

3원교잡 비육돈 집단에 대한 이력추적용 13 Microsatellite Marker의 판별효율 및 혈연관계 추정효율 실증 연구

임현태¹ · 김병우¹ · 조인철³ · 유채경¹ · 박문성¹ · 박희복¹ · 이재봉¹ · 이정규^{1,2} · 전진태^{1,2*}

¹경상대학교 응용생명과학부(BK21), ²경상대학교 농업생명과학연구원, ³농촌진흥청 국립축산과학원

An Empirical Study on Verifying the Estimated Discrimination and Parentage Test Powers of the 13 Traceability Microsatellite Markers for Commercial Pigs Produced by a Three-way Cross

Hyun-Tae Lim¹, Byeong-Woo Kim¹, In-Cheol Cho³, Chae-Kyoung Yoo¹, Moon-Sung Park¹, Hee-Bok Park¹, Jae-Bong Lee¹, Jung-Gyu Lee^{1,2} and Jin-Tae Jeon^{1,2*}

¹Division of Applied Life Science (BK21 program) Graduate School of Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Gyeongnam, Korea, ²Institute of Agriculture and Life Science, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Gyeongnam, Korea, ³National Institute of Animal Science, R. D. A., Jeju 690-120, Korea

ABSTRACT

Using the materials collected from nine farms in a three-way cross system to produce commercial pigs produced from F1 sows (Landrace × Large White) × Duroc, the power of individual discrimination and parentage of the 13 microsatellite (MS) marker set that has been suggested for individual/brand identification (traceability) was empirically tested. Initially, genotypes of the parental population (F₁ sows and Duroc), and commercial pigs were determined and the genotype frequency and polymorphic index were estimated using the Cervus 2.0 program. The probability of identity among genotypes of random individuals, that random half sibs and that of full sib individuals, based on the genotypes from 91 F₁ sows and Duroc were expected to be 4.94×10^{-34} , 8.16×10^{-23} and 2.01×10^{-08} , respectively, using the API-CALC version 1.0 program. When commercial pigs were included, the estimates increased to 3.74×10^{-35} , 5.48×10^{-25} and 2.96×10^{-11} , respectively. For the empirical verification of the estimated powers of individual discrimination and parentage, the parentage test was performed for 452 commercial pigs using PAPA version 2.0, and individuals with the same genotype were investigated using the Cervus version 2.0 program. Parents for all commercial pigs were successfully estimated and no identical individual was identified in the pedigree. Although the individual discriminating power was not fully verified because of the lack of individuals corresponding with the theoretical power, the 100% efficiency of parentage test was clearly confirmed. Therefore, we believe that the 13 MS marker set in conjunction with management record/information for the pig production kept in a farm/brand should be useful in the pork traceability in a brand unit.

(Key words : Microsatellite, Identification, Parentage test, Pork traceability)

서 론

2000년대 이후 본격적인 외국산 농산물들이 수입되면서 국내에서 생산되는 농산물은 무한 경쟁상황에 놓이게 되었다. 동물산업의 경우 국내에서 생산되는 축산물들이 가격경쟁력이 높은 수입 축산물들과의 경쟁에 어려움을 해결하기 위한 방안이 필요하였고 또한 국내 소비자들은 수입축산물들의 안전성에 관심이 크게 높아지면서 그 대안으로 DNA를 이용한 이력추적제가 제시되었다. 한우의 경우 농림수산식품부에서는 “소 및 쇠고기의 개체식별을 위한

DNA 동일성검사방법”을 고시하여 2009년도부터 시행하므로써 한우에 대한 경쟁력을 높이고 수입쇠고기의 부정육과 둔갑육(수입육의 한우 둔갑) 단속 그리고 질병에 감염된 지육의 유통 등이 발생했을 경우 정확한 근원지 파악이 가능해져 소비자의 신뢰확보 및 유통체계 개선으로 소비자가 안심하고 구분하여 선택할 수 있는 기회를 제공하고 있다. 국외의 경우 유럽의 12개 국가에서 RFID (Radio Frequency Identification)와 DNA를 이용한 기술들에 대한 비교 분석을 통해 식품에 대한 이력추적 기술들을 점검 및 활용 방안 제안 등 안전한 먹거리에 대한 검증방법에 관심이 높아지고

