

돼지 염색체 6번의 연관지도 및 양적형질 유전자좌위 탐색

이혜영* · 최봉환* · 김태현* · 박응우* · 윤두학* · 이학교** · 전광주** · 정일정* · 홍기창***

농촌진흥청 축산기술연구소*, 환경대학교 생명공학과**,
고려대학교 생명유전공학부***

Linkage Map and Quantitative Trait Loci(QTL) on Pig Chromosome 6

H. Y. Lee*, B. H. Choi*, T. H. Kim*, E. W. Park*, D. H. Yoon*, H. K. Lee**,

G. J. Jeon**, I. C. Cheong*, K. C. Hong***

National Livestock Research Institute, RDA*,

Department of Biotechnology, Hankyong National University**,

Division of Biotechnology and Genetic Engineering, College of Life and Environmental

Sciences Korea University***

ABSTRACT

The objective of this study was to identify the quantitative traits loci(QTL) for economically important traits such as growth, carcass and meat quality on pig chromosome 6. A three generation resource population was constructed from cross between Korean native boars and Landrace sows. A total of 240 F₂ animals were produced using intercross between 10 boars and 31 sows of F₁ animals. Phenotypic data including body weight at 3 weeks, backfat thickness, muscle pH, shear force and crude protein level were collected from F₂ animals.

Animals including grandparents(F₀), parents(F₁) and offspring(F₂) were genotyped for 29 microsatellite markers and PCR-RFLP marker on chromosome 6. The linkage analysis was performed using CRI-MAP software version 2.4(Green *et al.*, 1990) with FIXED option to obtain the map distances. The total length of SSC6 linkage map estimated in this study was 169.3cM. The average distance between adjacent markers was 6.05cM. For mapping of QTL, we used F₂ QTL Analysis Servlet of QTL express, a web-based QTL mapping tool(<http://qtl.cap.ed.ac.uk>).

Five QTLs were detected at 5% chromosome-wide level for body weight of 3 weeks of age, shear force, meat pH at 24 hours after slaughtering, backfat thickness and crude protein level on SSC6.

(Key words : QTL Mapping, Resource population, Economic traits, Linkage mapping, Pigs)

I 서 론

기존의 가축개량 방법은 반복적인 교배와 선발 작업을 통해 우수한 형질을 가진 개체들을 찾아내고 원치 않는 형질을 가진 개체는 도태시키는 방법으로서, 지금까지 가축의 능력을 개량하는데 크게 공헌해 왔다. 그러나 이러한 방법으로 우수한 형질을 가진 우량 가축을 찾

아내는데 많은 비용과 시간이 소요된다. 한편, 현재와 미래의 가축 개량은 분자생물학기법이 발달하면서 자세하게 작성된 유전자 지도와 경제적으로 유용한 형질과 연관된 유전자들에 대한 구조와 기능을 밝힘으로서 가축의 유전적 능력을 극대화 시킬 수 있는 기술의 개발을 통해 보다 효율적인 가축개량을 기대할 수 있게 되었다.

Corresponding author : T. H. Kim, Animal Genomics and Bioinformatics Division, National Livestock Research Institute, RDA, Suwon 441-706, Korea. Tel : 031-290-1603, E-mail : kth6160@rda.go.kr

지난 10여 년간 돼지 등 가축에서의 유전체 연구는 주로 유전자와 유전적 마커를 포함한 연관지도 및 물리지도 작성에 많은 노력을 경주해 왔으며, 분자생물학 기술들의 진보가 소, 돼지 등 주요 가축의 고밀도 유전적 연관지도 작성을 가능케 하고 있다(Barendse 등, 1994; 1997; Ellegren 등, 1994; Archibald 등, 1995; Rohrer 등, 1994; 1996). 최근에는 고해상도 물리지도가 radiation hybrid panels과 거대단편 유전자 은행(BAC library 등)을 이용해서 개발되었다. 또한 인간과 마우스의 풍부한 게놈정보를 이용한 비교유전자 지도 작성연구도 돼지의 유용유전자를 찾는 데 큰 도움이 되고 있다. 이와 같은 일련의 유전자 지도 작성연구가 양적 형질유전좌위(quantitative trait loci; QTL)에 대한 연관지도 작성에 충분히 기여하고 있을 뿐 아니라 경제적으로 중요한 여러 형질에 관여하는 주요 유전자를 밝히는데도 성공적으로 공헌하고 있다.

돼지의 유전자지도 작성은 유럽을 중심으로 한 PiGMaP (Pig Gene Mapping Project : Archibald 등, 1995)과 스칸디나비아그룹(Ellegren 등, 1994), 그리고 미국의 농무성(USDA: United States Department of Agriculture : Rohrer 등, 1994)의 3그룹을 중심으로 이루어지고 있으며 그 외 많은 연구진들이 독자적 또는 공동연구 형태로 수행하고 있다.

돼지에서 QTL 지도 작성은 주로 표현형적 특성이 다른 두 품종간 교잡을 통해 얻어진 F₂ 집단을 조성하여 분석에 이용하고 있으며, 주로 생산성과 직결되는 성장, 번식능력 및 질병 저항성 등과 연관된 형질이나 소비자의 기호와 밀접한 관련이 있는 육질형질 등에 대한 연구가 주로 이루어졌으며 지금까지 많은 형질과 연관된 QTL들이 보고되었다(Andersson 등, 1994; Wang 등, 1998; Rohrer와 Keele, 1998a; 1998b; Marklund 등, 1999; Paszek 등, 1999; de Koning 등, 1999). 특히, 돼지 염색체 6번에서는 등지방두께(BF; backfat thickness), 근내지방(IMF; Intramuscular fat), 육색 등 주로 육질형질과 연관된 QTL들이 많이 확인되었다(Rattink 등, 2000; Rohrer 등, 2000; Ovilo 등,

2000; Perez 등, 2002).

