

## Hanwoo(Korean Cattle) Traceability Using DNA Markers

Jung-Sou Yeo<sup>1)</sup>, Sung-Won Rhee<sup>2)</sup>,  
Yu-Mi Choi<sup>3)</sup>, Jae Chul Kwon<sup>4)</sup> and Jea-Young Lee<sup>5)</sup>

### Abstract

To apply and evaluate the effectiveness of genetic markers on Hanwoo traceability systems, samples of 33 Hanwoo individuals from Korean elite sire families were used, and five microsatellite markers were selected finally, which were located on chromosomes different chromosomes with the end sequencing of 100 HW-YUBAC that were recorded in the NCBI by Yeungnam University. Ten major microsatellite markers were selected from alleles amplified, their frequencies, H(Heterozygosity) and PIC(Polymorphism information content) with Hardy-Weinberg equilibrium. Next, in order to evaluate the power of the markers selected on the individual animal identification, the match probability(MP) and the relatedness coefficient(R) were computed.

*Keywords* : Traceability; microsatellite; heterozygosity; match probability; relatedness; multiplex PCR.

### 1. 서론

건강에 대한 관심이 늘어나면서 식육에 대한 소비자들의 요구도 양적인 측면에서 질적인 측면으로 변화하고 있으며, 특히 생산지 그리고 생산에서 소비에 이르는 유통과정 상의 신뢰성을 중요시하고 있다. 그러나 최근 들어 축산물의 둔갑 판매가 기승을 부리는 현상은 국내 축산업의 어려움을 가중시키고 있다. 특히 축산시장의 개방화가 가속화되면서 수입 쇠고기 및 생육의 수입이 자유화됨에 따라 한우를 이들과 차별하기 위한 품종 혹은 개체를 정확하게 식별할 수 있는 기법이 절실히 요구되고 있다. 따라서 둔갑육 판매 방지와 쇠고기 안정성을 위해서 한우의 생산·도축·가공·유통

---

1) Professor, Department of Animal Resources and Biotechnology, Yeungnam University, Kyongsan, Korea.

2) Ph.D. Department of Statistics, Yeungnam University, Kyongsan, Korea.

3) Graduate, Department of Statistics, Yeungnam University, Kyongsan, Korea.

4) Graduate, Department of Statistics, Yeungnam University, Kyongsan, Korea.

5) Professor, Department of Statistics, Yeungnam University, Kyongsan, Korea.

Correspondence : jlee@yu.ac.kr

과정의 각 단계별 정보를 기록·관리, 문제 발생 시 이동 경로를 따라 추적 또는 소급하여 신속한 원인규명 및 조치를 가능하게 하는 생산이력체계를 산·학·연·관 협동으로 구축이 절실히 필요할 것이다(Lim et al., 2005). 기존 개체의 동일성 검사에 사용된 방법으로 혈액형 및 생화학적인 지표의 다형성 분석방법을 사용하였다. 그러나 소에 있어서 혈액형 검사는 정확한 부계혈통을 결정하지 못하는 단점이 있다(GLowatzki-Mullis et al., 1995). 이로 인해 DNA다형성에 기초한 다양한 유전적 분석방법들이 개발되었으며 이를 이용하여 개체간의 동일성 검사가 이루어지고 있다(Pelman et al., 1998). 분석방법들 중 DNA 마커(marker)의 사용은 개체의 동일성 검사에서 유용한 도구로 보여 지고 있다. 결과적으로 DNA 마커는 쇠고기 동일성 검사에 사용될 수 있다. 그러나 일반적으로 개체의 동일성 검사는 관리단계 이외의 개체 수집 과정에서 평가되지는 않고 집단 구조와의 관계에서 평가되어 진다.

이 논문의 목적은 한우를 중심으로 쇠고기 이력체계에서 개체식별에 유용한 DNA marker의 정보 이형접합체 (Heterozygosity; H)와 다양성 정보량 (Polymorphism Information content; PIC)을 알아내고, 그 DNA 마커의 정보를 이용하여 여러 가지 DNA 마커의 조합들의 검정력을 MP(Match Probability)와 R(Relatedness)계수를 통해 알아보고, 현실 데이터에서 선택된 조합에 적용한 결과분석 (현실 자료검정 비용을 감안 최대 5개의 조합 마커 활용)을 고려하여 최종적으로 개체식별에 유용한 DNA 마커의 조합을 찾는 것이다.