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

있다(Chrysochou 등, 2009). DNA를 이용한 기술 중 대표적인 방법은 microsatellite (MS) marker를 이용한 방법으로 MS marker는 실험상의 용이성이 좋고, 다형성이 높아 가족 집단의 유전적 다양성 분석 등에 사용되고 있으며(Barker 등, 1997; Blott 등, 1999; Bjornstad 등, 2003), 유럽과 중국의 다양한 돼지 품종의 유전적 다형성을 분석하기 위해 활용되고 있다(Van-Zeveran 등, 1995; Laval 등, 2000; Li 등, 2000; Martinez 등, 2000). 또한 국제동물유전학회(<http://www.isag.org.uk/comptest.asp>) 및 Rosline 연구소(<http://projects.roslin.ac.uk/pigbiodiv/markers.html>)에서는 돼지의 경우 개체식별과 친자감별 그리고 계통유전학 등에 이용할 수 있는 50여종의 MS marker를 선정하여 권장하고 있으며, 2003년부터 15종의 MS marker(S0005, S0090, S0101, S0155, S0355, S0386, SW24, SW240, SW857, SW951, SW72, SW936, SW911, S0228, S0227)를 2개의 Multiplex group으로 나누어 비교동정 test를 시행하고 있다. 국내의 경우 2009년 임 등이 한우를 대상으로 14종의 MS marker와 60종의 SNP marker를 이용해 개체식별 및 친자감별 등에 관한 판별 효율성 검증을 실시하였다.

우리나라 국민들이 가장 많이 소비하는 돼지고기의 경우 다양한 브랜드로 판매되고 있으며, 2009년도엔 약 30만 톤, 금액으로 약 7억 불(농림수산식품부, 2009)의 돼지고기가 미국, 캐나다 및 칠레 등에서 수입 되고 있는 상황이다. 그러나 돼지고기의 원산지가 육안적 식별이 불가능하다는 점 때문에 일부 부도덕한 유통업자들에 의하여 수입 돈육이 국내산 돈육으로 또는 비 브랜드 육이 유명 브랜드 육으로 둔갑 유통시키는 사례가 발생하고 있으며, 이를 방지하기 위한 과학적 감식기법으로 DNA marker를 기반으로 하는 이력추적제 시행이 대안으로 제시되고 있다. 2001년 Nechtelberger 등은 10종의 MS 마커를 이용해 오스트리아의 Landrace, Pietrain 그리고 Large White를 이용한 parentage test를 통해 99% 이상의 친자감별률을 검증하였고, 또한 2001년 Kaul 등은 13종의 MS marker를 이용하여 인도 재래돼지를 대상으로 개체식별력을 분석한 결과 3.51×10^{-19} 의 추정치를 얻었다. 국내의 경우 임 등(2009)은 13종의 MS marker를 이용하여 3품종의 3원 교잡 시스템에서 생산된 비육돈을 대상으로 무작위교배, 반형매교배 그리고 전형매교배 집단으로 가정하여 개체식별력을 추정한 결과 2.47×10^{-18} , 6.39×10^{-13} 그리고 1.08×10^{-8} 의 추정치를 얻었으며, 김 등(2010)은 51종의 SNP(single nucleotide polymorphism) marker를 이용하여 Landrace, Large White와 Duroc 3품종의 순종과 이로부터 생산된 F₁과 F₂를 포함하는 437두를 대상으로 무작위교배, 반형매교배 그리고 전형매교배 집단으로 가정해 개체식별력을 추정한 결과 5.63×10^{-33} , 4.35×10^{-15} 그리고 1.32×10^{-15} 으로 추정하였다.

그러나 이러한 추정치들은 제한된 두 수의 순종으로부터 얻어진 각 marker들의 다형성지수를 기반으로 추정된 수치이며 실제 이들 추정에 사용된 순종 집단을 기반으로 형성된 후대집단을 형성하여 검증된 바 없다. 현재 국내에서 일반적으로 행해지는 계열화 3원

교잡에 의한 비육돈 생산 체계 하에서 Landrace × Large White F₁ 모돈은 전형매 및 반형매 관계일 가능성이 높으며, 이들은 제한된 Duroc 종모돈에 인공수정에 의하여 교배되기 때문에 각 세대에서는 일종의 큰 반형매 집단이 형성될 수 있다. 그리고 이 큰 반형매 집단은 각각의 F₁ 모돈이 연간 18.4두의 전형매 자돈을 그리고 생애동안 총 약 60~70두의 전/반형매 자돈을 생산해 출하한다(대한양돈협회, 2010). 즉 현재의 브랜드 단위의 3원 교잡종 비육돈 집단은 모돈을 기준으로 보면 전형매/반형매의 소집단이고 이들 소집단이 모여서 몇몇 종모돈을 중심으로 형성된 큰 반형매 집단을 형성한다고 볼 수 있다. 이와 같이 25% 이상의 유전물질을 공유하고 있는 3원 교잡 비육돈 집단에서 추정된 이력추적용 DNA marker들의 판별 추정치로만 그 효율을 나타내는 것 보다는 반드시 실증 집단을 대상으로 동일한 유전자형 개체의 출현 빈도, 부모 판정 효율성이 실제 추정치와 일치하는지 등을 검증할 필요성이 있을 것으로 사료된다.