따라서 본 연구에서는 돼지 염색체 6번에 존재하는 초위성체 마커를 이용하여 고밀도의 연관지도 및 QTL 지도를 작성함으로써 주요 경제형질과 연관된 QTL을 탐색하고, 궁극적으로는 돼지의 경제형질에 영향을 미치는 주 유전자를 positional 클로닝하여 MAS에 이용하기 위한 기초자료를 제공하고자 수행하였다.

II 재료 및 방법

1. 공시재료

축산기술연구소가 제주도 축산진흥원과 충북 종축장 등으로부터 수집하여 폐쇄돈군으로 유지해온 재래돼지 수컷 5마리와 7세대간 폐쇄돈군으로 계통 조성한 Landrace 암컷 9마리를 임의적으로 선발하여 자연교미시켰다. 이로부터 생산된 F₁의 동복 자손별로 수컷 1두를 임의적으로 선발하여 암컷 2두 이상과 전형매 교배시켜 F₂ 240두를 생산하였으며, QTL분석에는 F₂ 183두를 사용하였다.

2. 표현형적 특성 분석

등지방두께는 10번째와 11번째 늑골에서 측정하였고, 도축 24시간 후 등심에서 pH를 측정하였으며, 3주령체중과 등심내 조단백질 함량을 조사 분석하였다. 전단력은 도축 24시간 후 12늑골부위의 등심부위를 두께 3cm 정도의 스테이크 모양으로 절단한 후 70°C 온도에서 10분간 가열하여 직경 0.5 inch의 core를 이용하여 근섬유 방향으로 시료를 채취한 다음 전단력 측정기(Warner-Bratzler shear force meter; G-R Elec. Mfg. Co., USA)로 측정하였다.

3. Genomic DNA 분리 및 농도 측정

Genomic DNA는 F₂ 183두의 기준집단으로부터 0.5M EDTA(pH 8.0)가 1ml 첨가된 tube에 전혈 10ml을 채취한 후 Wizard genomic DNA purification kit(Promega Co. USA)를 이용하여

추출하였다. 채취된 전혈 10ml에 30ml의 Cell lysis Solution을 첨가한 후 실온에서 10분간 적혈구를 용혈시켰다. 2000×g에서 10분간 원심분리하여 백혈구만을 모은 후 pellet을 잘 현탁시킨 후, 10ml의 Nuclei lysis Solution에 용해시켰다. 15분간 37℃ 진탕배양기에서 RNase A(20μg/ml) 처리를 한 뒤, 3.3ml의 Protein Precipitation Solution을 첨가하고 20초간 강하게 현탁시켰다. 2000×g에서 10분간 원심분리하여 정제하고 isopropanol로 DNA를 침전시킨 다음 70% ethanol로 세척 후, 건조시킨 다음 TE buffer(pH 8.0)에 녹여 본 실험에 사용하였다.

4. 초위성체 마커의 선정

유전자형 분석에 사용한 초위성체 마커는 U.S Pig Genome Coordinator(Max F. Rothschild)에서 제공하고 있는 돼지 6번 염색체상의 초위성체 마커를 이용하였다. 우선 F₀에 대하여 유전자형을 분석한 후, 비교적 대립유전자의 수가 많고 이형접합성이 높은 마커를 27개 선정하여 사용하였다. 추가적으로 인간 유전자 지도와의 비교를 통해 개발된 초위성체 마커 *LEPR*(leptin receptor)과 *AMPK2*(AMP-protein kinase 2) RFLP 마커를 개발 활용하였다. *LEPR* 초위성체 마커는 Genebank에 등록되어 있는 염기서열정보(Accession No. AF184172)를 근거로 하여 (CA)_n 반복서열을 중심으로 제작하였고, 6q33-q35 위치에 존재하며 leptin receptor 유전자의 exon 3부위에 근접해 있다. forward와 reverse primer의 염기서열은 각각 5'-aatggaactcttcccagct-3'와 5'-cattcgaactgttcattgccat-3'이다. *AMPK2* 유전자는 지방대사와 관련된 후보유전자로서 기준집단에 대하여 PCR-RFLP 방법을 이용해 유전자형 결정하고 연관 지도 작성에 이용하였다.

5. Multiplex-PCR에 의한 DNA 증폭

PCR 증폭은 각 마커의 분자량, 표지된 형광물질 등을 고려하여 두 종류 이상의 초위성체 마커에 대해서 동시 증폭이 가능한 것은

Multiplex-PCR 기법을 이용하여 증폭하였다. PCR 반응액 조성은 PCR reaction buffer (10mM Tris-HCl, pH8.3, 50mM KCl, 1.5mM MgCl₂)와 2.5mM dNTPs, 3pmol fluorescent dye labeling primer pairs, 10ng의 template DNA, 0.5U Taq DNA polymerase (TaKaRa Co., Shiga, Japan)와 ddH₂O를 사용하여 총 반응액은 10μl로 하였다. PCR 조건은 94℃에서 5분간 pre- denaturation 한 후 94℃에서 30초(denatruation), 45~)℃중 각 primer의 적정온도에서 40초(annealing), 72℃에서 1분(primer extention)을 35cycles 수행한 후 마지막으로 72℃에서 10분간 최종 extention 과정을 수행하였다. PCR증폭 산물은 2%의 agarose gel에서 증폭여부를 확인하였다.

6. 유전자형 분석

PCR 산물은 적정량의 deionized water로 희석하고 DNA : formamide : size standard(Genescan-350 TAMRA)를 1μl : 12μl : 0.5μl 비율로 혼합하여 95℃ 이상에서 3분간 denaturation시키고, ABI 310 Genetic Analyzer(Applied Biosystems, USA)로 전기영동을 실시하였다. 각 좌위별 대립유전자는 GeneScan software version 2.1 (Applied Biosystems, USA)과 Genotyper software version 2.5(Applied Biosystems, USA)를 이용하여 분석하였다.

