

최 중
연구보고서

돼지의 근세포분화 관련 DNA 표지유전자 탐색을
통한 근육성장 및 이화학적 변이 연구

Identification of DNA Markers Associated with
Muscle Cell Differentiation and Their Use in
Analyses of Variations in Muscle Growth and
Physicochemical Properties in Pig

고려대학교

농림부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “돼지의 근세포분화 관련 DNA 표지유전자 탐색을 통한 근육성장 및 이화학적 변이 연구” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2005 년 월 일

주관연구기관명 : 고려대학교

총괄연구책임자 : 홍 기 창

세부연구책임자 : 박 성 수

세부연구책임자 : 김 병 철

연 구 원 : 류 연 철

연 구 원 : 한 경 훈

연 구 원 : 강 문 성

연 구 원 : 손 창 민

연 구 원 : 이 상 훈

연 구 원 : 최 영 민

연 구 원 : 김 형 옥

연 구 원 : 최 영 준

연 구 원 : 배 성 호

요 약 문

I. 제 목

돼지의 근세포분화 관련 DNA 표지유전자 탐색을 통한 근육성장 및 이화학적 변이 연구

II. 연구개발의 목적 및 필요성

골격근의 성장과 발달을 이해하는 것은 육용가축의 육량적·육질적 측면에서 매우 중요한 의미를 지니고 있다. 근육은 근섬유로 이루어져 있으며 근육량은 근섬유의 수와 크기에 의해서 결정되어진다. 근육의 성장은 출생전 근섬유의 수적인 증가와 출생 후 크기성장으로 구분된다. 출생후 근섬유의 크기성장은 무제한적으로 일어나는 것이 아니라 축종 및 품종에 따른 유전적, 생리적 요인에 의해 제한 받기 때문에 이러한 적육생산능력은 출생전 결정되는 근섬유수에 의해 크게 영향받게 된다. 이러한 근섬유 분화에 의한 근섬유 수의 증가는 대부분 유전적인 요인에 의해 영향을 받는다고 알려져 있다. 현재까지는 근섬유의 분화에 관여하는 이러한 유전자들의 규명과 그들이 근섬유의 분화 발달에 관여하여 근섬유 크기와 조성에 구체적으로 어떠한 영향을 미치는지에 대한 연구가 국내외적으로 진행되어 있지 않다. 그러므로 이러한 인자들이 근섬유를 구성하고 있는 근섬유 구조 단백질의 발현과 분화에 미치는 영향을 분석하여 실용화할 경우 돼지 산육형질에 대한 신속하고 효과적인 육종지표로 이용할 수 있을 것이다. 이러한 연구결과는 가축생산에 있어서 큰 생산효율의 증가를 가져올 수 뿐만 아니라, 보다 합리적인 육종지표를 확립함에 따라서 가축생산비 절감의 효과도 얻을 수 있을 것이다.

양돈산업에서 근육성장효율 증대는 가장 생산성을 높일 수 있는 요인 중에서 빼놓을 수 없는 요인이다. “동물 유전자원의 독점화” 자체가 유전자원의 개발과 동일한 의미로 간주되는 시점에서 이에 대한 연구개발은 곧 경쟁력 우위의 확보로 이어질 수 있다. 미국의 PIC USA와 영국의 PIC UK가 이미 이러한 분야의 연구에 돌입하여 동물 유전자원의 확보를 통한 시장독점을 목표로 상호 협동체계의 구축에 노력을 경주하고 있는 현 시점에서 근세포 분화관련 유전자의 다형성을 분석하고, 표지인자로 실용화시키는 연구는 국내 양돈 산업이 국제 경쟁력이 있는 산업으로 발돋움할 수 있는 계기를 마련해 줄 수 있을 것이다.

III. 연구개발 내용 및 범위

본 과제에서는 돼지의 산육능력 향상을 통한 생산성 제고(증대)의 일환으로 근세포 분화에

관여하는 유전인자를 이용하여 표지유전자를 개발하고 이에 따른 근육성장 및 근육의 이화학적 변이를 다각적으로 규명하여 산육량과 관련된 분자유종들의 실용화 방안을 개발하기 위한 연구를 수행하였다.

