

한우의 주요 조직 적합성 항원 규명

윤석주 · 권명상

강원대학교 축산대학 수의학과
(1995년 2월 10일 접수)

Characterization of major histocompatibility complex antigen on Korean native cattles

Seok-joo Yoon, Myung-sang Kwon

Department of Veterinary Medicine, College of Animal Agriculture,
Kangwon National University
(Received Feb 10, 1995)

Abstract : The characterization of the MHC of domestic animals may constitute a first step towards increasing the efficiency of food production through improved disease resistance. In order to study the role of the MHC in regulating immune response it is first necessary to identify the different MHC alleles. In this research we try to investigate the possible associations between BoLA of Korean native cattles and infectious cattle disease.

For this purpose we used one approach, serology.

The results were summarized as follows :

1. Korean native cattle's lymphocyte reacted with alloantisera which recognized seven official BoLA allele. Korean native cattle's lymphocytes were reacted same as European breeds(especially with 673/3(W20)).
2. Korean native cattle's lymphocytes reacted with alloantisera 773/2, 673/3, 638/3, 773/3, 602/2, 639/2 and 639/3 at high reaction frequency. But alloantisera 642/1 was not expressed on Korean native cattle. If this allele, recognized by alloantisera(642/1), officially certificate In BoLA workshop it will be characterization factor of Korean native cattle.
3. According to cellular similarity index, we can presume on genetic relativity which has no family relationship.

Key words : BoLA, Korean native cattle, HLA test

서 론

MHC는 모든 포유 동물의 유핵세포의 세포 표면의 단백질 구조이다¹. 포유동물의 세포의 표면 단백질 항

원인 MHC는 면역 반응에 깊이 관여하고 있으며 특히 사람의 경우 6번째 염색체에 위치하는 MHC 유전자 복합체에 관한 연구²는 그것의 의미가 장기 이식과의 관련 뿐 아니라 더 나아가서는 세포 상호간의 면역 조

* 본 연구는 한국과학재단의 핵심전문연구과제 연구비 93년도 과제번호 931-0600-006-1의 일부와 94년도 과제번호 941-0600-40-1의 일부에 의하여 수행되었음.

Address reprint requests to Dr Seok-joo Yoon, Department of Veterinary Medicine, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Republic of Korea.

절기능⁹과 관련하여 더욱 활발하게 이루어지고 있다. 특히 특정한 질병에 대한 저항성과 특정한 MHC-allele와 뚜렷한 관련이 있다는 사실들이 밝혀지면서 이에 따른 MHC에 의해 조절되는 조절기능은 단지 면역계에만 작용하는 것이 아니고 다른 신체내의 세포에 유전이 되어 영향을 미친다는 사실도 알려지고 있다. 최근 가축의 생산성을 증진시키는 것에 관한 문제는 암수의 구별, 특정한 질병에 대항하는 새로운 기법의 생물학적 제제의 개발과 더불어 특정한 질병에 저항성을 지닌 개체 및 품종을 개발하여 유전적으로 보존하는 것 등으로 연구의 초점이 맞춰지고 있는 실정이다.

특히 특정 질병에 대하여 내성을 지닌 개체 및 품종의 보존에 관련하여 우리 고유의 한우에 있어서 살펴보면 한우는 일반적으로 국내에 도입된 홀스타인등 유우 및 에버던앵거스등의 육우와 비교해서 육질과 고기 맛이 좋고 특히 타 품종에 비하여 질병에 대한 저항성이 강한 것으로 알려져 있다. 그러나 그에 관련된 요소의 규명에 관해서는 정확하게 밝혀진 것이 없는 실정이며 능력이 우수한 한우의 혈통보존 및 증식, 순종 개량에 의한 육용형 개량등이 절실히 요구되어 오고 있다고 할 수 있다. 가축에 있어서는 MHC의 연구가 비교적 짧은 가운데서도 질병에 대한 저항성과 각 품종의 능력 검정과 관련된 관심이 높아져 가끔의 경우 MHC와 질병과의 관계⁴ 즉, White Leghorn에서 Marek's disease의 경우 질병에 대한 저항성(B-21) 및 감수성(B-27) 등이 닭의 MHC인 B-complex의 특정 haplotype⁵과 관련이 있다는 것이 밝혀졌다^{6,7}.

반추류에서의 MHC에 관한 규명은 질병의 저항성^{8,9}과 관련된 인자를 통하여 품종간 또는 개체간의 고유한 유전자를 찾아내어 육생산의 증가를 위해 최우선으로 초점을 맞춰가고 있다.