## 2. 실험 재료 및 방법

### 2.1 실험 재료

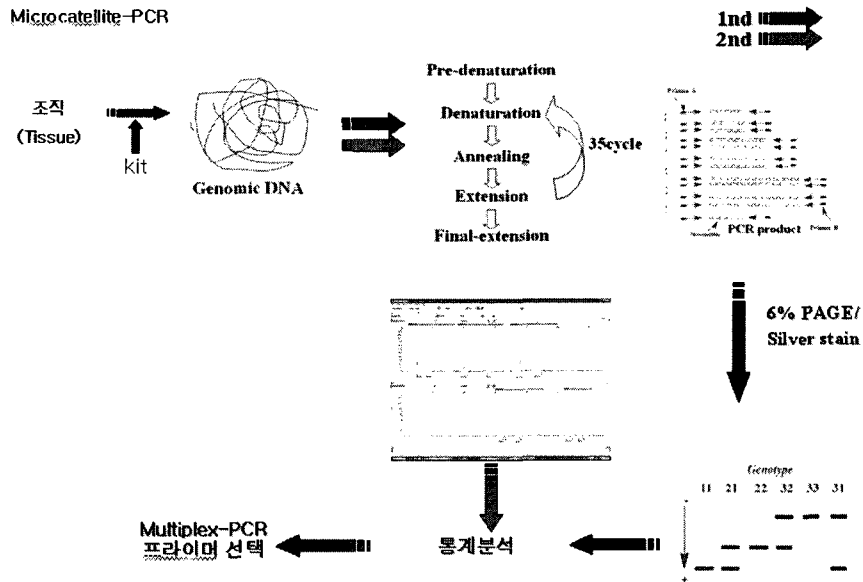
본 연구에 공시된 한우는 농협중앙회 가축개량 사업소로부터 한우 집단의 혈연정보가 정확히 기재된 국가 후대검정우 26-29차 36가계 305두와 그 중 조부와 부가 서로 각각 다른 33두 개체를 이용하여 실시하였다. Microsatellite DNA primer의 염기서열에 대한 정보는 USDA-MARC의 연구결과와 한우 BAC library에서 확인된 micro-satellite DNA를 기초로 하였으며, 각각의 다른 염색체에 위치하는 microsatellite DNA primer 255쌍을 합성하여 실험에 사용하였다.

### 2.2 혈액 채취 및 genomic DNA 추출

0.5M EDTA가 처리된 주사기로 채취되어진 혈액을 0.2% NaCl 용액으로 용혈을 시킨 후, 2,000 rpm에서 10분간 원심분리기로 백혈구 층을 분리하고 0.16M NaCl/1mM EDTA와 0.5%N-lauroylsarcosine 용액, 그리고 Proteinase K(10mg/ml, Promega Co, U.S.A)를 처리하여 DNA를 용출시켰다. 용출된 DNA는 동일 량의 dephenol용액과 dephenol : chloroform : isoamylalcohol (25:24:1)을 사용해서 단백질을 제거시킨 후, OD 측정값 1.5~1.8의 농도를 가지는 DNA를 추출하여 TE(10mM Tris-HCl pH 8.0, 0.5M 1mM EDTA)에 녹여 사용하였다.

### 2.3 DNA 분석과정

DNA분석은 다음과 같은 기법 과정을 통해 이루어진다.