7. 통계분석

연관분석은 CRIMAP software version 2.4를 이용하였으며, 이는 Maximum likelihood 방법을 응용한 것으로 염색체내 설정된 마커들의 상대적 연관거리를 추정하였다(Green 등, 1990). 염색체상 마커의 순서를 정하기 위해 BUILD option을 이용하였고, 마커간의 연관정도를 알아보기 위해 CHROMPIC option을 사용하였다.

QTL 분석은 least square regression interval mapping 방법으로 설정된 위치(1cM) 마다 QTL존재 여부를 파악하는 single QTL 모델인 QTL express software(<http://qtl.cap.ed.ac.uk>)을 활용하였다(Haley와 Knott 등, 1994). 본 분석에서 염색체수

준(chromosome-wise)에서의 임계수준(significance threshold)을 결정하기 위하여 permutation test를 실시하였다(Churchill 와 Doerge, 1984, Lee 등, 2002). 형질별로 조사된 개체의 유전자형과 표현형 자료를 대상으로 permutation test를 실시하여 자료구조를 임의로 홀트려 당초 설정된 귀무가설(H_0 : No QTL)에 맞는 가상의 자료를 만들어 설정된 program에 의해 QTL 분석을 실시하였다. 이와 같은 과정을 1,000회 이상 반복하여 각각의 자료 set당 Maximum 통계량(F-statistics)을 계산하였으며 이들 1,000개의 통계량의 분포에서 경험적인 1종 오류 확률수준에 이르는 지점의 통계량을 설정하여 이들을 각각의 형질별 임계수준으로 정하였다(Chromosome-wise significance threshold).

III 결과 및 고찰

1. 표현형적 특성 분석

Table 1은 기초축군 중 본 실험에 활용된 183두의 F₂ 돼지에 대한 표현형 형질의 평균값과 표준편차를 나타낸 것이다. F₂ 집단은 재래 돼지와 Landrace의 두 종의 평균성적을 갖고 있었으며, 개체간 표현형적 변이가 매우 높아서 경제형질과 연관된 QTL을 탐색하기 적절한 기준집단이라고 평가되었다.

2. 유전자형 분석과 연관지도 작성

돼지 염색체 6번에 있는 초위성체 마커 28개와 PCR-RFLP 마커 1개를 포함한 총 29개의 마커로 연관지도를 작성하였다. 연관지도에 사

용된 초위성체 마커의 평균 대립유전자 수는 5.01개였고, 대립유전자 수는 최소 3개 (SW973과 SW2406)에서 최대 9개(SW1680)까지 다양하게 분포하고 있었고, 마커의 평균 이형접합성은 55.18%였다. 암수평균 연관지도 길이는 169.3cM이었고, 마커간의 평균간격은 6.05cM이었다. 수컷의 연관지도의 길이는 187.3cM이었고, 암컷의 연관지도는 150.7cM로서 수컷이 암컷의 연관지도 길이보다 36.6cM 더 긴 것으로 나타났다. 이는 동형배우자(homogametic)인 암컷의 재조합률이 이형배우자(heterogametic)인 수컷의 재조합률보다 유의적으로 높아 암컷의 연관지도의 길이가 수컷의 연관지도의 길이보다 길다고 보고한 결과(Ellegren, 1994; Archibald 등, 1995)와 상이한 결과를 보고하였다. 그러나 Mikawa 등(1999)이 작성한 18개 염색체의 연관지도 중 1번 염색체는 본 연구의 결과와 마찬가지로 암컷보다 수컷의 연관지도가 더 길었다. 이러한 결과는 1번 염색체의 연관지도 작성에 사용된 마커는 주로 염색체의 중심부에 존재하는 마커로서 중심부에 존재하는 마커간에는 재조합비율이 낮아서 암컷과 수컷간의 연관지도의 길이에 있어 큰 차이는 없다고 설명하였다. 마커간의 최소간격은 S0003과 S0228 마커 사이로 2.3cM이었고, 최대간격 SW1353과 SW1057 마커 사이로 15.5cM였으며, 본 연구에서 새롭게 개발된 마커 LEPR은 S0121과 SW1881 사이인 128.2cM, 그리고 AMPK α 2는 SW1881과 SW1680 사이인 149.9cM에 위치해 있었다(Table 2, Fig. 1). 한편 USDA-MARC의 연관지도(Rohrer 등, 1996)와 비교했을 때 각 연관지도상의 마커의 위치는 다소 차이를 보였

Table 1. Means and standard deviations of traits measured on founders and 183 F₂ animals

Traits	K(n=5)		L(n=9)		KL F ₂ (n=183)	
	Mean	S.D	Mean	S.D	Mean	S.D
Body weight at 3 weeks of age(kg)	3.79	0.05	5.52	0.11	5.05	1.01
Backfat thickness(mm)	22.4	3.4	12.3	0.8	21.2	7.9
pH at 24 hours after slaughtering	5.56	0.20	5.29	0.44	5.62	0.24
Shear force(kg/0.5inch)	3.65	0.61	4.52	0.14	3.80	1.25
Crude protein level(%)	-	-	-	-	22.43	1.23

K: Korean native boar.

L: Landrace sow.

KL: Korean native boar × Landrace sow.