이와 같은 유전자의 이용은 오늘날과 같은 개방화 시대에 질병의 저항성을 통한 비용의 절감, 축산업의 보호 차원에서 생산성을 증가시키는 등 장기적인 측면에서 활용을 가능케 한다. 질병과의 관계를 살펴보면 소의 바이러스성 설사의 감염과 특정 BoLA들과의 관계가 Dam과 Oestergard¹⁰에 의하여 알려졌고 외부 기생충인 *Boophilus microplus* 및 *Theileria parva*와 BoLA와의 관련성^{11,12} enzootic bovine leukosis와 BoLA와의 관련성¹³ 그리고 mastitis는 BoLA-Aw16을 지닌 개체가 감수성이 강하며 이에 반하여 BoLA-Aw2를 지닌 개체는 저항성이 있어 감염이 되지 않는다는 보고가 Solbu 등과 Spooner와 Lie¹⁴ 및 Larsen et al¹⁵에 의해 알려졌다. MHC의 소의 질병예방에 관한 구체적인 응용의 예

로는 실험실에서 림파구를 *Theileria parva*로 transformation시킨 후 증식시킨 lymphoblastoid cell line(림파구 유약세포계열)을 이미 MHC검색을 통해 *Theileria parva*에 감수성이 있는 개체에 접종함으로써 이들 개체가 지닌 BoLA class-I phenotype에 변화를 줌으로써 *Theileria parva*에 대한 예방의 방법으로 사용하고 있다^{16,20}. BoLA class I은 특별히 BoLA-A allele에 의해 조절이 되는데²¹ 세포 매개성 lympholysis에 의해 측정되어진다.

전세계에 퍼져있는 소의 각 품종들은 그들 품종간에서 주요 조직 적합성 유전자의 공통성내지는 특이성이 있어서 각 품종에 따른 BoLA-A locus내의 각 유전자의 발생빈도를 보면 BoLA Aw6, Aw8, Aw12, Aw20의 경우 홀스타인종에 빈도가 높으며 같은 유럽종 중에서도 샤롤레의 경우 w20의 빈도는 없으며²² 아프리카 N'Dama는 단지 w10의 빈도만이 높음을 볼 수 있어²³ 이를 통한 각 품종간의 BoLA-A allele의 차이를 추정할 수 있다.

국내의 한우에 대한 이제까지의 육종학적 연구에서는 위와 같은 면역학적인 기법을 이용한 림파구 표면 항원구조에 의한 것은 아직까지 보고 된 바 없으며 외국의 경우 앞의 혈청학적 실험 결과와 더불어 Southern blot analysis²⁴를 통해 BoLA의 polymorphism에 관한 정보를 더욱 정확하게 밝혀가고 있다^{25,26}. 이에 본 연구에서는 조직 적합성 유전자 복합체(MHC)에 관한 연구에서도 밝혀진 각종 질병과 MHC와의 관련성을 근거로 이미 미국, 영국, 독일, 네델란드 등에서의 소의 혈액내의 림파구 표면 항원인 BoLA(bovine lymphocyte antigen)에 관한 연구 결과로 생산된 국제적으로 공인된 항혈청(alloantisera)을 바탕으로 한우의 BoLA에 대한 면역유전학적인 분석을 통한 한우의 주요 조직 적합성 복합체의 구조의 상호 관련성을 찾아내어 유용한 특성과 연관이 있는 MHC polymorphism(다형성) 형태를 조사하여 기존의 외국의 연구 결과와 비교함으로써 한우의 생산성 및 질병에 대한 저항성과 감수성에 관련된 인자를 찾아내어 앞에서 언급한 국제 경쟁력에 대응할 수 있는 순수한 한우의 혈통보존 및 개량을 위한 기초적 자료를 제시하며 더 발전된 유전 육종학적인 분야의 연구의 초석이 되게 함을 목적으로 하였다.

재료 및 방법

실험 동물 : 강원도 종축장의 등록 한우의 혈통 및 번

식기록 카드를 이용하여 BoLA typing을 위한 공시동물로 40마리의 한우를 설정하였다(paternal half-sib family를 추출함.) 개체번호의 앞자리가 같은 개체는 부자간 또는 형제간이며 얼굴 형태에 따라 분류된 개체도 공시 동물로 선정되었다.

