

돼지 *FABP3* Promoter 부위 내 신규 돌연변이 탐색과 근내지방도와의 연관성 분석

김재환* · 박응우** · 박정진* · 최봉환** · 김태현** · 서보영* · 정일정** · 임현태* · 오성종** · 이정규* · 전진태*
경상대학교 응용생명과학부*, 농촌진흥청 축산연구소**

Detection of Novel Mutations in the *FABP3* Promoter Region and Association Analysis with Intramuscular Fat Content in Pigs

J. H. Kim*, E. W. Park**, J. J. Park*, B. W. Choi**, T. H. Kim**, B. Y. Seo*, I. C. Cheong**, H. T. Lim*, S. J. Oh**, J. G. Lee* and J. T. Jeon*
Division of Applied Life Science, Gyeongsang National University*,
National Livestock Research Institute, R.D.A.**

ABSTRACT

Intramuscular fat content(IMF) is considered as one of major economic traits in the pig breeding and industry. In general, high IMF results in better meat quality. Several approaches to detect quantitative trait loci(QTL) for IMF indicated a strong possibility of the existence of a QTL related to IMF between the microsatellite marker SW71 and SW1881 on SSC6q. Porcine *FABP3* has been considered as a candidate gene affecting IMF due to its physiological roles and position on the pig genome. Two novel mutations, g.-114T>C and g.-158T>G were detected by duplicate sequencing of the porcine *FABP3* promoter region. These two mutations were identified as absolute linkage disequilibrium. The g.-158T>G mutation was used for investigating relationships with growth and fat deposition traits. The GG genotype of the g.-158T>G polymorphism showed highly negative effects($P < 0.01$) on body weights at 3 and 12 weeks of age, and a positive effect($P < 0.05$) on IMF. However, backfat thickness(BF) and carcass fat(CF) content were not significantly associated with the genotype. The result indicates that the novel mutations, identified in this study, could be utilized as possible genetic markers to improve IMF, independent with BF.

(Key words : QTL, Intramuscular fat content, *FABP3*, Novel Mutations, Relationship)

I. 서 론

양돈산업에 있어서 근내지방도는 가장 중요한 경제형질 중 하나로서, 일반적으로 근내지방도가 높을수록 풍미가 좋아지고 육질이 부드러워지며, 육색이나 보수력이 향상되게 된

다. 최근 들어 제 2형 당뇨병에 감염된 동물 모델의 *Musculus longissimus* 내에서 상대적으로 높은 근내지방도를 나타낸다는 보고가 있으며(Tanomura 등, 2002), 사람의 *FABP3*의 3' end에서 발생하는 삽입/결실 돌연변이가 제 2형 당뇨병의 발병과 낮은 수준에서의 통계적 연관

Corresponding author : J. T. Jeon, Division of Applied Life Science, Department of Animal Science, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Gyeongnam, Korea. Tel : 055-751-5516, Fax : 055-756-7171, E-mail : jtjeon@nongae.gsnu.ac.kr.

성이 있음이 밝혀졌다(Shin 등, 2003).

Ovilo 등(2002a)은 돼지 6번 염색체 내 micro-satellite marker인 *SW1881*과 인접한 97-98 cM에 근내지방도와 등지방에 영향을 줄 수 있는 QTL이 존재한다고 보고하였으며, de Koning 등(1999)과 Grindflek 등(2001)은 각각 *SW1823-S0003* 사이와 *S0003-SW2419* 사이에 근내지방도와 연관된 QTL의 존재 가능성을 보고하였다. 또한 Jeon 등(2003)은 한국재래돼지와 Landrace를 이용한 실험집단에서 *SW71-SW1881* 사이에 근내지방도와 연관된 QTL의 존재를 간략히 보고한 바 있다. 이런 연구 결과들은 돼지 6번 염색체에 근내지방도에 영향을 줄 수 있는 QTL이 돼지 6번 염색체의 장완에 존재함을 강하게 뒷받침하고 있다.

돼지의 fatty acid-binding protein 3(FABP3)는 근육 및 심장에서 발현되는 단백질로서, 지방산과 결합하여 β -oxidation이 이루어지는 미토콘드리아로 지방산을 이동시켜주는 기능을 한다(Veerkamp과 Maatman, 1995; Boord 등, 2002). 이 단백질을 암호화하고 있는 *FABP3*는 돼지 6번 염색체의 *SW316-S0003* 사이에 위치한다고 보고되었다(Gerbens 등, 2000). 이러한 돼지 *FABP3*의 염색체 상의 위치 및 기능적 특성을 통하여 근내지방도와 높은 연관성을 갖는 후보유전자로서 많은 연구가 이루어졌으며, 특히 promoter 부위(*FABP3-HinfI*)와 intron2 지역(*FABP3-HaeIII/MspI*)에서 염기변이가 보고되었고(Gerbens 등, 1997), 이들 염기변이의 유전자형과 근내지방도와의 연관성 분석에 관한 많은 연구들에 의해서 근내지방도와 신뢰적 유의차를 보이며 연관성을 갖는 유전자형이 존재함이 확인되었다(Gerbens 등, 2001; Ovilo 등, 2002b; Urban 등, 2002). 그러나 이러한 염기변이들은 intron 내에서 나타나거나 promoter 내 전사인자 결합부위(transcription factor-binding site)가 아닌 위치에서 발견되었으므로, 이들에 의해서 유전자의 기능이 연관되어 있음을 주장하기에는 미흡한 점이 있다. 그러므로 유전자의 기능에 영향을 줄 수 있는 부위에서 나타나는 염기변이의 발견을 위한 노력이 요구되는 실정이다.