Table 2. Heterozygosity and number of allele of markers, and distance between adjacent markers estimated by CRIMAP

Marker	Heterozygosity (%)	No. of allele	Recomb	Marker distance (cM)	Sex-average Kosambi (cM)	Sex-specific Kosambi(cM)		USDA-* MARC (cM)
						Male	Female	
S0035	50.40	5			0	0	0	
SW2535	60.48	5	0.04	2.7	2.7	3.7	1.0	2.2
SW973	40.70	3	0.04	2.6	5.3	5.8	4.1	9.1
SW2406	47.98	3	0.05	3.7	9.0	13.1	5.3	2.8
SW1353	35.08	5	0.15	11.0	20.0	26.0	14.0	7.8
SW1057	58.46	7	0.20	15.5	35.5	38.5	32.7	17.9
SWR1130	51.20	4	0.20	15.2	50.7	55.3	46.7	17.9
SW492	57.25	7	0.13	9.5	60.2	65.6	55.0	3.7
SW1067	54.43	7	0.06	4.3	64.5	69.5	59.5	2.7
SW1129	56.85	4	0.08	6.3	70.8	76.5	65.1	8.8
SW4	52.82	4	0.07	5.0	75.8	83.3	68.3	1.9
SW122	59.67	5	0.06	4.7	80.5	88.9	72.1	1.2
SW316	60.08	6	0.07	5.4	85.9	94.0	77.8	6.0
DG94	54.03	4	0.09	4.5	92.5	99.9	84.9	3.7
SW1473	57.66	4	0.03	2.4	94.9	102.6	87.0	0.9
SW2173	61.29	5	0.03	2.5	97.4	106.1	88.3	3.1
SW71	66.93	6	0.03	2.6	100.0	109.8	89.6	1.6
S0003	72.09	5	0.08	5.6	105.6	117.0	93.6	3.4
S0228	61.29	6	0.04	2.3	107.9	120.5	96.1	3.2
SW1647	37.09	5	0.05	3.9	111.8	124.1	99.7	3.5
SW824	69.75	4	0.06	4.1	115.9	124.1	99.7	1.7
S0121	69.75	4	0.08	5.5	115.9	130.0	102.2	5.6
S0121	41.53	5	0.09	6.8	121.4	136.6	106.6	-
LEPR**	58.06	6	0.09	6.7	128.2	145.7	111.1	-
SW1881	71.37	6	0.19	15.0	134.9	153.6	116.5	-
AMPK α -2/Taq1***	70.06	-	0.09	6.6	149.9	166.6	132.9	-
SW1680	62.90	9	0.05	3.9	156.5	174.6	138.5	-
SW1328	52.01	6	0.07	4.9	160.4	178.3	142.6	1.8
SW2419	48.79	6	0.05	4.0	165.3	183.9	145.9	5.7
SW607	54.03	4			169.3	187.3	150.7	4.3
Mean	55.18	5.01	-	6.05	-	-	-	-

* USDA-MARC ; Map distance estimated based on the USDA-MARC pig map.

** LEPR ; Leptin Receptor.

*** AMPK α -2/TaqI ; AMP-protein kinase alpha2.

으나 마커의 순서는 일치하는 결과를 보였다. PiGMaP consortium map(Archibald 등, 1995), Scandinavian map(Marklund 등, 1996), USDA-MARC(Rohrer 등, 1996) 그리고 Japan pig map(Mikawa 등, 1999)의 연관지도는 마커의 순서에 관하여 서로 다른 결과를 보인 바 있었다. USDA-MARC의 연관지도상의 염색체 6번의 길이는 165.7cM으로 본 연구의 결과

(169.3cM)와 비슷한 결과를 나타내었다. 한편, 연관지도 길이의 유의적 차이는 실험에 사용된 기준집단의 상이한 유전적 특성으로 인한 개체간 또는 집단간의 재조합 비율의 차이로 인한 결과일 수 있다(Marklund 등, 1996; Rohrer 등, 1996; Mikawa 등, 1999).

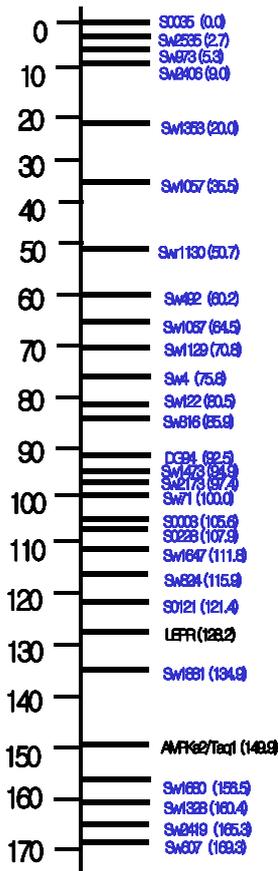


Fig. 1. Genetic linkage map of microsatellite markers on SSC6.

3. 성장형질과 연관된 QTL의 탐색

3주령체중과 연관된 QTL은 마커 SW2535와 SW973사이 5cM 위치에서 5% 수준의 통계적 유의성을 나타내었고(Table 3, Figure 2(A)), Rohrer 등(2000)과 Bidanel 등(2001)은 5주, 12주령 체중과 생시부터 5주령까지의 일당증체량과 연관된 QTL을 본 연구의 결과와 위치는 다르지만 염색체 6번 53cM 위치에서 확인한 바 있다. Landrace의 유전자형이 재래돼지의 유전자형으로 변화될 때 3주령체중은 0.12kg 감소하는 것으로 추정되었는데(Table 3), 이것은 재래돼지의 대립유전자가 저체중과 연관성이 있음을 보여주는 것으로 일반적으로 산육능력에 있어서 재래돼지는 Landrace보다 낮은 편인 사실을 반영한다고 할 수 있다.