Alloantisera : BoLA typing을 위한 bovine alloantisera 90종은 독일의 Hannover수의과대학의 생화학실험실로부터 공여 받았다.

혈액 채취 : 공시된 동물의 경정맥(vena jugularis)으로부터 10ml의 혈액을 무균적으로 채취하여 ACD (acid citrate dextrose)가 담긴 멸균 시험관에 넣어 응고되지 않게 섞어 주었다.

Lymphocyte의 분리 : 채혈한 전혈을 10분간 600g에서 원심분리하여 buffy coat를 형성시켰다. Pasteur pipette을 이용하여 15ml tube(Falcon, USA)에 buffy coat를 옮긴 후 HBSS(Hank's balanced salt solution; pH 7.4; Gibco, USA)를 이용하여 buffy coat를 재현탁시켰다. 현탁시킨 것을 동량의 Ficoll-paque®(비중 1.077g/ml; Sigma, USA)위에 올려 놓고 15분간 1000g로 상온(22°C)에서 원심분리한 후에 ficoll과 HBSS사이에서 층을 이루고 있는 림파구층을 pipette를 이용하여 1ml microtube에 분주하였다. 이 튜브를 1분간 3500g로 원심분리하여 림파구를 pellet화 시켰다. 상청액을 제거한 후 pellet을 같은 튜브에 HBSS를 사용하여 1분간 1500g로 다시 원심분리하였다. 상청액을 제거한 후 HBSS로 현탁하고 1방울의(100units/ml)의 bovine thrombin(Sigma, USA)을 첨가하였다. 튜브의 마개를 닫고 흔들어 작은 백색 덩어리가 생길때 까지 섞어 주었다. 3-4초 정도 1000g로 원심분리하여 덩어리들이 pellet을 형성하도록 하였다. 상청액을 새로운 튜브에 옮겨 1분간 1500g로 원심분리하여 pellet을 형성하였다. 상청액을 제거한 뒤 HBSS로 재현탁하였다. 상청액을 15ml 튜브에 옮긴 후 HBSS로 희석하여 보관하였다. 50µl의 cell suspension을 50µl의 acridine orange (Aldrich, USA)용액과 혼합하여 형광현미경(Nikon, Japan)을 사용하여 cell counting을 하여 3×10⁶cell/ml로 고정시켰다.

Tissue typing tray의 준비 : 사람의 HLA-test를 위해 NIH(National Institute of Health)에서 개발된 방법²⁾을 이용하였다. Terasaki tissue typing tray(Nunclon, Denmark)에 alloantisera를 놓기 전에 5µl의 비세포독성 파라핀 오일(Hori pharm, Japan)을 microsyringe(Hamilton, Switzerland)를 이용하여 각 well에 분주한 후 antisera는 Hamilton syringe를 이용하여 1µ씩 파라핀 오일의 아래

에 놓은 후 반응시켰다.

Complement dependant cytotoxicity test : NIH의 human lymphocyte antigen의 typing에 사용하는 방법을 이용하였다. 이때의 분석방법은 antisera 및 complement와 반응한 세포가 죽어서 eosin에 의해 염색된 정도에 따라 다음과 같이 구분한다.

Table 1. Data evaluation table

Score	Eosin stained cell		Evaluation
0	Unreadable		-
1	0	9%	negative
2	10	19%	doubtful negative
4	20	39%	doubtful positive
6	40	79%	positive
8	80	100%	strongly positive

Reactions frequency(반응빈도) : 항혈청이 실험에 사용된 동물의 림파구와 반응하는 빈도를 reactions frequency라고 칭하며 구하는 술식은 아래와 같다.

$$\text{Reactions frequency} = \frac{\text{양성반응 하는 동물의 수}}{\text{총 실험동물의 수}} \times 100$$

양성 반응이란 40%(score=6) 및 80%(score=8)이상의 것을 기준으로 한다.

결 과

Complement dependent cytotoxicity(CDC)를 통한 한우의 BoLA class I 분석 : Table 2의 결과에서 볼 수 있는 바와 같이 90종의 bovine alloantisera를 한우 40마리에서 분리한 lymphocyte와 반응시킨 결과, 이 alloantisera중 773/2, 673/3, 638/3, 773/3, 602/2, 639/2 및 639/3등의 혈청은 한우의 림파구와 반응을 강하게 하여 높은 빈도를 나타냈으나, 특이하게도 642/1의 항혈청은 그 빈도가 0으로 나타났다.