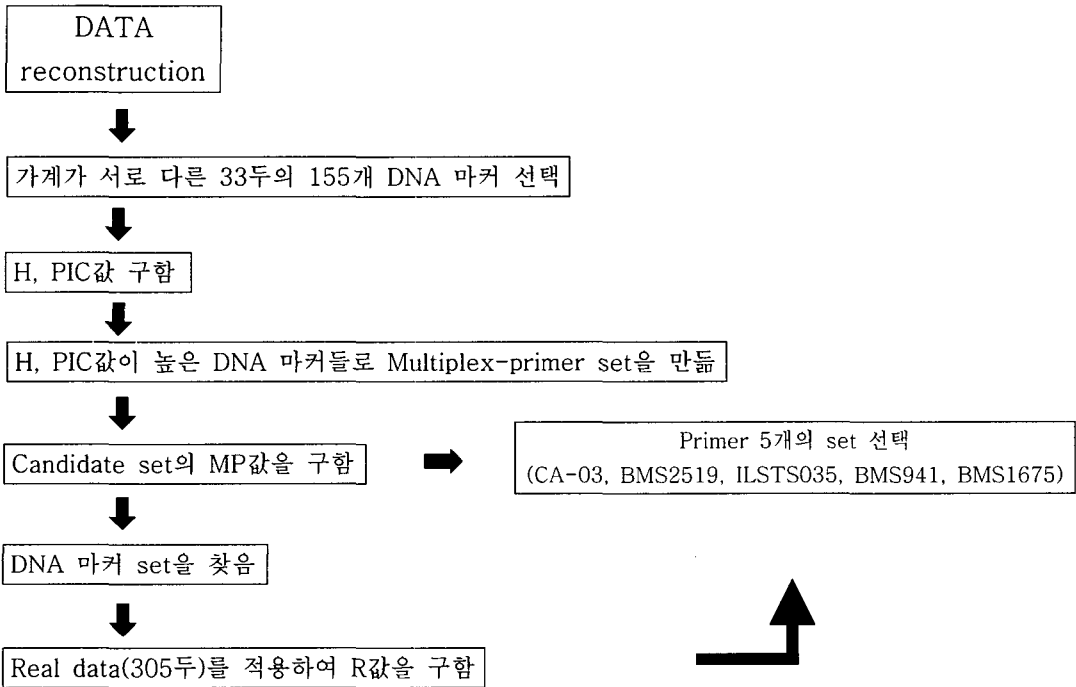


<그림 1> Multiplex-PCR 분석과정

위의 Multiplex-PCR <그림 1>은 샘플 조직(Tissue)으로부터 kit를 사용하여 Genomic DNA를 추출한 다음 각각의 DNA를 PCR을 한 후 6% PAGE gel을 이용하여 genotyping을 한다. 이차적으로 이렇게 실험한 것을 통계 분석하여 H, PIC값을 추정하였고, H값을 이용하여 Multiplex-PCR 조합을 만든다. 이렇게 만든 조합을 이용하여 가장 안정적으로 실험이 가능한 조합을 택하고, 선택된 Multiplex-set을 이용하여 PCR과 함께 Automatic sequencer 분석하는 과정을 나타내었다. 그리고 PCR을 반응을 위한 mixture는 20ng/ $\mu$ l genomic DNA, 5 pmol forward primer와 5 pmol reverse primer, 0.2mM dNTPs, 1~1.5mM MgCl<sub>2</sub>, 10×PCR buffer, 1 unit *Taq* polymerase를 혼합하여 total volume 30 $\mu$ l를 제조하였다. PCR 반응은 94°C에서 30초간 denaturation, 50~60°C에서 30초간 annealing, 72°C에서 1분간 extension 과정을 thermal cycler (Biometra, T-Gradient, Germany)에서 35회 반복 수행한 뒤, 72°C에서 10분간 1회 수행하였다. PCR product는 1% agarose gel에서 전기영동을 하여 반응의 유무를 확인하고, 6%denaturing polyacrylamide gel(40% acrylamide solution, urea, 5X TBE buffer)을 사용 SQ3 sequencer (Hoefer Pharmacia Biotech Inc.,USA)에서 전기영동을 하였다. ABI PRISM 310 Genetic Analyzer(Applied Biosystems)를 이용하여 분석하였고, Genescan software (Applied Biosystems)를 이용하여 결과를 도출하였다(Yoon et al., 2005).

### 2.4 통계적 분석 과정

이 연구에 대한 통계적 분석과정은 다음 <그림 2>의 과정으로 이루어졌다.



<그림 2> DNA 마커 자료의 통계 분석 과정

### 3. 하디-와인버그 평형 검정

하디-와인버그 평형(Hardy-Weinberg Equilibrium)이란 외적인 요인이 작용하지 않는다면, 유전자와 유전자형 빈도 모두가 변하지 않고 평형을 이루게 된다는 것으로 이것을 만족하는 집단은 대립유전형질의 독립성이 성립하게 된다. 따라서 유전자좌 내에서의 독립성 검정은  $\chi^2$ 통계량을 이용한 적합도 검정으로 각 유전자형 범주에 대한 실제 관측빈도와 기대빈도를 이용 하여 다음과 같은 식으로 구할 수 있다.

$$\chi^2 = \sum \frac{(\text{관측빈도} - \text{기대빈도})^2}{\text{기대빈도}}$$

이 실험에 사용된 자료는 국가 후대 검정우 26-29차 36가계 305두 중 부와 조부가 다른 33두의 chromosomes에서 얻어진 155개의 DNA 마커를 사용하였다. 그 결과 <표 1>에서 채택된 DNA 마커 BMS2519, TGLA44, ILSTS035, BMS1242, HUIJ223, BMS941, BMS1675, BM3507, HW-YU2-CA-95, HW-YU2-CA03은 하디-와인버그

평형검정을 만족하는 것으로 이들 마커를 실험 분석에 이용하였다.