4. 도체형질과 연관된 QTL의 탐색

본 연구에서 등지방두께와 연관된 QTL은 마커 SW71과 S0003사이 103cM 위치에서 탐색되었다(Table 3, Fig. 2(B)). 최근에 Ovilo 등(2002)은 6번 염색체에서 본 연구에서 확인한 위치와 불과 4cM 떨어진 곳인 107cM 위치에서 *LEPR* 마커의 위치를 보고하였다. *LEPR*은 지방관련 후보유전자로서 사람과 마우스의 비만과 연관성이 있으며(Friedman 등, 1998), 돼지에 있어서는 지방형질에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(Serra 등, 1998; Hardge 등, 2000; Morales 등, 2000). 6번 염색체에 존재하는 등지방두께 연관 QTL은 재래돼지의 대립유전자가 등지방 두께를 얇게 하는데 영향을 미치는 것으로 나타났다(Table 3). 이는 두 품종의 평균적 표현형 특성과는 상반된 결과를 얻었다. 이와 유사한 결과는 매산돈과 Large White 품종간의 교잡집단을 이용한 QTL 분석에서 매산돈이 Large White 품종에 비해서 등지방 두께가 두꺼운 품종 특성을 가지고 있는데도 불구하고 염색체 7번(Rohrer와 Keele, 1998; Wang 등, 1998; de Koning 등, 1999; 2001; Rohrer 2000; Bidanel 등, 2001), 염색체 10(Rohrer, 2000) 및 염색체 6번(de Koning 등, 1999; 2001)에 존재하는 등지방 두께 연관 QTL이 매산돈의 대립유전자가 등지방을 얇게 하는데 영향을 미친 것으로 보고하였다. 이와 같은 결과를 볼 때 본 연구에서 확인된 6번 염색체에 존재하는 등지방 두께 연관 QTL은 재래돼지의 대립유전자가 Landrace 품종의 대립유전자 보다 등지방을 얇게 하는 것으로 추정할 수 있다.

5. 육질형질과 연관된 QTL의 탐색

전단력과 연관된 QTL이 마커 SW1057과 SWR1130사이 50cM 위치에서 확인되었다(Fig. 2(C)). Malek 등(2001)이 염색체 10번과 15번에서 전단력과 관련된 QTL을 보고한 바 있으나 유의성은 낮았고, Andersson 등(1998)은 Wild Boar와 Large White의 교잡집단을 이용한 QTL 연구에서 전단력과 관련된 QTL을 염색체 3번

에서 확인하였다.

전단력은 고기의 연도와 관련하여 매우 중요한 형질로 근육내 지방 함량과도 밀접한 관련이 있는데, 근육내 지방 함량이 증가할수록 고기를 절단하는데 요구되어지는 힘은 적어져 근내지방도와 전단력은 부의 상관관계가 존재하여 전단력이 낮으면 고기가 연하다고 할 수 있다 (Hodgson 등, 1992). Landrace의 유전자형이 재래돼지의 유전자형으로 변화될 때 전단력은 감소하여 재래돼지의 대립유전자는 낮은 전단력과 연관성이 있는 것으로 나타났다(Table 3). 일반적으로 햄프셔, 듀록, 재래돼지 등과 같은 유색종은 랜드레이스와 같은 백색종보다 산육능력은 떨어지는 반면에 근육내 지방 침착이 좋으며, 연도와 풍미가 좋다고 알려져 있다. 위의 결과는 이러한 사실이 반영된 것으로 보이며, Dovol 등(1998)과 Cameron 등(1990)도 근내지방 함량이 고기의 연도(전단력)에 영향을 미치는 것으로 보고하고 있다.

도축 24시간 후 pH와 연관된 QTL은 6번 염색체 마커 SW492과 SW1067 사이 64cM 위치에서 5%의 통계적 유의성이 확인되었다(Fig. 2(D)). 이 QTL 영역은 돼지 스트레스 유전자인 HAL유전자(halothane gene; Fujii 등, 1991)가 위

치하고 있는 영역과 가깝게 위치하고 있었다. Malek 등(2001)은 염색체 5, 6, 14, 15번에서 7개의 근육내 pH와 관련된 QTL을 보고하였는데, 특히 6번 염색체에서 확인된 QTL은 본 연구에서 확인된 QTL과 아주 가까운 영역에 존재하는 것으로 보고하였고, Geldermann 등(1996)도 HAL 유전자를 결정하는 대립유전자를 갖는 개체로 구성된 기준집단을 대상으로 연구한 결과 근육내 pH와 연관된 QTL을 역시 6번 염색체의 HAL 유전자 부근에서 확인하였다. 한편 근육내 pH 연관 QTL은 De Koning 등(2000)이 염색체 4, 9, 14, 18, X, Andersson- Eklund 등(1998)은 염색체 4번에서 확인하였으나 이들은 6번 염색체에서는 확인하지 못하였다.

6번 염색체에 존재하는 재래돼지의 대립유전자형은 도축 24시간 후 pH를 다소 낮추는데 영향을 미치는 것으로 나타났다(Table 3). 즉 재래돼지의 대립유전자는 근육내 낮은 pH와 연관성이 있었다. 이 결과 또한 품종의 평균적인 표현형적 특성과 상반된 것으로 해석될 수 있으나 유사한 결과가 Malek 등(2001)이 보고한 Yorkshire종과 Berkshire종간의 교잡집단 분석에서도 얻어졌다. 확인된 4개의 QTL중 염색체 15번을 제외한 염색체 5, 6, 및 14번에

Table 3. Evidence for significant QTL at the 5% chromosome-wide level for various traits by chromosome 6

Traits	Loc. (cM)	F-ratio.	Additive effect ^a		Dominance effect ^b		Thres -hold	% ^c Var	Mean ^d	S. E.
			estimate	S.E.	estimate	S.E.				
BW ₃	5	6.37*	-0.126	0.110	-0.565	0.166	6.30	9.14	5.05	1.01
Shear force	50	6.87*	-0.421	0.132	0.363	0.195	5.65	8.26	3.80	1.25
24-pH	64	6.91*	-0.035	0.027	-0.134	0.037	5.46	8.53	5.62	0.24
BF	103	6.24*	-2.712	0.907	2.442	1.248	5.79	7.76	21.21	7.91
Crude protein level	133	5.59*	-0.113	0.131	0.610	0.192	5.25	6.59	22.43	1.23

^a Additive(a) and dominance(d) QTL effects correspond to genotype values of +a, d and -a for, respectively, individuals having inherited two Korean native pigs alleles, heterozygotes, and individuals with two Landrace alleles. Positive additive effects indicate that Korean native pigs alleles increased the traits, negative that the Korean native pigs alleles decreased them(as described by Falconer; 1981).