이를 위해서 근세포 분화에 관여하는 유전인자들을 분자생물학적 기법을 이용하여 다형성과 유전자형 구분을 통해 표지인자를 개발하는 연구를 실시하였다. 또한 개발된 표지유전자형에 따른 형질발현을 검증하기 위해서 돼지의 산육능력 및 육질, 성장항목, 조직학적 특성과의 상관관계를 분석하였다. 이러한 결과의 기전을 규명하기 위해 근육성장과 관련하여 근육내 이화학적 특성을 분석하고 육질변이와의 연관성을 분석함으로써 궁극적으로 육질을 고려한 산육량 증가에 관련된 표지유전자의 실용화방안을 구축하였다.

1. 근섬유 발달관련 DNA 표지유전자 탐색

Internet을 통한 근섬유 발달 관련 후보유전자 탐색을 실시함으로써 지금까지 성장 및 육질과 관련하여 기존에 보고된 유전자들을 정리하였다. 초기발생과정 중에서 중배엽에서 myoblast로의 초기분화는 외부의 신호(external stimulation)에 의해서 시작되어지고, myoblast 내에서는 myoD유전자와 myf-5유전자가 상호 억제하며 myoblast를 myotube로의 분화를 촉진한다. 이 시기에 MRF-4(Myf6) 유전자가 활성화되고 myotube에서 muscle fiber로의 최종분화는 myogenin 유전자에 의해 조절되어진다. 이러한 유전자들 중에서 sequence 및 발현부위에 대한 in silico data를 토대로 근섬유 형성에 큰 영향을 미칠 것으로 예상되는 후보유전자를 선정하였다.

이렇게 선정된 후보유전자인 myogenin 유전자의 근섬유발달 단계에서의 작용과 유전자 및 **유전자 발현 profile 분석**을 위해 기존의 연구결과를 바탕으로 가설을 설정하여 이에 대한 검정 및 분석을 실시하였다. 즉, 아미노산 구조에서 중간, 개체간 차이가 없음을 토대로 porcine myogenin 유전자의 발현은 유전자의 발현량을 조절하는 promoter 지역에 중간 개체간의 차이를 나타내는 변이가 존재할 수 있을 것 이라는 가설을 설정하고 이에 대한 검증을 하기 위해서 RT-PCR(Reverse transcriptase - polymerase chain reaction)을 수행하였고 그 결과를 확인하였다.

근섬유 형성과 관련한 후보유전자의 변이나 다형성을 찾고, 그에 따라서 발생하는 유전자형과 성장 및 산육형질, 육질 등의 대상형질과의 연관성을 분석하기 위해서 **후보유전자 Cloning**을 실시하였다. 표적 유전자의 부분만 대량으로 확보하기 위해서 유전자의 cloning을 실시함으로써 보다 정확하고 정제율이 높은 후보유전자 부위를 확보할 수 있었다.

Cloning을 통하여 확보된 Porcine myogenin 5' promoter region에 대한 염기서열을 분석하였다. **염기서열 분석**을 통하여 myogenin 유전자의 발현양상이 달라지게 되는 원인을 DNA수준에서 확인할 수 있었다. 또한 밝혀진 염기서열의 개체별 차이에 따라서 다형성을

파악할 수 있었고, SNP같은 DNA marker를 찾아낼 수 있는 분석자료로 활용되었다. 마지막으로 이렇게 선정된 표지유전자의 손쉬운 유전자형 분석을 위해서 PCR-RFLP를 통하여 **표지유전자형 탐색용 진단기법**을 개발하였다.

2. DNA 표지유전자형에 따른 근육성장 및 조직학적 발달분석

실험 개체군 확보를 위하여 시험축군을 조성하고 근육성장관련 형질 분석을 실시하였다. 검정항목은 개시체중, 개시일령, 종료체중, 종료일령, 등지방두께, 일당증체량, 90kg 도달일령, 정육율 등이었다. 통계분석 방법은 근육성장 및 조직학적 특성과 최종 도체품질과의 상관관계 분석을 위하여 SAS/STAT 9.13 package를 이용하여 분석을 실시하였다.

