

# 돼지의 POU1F1 Intron 3영역 유전자에 따른 도체특성 분석

김계웅 · 유재영

공주대학교 산업과학대학 동물자원학과

## Analysis of Carcass Characteristics in the 3rd Intron of Pig POU1F1 Gene

Gye Woong Kim and Jae Young Yoo

Department of Animal Resources Science, Kongju National University

### ABSTRACT

This study was carried out to compare *Msp*I polymorphisms in the 3rd intron of porcine gene encoding the pituitary-1 transcription factor (POU1F1) from 286 pigs (Landrace × Yorkshire × Duroc, LYD) and to determine the associations between its genotypes and carcass traits by using the PCR-RFLP technique. The frequency of the single nucleotide polymorphism (SNP) genotype DD (84.33%) was very higher than that of CC genotype (0.75%). Allelic frequencies for C and D were 0.082 and 0.918, respectively. Each population followed the Hardy-Weinberg equilibrium. Meat colours of Hunter L\* values and visual colour according to two genotypes were all significantly different. However, no significant difference in crossbred (LYD) was found between CD and DD genotypes for other traits. Therefore, this suggests that POU1F1 may be a major gene or marker for carcass traits.

(Key words : Carcass characteristics, Intron 3, POU1F1 Gene, *Msp* I polymorphisms)

### I. 서 론

돼지고기의 품질은 돼지 품종이나 도축 가공시는 물론 사료, 사육방법 등에 따라서도 영향을 받는 것으로 알려져 있다(Martel 등, 1988; Martens, 1998). 돼지의 도축 전 계류방법, 도축방법 등과 같은 도축 전·후의 취급은 돼지고기의 품질에 중요한 요인이 되고 있다(Warriss 등, 1995). 그리고 돼지의 육질이나 맛과 같은 형질은 유전적으로 많은 변이가 존재하며(Davoli와 Braglia, 2007), 등지방두께나 도체중은 도체등급이나 도체특성에 영향을 미치는 것으로 보고한 바도 있다(박 등, 2005; 김과 김, 2009).

돼지에서 성장호르몬(growth hormone), 뇌하수체호르몬(prolactin), 갑상선호르몬(thyropotein β-submit) 등을 조절해주는 유전자로 pituitary-1 transcription factor (pit-1)으로 명명되었으나(Cohen 등, 1996; Chung 등, 1998; Ingraham 등, 1990; Stancekova 등, 1999), 최근에는 POU1F1 gene으로 재명명되어 전해지고 있다(Song 등, 2005). POU1F1 유전자는 가축의 양적형질과 관련하여 연관성이 있는 것으로 보고하였으며(Yu 등, 1995; Moody 등, 1996; Brunsch 등, 2002; Sun 등, 2002). 특히 돼지의 경우는 POU1F1 유전자형에 따라 성장과 도체형질에 영향을 미치는 것으로

알려지고 있다(Yu 등, 1996; Stancekova 등, 1999; Song 등, 2005).

본 연구는 우리나라에서 사육중인 비육돈 268두를 대상으로 POU1F1 유전자형과 대립유전자를 분류하고 그 빈도를 추정하였으며, 유전자형과 육질과 관련된 주요 형질과의 관계를 구명하여 돼지 육질개선에 필요한 유전적 지표로 활용할 자료를 얻고자 실시되었다.

### II. 재료 및 방법

#### 1. 공시동물 및 공시재료

공시동물은 충남지역 K 농장에서 3원 교잡종 (LYD) 총 268두 (암돼지: 127두, 거세 돼지: 141두)를 무작위로 선정하였다. NRC 사양표준에 준한 N 사료회사의 사료를 급여하여 생체중 110 kg ± 5 kg 규격돈의 수준으로 약 180일령 전후로 사육하였다. 도체성적 및 DNA를 추출하기 위하여 충남 C 도축장에 납품시켜 도축하였으며, 등심 부분을 공시재료로 확보한 후 도체 성적을 조사하고, DNA 추출 시 까지 -25℃에 보관하였다.