따라서 본 연구는 2009년 임 등이 제안한 13종의 MS marker set에 대하여 3품종의 3원 교잡 시스템을 이용해 비육돈을 생산하는 농가를 대상으로 Landrace와 Large White를 통해 생산된 F₁ 모돈과 Duroc 웅돈을 대상으로 MS marker의 판별효율 및 친자감별력에 대한 이론치를 추정하고, 이 추정치를 실제 비육돈 집단을 대상으로 검증하고자 실시하였다. 또한 실증 결과를 바탕으로 13 MS marker set을 이용한 국내 양돈산업에 적합한 이력추적시스템 모델을 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 공시 동물과 DNA 추출

Landrace, Large White와 Duroc 3품종의 3원 교잡 시스템을 이용해 비육돈을 생산하는 9개 농장을 대상으로 웅돈으로 사용되는 Duroc 16두와 Landrace × Large White를 교배하여 생산한 F₁ 모돈 141두를 이용하여 비육돈 452두를 생산하여 총 609두를 공시 동물로 사용하였다. Duroc 16두와 F₁ 모돈 141두의 경우 모근 시료를 채취해 모근 부착상태가 좋은 5~10가닥 내외의 모근을 200 μ l 용적의 PCR용 tube에 들어가도록 잘라 넣은 후 5% chelex (BIO-LAD, USA) 100 μ l와 1 mg/ml proteinase K (SIGMA, USA) 1 μ l를 첨가한 후 55°C의 water bath에서 overnight 시킨 후 시료를 100°C 물에서 15분간 끓인 다음 상온에서 완전히 식힌 후 3000 rpm에서 5분간 원심분리 시켜 계놈 DNA를 추출하였고, 비육돈 452두의 경우 도축 시 방혈과정 중에 혈액을 채취하여 계놈 DNA 추출 키트(Promega, USA)를 이용해 계놈 DNA를 분리하였다.

2. 대립유전자형 분석용 MS marker

임 등(2009) 이 제안한 13종의 MS marker (SW936, SW951,

SW787, S00090, S0026, SW122, SW857, S0005, SW72, S0155, S0225, SW24 and SW632)와 2개의 성감별 primer를 이용하여 개체별 대립유전자형 분석에 활용하였다.

3. Multiplex PCR 및 MS 분석

Multiplex PCR은 template DNA 50 ng/ μ l, primer Mix 8.25 μ l, Hot-start Taq DNA polymerase 0.4 μ l (Bioneer, Korea), 10 \times buffer 1.5 μ l, 0.25 mM dNTP 1.2 μ l MgCl₂ 1.1 μ l 그리고 DMSO 0.25 μ l의 조성에 증류수를 첨가하여 최종 부피를 15 μ l로 반응하였으며, PCR 조건은 95 $^{\circ}$ C에서 15분간 denaturation을 실시한 후 94 $^{\circ}$ C에서 60초, 55 $^{\circ}$ C에서 75초, 72 $^{\circ}$ C에서 60초를 1 cycle로 하여 5회, 94 $^{\circ}$ C에서 60초, 54 $^{\circ}$ C에서 75초, 72 $^{\circ}$ C에서 60초를 1 cycle로 하여 10회 그리고 94 $^{\circ}$ C에서 60초, 53 $^{\circ}$ C에서 75초, 72 $^{\circ}$ C에서 60초를 1 cycle로 하여 25회 반복하는 Touch Down PCR 방법을 사용하였다. 그 후 65 $^{\circ}$ C에서 30분 extension 후 4 $^{\circ}$ C에서 종료하였다. PCR 산물은 ABI-3130xl 자동염기서열 분석장치 (Applied Biosystems, USA)를 이용하여 크기별로 분류되도록 전기영동하고, GeneMapper version 4.0 (Applied Biosystems, USA)을 이용하여 크기와 표식자의 종류별로 분류한 후 Microsoft Excel (Microsoft, USA)을 이용하여 자료를 취합하였다.