따라서 본 연구는 유전자의 기능에 영향을

줄 수 있는 돼지 *FABP3* promoter 부위에서 현재 보고되지 않은 새로운 돌연변이를 탐지하고 또 그 변이와 성장 및 지방축적 형질들과의 연관성 분석을 수행하기 위하여 실시하였다.

II. 재료 및 방법

1. 공시동물 및 DNA 추출

Landrace와 한국재래돼지의 근육조직으로부터 DNA와 total RNA를 분리하여 돼지 *FABP3* promoter 부위 및 coding 부위의 염기변이 확인과 rapid amplification cDNA ends(RACE)-PCR에 사용하였다. 또한 품종별 유전자형의 빈도를 확인하기 위해서 Landrace, Large White, Duroc, 한국재래돼지 각각 20두를 사용하였으며, 각 품종별 혈액은 제주난지농업연구소에서 제공받아 사용하였다. 유전자형과 성장형질(생시, 3, 5, 12 및 30주령체중)과 지방축적형질(등지방층 두께, 도체지방 및 근내지방도)과의 연관성 분석을 위하여 Landrace와 한국재래돼지간의 교잡으로 생산된 F₂ 204 개체를 사용하였다.

2. Genomic DNA, total RNA 추출 및 cDNA 합성

각 품종별 및 F₂ 개체의 혈액으로부터의 DNA 추출은 Wizard Genomic DNA Purification Kit(Promega, USA)를 사용하였다. 또한 조직으로부터 total RNA 추출은 Trizol(Gibco BRL, USA), cDNA 합성은 SmartTM Race cDNA Amplification Kit(Clontech, USA)을 사용하였으며, 제조사의 protocol에 따라서 수행하였다.

3. 돼지 *FABP3* promoter 부위 및 coding 부위 증폭

돼지 *FABP3* promoter 부위와 coding 부위를 증폭을 위한 primer는 기존에 보고되어 있는 동일 유전자의 mRNA 서열(GenBank accession no; AJ416019)과 promoter 서열(GenBank accession no; X98558)을 토대로 제작하였다(Table 1). PCR

Table 1. Primer sequences used for amplifying of porcine *FABP3* in this study

Target regions	Primer names	Primer sequences	
Promoter region	Pro-F	5'-TCTCCTCTAGTCTCTCATCT-3'	
	Pro-R	5'-TCTTGCTGTCCACTAGCTTC-3'	
Coding region	Cod-F	5'-ATGGTGGACGCCITTCGCGGG-3'	
	Cod-R	5'-ACGCAGGCTGGTGCAACCTG-3'	
RACE	5' UTR	RACE-5'-1	5'-GTGTCCCCATTCACCTTCGATG-3'
		RACE-5'-2	5'-GGTGGCAAACCCACACCAATTG-3'
	3' UTR	RACE-3'-1	5'-GTCCATTGTGACACTGGATGGAG-3'
		RACE-3'-2	5'-GGACAAGAGACAACGCTTGTTCG-3'

반응은 *Taq* polymerase 1.5 unit(TaKaRa, Japan), 10 × buffer 2.5 μl, 0.2 mM dNTP, 1.5 mM MgCl₂, 10 pmol primer 각각 1.5 μl, genomic DNA 2 μl 그리고 증류수 13.7 μl를 첨가하여 최종 25 μl 로 반응하였다. Promoter 부위의 증폭을 위한 PCR 반응조건은 94 °C에서 2분간 변성시킨 후 94 °C에서 1분, 58 °C에서 1분, 72 °C에서 1분을 1 cycle로 하여 35회 반복하였다. 그 후 72 °C에서 5분간 신장시킨 후 4 °C에서 종료하였다. Coding 부위의 반응조건은 primer 결합온도(60 °C)를 제외한 promoter 부위의 증폭조건과 동일하게 수행하였다. PCR product는 1.5 % agarose gel에서 전기영동한 후 ethidium bromide로 염색하여 확인하였다.