Corresponding author : Jae Young Yoo, Dept. of Animal Resources Science, Kongju National University #1 Daehoeri, Yesan, Chungnam 340-702, Korea. Tel: 041-330-1245, Fax: 041-330-1249, E-mail: mysteria@konkuk.ac.kr

2. Genomic DNA 추출 및 PCR-RFLP 분석

DNA를 추출하기 위하여 채취한 근육시료에서의 genomic DNA 추출은 QIAamp Mini kit (QIAGEN®, USA)의 표준 실험법을 이용하여 정제하였다. 정제된 genomic DNA는 증류수 혹은 TE buffer (Tris-EDTA, pH 8.0)에 녹인 후 microcentrifuge tube에 회수하였으며, genomic DNA의 양은 전기영동을 통하여 확인한 후, PCR 수행시까지 -25℃에 보관하였다.

PCR을 위한 반응액에는 GeNet bio system (GeNet bio. Co., Korea)의 Prime Taq DNA polymerase를 사용하였다. PCR 반응물은 1x buffer (0.01 M Tris-HCl, 0.05 M KCl, 0.08% Nonidet)와 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, dNTPs 1 mM, primer는 각각 10 pM, Taq 2.5 unit로 조성되었으며, 최종 부피 20 μl로 조정하였다. PCR 조건은 94℃ 5분간의 예비변성 반응을 통하여 DNA를 변성시키고, 94℃ 30초 간 변성 (denaturation) 반응, 55℃ 1분간의 결합(annealing) 반응, 그리고 72℃ 1분간의 신장(extension) 반응을 35회 반복 실시하였으며, 최종적으로 72℃ 5분의 신장 반응을 수행하고 PCR 반응을 종료한 후 TBE buffer (90 mM Trisborate, 2 mM EDTA, pH 8.0)가 함유된 1.5% agarose gel 전기영동을 통하여 증폭산물을 확인하였다.

POU1F1 유전자 중 intron 3 영역의 유전자형을 분석하기 위하여 PCR 증폭산물을 제한효소를 이용하여 절단하였다. 즉, 25 μl의 증폭산물에 Msp I 제한효소 1 unit을 이용하여 총 양을 10 μl로 조정해 37℃에서 3시간 이상 활성화하여 절단하고 DNA 단편을 확인하기 위해 1.5% agarose gel 전기영동 하여 분리한 후 유전자형을 판정하였다.

3. Primer 제작 및 증폭산물

본 연구에 사용된 primer는 POU1F1 본 연구실에서 직접 제작한 프라이머로 유전자 중 intron 3 영역을 증폭할 수 있도록 GenBank accession No. AJ511270을 참고하였고, Bioneer(Bioneer Co., Korea)에 합성을 의뢰하여 사용하였으며, 823 bp의 증폭산물을 얻을 수 있다 (Table 1).

Table 1. Nucleotide sequences of primer pairs for the PCR amplification of POU1F1 DNA fragment

Name of primer	Sequence	Size of products
POU1F1 gene in intron 3 region		823 bp
Forward	5'-TTTTGCCACCCATTGGAATA-3' (20 mer)	
Reverse	5'-AAAAAGTCCACAGATTGAAGGG-3' (22 mer)	

4. 조사항목 및 방법

등지방두께 및 도체중은 충남에 위치한 C도축장의 등급 판정을 받은 자료를 이용하였다. 육색은 등심 절단부를 color meter (Model NF333, Nippon Denshoku Co., Japan)를 이용하여 Hunter 값으로 L\* (명도), a\* (적색도), b\* (황색도) 값을 5회 반복하여 평균값으로 표시하였으며, 이때의 표준편차는 Y=92.40, X=0.3136, y=0.3196의 백색타일을 사용하였다. 육색도판에 의한 육색도는 열은 색 1에서 짙은 색 6까지로 하였으며, pH는 등심심부에 pH meter bar를 이용하여 직접 측정하였다.