4. 자료의 통계분석

F₁ 모돈과 Duroc 웅돈집단의 대립유전자형을 이용해 MS Marker의 다형성지수인 heterozygosity (*He*)와 polymorphic information content (*PIC*), 친자감정확률 probability of parent exclusion when both parents are unconfirmed (*PE_{pu}*)와 probability of paternity exclusion (*PE*) 그리고 Hardy-Weinberg equilibrium (*P*-value)는 Cervus version 2.0 (Marshall 등, 1998)의 allele frequency analysis option을 이용하여 추정하였으며, 무작위 교배집단, 반형매 교배집단 그리고 전형매 교배집단 가정하에서의 동일개체 출현확률 값은 API-CALC version 1.0 (Ayres와 Overall, 2004)을 이용하여 추정하였다. 그리고 비육돈 집단에 대한 친자감별은 PAPA 2.0 (Duchesne 등 2002)을 이용하였으며, 감별 방법은 부모 집단인 F₁ 모돈과 Duroc 웅돈 중 실제로 교배에 사용된 개체를 선발하여 성별을 구분하고, 친자감별 시 감별기준인 Error model을 No error와 Uniform error=0.02 model로 설정하여 각각 친자감별을 실시하였다. Error model 중 No error는 100% 대립유전자형이 일치하는 친부모만을 선발하는 것이고, Uniform error=0.02 model은 2%의 대립유전자형 오류를 감안하고 친부모를 선발하는 것을 의미한다. 그리고 친자감별결과에 대한 신뢰도를 검증을 위해 F₁ 모돈과 Duroc 웅돈의 유전자형을 이용하여 가상으로 실제 생산된 비육돈 452두와 동일한 두수만큼 No error model로 100회 반복하여 친자감별 추정치의 신뢰도를 simulation option을 이용하여 검증하였다.

결과 및 고찰

본 연구에 사용된 Landrace와 Large White를 교배시켜 생산한 F₁ 모돈 집단과 웅돈으로 사용한 Duroc 집단을 대상으로 13종의 MS marker에 대한 genotyping 결과를 바탕으로 marker별 allele 분포와 다형성지수 (*He*와 *PIC*)를 Cervus version 2.0 프로그램 (Marshall 등, 1998)을 이용하여 분석한 결과를 Table 1에 나타내었다. 그 결과 총 102개의 대립유전자형이 나타났으며, 그 중 S0005에서는 14개의 대립유전자형이 나타나 가장 많은 종류의 대립유전자형을 보였으며, S0026에서는 4개의 대립유전자형이 나타나 가장 적은 수의 대립유전자형을 보였다. 그리고 *He* 및 *PIC* 추정치는 가장 많은 대립유전자형을 보인 S0005에서 0.888와 0.881로 나타났고, 5개의 대립유전자형을 나타낸 S0225의 *He* 및 *PIC* 추정치가 각각 0.326으로 가장 낮은 것으로 추정되었다. 이는 S0225에서 출현하는 5개의 대립유전자형 중 하나의 대립유전자형에 분석 시료의 80%가 homozygote 또는 heterozygote 형태로 고정되어 나타나는 것이 주된 원인으로 추정되었다. MS marker에 대한 Hardy-Weinberg 평형 (HWE) 검증 결과, SW122와 SW72가 통계적 유의성을 나타내었다.

무작위 교배집단, 반형매 교배집단 그리고 전형매 교배집단으로 가정하여 MS marker에 대한 대립유전자형의 동일개체 출현확률 (probability of identity; *PI*, probability of identity from half sibs; *PI_{half-sibs}*, and probability of identity from sibs; *PI_{sibs}*)을 API-CALC version 1.0 (Ayres와 Overall, 2004)을 이용해 추정

Table 1. Characterization of 13 MS markers in the pig population used in this study

Locus	No. of alleles	N	<i>He</i>	<i>PIC</i>	Hardy-Weinberg equilibrium (<i>P</i> -value)
S0005	14	157	0.888	0.881	0.149
S00090	7	157	0.753	0.687	0.400
S0026	4	157	0.656	0.623	0.930
S0155	7	157	0.672	0.570	0.469
S0225	5	157	0.326	0.326	0.780
SW122	9	157	0.878	0.829	0.001
SW24	8	157	0.833	0.761	0.188
SW632	10	157	0.726	0.722	0.289
SW72	6	157	0.807	0.704	0.002
SW787	7	157	0.772	0.743	0.663
SW857	10	157	0.743	0.776	0.136
SW936	9	157	0.806	0.705	0.068
SW951	6	157	0.626	0.515	0.291
Overall	102	—	0.719	0.680	—