4. RACE-PCR

5' 및 3' UTR(untranslated region) 서열을 포함한 mRNA 전체 서열을 확인하기 위해서 SMART RACE cDNA Amplification Kit(Clontech, USA)를 이용하여 5' 및 3' RACE를 수행하였으며, 주어진 protocol을 일부 변형하여 사용하였다. 이를 위해서 분석된 염기서열을 기초로 primer를 제작하였다(Table 1). 1차 RACE-PCR 반응은 합성된 cDNA 5 μl, *Taq* polymerase 2.5 unit(TaKaRa, Japan), 10 × buffer 5 μl, 0.2 mM dNTP, 1.5 mM MgCl₂, RACE-5'-1(10 pmol) primer 혹은 RACE-3'-1(10 pmol) primer 각각 2 μl, UPM(10 ×) 5 μl

그리고 증류수 28.7 μl를 첨가하여 최종 50 μl 로 반응하였다. 2차 RACE-PCR 반응은 1차 PCR product 3 μl에 *Taq* polymerase 2.5 unit(TaKaRa, Japan), 10 × buffer 5 μl, 0.2 mM dNTP, 1.5 mM MgCl₂, RACE-5'-2(10 pmol) primer 혹은 RACE-3'-3(10 pmol) primer 각각 3 μl, NUP 2 μl 그리고 증류수 32.7 μl를 첨가하여 최종 50 μl로 수행하였다. 1차 및 2차 PCR 반응조건은 동일하게 수행하였다. 94 °C에서 2분간 변성시킨 후 94 °C에서 30초, 60 °C에서 1분, 72 °C에서 1분 30초를 1 cycle로 하여 35회 반복하였다. 그 후 72 °C에서 5분간 신장시킨 후 4 °C에서 종료하였다. 증폭된 PCR product는 QIAEX II Gel Extraction Kit(Quagen, USA)로 정제하여 염기서열 결정에 사용하였다.

5. 염기서열 결정 및 분석

확인된 PCR product는 Applied Biosystems 3700 DNA sequencer(PE Applied Biosystems, USA)에서 direct sequencing을 수행하여 염기서열을 결정하였다. 얻어진 염기서열은 Clustal X version 1.83(Thompson 등, 1997)을 통해 다중비교하여 돌연변이 지역을 확인하였다. 또한 돼지 *FABP3* promoter 부위 내 전사인자 결합부위를 확인하기 위하여 Transplorer(BIOBASE GmbH, Germany)를 사용하였으며, 근육특이적인 profile을 채택하였다.

6. Restriction fragment length polymorphism (RFLP) 분석

돼지 4품종 각각 20 두 및 F₂ 204 개체들의 total DNA로부터 증폭된 PCR product 5 μl, *Hpy*CH4V 제한효소 2.5 unit, 10 × reaction buffer 1 μl에 3차 증류수를 첨가하여 총 10 μl 반응액이 되도록 한 후 5시간 동안 37 °C에서 반응시켰다. 절단된 DNA 절편은 4 % agarose gel 상에서 전기영동 하였으며, ethidium bromide로 염색하여 확인하였다.

7. 연관성 분석

RFLP 분석에 의한 유전자형과 성장형질 및 지방관련 형질들과의 연관성은 SAS 통계 프로그램(SAS, 1996)의 GLM 분석을 하였으며, 성장형질에 대한 분석은 Model I 식을 이용하여 분석 하였으며, 지방축적형질에 대한 분석은 Model II 식을 이용하여 분석하였다.

$$\text{Model I} : Y_{ijk} = \mu_i + S_{ij} + T_{ik} + e_{ijk}$$

$$\text{Model II} : Y_{ijk} = \mu_i + S_{ij} + T_{ik} + \text{covariate} + e_{ijk}$$

여기서 Y_{ijk} : i 번째 형질의 j 번째 성의 k 번째 유전자형에 대한 phenotype

μ_i : i 번째 형질의 전체 평균

S_j : i 번째 형질의 j 번째 성별의 효과

T_k : i 번째 형질의 k 번째 genotype의 효과

covariate : 30주령의 공변이

e_{ijk} : 임의오차

를 나타낸다.

III. 결과 및 고찰

Exon1의 일부를 포함한 돼지 promoter 서열 442 bp를 분석한 후 사람의 promoter 서열과 염기정렬한 결과 72 %의 염기유사성을 보였으며, rapid amplification of cDNA ends(RACE)-PCR에

의하여 추정된 전사개시부위는 /를 사용하여 표시하였다(Fig. 1). 또한 개시코돈으로부터 상위방향으로 114번째에서 T → C로(g.-114T > C), 158번째에서 T → G로(g.-158T > G) 염기가 치환되는 것을 확인하였다. 반면에 coding 부위는 기존에 보고된 서열(AJ416019)과 일치하였으며, 염기변이는 발견되지 않았다.

