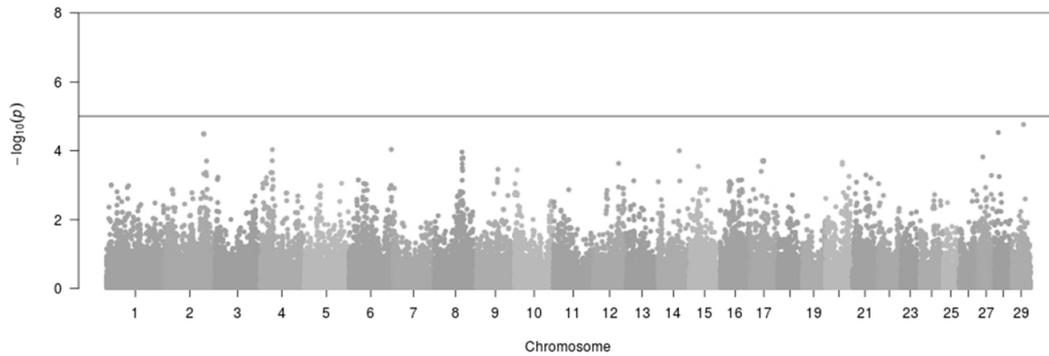


Fig. 1. Manhattan plot of genome-wide SNPs using  $P$ -value for BRSV to subtract 0 week from 1 week.

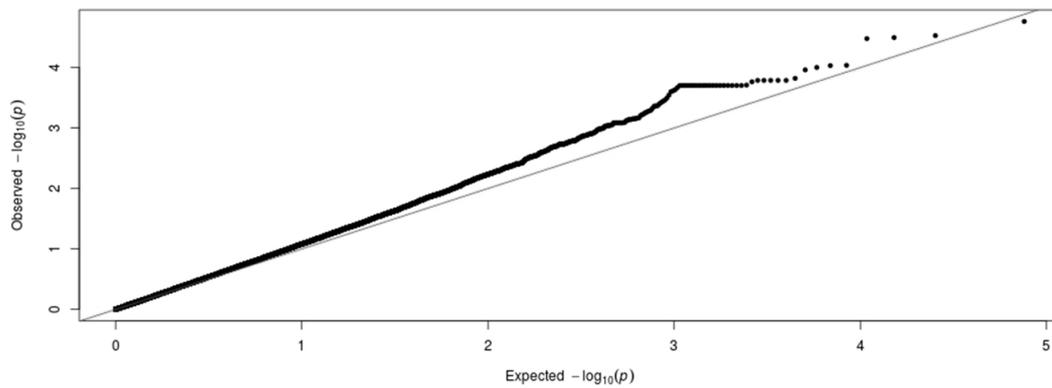


Fig. 2. Q-Q plot of genome-wide SNPs using  $P$ -value for BRSV to subtract 0 week from 1 week.

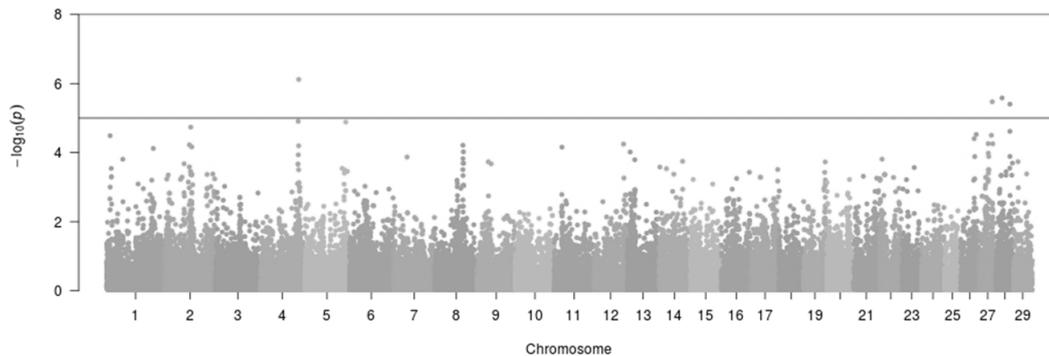


Fig. 3. Manhattan plot of genome-wide SNPs using  $P$ -value for BRSV to subtract 0 week from 4 week.