하였다. 부모 집단인 F₁ 모돈 141두와 웅돈으로 사용된 Duroc 16 두 중 157두를 대상으로 추정된 결과 무작위 교배집단 (PI)에서는 4.94×10^{-34} , 반형매 교배집단 ($PI_{half-sibs}$)은 8.16×10^{-23} 그리고 전형매 교배집단 (PI_{sibs})은 2.01×10^{-08} 으로 추정되었으며, 부모 집단 157두와 생산된 비육돈 452두를 포함한 전체 609두에 대한 추정치는 무작위 교배집단 (PI)에서는 3.74×10^{-35} , 반형매 교배집단 ($PI_{half-sibs}$)은 5.48×10^{-25} 그리고 전형매 교배집단 (PI_{sibs})은 2.96×10^{-11} 으로 이론적 추정되었다 (Table 2). 이러한 추정치는 부모집단과 비육돈을 대상으로 51종의 SNP를 이용해 2010년 김 등이 보고한 동일개체 출현확률치와 비교하면 부모 집단과 비육돈 대상인 경우 무작위 교배집단에서는 100배, 반형매 교배집단에서는 10^{10} 배 높게 추정되었고, 부모 집단만 이용하여 추정된 경우도 무작위 교배집단에서는 10배, 반형매 교배집단에서는 10^8 배 높게 추정되었다. 따라서 3품종의 3원 교잡 축군을 이용하여 동일개체 출현확률치를 추정할 경우 13종의 MS marker가 2010년 김 등이 제안한 51종의 SNP 보다 높은 추정치를 나타내었으나, 직접적인 효율성 비교는 동일한 집단을 대상으로 두 종류의 marker에 대한 추정치를 유추할 수 있는 연구가 필요하다고 사료되어 진다.

동일개체 출현 확률 추정치 경우 어떤 축군을 분석에 포함하여 추정하느냐에 따라 추정치는 달라 질 수 있는데, 3품종의 3원 교잡 축군 중 비육돈에 대한 동일개체 출현 확률 추정은 비육돈 개체별 동일성 검사를 실시하는 것이 비현실적인 바 큰 의미를 둘 수 없다. 그러나 본 논문의 결론 부분에서 제시하고자 하는 부모추정에 의한 비육돈 검증시스템을 활용할 경우 비육돈의 부모집단 즉 F₁과 Duroc의 유전자형 자료만을 이용하여 추정된 판별율 추정치가 보다 현실적인 이론적 추정치라 사료된다.

그리고 Cervus version 2.0 (Marshall 등, 1998)을 이용해 친자 감정확률 (probability of parent exclusion when both parents are unconfirmed ; PE_{pu})와 probability of paternity exclusion; (PE) 추정치를 부모집단만 이용하여 분석한 결과 PE_{pu} 의 경우

0.999951이었으며, PE일 경우 1.000000으로 나타났으며, 비육돈을 포함한 PE_{pu} 의 경우 0.999983이었으며, PE일 경우 1.000000으로 나타나 100% 친자감정이 가능한 것으로 추정되었다. 이론 추정치를 검증하기 위해 F₁ 모돈과 Duroc 웅돈에서 생산된 비육돈 452두를 대상으로 PAPA 2.0 (Duchesne 등 2002)을 이용하여 친자를 검증한 결과 100% 친부모를 확인 할 수 있었다 (Table 3). 이 검증에서는 PAPA 2.0의 친자감별 기준이 되는 error model을 최대 설정치인 No error로 설정하여 감별을 실시한 결과 한 쌍의 부모 조합 (allocation)만 감별된 개체는 93%로 420두였고, 두 쌍 이상의 부모 조합 (ambiguous)을 제시한 개체는 7%로 32두였으며, 감별이 불가능 (null)한 개체는 0%로 감별되었다. 그리고 error model을 Uniform error=0.02로 설정하여 감별한 결과 한 쌍의 부모 조합 (allocation)만 감별된 개체는 98%로 443두였으며, 두 쌍 이상의 부모 조합 (ambiguous)을 제시한 경우는 2%로 9두였고, 감별이 불가능 (null)한 경우는 0%로 감별되었다. 두 종류의 error model에서 나타난 두 쌍 이상의 부모 조합 (ambiguous)을 제시한 41두의 경우 각각의 교배조합 정보를 검토한 결과 모두 부모 조합을 포함하고 있는 것으로 확인되었다. 약 2~7%의 두 쌍 이상의 부모조합 (ambiguous)을 제시한 경우는 한정된 부모집단 내 한정된 대립유전자형을 통해 대량의 비육돈이 생산되다 보니 대립유전자형의 가능한 경우의 수가 한정되어 나타나는 문제로서 각 농장에서 관리하고 있는 교배 및 개체 생산 정보를 통해 간단히 확인하여 해결할 수 있었다. 또한 본 연구에서는 실시하지 않았지만 필요한 경우, 추가로 2~3종의 MS marker 분석을 실시한다면 정확한 친자감별이 가능할 것으로 사료된다. 그리고 친자감별 결과의 신뢰성을 검증하기 위해 PAPA 2.0의 simulation option을 이용하여 부모집단이 가지고 있는 대립유전자형을 토대로 실제 감별에 이용한 비육돈 452두와 같은 두수의 가상의 비육돈을 설정하고 No error로 100회 반복하여 감별결과를 유추한 결과 한 쌍의 부모 조합 (allocation)만 제시할 확률은 $95 \pm 0.01\%$ 이고, 두 쌍 이상의 부모