개시코돈으로부터 상위방향으로 315번째에서도 염기변이가 발견되었는데, 이 변이는 Gerbens 등(1997)에 의해서 기존에 *FABP3-HinfI* polymorphism으로 보고되었으며, 그 후에 여러 연구들에 의해서 Large White, Landrace, Duroc, Piétrain 등에서 품종별 빈도가 보고된 바 있다 (Gerbens 등, 1999; Nechtelberger 등 2001; Urban 등, 2002). 이런 현상의 원인은 염기치환에 의한 것으로 보고 되었으나 본 연구에서 PCR product의 direct sequencing 및 cloning 후 DNA sequencing을 통해서 확인한 결과 염기치환이 아닌 염기결실에 의한 것임을 입증하였다(Fig. 3). 이형접합 개체를 이용한 direct sequencing 경우 변이 위치(GATTC) 이후에서부터 염기를 지시하는 signal이 항상 중복되는 현상이 나타났으며(Fig. 3a), cloning 및 sequencing을 통해 확인한 결과 염기의 결실에 의한 것임을 확인 하였다(Fig. 3b, 3c). 비록 염기결실에 의한 돌연변이임이 확인되었지만, 결실과 정상 염기서열 간에 *HinfI* 제한효소 인지부위의 차이가 여전히 존재하기 때문에 *HinfI*-RFLP 분석은 유효하였다.

한국재래돼지, Landrace, Duroc 및 Large white 각 20 두에 대하여 DNA sequencing 결과, g.-114T > C와 g.-158T > G는 완전연관 양상을 보이는 것으로 나타났으며(Fig. 2a), Transplorer (BIOBASE GmbH, Germany)를 통해 전사인자 결합부위를 조사한 결과 4개 부위의 SP1과 2개 부위의 USF(upstream stimulating factor) 결합부위가 확인되었다(Fig. 1). SP1과 USF는 전사인자(transcription factor)로서 그와 연관된 유전자들의 promoter 부위에 존재하는 결합부위에 결합함으로써 그 유전자의 전사활성을 조절한다 (Lee 등, 2004; Parakati와 DiMario, 2002; Yao 등, 2004). g.-114T > C 돌연변이는 USF 결합부

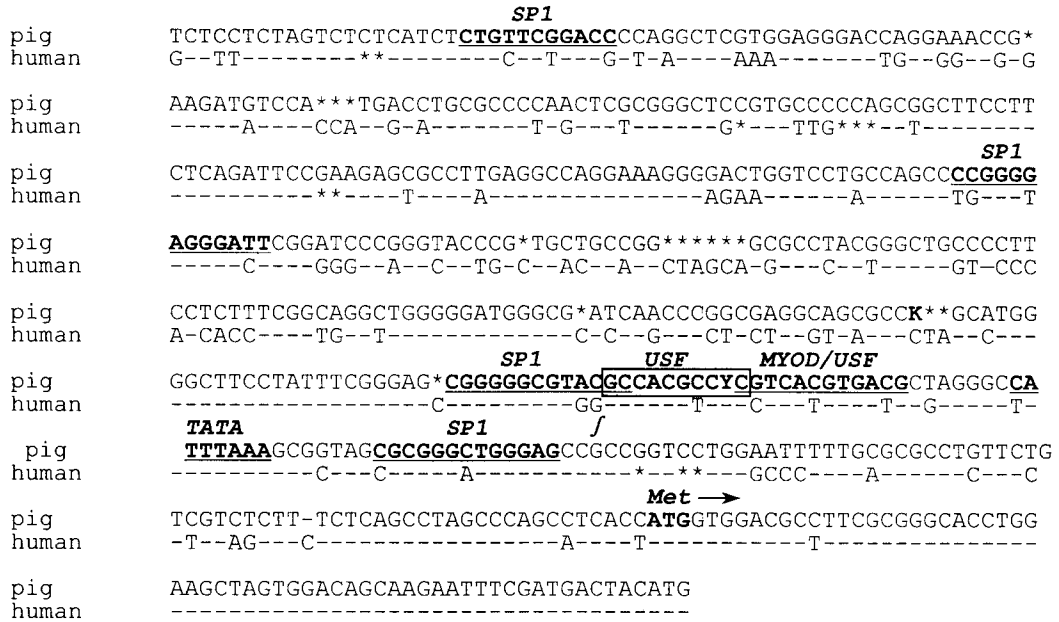


Fig. 1. A sequence alignment between the promoter regions of porcine(this study, Genbank accession No. AY569332) and human *FABP3*(GenBank accession No. U17081). Binding sites were estimated by Transplorer(BIOBASE GmbH, Germany) and muscle-specific profiles were used for the estimation. Estimated transcription factor binding sites are indicated as bold and underlined characters on the pig sequence. The upstream stimulating factor(USF, Transfac accession No. M00187) depicted as bold letters in a box contains the g.-114T>C polymorphism. A position estimated transcription initiation site is indicated by the symbol *f*.