DNA 표지유전자 탐색을 통하여 밝혀진 Porcine myogenin 5' promoter region의 SNP site를 대상으로 유전자형에 따른 근육성장 및 조직학적 발달항목 분포조사와 연관성을 분석하였고, 추가로 Myf6 유전자의 2개의 SNP에 대한 분석도 실시하였다. 이러한 표지유전자에 따른 근육성장 및 조직학적 발달분석을 통해서 나타난 유전자형별 산육형질과의 상관관계 분석결과 최적의 선형모델을 제시할 수 있었다. 이 분석결과를 통해서 적절한 유전자형을 복합 표지유전자로 선정하여, Haplotyping을 실시하고, 앞선 방법과 동일하게 Haplotype과 성장, 산육형질 및 육질과의 연관성을 분석함으로써 표지유전자의 활용성을 검토하였다..

최종적으로 이렇게 선정된 **표지유전자의 실용화**를 위해서 동일한 조건하에서 실시되었던 PCR-RFLP 방법을 제한효소를 달리하여 처리해 줌으로써 동일한 개체에 대해서 유전자형이 같은 결과로 분석이 가능한지 확인해 보았다. 이렇게 밝혀진 결과를 통해서 새롭게 발견한 SNP 부위의 유전자형 분석을 보다 간편하고 보편적인 방법으로 실시할 수 있게 되었다.

3. 근육성장과 조직학적 발달에 대한 이화학적 기전 및 육질변이

근육성장관련 형질의 이화학적 특성을 분석하였다. 근육성장관련 형질로 도축 전 생체성적, 도축 후 도체성적, 도체등급분포 및 근육을 구성하고 있는 근섬유의 조직학적 특성을 분석하였다. 또한 이들의 이화학적 특성 분석을 위해 사후 근육의 대사속도 및 단백질 변성도를 분석하였으며 최종 돈육질 분석을 실시하여 최종 품질과의 연관성을 모색하였다. 이러한 결과를 통해 근육성장관련 형질의 발현 분포를 확인하였으며, 근육성장과 육질에 영향을 주는 근섬유의 조직학적 분석기법을 확립하였다.

근세포 분화관련 표지유전자의 유전자형에 근거해 근육의 조직학적 및 대사적 변이를 각각적으로 규명하며, 이와 함께 돈육질 변이 관련 생체요인과 최종 육질변이를 분석하여 **표지유전자의 실용화 방안을 모색**하였다. 표지유전자인 MG5'와 Myf-6 유전자 좌위의 유전자형 효과에 따른 성장특성, 도체특성 및 근육의 조직학적/대사적 변이를 분석하였다. 돈육질 변이 관련 생체요인을 탐색하기 위해 근육의 조직생화학적 분석과 함께 근육내 주요 고에너지

지 인산화합물인 ATP농도와 glycogen, glucose-6-phosphate(G6P), lactate농도를 분석하였다. 이러한 연구결과를 통해 표지유전자의 유전자형에 대한 효과를 확인하였으며, 근육질 변이에 영향을 주는 요인을 품종 및 성별을 고려해서 분석하는 한편 근육 내 근육질 변이 생체요인을 탐색해 **근육질 분석기법을 확립**하였다.

산육량 증가와 근육질 변이간의 연관성 분석 및 작용기전 규명을 위해 표지유전자의 haplotype에 따른 근육의 표현형질 및 육질변이를 분석하였다. 또한 도축 전후의 대사변이에 영향을 미치는 근육의 특성 및 산육형질을 이용하여 model을 제시하였으며, 이상근육 발생원인을 분석하였다. 최종적으로 표지유전자 유전자좌위의 haplotype과 근육의 특성을 이용한 modeling을 통해 근육질 변이의 작용기전을 규명하려 했으며, **표지유전자의 실용화 검증**을 실시하였다.

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 연구개발 결과

본 과제에서는 근세포 분화에 관여하는 유전인자들을 분자생물학적 기법을 이용하여 다형성과 그에 따른 유전자형을 규명하고 성장 및 산육형질과의 연관성 분석을 통해서 표지유전자를 선정하였다. 이렇게 선정된 표지유전자를 통한 근육성장과 조직학적 발달에 대한 이화학적 변이를 규명함으로써 그 활용성을 입증하였다.