^b Dominance effects are relative to the mean of the two homozygotes.

^c Percentage of the residual variance in the F₂ animals.

^d Mean of phenotype in the F₂ animals.

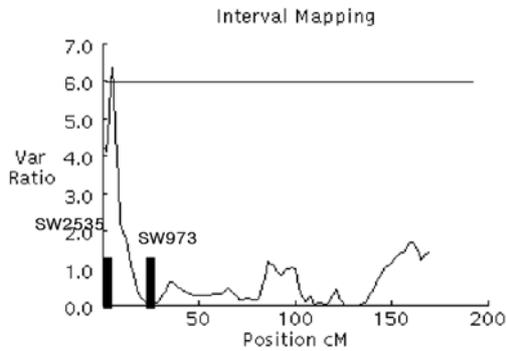
* P < 0.05.

BW₃ ; weight at 3 weeks.

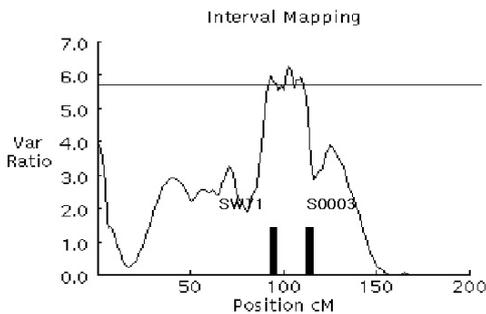
24-pH; Meat pH at 24 hours after slaughtering.

BF; Backfat thickness.

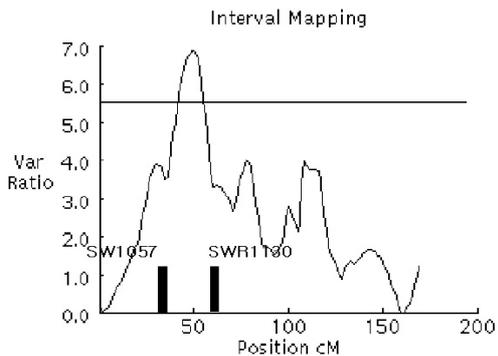
존재하는 QTL은 Berkshire의 대립유전자가 Yorkshire의 대립유전자에 비해서 근육내 낮은 pH에 작용하는 것으로 확인되었다. 한편 조단 백질 함량과 관련된 QTL은 마커 *LEPR*과 SW1881 사이 133cM 위치에서 5% 수준의 통계적 유의성이 확인되었다(Table 3, Fig. 2(E)).



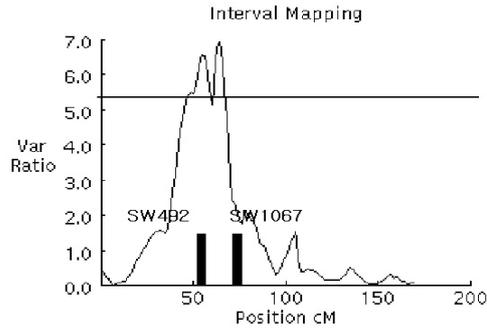
(A) F-ratio curves for Body weight at 3 weeks of age on chromosome 6.



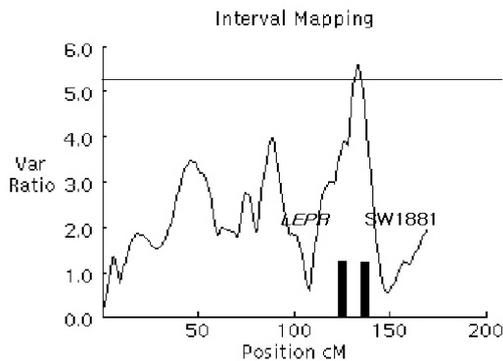
(B) F-ratio curves for Backfat thickness on chromosome 6.



(C) F-ratio curves for Shear force on chromosome 6.



(D) F-ratio curves for Meat pH at 24 hours after slaughtering on chromosome 6.



(E) F-ratio curves for Crude protein on chromosome 6.

Fig. 2. F-ratio curves for evidence of QTL. The x-axis indicates the relative position on the linkage map. The y-axis represents the F-ratio. The horizontal line indicates the 5% chromosome-wise significance level from the permutation test.

IV 요약

본 연구는 돼지의 염색체 6번에 존재하는 주요 경제형질에 관여하는 양적형질 유전자좌위 (Quantitative trait loci; QTL)를 밝히기 위하여 초위성체 마커를 이용하여 유전자지도를 작성하였다. 기준집단의 조성은 재래돼지 수컷 5마리와 Landrace 암컷 9마리를 자연교미하여 생산된 F₁의 동복 자손별로 수컷 1두를 임의적으로 선발하여 암컷 2두 이상과 전형매 교배시켜 F₂ 240두를 생산하였고 QTL 분석에는 F₂ 183두만을 이용하였다. 기준집단의 표현형 성적은

3주령체중, 등지방두께, 도축 24시간 후의 pH, 전단력, 조단백질 함량 등을 조사 분석하였다. F₂ 집단은 재래돼지와 Landrace의 두 종의 평균성적을 갖고 있었으며, 개체간 표현형적 변이가 매우 높아서 경제형질과 연관된 QTL을 탐색하기 적절한 기준집단이라고 평가되었다. 연관지도는 29개의 초위성체 마커와 1개의 PCR-RFLP 마커(*AMPKα2*)를 이용하여 작성하였으며, 연관지도상의 염색체 길이는 169.3cM이었고, 마커간 평균 간격은 6.05cM이었다. 염색체 6번에서 경제형질과 연관된 유의적인 QTL은 모두 5개가 탐색되었다. 3주령 체중과 연관된 QTL이 5cM 위치에서 탐색되었으며, 전단력, 도축 24시간 후 pH, 등지방두께, 조단백질 함량 등의 육질관련 QTL이 서로 다른 위치에서 5% 수준의 통계적 유의성이 확인되었다.