<표 1> DNA 마커의 하디-와인버그 평형 검정

DNA 마커	$\chi^2$	유의확률 값
BMS2519	19.032	0.583
TGLA44	29.157	0.110
ILSTS035	15.511	0.796
BMS1242	9.622	0.842
HUJ223	29.180	0.109
BMS941	34.768	0.527
BMS1675	25.380	0.607
BM3507	23.706	0.070
HW-YU2-CA-95	16.609	0.083
HW-YU2-CA03	16.164	0.371

#### 4. DNA 마커의 정보력의 측도

DNA 마커의 정보력이란 개체식별의 측면에서 보았을 때 다양성의 측도라고 할 수 있다. 다양한 종류의 alleles를 가지고 있는 DNA 마커가 개체식별에 유용하다고 할 수 있다. 이 정보력의 측도로 이형접합체(H)와 다양성 정보량(PIC)을 사용한다. H, PIC값은 DNA 마커가 얼마나 많은 alleles가 균일하게 퍼져있는가를 나타내는 척도라고 할 수 있고, 1에 가까울수록 개체식별에 유용한 DNA 마커라고 할 수 있다(Arana et al., 2002; Ott, 1999).

##### 4.1 이형접합체(Heterozygosity;H) 측도

Locus의 이형접합체는 모집단의 데이터 셋에 있는 이형접합 개체의 비율을 나타내며, 다음과 같이 정의된다.

$$H = (1 - \sum_{i=1}^n p_i^2) \quad (1)$$

단,  $n$  = locus의 allele의 수,  $p_i$  = locus  $i$ 번째 allele의 추정된 도수 비율이며, 유전자 locus 안에서 대립유전자들 간에 하디-와인버그 평형을 유지해야한다. 이형접합체(H)값은 모집단에서 allele이 동일한 도수 비율을 유지 할 때 최대값을 가진다.

##### 4.2 다양성 정보량(Polymorphism Information Content ; PIC)측도

PIC(Polymorphism Information Content)는 부모로부터 자손에 전달되는 대립유전자를 구별해 낼 수 있는 확률을 주어진 부, 모, 자손의 유전자형을 가지고 측정하게 되며 다음과 같이 정의한다.

$$PIC = (1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2p_i^2 p_j^2) \quad (\text{Weiss, 1993}) \quad (2)$$

단,  $n$  = locus의 allele의 수,  $p_i$  = locus  $i$ 번째 allele의 추정된 도수 비율이고, 이때, allele의 수가 크면, 다양성 정보량(PIC)값도 이형접합체(H)값과 점점 비슷해진다. 하디-와인버그 평형 검정을 만족하는 10개의 DNA 마커들 중에서 DNA 마커의 정보력 H값과 PIC 값을 구해 H 값이 높은 마커 순으로 정렬하였다. 그 결과는 다음 <표 2>와 같다.

<표 2> DNA 마커의 Allele 의 도수확률과 H, PIC 값

DNA 마커		Alleles amplified									H	PIC
		1	2	3	4	5	6	7	8	9		
BMS2519	μ	0.226	0.016	0.081	0.177	0.242	0.161	0.081	0.016		0.8195	0.7947
	σ	0.053	0.016	0.034	0.048	0.054	0.047	0.034	0.016			
TGLA44	μ	0.097	0.129	0.210	0.210	0.161	0.177	0.016			0.8282	0.8047
	σ	0.037	0.042	0.052	0.052	0.047	0.048	0.016				
ILSTS035	μ	0.059	0.324	0.147	0.088	0.088	0.206	0.088			0.8043	0.7824
	σ	0.0410	0.081	0.0616	0.049	0.049	0.070	0.049				
BMS1242	μ	0.206	0.029	0.206	0.235	0.118	0.206				0.8027	0.7856
	σ	0.0704	0.029	0.070	0.073	0.056	0.070					
HUJ223	μ	0.076	0.106	0.258	0.015	0.106	0.227	0.076	0.121	0.015	0.8328	0.8125
	σ	0.0339	0.039	0.0560	0.015	0.039	0.053	0.033	0.041	0.015		
BMS941	μ	0.016	0.032	0.177	0.29	0.113	0.065	0.161	0.081	0.065	0.8296	0.8095
	σ	0.016	0.022	0.048	0.058	0.040	0.031	0.047	0.034	0.031		
BMS1675	μ	0.061	0.039	0.212	0.121	0.076	0.076	0.015	0.045		0.7677	0.7401
	σ	0.029	0.061	0.051	0.041	0.032	0.032	0.015	0.025			
BM3507	μ	0.081	0.097	0.339	0.048	0.242	0.194				0.7706	0.7506
	σ	0.034	0.037	0.060	0.027	0.054	0.050					
HW-YU2-CA-95	μ	0.207	0.138	0.069	0.293	0.293					0.7615	0.7480
	σ	0.053	0.045	0.033	0.060	0.060						
HW-YU2-CA03	μ	0.183	0.183	0.017	0.333	0.233	0.050				0.7651	0.7285
	σ	0.050	0.050	0.016	0.061	0.055	0.028					