위(Transfac accession no. M00187)의 9번째 염기에서 나타났으며, 이 부위에 의한 유전자의 전사활성은 *EAAT1*(Kim 등, 2003), *FSHR*(Heckert, 2001), *HOXB4*(Kirito 등, 2003; Zhu 등, 2003), *KCNB3*(Sun 등, 2001) 등의 유전자들에서 보고된 바 있다. 본 연구에서 추정된 돼지의 USF 결합부위의 서열은 GCCACGCCYC이었다. 사람의 USF 결합부위는 GCCACGTCIC이며, 이 중 9번째 서열은 T로 나타난다. 이러한 결과는 USF 결합부위의 9번째 염기서열이 돼지에서 T 또는 C로 나타남으로써 *FABP3* 유전자의 전사강도에 영향을 미칠 수 있음을 추측할 수 있다. 그러나 이러한 가정은 promoter assay, real time PCR, northern blot 등의 추가적인 실험을 통해서 명확히 분석되어야 할 것으로 사료된다.

USF 결합부위 내에서 확인된 g.-114T>C를 포함하는 제한효소 인지부위가 존재하지 않기 때문에 이 돌연변이와 완전연관된 g.-158T>G을 선택하여 유전자형을 분석하였다(Fig. 2a, 2b). *Hpy*CH4V 제한효소(5'-CT[↓]AG-3')를 사용하여 g.-158T>G에 대한 RFLP 분석을 실시하였으며, Fig. 2b에서 보듯이 3개의 유전자형(*TT*, *GG*, *TG*)이 명확히 확인되었다. 이 결과를 토대로 한국재래돼지, Landrace, Large White, Duroc 등 4 품종 각각 20 두를 대상으로 실시한 유전자형 분석에서, 특히적으로 한국재래돼지 20두 전체에서 *GG* 유전자형이 확인되었고 Landrace 품종은 *TT* 유전자형이 68.42%, *TG* 유전자형이 31.58%를 나타내었으며, chi-square goodness-of-fit 검증법을 이용한 Hardy-Weingberg 평형에 대한 유의성 검정에서는 전체 공시품종에 대하여

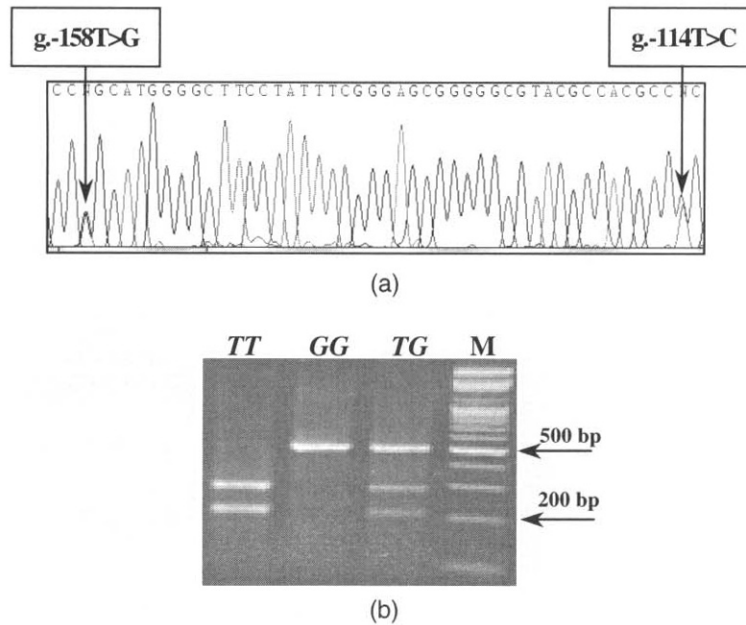


Fig. 2. (a), Two polymorphic sites were indicated by arrows. The polymorphism g.-114T>C is completely linked with that of g.-158T>G. (b), Three genotypes generated from the PCR-RFLP with the *HpyCH4V* restriction enzyme for the g.-158T>G polymorphism. The *TT*, *TG* and *GG* genotypes are shown. M is the 100 bps ladder marker.

Table 2. Allele frequency and heterozygosity for the g.-158T>G polymorphism among breeds

Breeds	Genotypes of g.-158T>G			Frequencies of G allele	Heterozygosity	HWE*	
	Total	<i>TT</i>	<i>TG</i>				<i>GG</i>
KNP ¹⁾	20	0	0	20	1.000	0	1.00
Landrace	20	3	9	8	0.625	0.469	0.98
Duroc	19	13	6	0	0.158	0.266	0.72
Large White	19	1	3	15	0.868	0.229	0.40

* P value of Hardy-Weinberg equilibrium.

¹⁾ KNP is Korean native pig.

유의성을 나타내지 않았다(Table2). 이러한 한국재래돼지의 특이성은 시료채취 대상 동물의 편귀 또는 한국재래돼지 복원과정에서 유전적 drift에 의하여 발생한 것으로 추정되나 보다 명확한 결론을 내리기 위해서는 각 지역별로 존재하는 한국재래돼지 집단을 대상으로 추가 조사하여야 할 필요성이 있다고 사료된다.