본 연구개발 결과를 요약하면 다음과 같다.

가. 근섬유 발달관련 DNA 표지유전자 탐색

- o 근육의 형성 및 성장에 관련된 유전자를 중심으로 Internet을 통해 후보유전자를 검색한 결과 근섬유세포 발달단계에 역할이 많은 것으로 알려진 MyoD gene family를 선정하였다.
- o MyoD gene family 중에서도 myotube에서 muscle fiber로의 분화에 가장 큰 역할을 하는 myogenin 유전자를 근섬유형성과 발달에 주요한 역할을 한다는 점에서 후보유전자로 선정하고, myogenin에 앞서서 발현되며 myogenin의 발현을 조절하는 것으로 알려진 Myf-6 유전자를 추가로 연구하였다.
- o Myogenin 유전자가 양적으로 혹은 질적으로 발현양상에 차이가 있는지 확인해 보기 위해서 myogenin 유전자의 profile 분석을 실시하였고, mRNA 수준의 발현양상을 분석하기 위해서 RT-PCR을 수행해 본 결과 myogenin 유전자의 발현양에 차이가 있음을 확인하였다.
- o Myogenin 유전자의 발현에 차이를 줄 수 있는 요인을 분석하기 위해서 5' promoter region을 분석할 필요가 있었고, 이 부분의 동정을 위해서 Cloning을 실시하였다.
- o Cloning을 통해서 확보된 5' promoter region의 염기서열을 분석하였고 염기서열 분석결과 기존에 보고되지 않았던 한 개의 SNP site를 발견하였다.

o SNP에 따른 TT,TC,CC 세 개의 유전자형을 결정짓고, 이러한 유전자형의 손쉬운 탐색을 위해서 BspCNI 제한효소를 이용한 PCR-RFLP 진단기법을 개발하였다.

나. DNA 표지유전자형에 따른 근육성장 및 조직학적 발달분석

o 현재 국내에서 이용되고 있는 Yorkshire종을 이용하여 실험축군을 조성하였다. 이에 품종간의 차이를 확인하기 위해서 역시 국내에서 이용되고 있는 Landrace종을 실험군에 추가하였다.

o 실험개체군의 성장능력관련 형질의 분석결과 기존의 보고보다 성장능력면에서 우수했지만, 조직학적인 특성은 기존의 연구와 비슷한 결과를 나타냈다.

o 품종별 성장능력관련 형질의 분석결과 성장능력면이나 근섬유 발달면에서 Landrace가 Yorkshire종에 비해서 우수하게 나타났지만, 육질은 저조한 것으로 관찰되었다.

o 근섬유 수나 크기에 따른 성장능력 및 도체성적의 연관성 분석결과 근섬유 수와 크기가 부의상관관계를 갖는 것을 확인할 수 있었으며, 근섬유수가 많은 개체가 산육형질이 우수하고, 근섬유가 큰 개체가 성장형질이 우수하였다. 이러한 점을 근거로 근섬유수가 많고 큰 개체를 선발하기 위한 표지유전자의 탐색 방향을 제시하였다.

o 근섬유 형성과 관련한 후보유전자로 선정된 Myogenin의 5' promoter region에서 발견된 SNP와 Myf6의 Intron 1 region과 5' promoter region의 SNP에 대하여 나타난 유전자형의 분포를 조사하였다.

o 이렇게 밝혀진 유전자형과 근육성장 및 조직학적 발달항목과의 연관성 분석을 통해서 성장형질 및 육질에 변화를 주지 않으면서 산육형질에 증가를 가져올 수 있는 표지유전자형으로서 Myogenin의 TC 유전자형과 Myf6의 BB 유전자형이 적절할 것으로 판단하였다.

o 최종적으로 Myogenin과 Myf6의 유전자형간의 haplotyping을 통해서 복합 표지유전자로서의 활용성을 검정하였고, 최적의 haplotype으로 BBTC 형이 선정되었다. 또한 표지유전자 진단의 보편화를 모색하기 위해서, 동일한 실험조건 안에서 시행되었던 PCR-RFLP 표지유전자 진단방법을 동일인식 부위를 갖는 다른 제한효소로 처리해 봄으로써 동일한 결과를 얻을 수 있었고, 이를 통해서 새로이 선정된 표지유전자의 보편적인 활용성을 입증할 수 있었다.