Cluster analysis : 반응한 alloantisera들 중의 상호 유사성을 분석하기 위해 소위 Dice-Index와 반응 빈도(reactions frequency)에 의해 alloantisera를 5그룹으로 구분할 수 있었다. 즉, 40마리의 한우 각 개체에 나타나는 빈도에 따른 상호 관련성을 모아 분석할 수 있었던 것이다.

Table 2. Reactions frequency of Korean native cattle's lymphocyte with 90 bovine alloantisera

No	alloantisera	Socre				Rfq(frequency)
		8	6	4	2	
1	773/2	21	8	0	0	70.00
2	673/3	15	15	2	0	68.59
3	638/3	16	12	0	0	66.85
4	773/3	12	14	3	1	62.98
5	602/2	15	9	2	1	58.54
6	639/2	10	13	1	1	55.10
7	639/3	9	13	1	1	54.66
8	735/3	11	10	5	1	50.22
9	636/3	9	11	3	3	48.78
10	737/3	9	11	1	2	48.78
11	595/2	7	10	4	4	41.46
12	638/2	4	13	7	3	41.46
13	647/3	3	14	6	1	41.46
14	680/1	4	12	5	2	39.02
15	738/3	10	6	2	3	39.02
16	763/2	4	12	4	0	39.02
17	673/2	7	8	2	0	36.59
18	572/1	8	6	1	1	34.15
19	680/2	4	10	7	0	34.15
20	737/2	8	6	2	2	34.15
21	738/2	6	8	3	2	34.15
22	604/1	7	6	6	1	31.71
23	698/3	4	8	4	1	29.27
24	759/2	3	9	4	0	29.27
25	763/0	5	7	4	0	29.27
26	771/3	3	9	6	1	29.27
27	771/2	5	7	8	1	29.27
28	543/2	1	10	3	0	26.83
29	635/2	2	9	2	1	26.83
30	654/3	5	6	1	0	26.83
31	728/2	2	9	7	3	26.83
32	728/3	1	10	7	1	26.83
33	577/3	3	7	0	3	24.39
34	589/1	0	10	5	1	24.39
35	759/3	1	9	5	4	24.39
36	753/3	1	9	3	0	24.39
37	748/2	2	7	8	2	24.39
38	763/1	1	9	5	0	24.39
39	528/3	0	9	5	3	21.95
40	641/1	3	6	4	0	21.95
41	647/2	1	8	4	0	21.95
42	650/3	3	6	3	1	21.95
43	654/2	2	7	4	2	21.95
44	697/0	2	7	4	2	21.95
45	766/0	1	9	5	1	21.95
46	680/3	0	8	4	4	19.51
47	447/3	2	6	5	4	19.51
48	753/2	1	8	7	1	19.51
49	528/2	2	7	2	1	19.51
50	698/2	1	6	3	3	19.51
51	699/3	2	4	2	2	19.51
52	506/3	3	7	5	1	17.07
53	543/3	0	6	2	2	17.07
54	568/1	1	6	9	0	17.07
55	589/3	1	7	2	0	17.07
56	595/1	0	6	4	2	17.07
57	602/1	1	5	2	0	17.07
58	680/0	2	4	7	0	17.07
59	694/0	3	5	2	1	17.07
60	766/1	2	6	2	1	17.07
61	543/1	0	5	2	1	17.07
62	582/1	1	5	5	0	14.63
63	669/2	0	6	3	0	14.63
64	673/1	0	4	7	0	14.63
65	748/3	2	5	3	1	14.63
66	759/1	1	4	7	5	14.63
67	765/0	2	4	10	0	14.63
68	528/1	0	5	8	2	12.20
69	735/2	0	3	3	1	12.20
70	631/3	2	0	3	2	12.20
71	635/1	1	4	1	3	12.20
72	629/1	1	4	2	0	12.20
73	755/2	2	4	3	1	12.20
74	766/3	2	3	1	1	12.20
75	505/2	0	2	6	0	9.76
76	731/2	1	4	5	3	9.76
77	697/2	1	3	3	1	9.76
78	697/1	2	3	7	0	9.76
79	698/1	1	2	8	0	9.76
80	636/1	1	3	5	1	9.76
81	755/3	1	3	3	4	9.76
82	735/1	1	2	3	1	7.32
83	735/0	1	2	1	1	7.32
84	757/1	1	2	2	0	7.32
85	765/1	0	2	5	3	7.32
86	551/2	0	2	4	2	4.88
87	697/3	0	2	3	2	4.88
88	632/1	0	1	5	1	4.88
89	766/2	0	0	4	2	2.44
90	642/1	0	0	4	2	0.00

Dice-Index : Dice index란 유사하게 반응하는 혈청을 구분하기 위해 사용하는 것으로 2가지 혈청의 반응을 비교하는 것이다.