즉, BMS2519는 H값이 0.8195, PIC값이 0.7947로 H값이 높고 다양한 종류의 allele을 가지고 있으므로 개체식별에 가장 유용 하다고 할 수 있다. 위 <표 2>는 H값이 높은 값을 기준으로 정렬하였다.

### 5. DNA 마커 검정력 평가

개체식별에 유용하다고 선택된 DNA 마커들의 검정력을 평가하기 위해서 MP(Match Probability), R(Relatedness coefficient)을 사용한다.

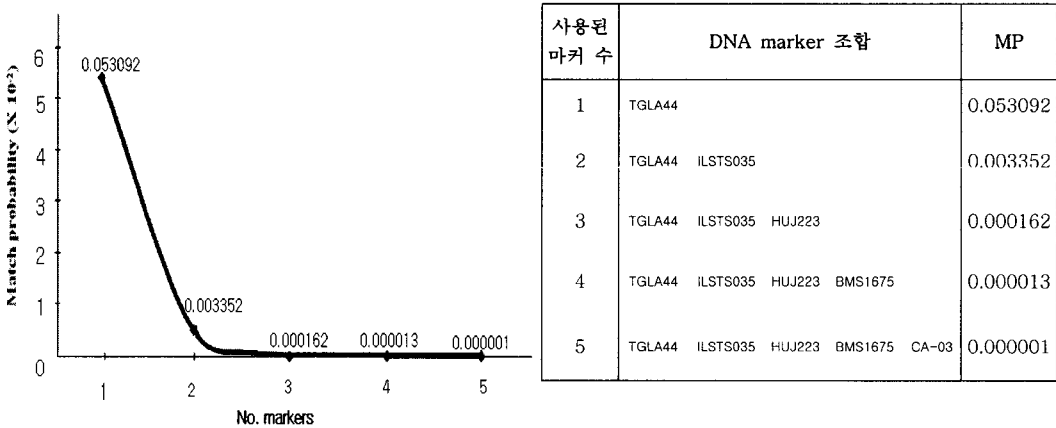
#### 5.1 MP(Match probability)

MP(Match Probability)는 독립인 두 동물 사이에 동일한 allele을 가질 확률 값으로, 유전자형의 도수들은 독립성이 보장되어야 함을 전제조건으로 하며, 다음과 같이 정의된다(Weir, 1996).

$$MP = \prod_{k=1}^m \left( \sum_{i=1}^{n_k} (p_{k_i}^2) + \sum_{i=1}^{n_k} \sum_{j=i+1}^{n_k} (2p_{k_i}p_{k_j})^2 \right) \quad (3)$$

단,  $m$  = loci의 수,  $n_k$  = locus k의 allele의 수,  $p_{k_i}$  = locus k의  $i$  allele의 추정된 도수 비율,  $p_{k_j}$  = locus k의  $j$  allele의 추정된 도수 비율임.

국가 후대 검정우 26-29차 36가계 305두 중 조부가 다른 33두를 사용하여, 개체 식별에 유용한 DNA 마커 10개를 <표 2>에서 선택하였다. 이 마커들을 사용하여 5개를 한 조합으로 하는 32개의 후보 조합을 가지고 DNA 마커 검정력을 평가해 보았다. DNA 마커 검정력을 평가하기 위해 MP값을 구해본 결과 확률 값이 가장 낮은 조합은 다음 <그림 3>과 같다.