5. 통계처리

공시재료로부터 얻는 POU1F1 유전자로부터 유전자형과 유전자를 분류하여 그 빈도를 계산하였고, 집단 간의 유전적 평형상태를 알아보기 위하여 χ<sup>2</sup>-test로 유의성을 검정하였다. 그리고 돼지의 도살 후 주요형질이라고 할 수 있는 등지방두께, 도체중, 육색도, pH 등을 조사하여 유전자형별로 구분하였고, SNP 유전자형 효과를 추정하기 위한 통계분석은 SPSS 통계 패키지 (Ver 12.0)를 이용하여 GLM 방법으로 통계 분석하였으며, SNP 유전자형 효과의 통계 분석에 이용한 모형은 다음과 같다.

$$Y_{ijkl} = \mu + YS_i + S_j + D_k + G_l + e_{ijkl}$$

여기서, Y<sub>ijkl</sub>: 도체형질 관측치, μ: 형질의 전체평균, YS<sub>i</sub>: 연도-계절 효과, S<sub>j</sub>: 성별의 효과, D<sub>k</sub>: 도축일령에 대한 공변이, G<sub>l</sub>: SNP 유전자형 효과, e<sub>ijkl</sub>: 임의오차를 나타낸다.

III. 결과 및 고찰

1. POU1F1 유전자 분석

돼지에서 13번 염색체에 위치하고 있는 POU1F1 intron 3영역 유전자를 분석한 증폭산물은 Fig. 1과 같이 823 bp band가 확인되었다. 그리고 PCR-RFLP 기법으로 전기영동 결과에 의한 유전자형 분류는 Fig. 2에 나타난 바와 같다. Msp I 제한효소에 의한 처리결과로 DD 유전자형은 2개의 band로 343과 480 bp로 절단되어 출현하였으며, CD형은 절단되지 않은 823 bp와 절단된 480과 343 bp 등 3개의 band가 출현하였다. CC형은 절단되지 않은 823 bp band만이 출현하였다.

POU1F1의 SNP 유전자형과 대립유전자 출현율을 조사한 결과는 Table 2와 같다. 유전자형은 헤테로형인 CD형

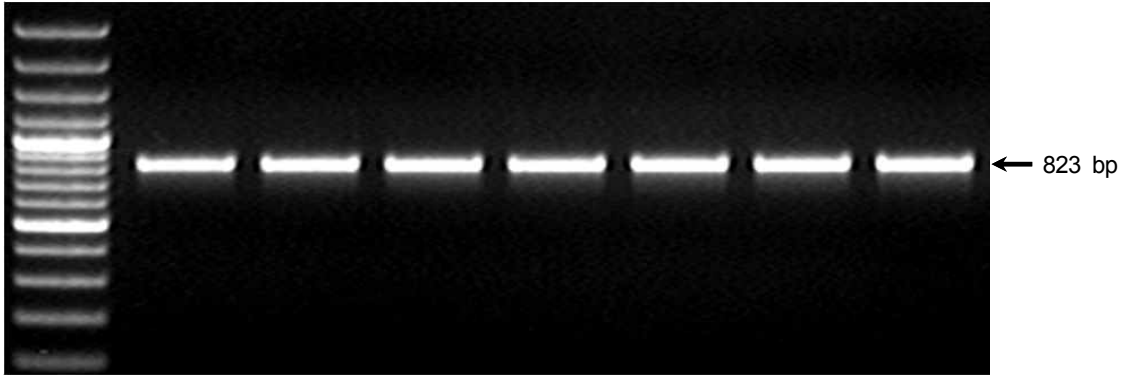


Fig. 1. PCR products of POU1F1 gene (823 bp) in pig samples. Lane 1: Molecular size maker 100 bp ladder plus (GeneRuler™, Fermentas, USA), lane 2~8: PCR products.