한국재래돼지와 Landrace의 교잡으로 생산된 F₂ 204 개체를 대상으로 *HpyCH4V* 제한효소를 이용해서 RFLP 분석을 수행하였으며, 그 결과로 나타난 유전자형과 성장형질 및 지방관련 형질들과의 연관성분석을 수행하였다. Table 3에서 보듯이 *TT* 유전자형이 3주령, 12주령(P < 0.01)의 체중과 고도의 유의성을 보였으며, 생시, 5주령(P < 0.05)에서

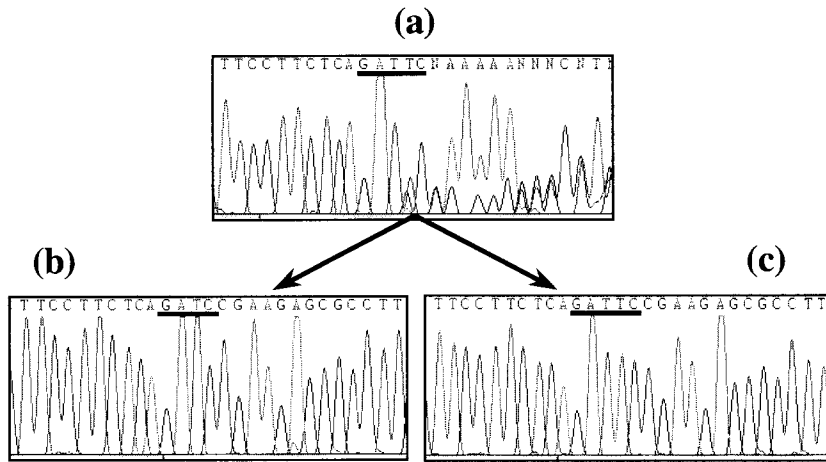


Fig. 3. Resolving the *Hinf*I polymorphic site found by Gerbens *et al.*(1997) by whom the mutation was determined as a substitution mutation. (a), Direct sequencing of the PCR product. (b) and (c), Sequencing after cloning of the PCR product. The result indicates the polymorphism is not substitution mutation, g.-135T>C but deletion mutation, g.-315delT.

Table 3. Least square analysis for growth and fat deposition traits with the g.-158T>C genotype among F₂ animals

Traits ¹⁾	Three genotypes			Significance ²⁾
	<i>TT</i> (30) ³⁾	<i>TG</i> (118)	<i>GG</i> (56)	
BW0(kg)	1.32 ± 0.03 ^a	1.24 ± 0.01 ^b	1.22 ± 0.02 ^b	*
BW3(kg)	5.25 ± 0.19 ^a	5.00 ± 0.09 ^a	4.60 ± 0.13 ^b	**
BW5(kg)	7.47 ± 0.30 ^a	7.23 ± 0.14 ^a	6.71 ± 0.20 ^b	*
BW12(kg)	25.40 ± 1.02 ^a	24.33 ± 0.47 ^b	21.72 ± 0.68 ^b	**
BW30(kg)	89.70 ± 3.04	87.39 ± 1.39	86.00 ± 2.02	n.s.
BF(mm)	21.26 ± 1.07	21.56 ± 0.49	21.44 ± 0.71	n.s.
CF(kg)	9.45 ± 0.63	9.92 ± 0.29	9.92 ± 0.42	n.s.
IMF(%)	2.00 ± 0.50 ^a	2.13 ± 0.23 ^a	3.05 ± 0.33 ^b	*

¹⁾ BW0, BW3, BW5, BW12 and BW30 are body weight at birth, 3, 5, 12 and 30 weeks of age, respectively. BF, CF and IMF represent backfat thickness, carcass fat and intramuscular fat content, respectively.

²⁾ * and ** superscripts indicate that means are different at the 5, 1 and 0.1% significance thresholds and n.s. means non significance. Mean ± Standard error values in the same raw with different letter are significantly different.

³⁾ The number in a parenthesis indicates number of animals observed in each genotype.

도 유의성을 보였다. 이런 결과를 토대로 한국재래돼지에서 완전히 고정되어 있는 *GG* 유전자형을 갖는 돼지가 Landrace에서 나타나는 *TT* 혹은 *TG*를 갖는 돼지에 비해서 성장

이 느리게 나타남을 추정할 수 있으며, 한국재래돼지가 Landrace에 비해서 성장률이 낮은 일반적인 사실과 일치함을 알 수 있다. 반면에 30주령의 체중과는 유의적 차를 보이지

않았으며, 이는 유전자형과는 상관없이 12주령에서 30주령 사이에 최대 한계체중에 도달하기 때문이라고 사료된다. 지방축적 형질과 유전자형과의 연관성 분석결과 근내지방도와 5%의 수준에서 유의차를 보인 반면 등지방과 도체지방과 통계적 유의차를 보이지 않았다. 이는 *GG* 유전자형이 등지방두께와는 독립적으로 근내지방도를 향상시킬 수 있는 가능성을 나타낸다.