<그림 3> 독립인 두 동물 사이에 동일한 allele을 가질 확률값(MP) (확률  $\times 10^{-2}$ ) 과 마커조합

한 개의 DNA 마커(TGLA44)를 사용하였을 때 독립인 두 동물 사이에 동일한 alleles을 가질 확률(MP)은 100분의 5로 나타났고, 두 개의 DNA 마커(TGLA44, ILSTS035)를 사용하였을 때는 1000분의 3, 다섯 개의 DNA 마커(TGLA44, ILSTS035, HUIJ223, BMS1675, CA-03)를 사용하였을 때는 백만 분의 1로 나타났다.

### 5.2 R(Relatedness) 계수

R 계수는 관련 동물들 사이의 닮음의 정도를 측정하는 도구로 사용되어 왔으며, MP가 독립성이 유지된 모집단에서 적용 될 수 있는 이론적인 값인 반면 R 계수는

개별 혹은 자연적인 동물들 사이에 관련된 경험적인 확률(empirical probability)을 나타낸다(Queller and Goodnigh, 1989).

$$R(i, j) = \frac{v(i, j)}{w(i)}$$

$$v(i, j) = \sum_{k=1}^2 \sum_{p=1}^2 \sum_{l=1}^r \sum_{m=1}^{s_r} \begin{cases} 0 & \text{if } x_k \neq y_p \neq m \\ [1 - f(m, l)] & \text{if } x_k = y_p = m \end{cases}$$

$$w(i) = \sum_{k=1}^2 \sum_{l=1}^r \sum_{m=1}^{s_r} \begin{cases} 0 & \text{if } x_k \neq m \\ [1 - f(m, l)] & \text{if } x_k = m \end{cases} \quad (4)$$

$r$  = 마커의 수,

$s_r$  = 마커  $r$ 의 alleles의 수,

$m$  = 마커  $r$ 의 각각의 alleles,

$x_k$  =  $i$  번째 동물에서 나타나는 allele,  $k$  번째 위치,  $l$  번째 locus

$y_p$  =  $j$  번째 동물에서 나타나는 allele,  $p$  번째 위치,  $l$  번째 locus

$f(m, l)$  =  $l$  번째 locus에 마커  $m$ 의 allele 도수 비율

위의  $R$  계수는 독립성조건을 만족에 관련 없는 경험적 확률의 의미를 나타내므로 MP보다 더욱 현실적인 자료에 근접한 확률 값으로 볼 수 있다.

### 5.3 동물 오분류 확률(Percentage of animal incorrectly identified)

$R$ 의 값이 0.85보다 크게 나타나면 더 많은 마커의 사용이 고려되어야 한다(Cunningham et al., 1999). 이에 동물 오분류 확률은 다음과 같은 공식으로 나타낸다.

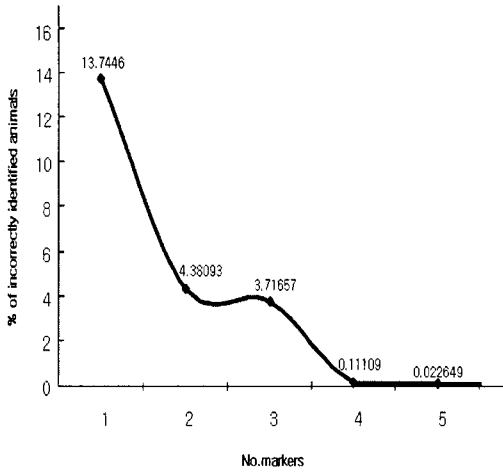
$$\text{동물 오분류 확률} = \sum \frac{I_A(R)}{\text{전체 비교의 수}} \quad (5)$$

$$I_A = \begin{cases} 1 & R \in A \\ 0 & R \notin A \end{cases} \quad A = \{R | R > 0.85\}$$

MP는 모집단이 [표 2]와 같은 alleles의 프로필과 frequency를 가지고 있고 임의로 두 개체의 alleles를 발생시켰을 때의 확률이므로 현실 데이터와는 차이가 나는 이론적인 값이라고 할 수 있다. 따라서 국가 후대 검정우 305두에 선택된 조합을  $R$  값에 적용하여 동물 오분류 확률을 구해 DNA 마커 검정력 평가를 해보았다. 그 결과는 다음 <그림 4>와 같다.