지의 변화량을 나타낸 결과에서 BVDV는 6개의 SNP marker (BTB-01704243, BTB-01594395, ARS-BFGL-NGS-118070, ARS-BFGL-NGS-111365, BTA-65410-no-rs, Hapmap38331-BTA-61256)들을 발견할 수 있었으며 BRSV는 4개의 SNP maker (ARS-BFGL-NGS-109861, Hapmap53701-rs29017064, ARS-BFGL-NGS-71055, BTA-11232-no-rs)들을 발굴할 수 있었다. 총 10개의 SNP marker에 대해 ensembly를 실시한 결과 SNP marker 위치에서 혹은 근접한 위치에서 다수의 후보 유전자들을 확

인할 수 있었다(TBX18, CEP162, PAFAH1B1, METTL16, BRCA1, RND2, POLK, ENSBTAG00000051724, ADAM18, NRG3).

### 고 찰

Yang 등(2016)의 연구에 따르면 TBX18 gene은 심장 박동의 시작 부분인 심장 Sinoatrial node (동방결절)

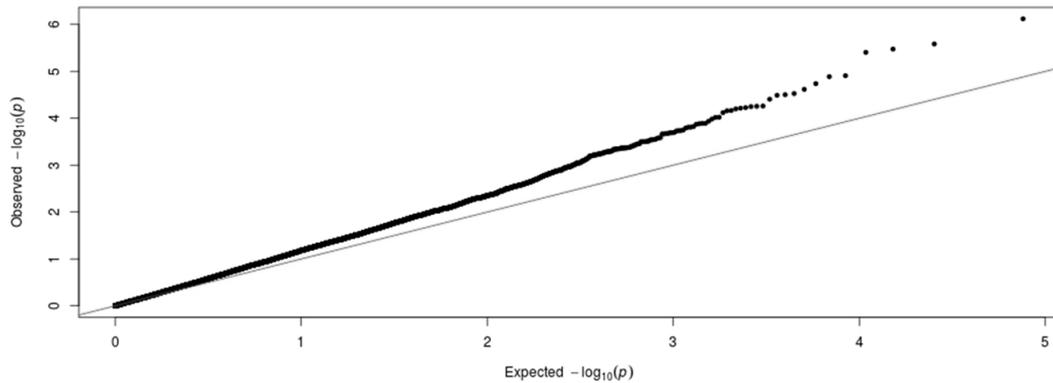


Fig. 4. Q-Q plot of genome-wide SNPs using  $P$ -value for BRSV to subtract 0 week from 4 week.

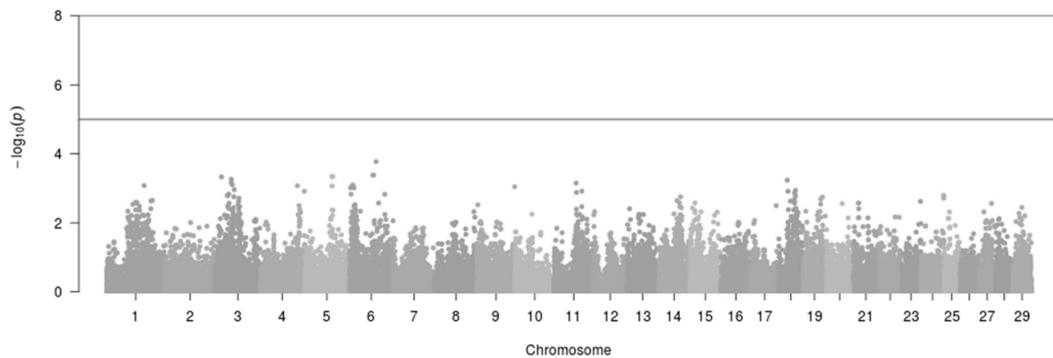


Fig. 5. Manhattan plot of genome-wide SNPs using  $P$ -value for BVDV to subtract 0 week from 1 week.