		Reactivity with antiserum II	
		+	-
Reactivity with antiserum I	+	a	b
	-	c	d

- a : number of individuals positive with both antisera(6,8/6,8)
- b : number of individuals positive with first antiserum and negative with second(6,8/4,2,1)
- c : number of individuals negative with first antiserum and positive with second(4,2,1/6,8)
- d : number of individuals negative with both antisera(4,2,1/4,2,1)
- n : total number of individuals tested (a+b+c+d)

Formular of Dice-Index

$$DI = \frac{2a}{2a+b+c}$$

Table 3-1. Cluster analysis similary reacted alloantisera

Sera	Dice-Index		Rfq
773/2	...		70.00
673/3	85	...	68.59
602/2	76	78	58.54
Sera	773/2	673/3	-

Table 3-2. Cluster analysis similary reacted alloantisera

Sera	Dice-Index		Rfq
673/3	-		68.59
773/3	85	-	62.98
639/3	76	78	54.66
Sera	673/3	773/2	-

Table 3-3. Cluster analysis similary reacted alloantisera

Sera	Dice-Index		Rfq
737/3	-		48.78
673/3	85	-	68.59
773/3	76	78	62.98
Sera	737/3	673/3	-

Table 3-4. Cluster analysis similary reacted alloantisera

Sera	Dice-Index		Rfq
763/1	-		21.95
748/2	85	-	24.39
753/3	76	78	24.39
Sera	763/1	748/2	-

Table 3-5. Cluster analysis similary reacted alloantisera

Sera	Dice-Index		Rfq
635/2	-		26.83
753/3	85	-	24.39
748/2	76	78	24.39
Sera	635/2	753/3	-

항혈청 773/2은 항혈청 673/3 및 602/2와 유사하게 반응했고 673/3은 602/2와 유사하게 반응하였다 (Table 3-1).

항혈청 673/3은 773/3 및 639/3과 유사하게 반응했고 항혈청 773/2는 639/3과 유사하게 반응하였다 (Table 3-2).

항혈청 737/3은 673/3 및 773/3과 유사하게 반응했으며 항혈청 673/3은 773/3과 유사하게 반응하였다 (Table 3-3).

항혈청 763/1은 748/2 및 753/3과 유사하게 반응하며 항혈청 748/2는 하계 753/3만과 유사성을 보였다 (Table 3-4).

항혈청 635/2는 753/3 및 748/2와 유사하게 반응했으며 항혈청 753/3은 748/2와 유사하게 반응하였다 (Table 3-5).

Cellular similarity index(CSI) : Dice index를 기준으로 하여 BoLA locus가 유사한 개체간의 cellular similarity를 Schubert²⁸가 개발한 소위 cellular similarity index(CSI)를 이용하여 분석하였다.

	Score	Factor
a: positive reaction with both cell	6-8/6-8	1
b: questionable positive reaction with both cell	4/4	1
c: positive reaction with one cell, but questionable positive with other cell	6-8/4	0.5
d: positive reaction with one cell, negative reaction with other cell	6-8/1-2	1

$$CSI = \frac{\Sigma(a+b+c)}{\Sigma(a+b+c+d)}$$

즉, 위의 식을 이용하여 각 2종류의 림파구 상호간, 즉 각각의 두개체간의 유사성을 90종류의 alloantiseras들과 비교분석한 결과는 다음과 같다.

그런데 아래에 제시된 결과들은 CSI(cellular similarity index)의 결과 중 0.6이상의 유사성을 보인 개체들만의 상호관계이다.