다. 근육성장과 조직학적 발달에 대한 이화학적 기전 및 육질변이

o 근육성장과 관련된 조직학적 특성변이에 따른 근육의 대사적, 생화학적 특성을 관찰하기 위해 근육 내 이화학적 특성 분석을 실시하였다. 조직학적 특성 분석결과 돈육 등심근의 경우 대부분 근섬유 type IIB로 구성되어 있어 등심근의 강한 혐기적 대사능력을 나타냈으며, 성별간의 뚜렷한 차이는 나타내지 않았다.

- 근육의 조직학적 특성이 돈육질에 미치는 영향을 분석하기 위해 전체 실험군을 정상육 (reddish-pink, firm, and non-exudative, RFN)과 이상육(pale, soft, exudative, PSE; reddish-pink, soft, and exudative, RSE)으로 구분하여 각 그룹간 차이를 분석하였으며, 그룹 간 보수력 및 육색 등 육질변이가 뚜렷했다.
- 근섬유 수와 크기 조성의 경우, PSE 그룹의 type IIB 조성이 RSE, RFN 그룹에 비해 유의적으로 높은 수치를 나타내 이상육 그룹의 강한 혐기적 대사능력을 나타냈으며, 이러한 이상육의 대사특성은 육질저하에 영향을 미친 것으로 판단된다. 따라서 type IIB fiber의 조성을 근육의 대사적 특성을 나타내는 중요 평가항목으로 활용가능 하다고 판단된다.
- 근육의 조직생화학적 특성과 성장특성 및 도체특성과의 연관성 분석 결과 근섬유 수와 크기는 산육량 증대에 작용한 것으로 평가되며, 특히 근섬유 수는 적육 생산능력과 연관성이 큰 것으로 분석되었다.
- 돈육질 관련 생체요인을 탐색해본 결과 근육의 주요 에너지원인 ATP, glycogen, G6P의 농도와 대사산물인 lactate 농도의 경우 육질변이와 육질예측에 있어 적합한 항목으로 판단된다.
- 이와 같이 근육의 조직학적 특성인 근섬유 수와 크기는 근육의 생산능력의 지표로 이용 가능하며, 근육의 대사적/이화학적 특성을 나타내는 근섬유 조성은 사후 대사변이 및 육질변이에 영향을 미치는 것으로 분석되어 표지유전자 실용화 구축에 있어 중요 지표로 판단된다.
- 근육의 조직학적/대사적 변이를 이용한 이상돈육의 발생원인을 정리하면 다음과 같다.
 - (1) 근섬유 type IIB fiber 조성의 증가는 PSE 및 RSE 육에서 나타나는 사후대사의 가속화 현상을 설명하는 변수로 활용가능하다.
 - (2) Late developing PSE 및 RSE육의 발생은 사후 초기 높은 glycogen 함량 및 사후대사의 범위로 설명 가능하다.
 - (3) RSE육은 경증의 PSE육으로 판단되며 근육 pH 및 단백질 변성이 더 심화될 경우 PSE육으로 전환될 수 있다.
 - (4) RSE육 발생의 또 다른 기전은 단백질 변성 외에 최종 pH 저하에 의한 myofilament lattice 공간의 감소에 의한 보수성 저하로 설명될 수 있다.
 - (5) 이상돈육의 발생은 사후 대사속도와 대사범위뿐 아니라, 근육을 구성하는 단백질 및 각 단백질의 변성민감도의 차이에 의해 설명될 수 있다.
 - (6) 육질의 변이는 근섬유 조성과 같은 내인성 요인과 도축 전후 외부적 요인의 상호작용에 의해 결정되는 종합적인 현상이다.
- 표지유전자 MG5' 및 Myf-6 유전자 좌위의 유전자형이 산육형질 및 육질 변이에 미치는 영향을 분석해 보면, MG5' 유전자의 TC 유전자형은 성장특성 및 적육생산 능력이

우수하였는데, 이는 TC 유전자형의 많은 근섬유 수에 의한 것으로 분석되었으며, TC 유전자형을 가진 개체는 정상육 수준의 육질을 나타냈다.