그러나 Zhao 등(2003)에 의하면 타 품종간 교잡에 의한 후보유전자 분석인 경우 연관불평형(linkage disequilibrium)은 상대적으로 염색체 상의 긴 지역으로 확장되는 반면 동일한 품종집단인 경우 상대적으로 짧아진다고 보고하였다. 본 연구는 한국재래돼지와 Landrace의 교잡에 의해 생산된 F₂ 집단을 대상으로 이루어졌기 때문에 *FABP3* 자체에 의한 유의적 효과라고 단정내릴 수는 없다. 그러므로 더욱 정확하고 신뢰성 높은 결과를 유도하기 위해서는 *GG* 유전자형을 갖는 순수 한국재래돼지 집단을 대상으로 돼지 *FABP3*의 연관성 분석이 추가적으로 이루어져야 할 필요성이 있다고 사료된다.

IV. 요약

근내지방도는 양돈산업에 있어서 가장 중요한 경제형질 중의 하나로서, 일반적으로 높은 근내지방도가 양질의 육질을 나타낸다. 근내지방도와 관련된 경제형질좌위에 대한 여러 연구들에 의해서 근내지방도와 연관된 경제형질좌위가 6번 염색체 내 microsatellite marker인 *SW71*과 *SW1881* 사이에 존재할 것이라고 보고되었다. 돼지 *FABP3*은 염색체 상의 위치와 기능적인 측면에서 근내지방도에 영향을 줄 수 있는 후보유전자로 알려져 있으며 많은 연구가 이루어졌다. 본 연구에서 *FABP3* promoter 지역의 염기서열 분석을 통해서 두 개의 염기다형성 부위인 g.-114T>C와 g.-158T>G가 새롭게 발견되었으며, 두 부위가 서로 완전히 연관되어 나타남을 확인하

였다. 한국재래돼지와 Landrace의 교잡으로 생산된 F₂ 204 개체를 대상으로 g.-158T>G의 유전자형이 분석되었으며, 성장형질 및 지방축적 형질과의 연관성 분석이 수행되었다. 그 결과, *GG* 유전자형이 3주령 및 12주령에서의 체중과 1% 수준에서의 유의차를 갖는 높은 부의 상관관계를 보인 반면, 근내지방도와는 5% 수준에서의 유의차로 정의 상관관계를 보였다. 이런 결과는 새로이 발견된 *FABP3*의 염기다형성이 돼지의 분자육종 분야에서 등지방과는 독립적으로 근내지방도를 향상시키기 위한 유전적 marker로 일부 사용될 수 있을 것을 나타낸다고 사료된다.

V. 사 사

본 연구는 농촌진흥청 ‘바이오그린 21사업’의 지원에 의해 이루어진 연구결과의 일부이며 연구비 지원에 감사드립니다.

VI. 인용 문헌

- Boord, J. B., Fazio, S. and Linton, M. F. 2002. Cytoplasmic fatty acid-binding proteins: emerging roles in metabolism and atherosclerosis. *Curr. Opin. Lipidol.* 13:141-147.
- De Koning, D. J., Janss, L. L., Rattink, A. P., van Oers, P. A., de Vries, B. J., Groenen, M. A., van der Poel, J. J., de Groot, P. N., Brascamp, E. W. and van Arendonk, J. A. 1999. Detection of quantitative trait loci for backfat thickness and intramuscular fat content in pigs (*Sus scrofa*). *Genetics* 152:1679-1690.
- Gerbens, F., de Koning, D. J., Harders, F. L., Meuwissen, T. H., Janss, L. L., Groenen, M. A., Veerkamp, J. H., Van Arendonk, J. A. and te Pas, M. F. 2000. The effect of adipocyte and heart fatty acid-binding protein genes on intramuscular fat and backfat content in Meishan crossbred pigs. *J. Anim. Sci.* 78:552-559.
- Gerbens, F., van Erp, A. J. M., Harders, F. L., Verburg, F. J., Meuwissen, T. H. E., Veerkamp, J. H. and te Pas, M. F. W. 1999. Effect of genetic variants of the heart fatty acid-binding protein gene