V 사 사

본 연구는 농림부 농림기술개발사업의 지원에 의해 수행된 결과의 일부이며 연구비 지원에 감사드립니다. 또한 본 연구의 재료로 사용된 초위성체 마커는 미국 Iowa state university Max F. Rothschild 교수로부터 지원받아 사용했음을 밝힙니다.

VI 인 용 문 헌

- Andersson, L., Haley, C. S., Ellegren, H., Knott, S. A., Johansson, M., Andersson, K., Andersson-Eklund, L., Edfors-Lilja, I., Fredholm, M., Hansson, I., Hakansson, J. and Lundström, K. 1994. Genetic mapping of quantitative trait loci for growth and fatness in pigs. *Science* 263:1771-1774.
- Andersson-Eklund, L., Marklund, L., Lundström, K., Haley, C. S., Andersson, K., Hansson, I., Møller, M. and Andersson, L. 1998. Mapping quantitative trait loci for carcass and meat traits in a Wild boar × Large White intercross. *J Anim Sci* 76:694-700.
- Archibald, A. L., Haley, C. S., Brown, J. F., Couperwhite, S., McQueen, H. A., Nicholson, D., Coppeters, W., Vandeweghe, A., Stratil, A. and Wintero, A. K. 1995. The Pigmap Consortium linkage map of the pig (*Sus scrofa*). *Mamm Genome* 6:157-175.
- Barendse, W., Armitage, S. M., Kossarek, L. M., Shalom, A., Kirkpatrick, B. W., Ryan, A. M., Clayton, D., Li, L., Neibergs, H. L. and Zhang, N. 1994. A genetic linkage map of the bovine genome. *Nat Genet* 6:227-235.
- Barendse, W., Vaiman, D., Kemp, S. J., Sugimoto, Y., Armitage, S. M., Williams, J. L., Sun, H. S., Eggen, A., Agaba, M., Aleyasin, S. A. and Band, M. 1997. A medium-density genetic linkage map of the bovine genome. *Mamm Genome* 8:21-28.
- Bidanel, J. P., Milan, D., Iannuccelli, N., Amigues, Y., Boscher, M. Y., Bourgeois, F., Caritez, J. C., Gruand, J., Le Roy, P., Lagant, H., Quintanilla, R., Renard, C., Gellin, J., Ollivier, L. and Chevalet, C. 2001. Detection of quantitative trait loci for growth and fatness in pigs. *Genet Sel Evol* 33:289-309.
- Bishop, M. D., Kappes, S. M., Keele, J. W., Stone, R. T., Sunden, S. L., Hawkins, G. A., Toldo, S. S., Fries, R., Grosz, M. D., Yoo, J. and Beattie, C. W. 1994. A genetic linkage map for cattle. *Genetics* 136:619-639.
- Cameron, N. D. 1990. Comparison of Duroc and British Landrace pigs and the estimation of genetic and phenotypic parameters for growth and carcass traits. *Animal Production* 50:141.
- Churchill G. A. and Doerge R. W. 1994. Empirical threshold values for quantitative trait mapping. *Genetics* 138, 963-971.
- De Koning, D. J., Janss, L. L. G., Rattink, A. P., van Oers, P. A. M., de Vries, B. J., Groenen, M. A. M., der Poel, J. J., de Groot, P. N., Brascamp, E. W. and van Arendonk, J. A. M. 1999. Detection of quantitative trait loci for back fat thickness and intramuscular fat content in Pigs (*Sus scrofa*). *Genetics* 152:1679-1690.
- De Koning, D., Harlizius, B., Rattink, A. P., Bovenhuis, H., Groenen, M. A. M. and Brascamp, W. E. 2000. Detection and characterization of quantitative trait loci for carcass and meat quality traits in pigs. *Proc Europ Assoc Anim Prod* 6:3.
- De Koning, D., Harlizius, B., Rattink, A. P., Groenen, M. A. M., Brascamp, E. W. and van Arendonk, J. A. M. 2001. Detection and characterization of quantitative trait loci for meat quality traits in pigs. *J Anim Sci* 79:2812-2819.
- Devol, D. L., McKeith, F. K., Bechtel, R. S., Novakofski, J., Shanks, R. D. and Carr, T. R. 1988. Variation in composition and palatability traits and relationships between muscle characteristics and palatability in a random sample of pork carcasses. *Journal of Animal Science* 66:385.
- Ellegren, H., Chowdhary, B. P., Johansson, M., Marklund, L., Fredholm, M., Gustavsson, I. and Andersson, L. 1994. A primary linkage map of the porcine genome reveals a low rate of genetic recombination. *Genetics* 137:1089-1100.
- Friedman J. F. and Halaas J. L. 1998. Leptin and the regulation of body weight in mammals, *Nature*