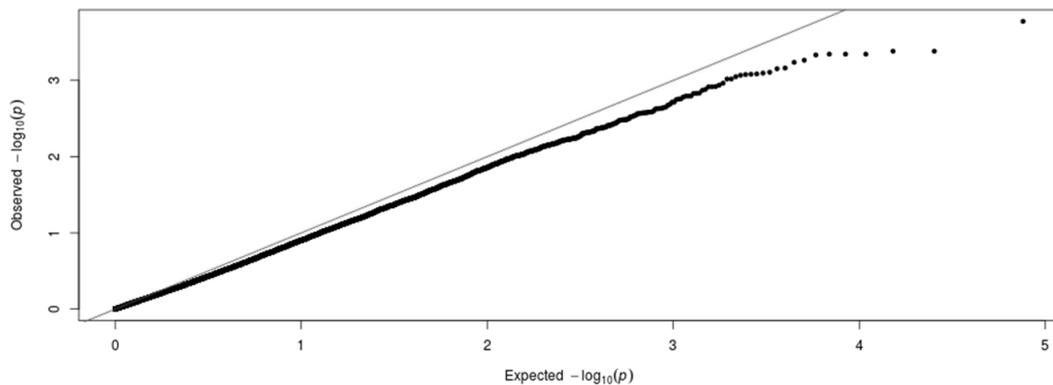


Fig. 6. Q-Q plot of genome-wide SNPs using  $P$ -value for BVDV to subtract 0 week from 1 week.

의 형성과 발달에 중요한 역할을 한다고 보고하였고 CEP162 gene에 대해서는 섬모발생(ciliogenesis) 전 ciliary transition zone의 형성에 중요한 역할을 한다는 연구가 있었다(Wang 등, 2013). 또한 본 연구에서 발굴된 PFAH1B1 gene의 경우 Holstein의 체형 형질 중 유방의 깊이(Udder depth)에 대한 GWAS 분석 결과에서도 동일하게 발굴되었으며(Marete 등, 2018), PFAH1B1 gene과 마찬가지로 ARS-BFGL-NGS-118070 SNP mark-

er와 근접한 위치에 존재하는 METTL16 gene의 경우 Mendel 등(2018)의 연구에서 마우스의 배아(Embryonic)의 발달에 필수적인 역할을 하고 있음이 밝혀졌다. BRCA1 gene의 경우 인간에게 있어 유방암 발생을 막는 유전자로 알려져 있으며 유방암의 면역인자로서 작용한다는 보고가 있었으며(Rosen 등, 2003), Chinese commercial cattle에서 BRCA1 유전자를 소의 유방염 저항성을 개선하는데 사용가능하다는 연구가 있었다

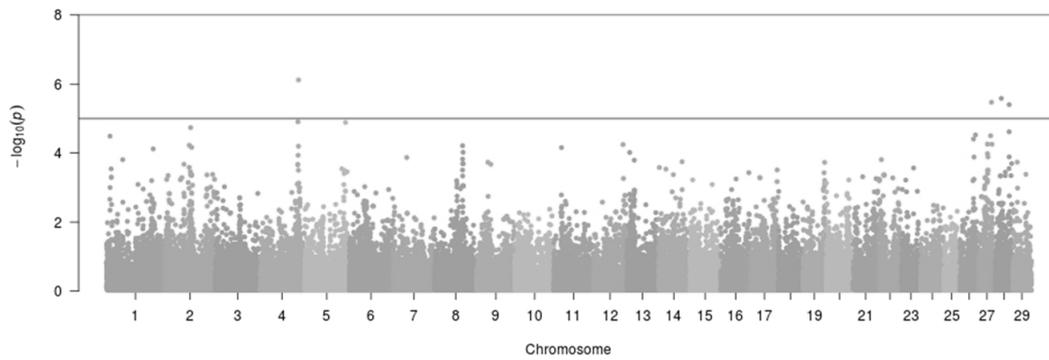


Fig. 7. Manhattan plot of genome-wide SNPs using *P*-value for BVDV to subtract 0 week from 4 week.