Table 4-1. Results of cellular similarity index(CSI ≥ 0.6)

Group	Cattle ID No	CSI
A	11-5	
	11	0.64
	11-4	0.60
	11-5	11 11-4

Table 4-2. Results of cellular similarity index(CSI ≥ 0.6)

Group	Cattle ID No	CSI
B	3-4	
	19	0.61
	75-1	0.60
	3-4	19 75-1

Table 4-3. Results of cellular similarity index(CSI ≥ 0.6)

Group	Cattle ID No	CSI
C	11	0.64
	47-2	0.60
	11	47-2

Table 4-4. Results of cellular similarity index(CSI ≥ 0.6)

Group	Cattle ID No	CSI
D	11-4	
	70-1	
	75-1	
	75-3	0.63 0.61 0.61
	11-4	70-1 75-1 75-3

Table 4-5. Results of cellular similarity index(CSI ≥ 0.6)

Group	Cattle ID No	CSI
E	75-3	
	78-1	0.77
	75-3	78-1

그룹 A의 경우 개체번호 11-5의 림파구경우에는 개체번호 11의 일세대(F1)로 유전적인 유사성을 그대로 간직하고 있으며 아울러 이세대(F2)와도 유사성이 있음이 증명되었다(Table 4-1).

그룹 B의 경우는 그룹 A와는 달리 개체 3-4가 혈통적으로 유전적인 유사성이 전혀 없는 개체인 19 및 75-1과도 유사성을 나타내어 동일 한우 간에 나타날 수 있는 유전적 상관관계를 추정할 수 있다(Table 4-2).

그룹 C의 경우에도 그룹 B의 경우와 유사하게 개체 11이 혈통적으로 유전적인 유사성이 전혀 없는 개체인 47-2와 유사성을 나타내어 동일 한우 간에 나타날 수 있는 유전적 상관관계를 추정할 수 있다(Table 4-3).

그룹 D의 경우는 그룹 B 및 C의 경우와 유사하게 개체 11-4나 70-1이 혈통적으로 유전적인 유사성이 전혀 없는 개체인 75-3과 유사성을 나타냈으며 한편 개체 75-1의 경우는 그룹 A와 유사한 일세대(F1)간의 유전적 유사성을 통한 상관관계를 추정할 수 있다(Table 4-4).

그룹 E의 경우에도 타그룹의 경우와 유사하게 개체 78-1이 혈통적으로 유전적인 유사성이 전혀 없는 개체

인 75-3과 유사성을 나타내어 동일 한우 간에 나타날 수 있는 유전적 상관관계로 추정할 수 있다(Table 4-5).

고 찰

소의 MHC인 BoLA는 국제 BoLA workshop을 통하여 40여종의 allele가 공인되었고 이들의 각 질병과의 관계를 살펴보면 소의 바이러스성 설사의 감염과 특정 BoLA들과의 관계가 Dam과 Oestergard¹⁰에 의하여 알려졌고 외부 기생충인 *Boophilus microplus* 및 *Theileria parva*와 BoLA와의 관련성^{11,12}, enzootic bovine leukosis와 BoLA와의 관련성¹³, 그리고 mastitis는 BoLA-Aw16을 지닌 개체가 감수성이 강하며 이에 반하여 BoLA-Aw2를 지닌 개체는 저항성이 있어 감염이 되지 않는다는 보고가 있었다. 이러한 대립 유전자와 질병과의 관련성이 보고되고 있으나 한우에서는 이러한 기초적인 연구가 이루어지지 않고 있는 상황이다. 본 연구를 통해서 한우의 립파구와 90종의 alloantisera를 반응시켜 그 반응빈도를 분석하였다.

이 결과는 Table 2와 같으며 한우 40마리에서 분리한 립파구와 공인된 90종의 alloantisera와 반응시킨 결과를 살펴보면 공인된 항혈청 중 773/2, 673/3, 638/3, 773/3, 602/2, 639/2, 639/3은 한우의 립파구와 높은 반응빈도를 보였으나, 항혈청 642/1의 경우에는 그 반응빈도가 0으로 나타났으며, 이러한 결과는 본 연구의 근본 목적과 상당히 부합되며 한우가 인식치 않는 혈청으로 본 연구의 귀중한 자료임을 추정할 수 있었다. 이 항혈청이 인식하는 allele가 국제적으로 공인된다면 이것은 한우의 유전적 특성을 결정짓는 유전적 인자가 될 것으로 기대된다.