Table 2. Expected probability of identity among genotypes of random individuals (PI), probability of identity among genotypes from random half sibs ($PI_{half-sibs}$), probability of identity among genotypes from random sibs (PI_{sibs}), exclusionary power of the second parent (PE), and the probability of parent exclusion when both parents are unconfirmed (PE_{pu})

13 MS	PI	$PI_{half-sibs}$	PI_{sibs}	PE_{pu}	PE
Parents group	4.94×10^{-34}	8.16×10^{-23}	2.01×10^{-08}	0.999951	1.000000
Total group	3.74×10^{-35}	5.48×10^{-25}	2.96×10^{-11}	0.999983	1.000000

Table 3. Discriminating power and correctness for the parentage-tested samples using the PAPA 2.0 program

	Allocation (No. of sample)	Ambiguous (No. of sample)	Nulls (No. of sample)
Power	No error	0.93 (420)	0.07 (32)
	Uniform error = 0.02	0.98 (443)	0.02 (9)
Correctness under No error		0.95 ± 0.01	0.05 ± 0.01

조합 (ambiguous)을 제시할 확률은 $5 \pm 0.01\%$ 이며, 감별이 불가능 (null)할 확률은 0%로 분석되었다.

3품종을 이용한 3원교잡 축군을 대상으로 13종의 MS marker의 이력추적 효율성을 검증하기 위해 2009년 임 등이 보고한 Landrace와 Large White를 교배한 F₁ 330두와 비육돈 400두 생산에 이용된 Landrace, Large White 그리고 Duroc 순종 214두를 본 연구에서 사용한 시험 축군 중 부모집단 157두를 이용하여 동일한 MS marker 분석 결과를 하나씩 순차적으로 증가시켜 각 집단의 동일개체 출현확률과 친자감별 추정치의 증가폭을 API-CALC version 1.0 (Ayres와 Overall, 2004)과 Cervus version 2.0 (Marshall 등, 1998)을 이용해 효율성을 검증한 결과 동일개체 출현확률 추정치의 경우 7개의 MS marker부터 2009년 임 등이 사용한 순종집단과 본 연구에 사용한 시험 축군 집단 (Duroc과 F₁ 모돈) 간의 추정치가 약 10⁵배 이상 차이를 보였으며, 이는 2009년 임 등이 사용한 Landrace와 Large White 순종에서 나타나는 대립유전자형 보다 순종 간 교배를 통해 생산된 F₁ 모돈에서 나타나는 대립유전자형의 다형성이 더 높기 때문이라고 판단되며, 친자

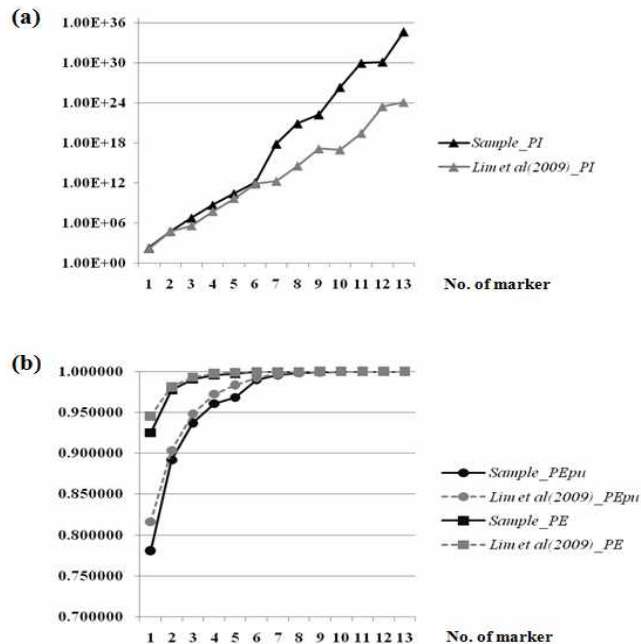


Fig. 1. Comparisons of cumulative discriminating powers of 13 MS markers between the population (GP) used in this study and one (GGP) used in Lim et al. (2009). The x-axis is number of marker used to estimate discriminating power (y-axis). The marker order for the cumulative analysis was as follow; S0005, S00090, S00090, S0155, S0225, SW122, SW24, SW632, SW72, SW787, SW857, SW936 and SW951. (a) expected probability of identity (PI) between the two data sets and (b) exclusionary power of the second parent (PE), and the probability of parent exclusion when both parents are unconfirmed (PE_{pu}) between the two data sets.