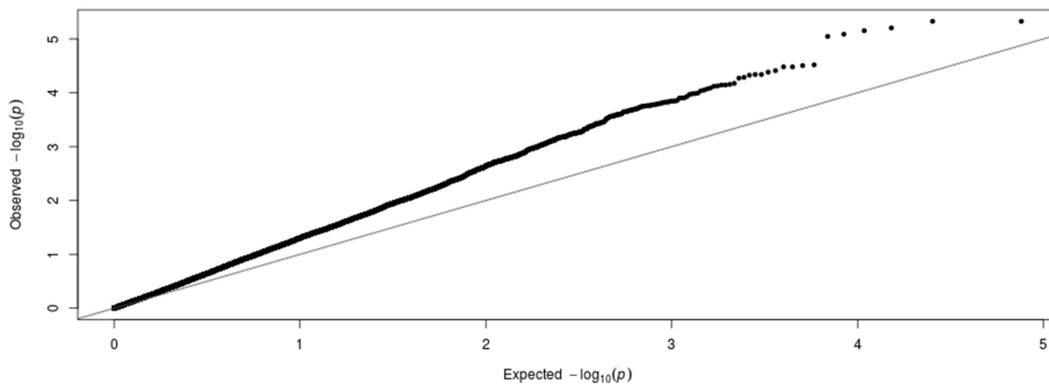


Fig. 8. Q-Q plot of genome-wide SNPs using *P*-value for BVDV to subtract 0 week from 4 week.

Table 4. Association test and assembly result of SNP markers for BVDV and BRSV in Holstein

| Trait | Period        | SNP name               | Chr | BP        | Close Gene         | $-\log(P)$ |
|-------|---------------|------------------------|-----|-----------|--------------------|------------|
| BVDV  | 0 week~1 week | ARS-BFGL-NGS-70470     | 6   | 72454639  |                    | 3.774691   |
|       |               | Hapmap49442-BTA-111073 | 6   | 64037334  |                    | 3.382790   |
|       |               | BTB-00260650           | 6   | 65698348  |                    | 3.382790   |
|       |               | ARS-BFGL-NGS-42926     | 5   | 74551645  |                    | 3.344477   |
|       |               | ARS-BFGL-NGS-25373     | 5   | 74764992  |                    | 3.344477   |
|       | 0 week~4 week | BTB-01704243           | 9   | 64583261  | TBX18              | 5.325598   |
|       |               | BTB-01594395           | 9   | 65093167  | CEP162             | 5.325598   |
|       |               | ARS-BFGL-NGS-118070    | 19  | 23477516  | PAFAH1B1; METTL16  | 5.202732   |
|       |               | ARS-BFGL-NGS-111365    | 19  | 43068079  | BRCA1; RND2;       | 5.151996   |
|       |               | BTA-65410-no-rs        | 29  | 32890074  |                    | 5.086027   |
| BRSV  | 0 week~1 week | Hapmap38331-BTA-61256  | 10  | 7082683   | POLK               | 5.045565   |
|       |               | Hapmap42287-BTA-65439  | 29  | 32033056  |                    | 4.763211   |
|       |               | ARS-BFGL-NGS-61189     | 28  | 9964623   |                    | 4.528122   |
|       |               | BTA-48808-no-rs        | 2   | 106064085 |                    | 4.496209   |
|       |               | Hapmap47315-BTA-48803  | 2   | 106165589 |                    | 4.477947   |
|       | 0 week~4 week | Hapmap43684-BTA-77867  | 6   | 115164562 |                    | 4.036496   |
|       |               | ARS-BFGL-NGS-109861    | 4   | 104405667 | ENSBTAG00000051724 | 6.119358   |
|       |               | Hapmap53701-rs29017064 | 28  | 16097772  |                    | 5.582694   |
|       |               | ARS-BFGL-NGS-71055     | 27  | 34904207  | ADAM18             | 5.473402   |
|       |               | BTA-11232-no-rs        | 28  | 37296816  | NRG3               | 5.404063   |
|       |               | ARS-BFGL-NGS-116722    | 4   | 103100577 |                    | 4.905529   |

Note: Chr, Chromosome; BP, Base pair (position); *P*, *P*-value.