Table 5. Genotype frequency of Korean native cattles

BoLA-A allele (Alloantisera)	Frequency(%)
w6 (773/2)	70.0
w20(673/3)	68.6
w20(773/3)	61.8
w8 (737/3)	48.8
w20(738/3)	39.0
w10(735/2)	12.1
w10(735/0)	7.3

이상 90종의 alloantisera중 일부인 Table 5의 antisera는 BoLA-locus의 allele를 인식하는 것으로 국제 BoLA workshop에서 밝혀진 것과 동일한 것이다. 한우에 있어서도 유럽종인 홀스타인이나 샤로레등에서 빈도가 높은 w6가 70%로 높은 빈도를 나타내고 있으며 아울러 우리나라에서는 홀스타인과 구분하지 않는 Deutsche schwarzbunte에 흔한 w8이 한우에서도 48.8%로 비교적 높게 나타났다. 또한 샤로레나 인도의 Zebu 및 아프리카의 N'Dama종에서는 존재하지 않으나 유럽종인 홀스타인, Simmenthaler 그리고 Deutsche schwarzbunte등에서 발견되는 w20이 매우 높은 68.6%의 빈도를 나타내어 일부에서 allele가 밝혀진 것들이 한우에서도 유럽종들과 유사한 높은 빈도로 발현되었다.

그리고 인도종인 Zebu나 아프리카종인 N'Dama에서 발생빈도가 높고 유럽종인 홀스타인, 샤로레, Simmenthaler 및 Deutsche schwarzbunte에서 발생빈도가 아주 낮은 w10의 경우에 한우에서도 12.05%의 낮은 빈도를 보였다. 또한 Dice index를 이용하여 40마리의 한우 각 개체에 나타나는 빈도에 따른 상호관련성을 분석하였다. Table 3-1~3-5에서 보는바와 같이 항혈청들의 유사성에 있어서 한우와 반응치 않는 642/1 항혈청의 경우는 타혈청과의 유사성을 보이지 않으므로 향후 한우와 비한우의 구별의 기준이 될 가능성을 시사해준다. 그리고 Dice index를 기준으로 하여 BoLA locus가 유사한 개체간의 세포 유사성을 CSI로 검색한 결과는 표4-1~4-5와 같으며, 공시동물 중 75-1과 75-3, 11과 11-5, 및 11-4와 11-5 간의 상호유사성은 부자간 또는 형제간, 즉 근친상호간의 유전적 유사성으로 실제 이와 같은 검증이 없더라도 추정할 수 있는 당연한 결과로 생각할 수 있지만, 본 CSI를 이용한 결과 중 특이한 점은 개체 78-1과 75-3, 3-4와 75-1, 3-4와 19, 75-3과 11-4, 75-3과 70-1 및 11과 47-2등과 같이 최소한 3대 간에는 혈연관계가 전혀 없는 것으로 추정되는 개체사이의 유사성이 인정되었다는 점이다. 이것으로 미루어 보아 최소한 3세대 이전에서 이들간의 유전적 관련성이 있었음을 추정할 수 있게 한다. 본 연구의 결과를 통해 향후 본격적인 면역 육종학연구가 진행될 것으로 기대되며, 유럽종과의 비교분석 뿐 만 아니라 지리적으로 가까운 일본의 화우와도 비교해야 할 것이 필수 불가결한 사실이다. 본 연구에 이어 앞으로 한우 립파구의 DNA를 분리하여 이것의 polymorphism에 관한 연구를 수행하여 더욱 명확한 유전적 구조를 밝혀내야 할 것이다.

결 론

상기 결과를 분석하여 다음의 결론을 얻을 수 있었다.

첫째로 한우와 90종의 alloantisera 중, 7개의 국제적으로 공인된 BoLA locus의 allele를 인식하는 것으로 밝혀진 항혈청과 반응을 보였으며 한우의 림파구 중의 일부는 유럽종의 반응과 유사한 반응 빈도를 보였다.

둘째로 한우의 림파구는 항혈청 773/2, 673/3, 638/3, 773/3, 602/2, 639/2 및 639/3 등과 높은 반응 빈도를 보였으나, 항혈청 642/1의 경우는 0의 반응 빈도를 보였다.

셋째로 본 연구에 사용된 한우의 개체간의 유전적 유사성을 관찰한 바 최소한 3세대간의 유전적 관련성이 없을 것으로 추정되는 개체간에 유전적 유사성이 존재함을 알 수 있었다.