감별 추정치의 경우 두 집단 모두 8개의 MS marker부터 100%에 가까운 추정치를 나타내었다 (Fig. 1). 이러한 결과는 2009년 임 등이 이용한 집단은 GGP, 본 연구에서 이용한 실험 축군은 GP를 대변 할 수 있는 축군이라 할 수 있으며, 또한 추정된 판별효율로 미루어 볼 때 13종의 MS marker를 이용한 친자감별을 통해 GP와 GGP 두 집단 모두에서 이력추적이 가능 할 것으로 사료된다.

따라서 이상의 결과를 종합해 볼 때 13종의 MS marker를 이용해 브랜드 단위 또는 권역별로 나누어 종모돈과 종빈돈에 대한 대립유전자형 D/B를 구축하고 혈연관계 확인 및 전산정보 데이터 검증을 병행하는 역추적 시스템을 돼지고기 이력추적에 적용한다면 (Fig. 2), 국내 양돈산업에 적합 할 것으로 사료되어 진다.

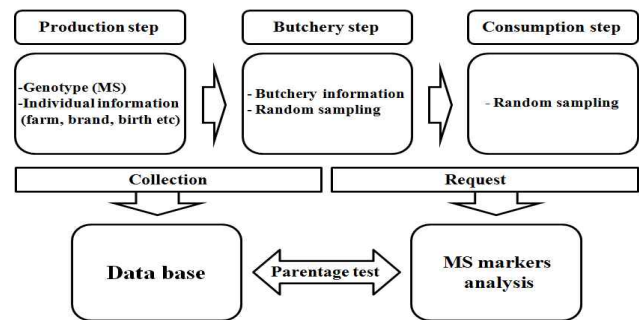


Fig. 2. A suggestion of the parentage-based pork traceability system using DNA maker.

요 약

본 연구에서는 Landrace, Large White와 Duroc 3품종의 3원 교잡 시스템으로 비육돈을 생산하는 9개 농가를 대상으로 Landrace와 Large White 교배를 통해 생산된 F₁ 모돈과 Duroc 용돈 그리고 비육돈을 이용하여 기 보고한 바 있는 돼지 이력추적 및 브랜드육 식별을 위한 13종의 MS marker의 개체판별능과 혈연관계 추정 효율을 실증하였다. 우선 F₁ 모돈과 용돈 즉 부모 집단을 대상으로 API-CALC version 1.0 프로그램을 이용하여 무작위 교배집단, 반형매 교배집단 그리고 전형매 교배집단으로 가정 시 개체 판별능이 각각 4.94×10^{-34} , 8.16×10^{-23} 그리고 2.01×10^{-08} 으로 추정되었으며, 비육돈을 포함한 추정치는 3.74×10^{-35} , 5.48×10^{-25} 그리고 2.96×10^{-11} 으로 추정되었다. 또한 Cervus version 2.0을 이용하여 친자감별률을 추정한 결과 100% 인 것으로 추정되었다. 이론적으로 산출된 상기의 수치들을 검증하기 위해 PAPA version 2.0 프로그램을 이용하여 비육돈 전체 452두에 대한 친자감별을 실시한 결과 100% 친부모를 확인 할 수 있었으며, Cervus 프로그램을 이용하여 전체 축군에서 동일한 대립유전자형을 가진 개체의 출현을 조사한 결과 동일개체는 존재하지 않는 것을 확인하였다. 비록 개체 판별능에 대한 실증은 제시한 이론적 판별능에 상응하는 두수를 검증하지는 못하였으나, 친자확인 의 경우는 제시한 이론적 효율성 100%는 실증적으로 검증되었다. 따라서 현재 국내에서 행해지는 3 품종 교잡에 의한 비육돈 생산 시스템

의 경우 본 연구의 결과로 비추어 볼 때 13 MS marker를 이용하여 체계화된 전산정보와 병행하여 계열화된 생산체계하의 브랜드 단위 또는 지역별 권역으로 구분하는 이력추적이 충분히 가능하다고 사료된다.