(Yuan 등, 2012). RND2의 경우 신경계 쪽에서 작용하는 유전자로 뉴런 이동의 조절에 관여하며(Heng 등, 2008), POLK gene의 경우 손상된 DNA에서 polymerase와 연관이 있으며(Dai 등, 2016), ADAM18 gene의 경우 BRCA1 gene과 마찬가지로 유방암에 대한 높은 상관관계를 가진다(Dai 등, 2016)와 같은 후보 유전자들에 대한 관련 연구들을 찾을 수 있었다. 위에서 언급한 선행 연구들을 통해 강건성과 직접적으로 연관된 기능들을 찾을 수 없었으나 유방암을 억제하는 BRCA1 gene과 같은 경우 면역 인자의 일종으로서 볼 수 있으며, 소에서도 유방염에 대한 저항성을 가지는데 도움이 될 수 있다라는 점에서 보았을 때 간접적으로 작용하는 부분이 있을 것이라 사료된다. 또한 기존 연구에서 밝혀진 기능들은 본 연구에서 대상으로 삼은 Holstein에 대해서 이루어진 연구가 아니며 이는 Sequencing 등(2005)의 연구에서 인간과 침팬지 사이의 유전자가 4.4%만이 다름에도 서로 다른 발달 양상을 나타내며 이는 유전자들의 발현 양상이 종에 따라 다르게 나타난다고 언급했듯이, 다른 종에서 강건성과 상관이 없는 유전자가 Holstein에서는 강건성을 높이는 역할을 할 수도 있다. 따라서 발굴된 후보 유전자들을 통해 앞으로의 Holstein의 강건성을 향상시키는 데 필요한 연구 지표를 제시할 수 있을 것이라 생각된다.

## 결 론

본 연구에서는 Holstein 젖소 107두를 대상으로 BVDV의 항체가를 조사하였으며 4회에 걸쳐 혈액 샘플을 채취한 후 0 week에서 1 week까지, 0 week에서 4 week까지의 변화량에 대해 분석을 시도하였다. 또한 294두의 Holstein으로부터 Illumina BovineSNP50 Beadchip을 이용하여 유전체 정보(유전자형 자료)를 수집하였으며 53,218개의 SNPs에 대해서는 Quality Control를 실시하였으며 제거 후 남은 SNPs 36,257개를 분석에 이용하였다. 기초통계량 분석에서 BVDV는 0 week일 때  $0.57 \pm 0.378$ 로 가장 낮게 나타났으며 24 week 일 때  $0.78 \pm 0.534$ 로 가장 높게 나타났다. BRSV의 경우 0 week ( $0.61 \pm 0.301$ ) 때 가장 낮았으며 4 week ( $0.82 \pm 0.178$ ) 일 때 가장 높았다. 상관분석에서 혈액 채취 시기에 상관없이 모두 높은 양의 상관 관계를 나타내었으며 모두 고도의 유의성( $<0.0001$ )을 나타내었다. 전장 유전체 연관 분석을 실시한 결과 BVDV는 6개의(BTB-01704243, BTB-

01594395, ARS-BFGL-NGS-118070, ARS-BFGL-NGS-111365, BTA-65410-no-rs, Hapmap38331-BTA-61256), BRSV는 4개의 SNP marker (ARS-BFGL-NGS-109861, Hapmap53701-rs29017064, ARS-BFGL-NGS-71055, BTA-11232-no-rs)들이 발굴이 되었다. 또한 이 SNPs에 대해 ensemble을 실시한 결과 TBX18, CEP162, PAFAH1B1, METTL16, BRCA1, RND2, POLK, ENSBTAG00000051724, ADAM18, NRG3와 같은 해당 위치 또는 근접한 위치에서의 후보 유전자들을 찾을 수 있었다.

## 감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 연구사업(세부과제명: 젖소의 면역반응 이용 강건성 개체 평가 기술 개발, 세부 과제번호: PJ01270404)의 지원에 의해 이루어진 것임.