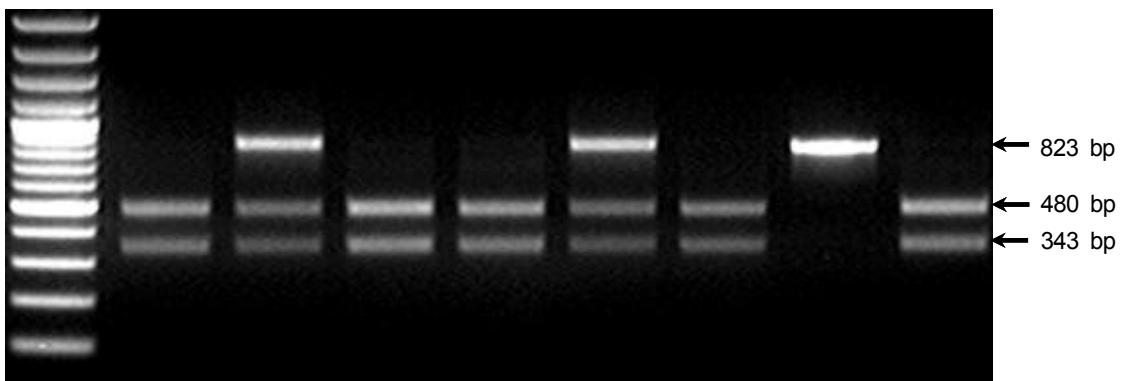


Fig. 2. Agarose gel electrophoresis patterns of different genotypes in POU1F1 of pigs. PCR products digested in *Msp* I. The DD genotype shows two digested fragments(480, 343 bp), CD genotype shows one undigested fragments(823 bp) and two digested fragments(480 and 343 bp) and CC genotype shows one undigested fragments(823 bp). Line 1 is Molecular size maker 100 bp ladder plus(GeneRuler™, Fermentas, USA)

과 호모형은 DD형으로 분류되었으며, 그 대립유전자는 C와 D가 존재하고 있었다.

총 268두 중 DD 유전자형은 226두(84.3%)로 가장 많은 출현율로 나타났으나, 그 다음은 CD형으로 40두(14.9%)가 출현하였고, CC형은 2두(0.75%)로 매우 낮게 나타났다. 대

립유전자 빈도에서는 D 유전자가 0.918의 매우 높은 출현 빈도를 보인 반면에 C 유전자 빈도는 0.082로 매우 낮게 출현하였다. 우리나라에서 사육중인 3원 교잡종 집단의 Hardy-Weinberg 법칙에 따른 적합도 검정 결과에서는 유의성 없이( $p>0.05$ ) 유전적 평형을 유지하고 있는 것으로

Table 2. Genotypic frequencies for the POU1F1 gene and statistical test for Hardy-Weinberg equilibrium

Genotype	No. of pigs	Percentage	Gene frequency	
			C	D
CC	2( 1.81)	0.75		
CD	40( 40.39)	14.93	0.082	0.918
DD	226(225.81)	84.33		
Total	268(268.00)	100.00		
$\chi^2$ -test		$\chi^2$ -value: 0.025 <sup>NS</sup> df: 1		
Probabilities		0.75<p<1.00		

( ) : No. of expected, <sup>NS</sup> Not-significant( $p>0.05$ ).

나타났다.

이러한 유전자형 빈도는 Song 등(2005)이 유럽종으로 Landrace와 Duroc종에서 CC형은 각각 6.3%와 5.1%로 매우 낮은 출현율을 보였으며, CD형은 각각 20.8%와 19.0%로 나타났으나, DD형은 72.9%와 75.9%로 출현되었다는 보고결과와 대체적으로 유사하였으나, 중국종으로 Meishan 종과 Jiangquhai 종의 CC 유전자형은 각각 73.3%와 80.0%로 비교적 높은 출현율인 반면에, DD종은 2품종 모두 3.3%로 보고한 것과는 서로 상이하였는데, 이러한 결과는 품종 고유의 유전적 차이에 기인한 것으로 사료된다. 그리고 대립유전자 D는 미트타입(meat type) 돼지에서 많이 출현되고 관여하는 것으로도 알려졌다(Yu 등, 1995; Song 등, 2005).