참 고 문 헌

1. Roitt IM. *Immunology*, 3rd ed. London: Mosby, 1993.
2. Auffray C, Kuo J, Demars R, et al. A minimum of four human class II α -chain genes are encoded in the HLA region of chromosome 6. *Nature* 1983; 304: 174-177.
3. Benacerraf B. Role of MHC gene products in immune regulation. *Science* 1981; 212: 1229-1238.
4. Graml R, Pirchner F. Relation of genetic distance between cattle breeds and heterosis of resulting crosses. *Animal Blood Groups and Biochemical Genetics* 1984; 15: 173-180.
5. Guillemot F, et al. Structure, biosynthesis, and polymorphism of chicken MHC class II (B-L) antigens and associated molecules. *Jr Immunology* 1986; 137: 1251-1257.
6. Briels F, et al. Marek's Disease : Effects of B histocompatibility alleles in resistant and susceptible chicken lines. 1988.
7. Briles WE, Goto RM, Auffray C, et al. A polymorphic system related to but genetically independent of the chicken major histocompatibility complex. *Immunogenetics* 1993; 37: 408-414.
8. Klein J, Satta Y, O'hUigin C. The molecular des-
- cent of the major histocompatibility complex. *Annual review of Immunology* 1993; 11: 269-295.
9. Van der Zijpp AJ, Egberts E. The major histocompatibility complex and diseases in farm animals. *Immunology today* 1989; 10: 109-111.
10. Dam L, Oestergaard H. Investigation of association between BoLA and Bovine diarrhea. *ISABR Conference, G ttingen* 1984; 19: 111.
11. DeMartini JC, MacHugh ND, Naessens J, et al. Differential in vitro and in vivo expression of MHC class II antigens in bovine lymphocytes infected by *Theileria parva*. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 1993; 35: 253-273.
12. Eugie EM, Emery DL. Genetically restricted cell-mediated cytotoxicity in cattle immune to *Theileria parva*. *Nature* 1981; 290: 251-254.
13. Lewin HA, Bernocco D. Evidence for BoLA-Linked resistance and susceptibility to subclinical progression of bovine leukemia virus infection. *Animal genetics* 1986; 17: 197-207.
14. Solbu H, Spooner RL, Lie O. A possible influence of the bovine major histocompatibility complex(BoLA) on mastitis, Proceeding of the second World congress on Genetics applied to Livestock Production. *Madrid* 1982.
15. Larsen B, Jensen NE, Madsen B, et al. Association of M blood group system with bovine mastitis. *Animal Blood Groups and Biochemical Genetics* 1985; 16: 165-173.
16. Spooner RL, Levezuel H, Queval R, et al. Studies on the histocompatibility complex of indigenous cattle in the Ivory coast. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 1987b; 15: 377-384.
17. Spooner RL, Pinder M. Monoclonal antibodies to bovine MHC products. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 1983; 4: 453-458.
18. Spooner RL, Innes EA, Millar P, et al. Bovine alloreactive cytotoxic cells generated in vitro detect BoLA w6 subgroups. *Immunogenetics* 1987; 61: 85-91.
19. Heine L, Rebeski DR, Leibold W, et al. Induction of the 68kDa Major heat-shock protein in different *Theileria annulata* and virus transformed bovine lymphoblastoid cell lines. *Vet-*

- erinary Immunology and Immunopathology* 1992; 33: 271-277.
20. Kachani M, Oliver RA, Brown CGD, et al. Common stage-specific antigens of *Theileria annulata*. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 1992; 34: 221-234.
 21. Teale AJ, Morrison WI, Goddeeris BM, et al. Bovine alloreactive cytotoxic cells generated in vitro : target specificity in relation to BoLA phenotype. *Immunology* 1985; 55: 355-362.
 22. Bull R, et al. Proceedings of the third international bovine lymphocyte antigen(BoLA) workshop 1988.
 23. Amorena B, Stone WH. Serological defined locus in cattle. *Science* 1978; 201: 159-160
 24. Southern E. Detection of specific sequence among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *J Mol Biol* 1975; 98: 503.
 25. Anderson L, Bohme hme J, Peterson PA, et al. Genomic hybridization of bovine class II major histocompatibility genes : 1. Extensive polymorphism of DQ and DQ genes. *Animal genetics* 1986; 17: 95-112.
 26. Anderson L, Bohme J, Peterson PA, et al. Genomic hybridization of bovine class II major histocompatibility genes : 2. Polymorphism of DR genes and linkage disequilibrium in the DQ-DR region. *Animal genetics* 1986; 17: 295-304.
 27. Terasaki PI, McClelland JD. Microdroplet assay human serum cytotoxins. *Nature* 1964; 204: 998-1000.
 28. Schuberth HJ. Untersuchungen zu Klasse I- und Klasse II- Antigenen des bovinen Haupthistokompatibilitätskomplexes, Hannover, Tier rztl. Hochschule. *Vet med Dissertation* 1987.
-