## REFERENCES

- 김현태, 정지열, 조숙희, 이경갑, 김재훈. 2010. 제주흑우 송아지에서 소 합포체성 폐렴의 발생. *Korean J Vet Res*, 50 (2): 139-143.
- 김홍태, 박민식, 이기훈, 이근우. 2015. 부산지역 소 바이러스성 설사병 바이러스 (bovine viral diarrhea virus; BVDV) 감염 실태 조사, 연구 (2013~2014). *한국가축위생학회지 (KOJVS)*, 38(1): 43-49.
- 노인순. 2009. 소에서 발생하는 바이러스성 설사의 원인과 대책. *월간낙농육우*, 29(3): 130-134.
- 박종식, 박종규, 조은정, 김은경, 이종민, 김도경, 손성기. 2013. 경남 남부지역 젖소 사육 농가의 소바이러스성설사병 (BVD) 감염실태 조사. *한국가축위생학회지 (KOJVS)*, 36(1): 7-13.
- 배유찬, 김하영, 박종원, 윤순식, 우계형, 이오수, 강문일. 2007. 한우 송아지의 소바이러스성 설사바이러스 지속감염률 조사. *Korean J Vet Res*, 47(2): 163-167.
- 이지수. 2017. Holstein 종 젖소에서 발생하는 Ketosis 질병 지표 형질에 대한 전장유전체연관분석. *충남대학교 대학원 석사학위논문*.
- 조종숙, 김경동, 박홍제, 임연수, 홍성희, 서창원, 류희정, 신령자. 2013. 국내 한우의 소바이러스성 설사 바이러스 지속감염률에 대한 실태 조사. *한국가축위생학회지 (KOJVS)*, 36 (2): 105-110.
- 최창용, 정영훈, 도윤정, 조아라, 김성범, 강희성, 류재규, 박진호. 2016. 송아지 및 육성우의 소 바이러스성 설사병 항원 양성률 조사. In *The 16th International Symposium on Developmental Biotechnology* (pp. 59-59).
- 황혜빈. 2019. 전장연관분석을 통한 젖소 경제형질 QTL 발굴에 관한 연구. *영남대학교 대학원 석사학위논문*.
- Bachofen, C., Braun, U., Hilbe, M., Ehrensperger, F., Stalder, H.,