2. POU1F1 유전자의 SNP 유전자형에 따른 도체특성

돼지에서 POU1F1 SNP 유전자형 중 CC 유전자형은 2두 밖에 출현되지 않아 본 연구에서는 통계처리가 불가능하여 제외하고 CD와 DD형에 따른 돼지의 주요 도체 형질인 등지방두께, 도체중, Hunter L\*, a\*와 b\*값, pH 등에 대한 분석된 결과는 Table 3과 같다.

등지방두께의 경우는 두 유전자형 집단간에 유의성은 없으나(p>0.05), CD와 DD 유전자형 그룹에서 각각 12.20 mm과 13.29 mm로 헤테로 CD 그룹보다는 호모인 DD 유전자형을 가진 집단에서 두꺼운 경향을 보였다. 도체중에서는 DD유전자형 그룹(79.79 kg) 보다는 CD 유전자형 개체(85.50 kg)가 유의성은 없이(p>0.05) 무거운 경향으로 나타났다. 이러한 결과는 Stanekova 등(1999)이 Yorkshire 종과 Yorkshire × Landrace 교잡종에서 DD type에서 지방량이 높아진다는 결과와 유사하였으나, Yu 등(2001)이 등지방 두께에서 CC type이 CD type이나 DD type 보다 유의하게

두꺼워졌다는 보고와는 서로 상이하였다.

육색도로 Hunter L\* 값(명도)은 CD 유전자형(L값: 37.26) 보다 DD 유전자형(L값: 40.15) 집단이 밝은 것으로 나타났으나(p<0.05), Hunter a\*값(적색도)과 b\*값(황색도)에서는 모두 유의성 없이 서로 비슷한 적색도와 황색도를 보였다. 등급판정소의 육색도 판정(1-6)에 의한 결과에서 동형 DD 유전자형(3.91) 보다는 CD 유전자형 그룹(5.09)에서 고도로 유의하게(p<0.001) 짙은 수준으로 나타났다. 이와 같이 CD 유전자형 그룹에서 DD 유전자형 그룹보다 Hunter L값이 낮아지고, 육색도의 값이 높아지는 결과는 육색도가 짙어지는 것에 기인하는 것으로 분석되었다. 그리고 pH 경우에는 CD와 DD 유전자형 두 그룹에서 서로 유의한 차이가 없이(p>0.05) 비슷한 산도를 보였다.

이러한 평균결과는 최 등(2005)이 DD종과 LYD종에서 Hunter L 값이 각각 45.72와 45.38, a값은 5.59와 4.10, 그리고 b값은 3.90과 4.19로 보고하였다. pH는 DD종과 LYD종에서 각각 6.28과 5.24로 보고한 결과와 Hunter L값은 약간 낮은 반면에, a와 b값은 모두 높은 것으로 나타났다. 이러한 차이는 유전보다는 사료와 같은 환경적 요인에 기인된 것으로 사료된다. 그리고 근내지방도의 품종간 교배 실험에서 3원교잡 LYD(Duroc) 종과 2원교잡 YB(Berkshire)의 근내지방도(1-4점)는 각각 1.80점과 2.00점으로 조사되었는데, 여기에서 근내지방도는 Duroc종 보다는 Berkshire 종에서 유전적으로 더 영향을 미치는 것으로 보고하였다(오 등, 2008). POU1F1 DD 유전자형은 성장호르몬(GH) 순환을 보다 저조하게 하나 출생 시 최유호르몬(prolactin)의 분비를 촉진하는 기능을 하는 것으로 보고하였다(Sun 등, 2002). 그리고 Yu 등(1996)은 CC유전자형 개체는 출생체중이 더 무거운 것으로 보고되어 돼지의 성장과 육질관련 형질과의 관계는 더욱 깊이 있는 연구가 되어야 할 것으로 사료된다.