395. 763-770.
16. Fujii, J., Otsu, K., Zorzto, F., de Leon, S., Khanna, V. K., Weiler, J. E., O'Brien, P. J. and MacLennan, D. H. 1991. Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia. *Science* 253:448-451.
 17. Geldermann, H., Mueller, E., Beeckman, P. and Knorr, C. 1996. Mapping Quantitative trait loci by means of marker genes in F₂ generations of Wild Boar, Pietrain and Meishan pigs. *J Anim Breed Genet* 113:381-387.
 18. Green, P., Falls, K. and Crooks, S. 1990. Documentation for CRIMAP, version 2.4. Washington Univ. School of Medicine, St. Louis, MO.
 19. Haley, C. S., Knott, S. A. and Elsen, J. M. 1994. Mapping quantitative trait loci in crosses between outbred lines using least squares. *Genetics* 136:1195-1207.
 20. Hardge T., Siebel K., Koepke K. and Wimmers K. 2000. Association between Leptin(LEP)/Leptin receptor(LEPR) polymorphisms and fatness related traits in a porcine resource family, in: 27th International Conference on Animal Genetics, Minnesota, July 22-26, 2000, Conference Abstract Book, International Society of Animal Genetics, University of Minnesota, Minnesota, p65.
 21. Hodgson R. R., Belk, K. E., Savell, J. W., Cross, H. R. and Williams, F. L. 1992. Development of a quantitative quality grading system for mature cow carcass. *J. Anim. Sci.* 70:1840.
 22. Malek, M., Dekkers, J. C. M., Lee, H. K., Baas, T. and Rothschild, M. F. 2001. A molecular genome scan analysis to identify chromosomal regions influencing economic traits in the pig. II. Meat and muscle composition. *Mamm Genome* 12:637-645.
 23. Marklund, L., Johansson Moller, M., Hoyheim, B., Davies, W., Fredholm, M., Juneja, R. K., Mariani, P., Coppieters, W., Ellegren, H. and Andersson, L. 1996. A comprehensive linkage map of the pig based on a wild pig-Large White intercross. *Anim Genet* 27:255-269.
 24. Marklund, L., Nystrom, P., Stren, S., Andersson, L. and Andersson, E. L. 1999. Confirmed quantitative trait loci for fatness and growth on pig chromosome 4. *Heredity* 82: 134-141.
 25. Mikawa, S., Akita, T., Hisamatsu, N., Inage, Y., Ito, Y., Kobayashi, E., Kusumoto, H., Matsumoto, T., Mikami, H., Minezawa, M., Miyake, M., Shimanuki, S., Sugiyama, C., Uchida, Y., Wada, Y., Yanai, S. and Yasue, H. 1999. A linkage map of 243 DNA markers in an intercross of Gottingen miniature and Meishan pigs. *Anim Genet* 30:407-417.
 26. Morales J., Perez J. F., Baucells M. D., Gasa A. and Gasa J. 2000. Comparative digestibility and productive performances between Landrace and Iberian pigs fed on corn or a sorghum-acorn-based diet, in; 8th Symposium on Digestive Physiology in Pigs. Uppsala, Sweden, June 20-22. CABI Publishing. Ed. Linberg and Bogle, 2000. pp. 227-229.
 27. Ovilo C., Perez-Enciso M., Barragan C., Clop A., Rodriguez C., Oliver M. A., Toro M. A. and Noguera J. L. 2000. A QTL for intramuscular fat and backfat thickness is located on porcine chromosome 6. *Mamm Genome* 11:344-346.
 28. Paszek, A. A., Wilkie, P. J., Flickinger, G. H., Rohrer, G. A., Alexander, L. J., Beattie, C. W. and Schook, L. B. 1999. Interval mapping of growth in divergent swine cross. *Mamm Genome* 10:117-122.
 29. Perez-Enciso M., Clop, A., Folch, J. M., Sanchez, A., Oliver, M. A., Ovilo, C., Barragan, C., Varona, L. and Noguera, J. L. 2002. Exploring Alternative Models for Sex-Linked Quantitative Trait Loci in Outbred Population. Application to an iberian × landrace pigs intercross. *Genetics* Aug;161(4):1625-32.
 30. Rattink, A. P., De Koning, D. J., Faivre, M., Harlizius, B., van Arendonk, J. A. M. and Groenen, M. A. M. 2000. Fine mapping and imprinting analysis for fatness trait QTLs in pigs. *Mamm Genome* 11:656-661.
 31. Rohrer, G. A., Alexander, L. J., Keele, J. W., Smith, T. P. and Beattie, C. W. 1994. A microsatellite linkage map of the porcine genome. *Genetics* 136: 231-245.
 32. Rohrer, G. A., Alexander, L. J., Hu, Z., Smith, T. P. L., Keele, J. W. and Beattie, C. W. 1996. A comprehensive map of the porcine genome. *Genome Res* 6:371-391.
 33. Rohrer, G. A. and Keele, J. 1998a. Identification of quantitative trait loci affecting carcass composition in swine I. Fat deposition traits. *J Anim Sci* 76:2247-2254.
 34. Rohrer, G. A. and Keele, J. 1998b. Identification of quantitative trait loci affecting carcass composition in swine II. Muscling and wholesale product trait yield traits. *J Anim Sci* 76:2255-2262.
 35. Rohrer, G. A. 2000. Identification of quantitative trait loci affecting birth characters and accumulation of back fat and weight in Meishan-White Composite resource population. *J Anim Sci* 78:2547-2553.
 36. Serra X., GilF., Perez-Enciso M., Oliver M. A., Vazquez, J. M., Gispert M., Diaz I., Moreno F., Latorre R. and Noguera J. L. 1998. A comparison of carcass meat quality and histochemical characteristics of Iberian (Guadyerbas line) and Landrace pigs. *Livest. Prod. Sci.* 56. 215-223.
 37. Wang, L., Yu, T. P., Tuggle, C.K., Liu, H. C. and Rothschild, M. F. 1998. A directed search for quantitative trait loci on chromosomes 4 and 7 in the pig. *J Anim Sci* 76:2560-2567.
 38. 이학교, 전광주. 2002. 돼지의 QTL 검색을 위한 유의적 임계수준(Threshold) 결정. *한국동물자원과학회지*, 44(1):31-38.
(접수일자 : 2003. 10. 9. / 채택일자 : 2003. 12. 2.)

Var Ratio Poition cM Var Ratio Poition cM
Var Ratio Poition cM Var Ratio Poition cM
Var Ratio Poition cM Var Ratio Poition cM

Var Ratio Poition cM Var Ratio Poition cM
Var Ratio Poition cM Var Ratio Poition cM
Var Ratio Poition cM Var Ratio Poition cM

Var Ratio Position cM Var Ratio Position cM
Var Ratio Position cM Var Ratio Position cM
Var Ratio Position cM Var Ratio Position cM
Interval Mapping Interval Mapping Interval Mapping
Interval Mapping Interval Mapping