한 개의 DNA 마커(CA-03)를 사용하였을 때 개체를 불확실하게 식별할 퍼센테이지는 약 13.7%, 두개의 DNA 마커(CA-03, BMS2519)를 사용하였을 때 개체를 불확실하게 식별할 퍼센테이지는 4.38%, 다섯 개의 DNA 마커(CA-03, BMS2519, ILSTS035, BMS941, BMS1675)를 사용하였을 때 개체를 불확실하게 식별할 퍼센테이지는 0.02% (즉, 10,000 마리중 2.2마리)로 나타났다.



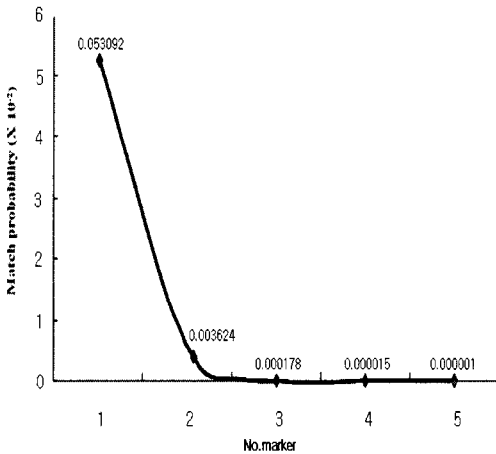


사용된 마커 수	DNA marker 조합	동물 오분류 확률(%)
1	CA-03	13.7446
2	CA-03 BMS2519	4.38093
3	CA-03 BMS2519 ILSTS035	3.71657
4	CA-03 BMS2519 ILSTS035 BMS941	0.11109
5	CA-03 BMS2519 ILSTS035 BMS941 BMS1675	0.022649

<그림 4> DNA 마커조합에 의한 R 계수의 오분류 확률 값 (확률 X10<sup>-2</sup>)과 마커조합

5.4 개체 식별에 가장 유리한 DNA 마커 선별

MP값과 R값을 모두 고려하였을 때 개체식별에 가장 유용한 마커 조합을 찾아내기 위해 R 값을 통해 선택되어진 마커 조합으로 MP 값을 구해보고, MP값을 통해 선택되어진 마커 조합으로 R값을 구해보았다. 결과는 다음 <그림 5>와 같다.

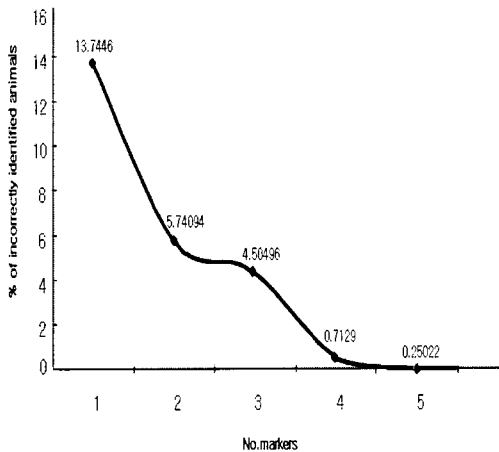


사용된 마커 수	DNA marker 조합	동물 오분류 확률(%)
1	CA-03	13.7446
2	CA-03 TGLA44	5.74094
3	CA-03 TGLA44 ILSTS035	4.50496
4	CA-03 TGLA44 ILSTS035 HUJ223	0.7129
5	CA-03 TGLA44 ILSTS035 HUJ223 BMS1675	0.25022

<그림 5> 독립인 두 동물 사이에 동일한 allele을 가질 확률값(MP) (확률 X10<sup>-2</sup>)과 마커조합

R값을 통해 선택되어진 마커 조합으로 MP값을 구해본 결과 한 개의 DNA 마커 (CA-03)를 사용하였을 때 독립인 두 동물 사이에 동일한 alleles을 가질 확률(MP)은

100분의 5로 나타났고, 두 개의 DNA 마커(CA-03, BMS2519)를 사용하였을 때는 1000분의 3, 다섯 개의 DNA 마커(CA-03, BMS2519, ILSTS035, BMS941, BMS1675)를 사용하였을 때는 백만 분의 1로 나타나 처음 선택한 조합의 MP값 <그림 3>과 비교했을 때 큰 차이를 보이지 않고 있음을 알 수 있다.