Table 3. Association analysis between the genotypes at the POU1F1 gene and carcass data

Trait	Genotype			p-values
	CD	DD	Mean±SE	
Backfat thickness (mm)	12.20±1.11	13.29±0.71	13.00±0.60	0.427 <sup>NS</sup>
Carcass weight (kg)	85.50±4.50	79.79±1.67	81.29±1.71	0.143 <sup>NS</sup>
Hunter L*	37.26±1.02	40.15±0.70	39.43±0.60	0.035*
a*	16.55±1.12	17.60±0.39	17.33±0.41	0.264 <sup>NS</sup>
b*	10.15±0.54	11.12±0.32	10.87±0.28	0.129 <sup>NS</sup>
Visual color <sup>1)</sup>	5.09±0.20	3.91±0.13	4.20±0.12	0.000***
pH	5.73±0.08	5.32±0.04	5.64±0.03	0.167 <sup>NS</sup>

<sup>1)</sup> 1= pale, 6= dark purple red.

<sup>NS</sup> Not-significant, \*: p<0.05, \*\*\*: p<0.001.

## IV. 요약

본 연구는 비육돈 268두를 대상으로 13번 염색체 중 POU1F1 intron 3영역의 유전자 Single Nucleotide Polymorphism(SNP)은 *Msp* I 제한효소에 의해서 구분된다. 직접 제작한 Primer로 POU1F1 유전자 중 intron 3영역을 증폭할 수 있도록 제작하였고, 823bp의 증폭산물을 기대할 수 있었다. 그 SNP 유전자형을 3개 군으로 분류하여 빈도 추정과 함께 육질관련 형질과의 연관성을 분석한 결과는 다음과 같다.

POU1F1 SNP의 DD 유전자형은 84.33%로 가장 높은 출현율을 보인 반면에 CC 유전자형은 0.75%로 매우 낮게 나타났다. 대립유전자 D 빈도는 0.918로 매우 높게 출현하였으나, C 빈도는 0.082로 매우 낮게 출현하였다. Hardy-Weinberg 법칙에 따른 적합도 검정에서는 유의성 없이 ( $p>0.05$ ) 유전적 평형을 이루고 있는 집단임을 알 수 있었다. CD와 DD 유전자형 집단에서 등지방두께, 도체중, Hunter a 및 b값, 그리고 pH에서는 모두 유의한 차이를 보이지 않았으나, Hunter L\*값은 CD(37.26) 보다 DD(40.15) 유전자형 개체군에서 길게 나타났고( $p<0.05$ ), 육색도판에 의한 육색은 DD(3.91) 보다 CD(5.09) 유전자형 개체에서 길게 나타났다( $p<0.001$ ). 따라서 이러한 POU1F1 유전자의 SNP 유전자형은 돼지의 성장이나 도체관련 형질과의 연관성을 더욱 깊이 있게 탐색하여 명확한 구명으로 우량 돈 육 생산을 위한 DNA marker로 활용되어야 할 것으로 사료된다.