- Peterhans, E. 2010. Clinical appearance and pathology of cattle persistently infected with bovine viral diarrhoea virus of different genetic subgroups. *Veterinary microbiology*, 141(3-4): 258-267.
- Dai, Z. J., Liu, X. H., Ma, Y. F., Kang, H. F., Jin, T. B., Dai, Z. M., Guan, H. T., Wang, M., Liu, K., Dai, C., Yang, X. W., Wang, X. J. 2016. Association between single nucleotide polymorphisms in DNA polymerase kappa gene and breast cancer risk in Chinese Han population: a STROBE-compliant observational study. *Medicine*, 95(2).
- Elvander, M. 1996. Severe respiratory disease in dairy cows caused by infection with bovine respiratory syncytial virus. *Veterinary Record*, 138(5): 101-105.
- Fulton, R. W., Purdy, C. W., Confer, A. W., Saliki, J. T., Loan, R. W., Briggs, R. E., Burge, L. J. 2000. Bovine viral diarrhoea viral infections in feeder calves with respiratory disease: interactions with *Pasteurella* spp., parainfluenza-3 virus, and bovine respiratory syncytial virus. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 64(3): 151.
- Gao, Y., Jiang, J., Yang, S., Cao, J., Han, B., Wang, Y., Zhang, Y., Yu, Y., Zhang, S., Zhang, Q., Fang, L., Cantrell, B., Sun, D. 2018. Genome-wide association study of *Mycobacterium avium* subspecies *Paratuberculosis* infection in Chinese Holstein. *BMC genomics*, 19(1): 972.
- Heng, J. I. T., Nguyen, L., Castro, D. S., Zimmer, C., Wildner, H., Armant, O., Skowronska-Kraczyk, D., Bedogni, F., Matter, J. M., Hevner, R., Guillemot, F. 2008. Neurogenin 2 controls cortical neuron migration through regulation of Rnd2. *Nature*, 455(7209): 114.
- Marete, A., Lund, M. S., Boichard, D., Ramayo-Caldas, Y. 2018. A system-based analysis of the genetic determinism of udder conformation and health phenotypes across three French dairy cattle breeds. *PloS one*, 13(7): e0199931.
- Melka, H. D., Jeon, E. K., Kim, S. W., Han, J. B., Yoon, D. H., Kim, K. S. 2011. Identification of genomic differences between Hanwoo and Holstein breeds using the Illumina Bovine SNP50 BeadChip. *Genomics & Informatics*, 9(2): 69-73.
- Mendel, M., Chen, K. M., Homolka, D., Gos, P., Pandey, R. R., McCarthy, A. A., Pillai, R. S. 2018. Methylation of structured RNA by the m6A writer METTL16 is essential for mouse embryonic development. *Molecular cell*, 71(6): 986-1000.
- Muñoz-Zanzi, C. A., Thurmond, M. C., Hietala, S. K. 2004. Effect of bovine viral diarrhoea virus infection on fertility of dairy heifers. *Theriogenology*, 61(6): 1085-1099.
- Paccaud, M. F., Jacquier, C. L. 1970. A respiratory syncytial virus of bovine origin. *Archiv für die gesamte Virusforschung*, 30(4): 327-342.
- Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M. A., Bender, D., Maller, J., Sklar, P., De Bakker, P. I. W., Daly, M. J., Sham, P. C. 2007. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *The American journal of human genetics*, 81(3): 559-575.
- Rezaeisaber, A., Nikniaz, H., Davatgar Badie, A. 2013. Comparison of bovine viral diarrhoea virus infection between sarabian and holstein dairy cows in relation to abortion. *Annals of Biological Research*, 4(5): 88-91.
- Rosen, E. M., Fan, S., Pestell, R. G., Goldberg, I. D. 2003. BRCA1 gene in breast cancer. *Journal of cellular physiology*, 196(1): 19-41.
- SAS Institute Inc. 2015. SAS 9.4 for Windows.
- Sequencing, T. C., Waterson, R. H., Lander, E. S., Wilson, R. K., Analysis Consortium. 2005. Initial sequence of the chimpanzee genome and comparison with the human genome. *Nature*, 437(7055): 69.
- Shin, T., Acland, H. 2001. Tissue distribution of bovine viral diarrhoea virus antigens in persistently infected cattle. *Journal of veterinary science*, 2(2): 81-84.
- VanRaden, P. M., Null, D. J., Sargolzaei, M., Wiggans, G. R., Tooker, M. E., Cole, J. B., Sonstegard, T. S., Connor, E. E., Winters, M., Van Kaam, J. B. C. H. M., Valentini, A., Van Doormaal, B. J., Faust, M. A., Doak, G. A. 2013. Genomic imputation and evaluation using high-density Holstein genotypes. *Journal of dairy science*, 96(1): 668-678.
- Wang, W. J., Tay, H. G., Soni, R., Perumal, G. S., Goll, M. G., Macaluso, F. P., Asara, J. M., Amack, J. D., Tsou, M. F. B. 2013. CEP162 is an axoneme-recognition protein promoting ciliary transition zone assembly at the cilia base. *Nature cell biology*, 15(6): 59.
- Yang, M., Zhang, G. G., Wang, T., Wang, X., Tang, Y. H., Huang, H., Barajas-Martinez, H., Hu, D., Huang, C. X. 2016. TBX18 gene induces adipose-derived stem cells to differentiate into pacemaker-like cells in the myocardial microenvironment. *International journal of molecular medicine*, 38(5): 1403-1410.
- Yuan, Z., Li, J., Li, J., Zhang, L., Gao, X., Gao, H. J., Xu, S. 2012. Investigation on BRCA1 SNPs and its effects on mastitis in Chinese commercial cattle. *Gene*, 505(1): 190-194.