사용된 마커 수	DNA marker 조합	MP
1	CA-03	0.05309
2	CA-03 BMS2519	0.00362
3	CA-03 BMS2519 ILSTS035	0.00017
4	CA-03 BMS2519 ILSTS035 BMS941	0.00001
5	CA-03 BMS2519 ILSTS035 BMS941 BMS1675	0.00000

<그림 6> DNA 마커조합에 의한 R 계수의 오분류 확률값(확률 X10<sup>-2</sup>)과 마커조합

한편, MP값을 통해 선택되어진 마커 조합으로 R값을 구해본 결과 한 개의 DNA 마커(CA-03)를 사용하였을 때 개체를 불확실하게 식별할 퍼센테이지는 약 13.7%, 두 개의 DNA 마커(CA-03, TGLA44)를 사용하였을 때 개체를 불확실하게 식별할 퍼센테이지는 5.74%, 다섯 개의 DNA 마커(CA-03, TGLA44, ILSTS035, HUI223, BMS-1675)를 사용하였을 때 개체를 불확실하게 식별할 퍼센테이지는 0.25%로 나타나 처음 선택한 조합 <그림 4>보다 개체 식별에 더 유용하지 못할 것으로 보여 진다. 따라서 MP값과 R값을 모두 고려했을 때 최종적으로 BMS2519, ILSTS035, BMS941, BMS1675, HW-YU2-CA-03 DNA마커가 개체 식별에 가장 유용하다고 할 수 있다.

## 6. 결론

국가 후대 검정우 26-29차 36가계 305두의 Chromosomes에서 155개의 DNA 마커를 사용하여 개체식별에 유용한 DNA 마커(BMS2519, TGLA44, ILSTS035, BMS-1242, HUI223, BMS941, BMS1675, BM3507 HW-YU2-CA-95, HW-YU2 -CA03)를 찾았고, 그 조합들 중 MP값과 R값을 고려했을 때 개체식별에 가장 유리한 조합은 BMS2519, ILSTS035, BMS941, BMS1675, HW-YU2-CA-03으로 밝혀졌다. 이 조합을 305두에 적용한 동물 오분류 확률은 대략적으로 10,000두 중 2두 정도로 나타났다. 따라서 이 5개의 마커로 당장 현실 개체식별에 적용하기에는 다소 불충분하다고

볼 수 있다. 그러므로 이 실험의 결과를 현실 자료에 적용하기 위해서는 마커 수를 약간 더 늘려 분석해야 한다는 결론을 내릴 수가 있다.

### 참고문헌

- [1] Arana, A., Soret, B., Lasa, I and Alfonso L. (2002). Meat traceability using DNA markers : application to the beef industry. *Meat Science*. Vol. 61, 367-373.
- [2] Cunningham, E., Meghen, C., Scott, C., Bradley, D., MacHugh, D. and Loftus, R. (1999). DNA Traceability techniques for the meat industry. In F. Toldra and Troy D.(Eds.) New developments in guaranteeing the optimal sensory quality of meat. 1-7 *Valencia*(Spain).
- [3] GLowatzki-Mullis, M., Gaillard, C., Wigger, G. and Fries, R. (1995). Micro-satellite-based parentage control in cattle. *Animal Genetics*, Vol. 26, 7-12.
- [4] Lim, H., Min, H., Moon W., Lee, J., Kim, J. Cho, I., Lee, H., Lee, Y., Lee, J., and Jeon, J. (2005). Analysis and selection of microsatellites markers for individual traceability system in Hanwoo. *Journal of Animmimal Science & Technology*, Vol. 47, 491-500.
- [5] Yoon, D., Kong, H., Oh, J., Lee, J., Cho, B., Kim, J., Jeon, K., Jo, C., Jeon, G. and Lee, H. (2005). Establishment of an individual identification system based on microsatellite polymorphisms in korean cattle(Haw-woo). *Asian-Australisian Journal of Animal Sciences*, Vol. 18, 762-766.
- [6] Ott. Jurg. (1999). *Analysis of human genetic linkage, 3rd ed.* The Johns Hopkins university press.
- [7] Peelman, L., Mortiaux, F., Zeveren, A., Dansercoer, A., Mommens, G., Coopmam, F., Bouquet, Y., Burny, A., Renaville, R and Portetelle, D. (1998). Evaluation of the genetic variability of 23 bovine microsatellite markers in Four Belgian cattle breeds. *Animal Genetics* 29, 161-167.
- [8] Queller, D. C. & Goodnigth, K. F. (1989). Estimating relatedness using genetic markers. *Evolution.*, Vol. 43, 258-275
- [9] Weir, B. (1996). *Genetic data analysis II. Methods for discrete population genetic data.* Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, Inc. Publishers.
- [10] Weiss, K. (1993). *Genetic variation and human disease. principles and evolutionary approaches.* Cambridge, Great Britain: Cambridge Univer-sity Press.