## V. 인용 문헌

- Brunsch, C., Sternstein, I., Reinecke, P. and Bieniek, J. 2002. Analysis of associations of PIT1 genotypes with growth, meat quality and carcass composition traits in pigs. *J. Appl Genet.* 43:85-91.
- Chung, H. O., Kato, T., Tomizawa, K. and Kato, Y. 1998. Molecular cloning of Pit-1 cDNA from porcine anterior pituitary and its involvement in pituitary stimulation by growth hormone-releasing factor. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 106: 203-210.
- Cohen, L. E., Wondisford, F. E. and Radovick, S. 1996. Role of Pit-1 in the gene expression of growth hormone, prolactin, and thyrotropin. *Endocrinol Metab Clin North Am* 25:523-540.
- Davoli, R. and Braglia, S. 2007. Molecular approaches in pig breeding to improve meat quality. *Brief Funct Genomic Proteomic.* 6(4):313-21.
- Ingraham, H. A., Albert, V. R., Chen, R., Crenshaw, E. B., Elsholtz, H. P. and He, X. 1990. A family of POU-domain and PIT1 tissue-specific transcription factors in pituitary and neuroendocrine development. *Annu Rev Physiol.* 52:773-791.
- Martel, J., Minvielle, F. and Poste, L. M. 1988. Effects of crossbreeding and sex carcass pork quality traits in Duroc and Landrace pig I: Breed effects. *J. Anim. Sci.* 66:41-46.
- Martens, H. 1998. Physiologie der Muskulature und das MHS-Gen des Schweines: Zur Diskussion umeine Eliminierung des mutierten Ryanodin Rezeptors aus der deutschen Schweinezucht. *Arch. Tierzucht. Dummerstorf.* 41:179-192.
- Moody, D. E., Pomp, D., Newmann, S. and MacNeil, M. D. 1996. Characterization of DNA polymorphisms in three populations of Hereford cattle and their associations with growth and maternal EPD in line 1 Herefords. *J. Anim. Sci.* 74:1784-1793.
- Song, C., Gao, B., Teng, Y., Wang, X., Wang, Z., Li, Q., Mi, H., Jing, R. and Mao, J. 2005. MSP I polymorphisms in the 3rd intron of the swine POU1F1 gene and their associations with growth performance. *J. Appl. Genet.* 46(3):285-289.
- Stancekova, K., Vasicek, D., Peskovicova, D., Bulla, J. and Kubek, A. 1999. Effect of genetic variability of the porcine pituitary-specific transcription factor (PIT-1) on carcass traits in pigs. *Anim. Genet.* 30:313-315.
- Sun, H. S., Anderson, L. L., Yu, T. P., Kim, K. S., Klindt, J. and Tuggle, C. K. 2002. Neonatal Meishan pigs show POU1F1 genotype effects on plasma GH and PRL concentration. *Anim. Reprod. Sci.* 69:223-237.
- Yu, T. P., Rothschild, M. F., Tuggle, C. K., Haley, C., Archibald, A. and Marklund, L. 1996. PIT1 genotypes are associated with birth weight in three unrelated pig resource families. *J. Anim. Sci.* 74:122.
- Yu, T. P., Tuggle, C. K., Schmitz, C. B. and Rothschild, M. F. 1995. Association of PIT1 polymorphisms with growth and carcass traits in pigs. *J. Anim. Sci.* 73:1282-1288.
- Yu, T. P., Sun, H. S., Wahls, S., Sanchez-Serrano, I., Rothschild, M. F. and Tuggle, C. K. 2001. Cloning of the full length pig PIT1 (POU1F1) cDNA and a novel alternative PIT1 transcript, and functional studies of their encoded proteins. *Anim. Biotechnol* 12:1-19.
- Warriss, P. D., Brown, S. N., Edwards, J. E. and Knowles, T. G. 1995. Effect of lairage time on levels of stress and meat quality in pigs. *Proceedings of EU-Seminar: New information on welfare and meat quality of pigs a related to handling, transport and lairage conditions, Mariensee, Germany.* 163-170.
- 김계웅, 김석은. 2009. 돼지의 교배조합, 도체등급 및 출하일령이 도체특성에 미치는 영향. *한국동물자원과학회지* 51(1): 69-74.

17. 박준철, 김영화, 정현정, 박범영, 이정일, 문홍길. 2005. 출하 체중에 따른 재래돼지와 랜드레이스의 도체 및 돈육의 이화학적 특성 비교. 한국동물자원과학회지 47(1): 91-98.
18. 오하식, 김현열, 양한슬, 이정일, 주영국, 김철욱. 2008. 돼지 품종의 교배조합간 육질 특성 비교. 한국축산식품학회지 28(2):171-180.
19. 최염순, 박범영, 이종문, 이성기. 2005. 재래흑돼지와 개량종 돼지의 도체 및 육질 특성 비교. 한국축산식품학회지 25(3): 322-327.
- (접수일자: 2009. 7. 16. / 수정일자: 2009. 8. 11. / 채택일자: 2009. 8. 13.)