- on intramuscular fat and performance traits in pigs. *J. Anim. Sci.* 77:846-852.
5. Gerbens, F., Rettenberger, G., Lenstra, J. A., Veerkamp, J. H. and te Pas, M. F. 1997. Characterization, chromosomal localization, and genetic variation of the porcine heart fatty acid-binding protein gene. *Mamm. Genome* 8:328-332.
 6. Gerbens, F., Verburg, F. J., Van Moerkerk, H. T., Engel, B., Buist, W., Veerkamp, J. H. and te Pas, M. F. 2001. Associations of heart and adipocyte fatty acid-binding protein gene expression with intramuscular fat content in pigs. *J. Anim. Sci.* 79:347-354.
 7. Grindflek, E., Szyda, J., Liu Z. and Lien, S. 2001. Detection of quantitative trait loci for meat quality in a commercial slaughter pig cross. *Mamm. Genome* 12:299-304.
 8. Heckert, L. L. 2001. Activation of the rat follicle-stimulating hormone receptor promoter by steroidogenic factor 1 is blocked by protein kinase a and requires upstream stimulatory factor binding to a proximal E box element. *Mol. Endocrinol.* 15:704-715.
 9. Jeon, J. T., Park, E. W., Jeon, H. J., Kim, T. H., Lee, K. T. and Cheong, I. C. 2003. A large-insert porcine library with sevenfold genome coverage: a tool for positional cloning of candidate genes for major quantitative traits. *Mol. Cells* 16:113-116.
 10. Kim, S. Y., Choi, S. Y., Chao, W. and Volsky, D. J. 2003. Transcriptional regulation of human excitatory amino acid transporter 1(EAAT1): cloning of the EAAT1 promoter and characterization of its basal and inducible activity in human astrocytes. *J. Neurochem.* 87:1485-1498.
 11. Kirito, K., Fox, N. and Kaushansky, K. 2003. Thrombopoietin stimulates Hoxb4 expression: an explanation for the favorable effects of TPO on hematopoietic stem cells. *Blood* 102:3172-3178.
 12. Lee, M., Bikram, M., Oh, S., Bull D. A. and Kim, S. W. 2004. Sp1-dependent regulation of the RTP801 promoter and its application to hypoxia-inducible VEGF plasmid for ischemic disease. *Pharm. Res.* 21:736-741.
 13. Nechtelberger, D., Pires, V., Sölkner, J., Stur, I., Brem, G., Mueller, M. and Mueller, S. 2001. Intramuscular fat content and genetic variants at fatty acid-binding protein loci in Austrian pigs. *J. Anim. Sci.* 79:2798-2804.
 14. Ovilo, C., Clop, A., Noguera, J. L., Oliver, M. A., Barragan, C., Rodriguez, C., Silio, L., Toro, M. A., Coll, A., Folch, J. M., Sanchez, A., Babot, D., Varona, L. and Perez-Enciso, M. 2002a. Quantitative trait locus mapping for meat quality traits in an Iberian x Landrace F2 pig population. *J. Anim. Sci.* 80:2801-2808.
 15. Ovilo, C., Oliver, A., Noguera, J. L., Clop, A., Barragan, C., Varona, L., Rodriguez, C., Toro, M., Sanchez, A., Perez-Enciso, M. and Silio, L. 2002b. Test for positional candidate genes for body composition on pig chromosome 6. *Genet. Sel. Evol.* 34:465-479.
 16. Parakati, R. and DiMario, J. X. 2002. Spi- and Sp3-mediated transcriptional regulation of the fibroblast growth factor receptor 1 gene in chicken skeletal muscle cells. *J. Biol. Chem.* 277:9278-9285.
 17. SAS. 1996. SAS/STAT guide for personal computers @6.08. SAS inst., Cary, NC., USA.
 18. Shin, H. D., Kim, L. H., Park, B. L., Jung, H. S., Cho, Y. M., Moon, M. K., Lee, H. K. and Park, K. S. 2003. Polymorphisms in fatty acid-binding protein-3 (FABP3)-Putative association with type 2 diabetes mellitus. *Hum. Mutat.* 22:180.
 19. Sun, G., Tomita, H., Shakkottai, V. G. and Gargus, J. J. 2001. Genomic organization and promoter analysis of human KCNN3 gene. *J. Hum. Genet.* 46:463-70.
 20. Tanomura, H., Miyake, T., Taniguchi, Y., Manabe, N., Kose, H., Matsumoto, K., Yamada, T. and Sasaki, Y. 2002. Detection of a quantitative trait locus for intramuscular fat accumulation using the OLETF rat. *J. Vet. Med. Sci.* 64:45-50.
 21. Thompson, J. D., Gibson, T. J., Plewniak, F., Jeanmougin, F. and Higgins, D. G. 1997. The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res.* 25:4876-4882.
 22. Urban, T., Mikolasova, R., Kuciel, J., Ernst, M. and Ingr, I. 2002. A study of associations of the H-FABP genotypes with fat and meat production of pigs. *J. Appl. Genet.* 43:505-509.
 23. Veerkamp, J. H. and Maatman, R. G. H. J. 1995.

- Cytoplasmic fatty acid binding proteins: their structure and genes. *Prog. Lipid Res.* 34:17-52.
24. Yao, J. C., Wang, L., Wei, D., Gong, W., Hassan, M., Wu, T.T., Mansfield, P., Ajani, J. and Xie, K. 2004. Association between expression of transcription factor Sp1 and increased vascular endothelial growth factor expression, advanced stage, and poor survival in patients with resected gastric cancer. *Clin. Cancer Res.* 10:4109-4117.
25. Zhao, J., Giannola, D. M., Zhang, Y., Rivera, A. J. and Emerson, S. G. 2003. NF-Y cooperates with USF1/2 to induce the hematopoietic expression of HOXB4. *Blood* 102:2420-2427.
- (접수일자 : 2004. 1. 10. / 채택일자 : 2005. 2. 17.)