(주제어: 초위성체, 동일성검사, 친자감별, 돼지이력추적제)

사 사

본 연구에 참여한 대학원생은 교육과학기술부 2단계 BK21 사업의 장학금을 수혜 받았으며, 농림수산식품부 농림기술개발사업(과제번호 : 109177-03-1-SB010)의 지원에 의해 이루어진 연구결과의 일부이며 연구비 지원에 감사드립니다.

인 용 문 헌

- Ayres, K. L. and Overall, A. D. J. 2004. API-CALC 1.0: a computer program for calculating the average probability of identity allowing for substructure, inbreeding and the presence of close relatives. *Molecular Ecology Notes* 4:315-318.
- Barker, J. S. F., Tan, S. G., Selvaraj, O. S. and Mukherjee, T. K. 1997. Genetic variation within and relationships among populations of Asian water buffalo(*Bubalus bualis*). *Anim. Genet.* 28:1-13.
- Bjornstad, G., Nilsen, N. O. and Roed, K. H. 2003. Genetic relationship between Mongolian and Norwegian horses?. *Anim. Genet.* 34:55-58.
- Blott, S. C., Williams, J. L. and Haley, C. S. 1999. Discriminating among cattle breeds using genetic markers. *Heredity* 82:613-619.
- Chrysochou, P., Chrysochoidis, G. and Kehagia, O. 2009. Traceability information carriers. The technology backgrounds and consumers' perceptions of the technological solutions. *Appetite.* 53:322-331
- Duchesne, P., Godbout, M. H. and Bernatchez, L. 2002. PAPA (package for the analysis of parental allocation): a computer program for simulation and real parental allocation. *Molecular Ecology Notes* 2:191-193
- Kaul, R., Singh, A., Vijh, R. K., Tania M. S. and Behl, R. 2001. Evaluation of the genetic variability of 13 microsatellite markers in native Indian pigs. *J. Genet.* 80(3):149-153.
- Laval, G., Iannuccelli, N., Legault, C., Milan, D., Grochen, N. A. M., Giuffra, E., Anderson, L., Nissen, P. H., Jorgenson, C. B., Beckmann, P., Gelderman, H., Foolley, J. L., Chevalet, C. and Ollivier, L. 2000. Genetic diversity of eleven European pig breeds. *Genet. Sele. Evol.* 32:187-205.
- Li, X., Li, K., Fan, B., Gong, Y., Zhao, S., Peng, Z. and Lio, B. 2000. The genetic diversity of seven pig breeds of China, estimated by means of microsatellites. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 13:1193-1195.
- Marshall, T. C., Slate, J., Kruuk, L. E. B. and Pemberton, J. M. 1998. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Mol. Ecol.* 7:639-655.
- Martinez, A. M., Delgazo, J. V., Rodero, A. and Vega-Pla, J. L. 2000. Genetic structure of Iberian pig breeds using microsatellites. *Anim. Genet.* 31:295-301.
- Nechtelber, D., Kaltwasser, C., Stur, I., Meyer, J. N., Brem, G., Mueller, M. and Mueller, S. 2001. DNA microsatellite analysis for parentage control in Austrian. *Anim. Biotechnol.* 12(2): 141-144.
- Van-Zeveran, A., Peelman, L., Van D. W. A. and Bouquet, Y. 1995. A genetic study of four Belgian pig populations by means of seven microsatellite markers. *Anim. Genet.* 30:452-455.
- Kim, S. W., Li, X., Lee, Y. M., Kim, J. J., Kim, T. H., Choi, B. H. and Kim, K. S. 2010. Development of SNP markers for domestic pork traceability. *J. Anim. Sci & Technol. (Kor.)* 52(2):91-96.
- Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries. 2009. A study for Food, Agriculture, Forestry & Fisheries Statistical year book.
- Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries. 2009. Notification No. 2009-26 of Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries.
- Korea Swine Association. 2010. The National pig farm computation grade report.
- Lim, H. T., Seo, B. Y., Jung, E. J., Yoo, C. K., Zhong, T., Cho, I. C., Yoon, D., Lee, J. G. and Jeon, J. T. 2009. Establishment of a microsatellite marker set for individual, pork brand and product origin identification in pig. *J. Anim. Sci & Technol. (Kor.)* 51(3):1-10.
- Lim, H. T., Seo, B. Y., Jung, E. J., Yoo, C. K., Yoon, D. and Jeon, J. T. 2009. A comparison of discriminating powers between 14 microsatellite markers and 60 SNP markers applicable to the cattle identification test. *J. Anim. Sci & Technol. (Kor.)* 51(5):353-360.

(Received Sep. 7, 2010; Revised Oct. 12, 2010; Accepted Nov. 15, 2010)