- Myf-6 유전자 좌위의 BB 유전자형의 경우 근섬유 수는 높게 나타났으며 돈육질 항목에서는 유전자형 간에 차이가 없었다. 따라서 MG5' 유전자의 TC와 Myf-6의 BB 유전자형은 근섬유 수 분화에 영향을 미쳐 적육생산 능력 증가를 가져오면서 돈육질을 향상시킬 수 있는 표지유전자라고 판단되며, 표지유전자 실용화 기준에 적합한 유전자라고 판단되었다.
- 표지유전자로 검증된 Myf-6와 MG5' 유전자 좌위의 haplotype에 따른 돈육질 변이를 분석한 결과, BBTC 유전자형은 근섬유의 조직학적 특성 중 근섬유의 수 증가를 통해 근육생산 및 산육량 증대에 영향을 미쳤으며, 사후 대사변이 및 돈육질 변이에는 관여하지 않아 육질이 향상된 적육형 돈육생산에 적합한 haplotype으로 분석되었다.
- 표지유전자 및 근육의 조직학적 특성을 이용한 군집을 설정하여 표지유전자 실용성 검증 및 돈육질 변이를 분석하였다. 성장속도가 빠르고 우수한 적육 생산능력을 지니고 있는 HH 군집의 특성은 높은 근섬유 수와 밀도에 의한 것으로 판단된다.
- 군집간의 뚜렷한 대사적 특성 변이는 나타나지 않았다. 또한 군집에 따른 육질변이 분석 결과 군집간 뚜렷한 차이는 나타나지 않아, HH 군집의 경우 적육량이 우수하면서 돈육질이 향상된 모델로 분석되었으며, 표지유전자로 검증된 Myf-6와 MG5' 유전자좌위의 BBTC 유전자형 모델과 일치하는 특성을 지닌 것으로 평가되었다.

2. 활용에 대한 건의

- 각 종돈장에서 보유하고 있는 종모돈에 대해서 표지유전자의 유전자형을 실시하고, 앞서 선정된 유전자형을 갖는 종모돈을 선발하고 확보한다.
- 표지유전자의 개발에 따른 기술습득과 유전자 및 이들의 기능에 대한 자료는 경제형질에 근거한 육종에 활용될 수 있으며 유전자 변환 돼지의 생산에도 기초자료로 이용될 수 있다.
- 유전자 진단기법의 개발로 단순화와 양돈산업체제의 권역별 분권화 등이 동반되면 현장화가 가능할 것이다.
- 본 연구를 통하여 축적된 정보 및 기술은 돼지는 물론 타 동물 중에서의 양적 형질의 분석에 활용될 수 있다.
- 산육형질과 관련된 유전기구의 운용기전 및 근육내 이화학적 특성에 대한 세포 수준에서의 구명이 이루어져 추가 연구에 활용될 수 있다.

SUMMARY

Identification of DNA Markers Associated with Muscle Cell Differentiation and Their Use in Analyses of Variations in Muscle Growth and Physicochemical Properties in Pig

It is important to understand skeletal muscle growth and development since it has a close relationship with meat quality of meat producing domestic animals. Muscle is composed of muscle fibers and total muscle content of an individual is dependent on increase in muscle fiber number before birth and in muscle size after birth. Since muscle growth during postnatal period is not an unlimited process, but is controlled by genetic and physiological status, number of the muscle fiber which is decided during the prenatal development is rather important for ability to produce red muscle. To date, genes associated with muscle growth and differentiation have not been intensively studied as yet. Identification and investigation of these genes will help elucidate their effects on expression of structural proteins consisting the muscle and the muscle differentiation. It is also expected that use of genetic markers will lead to higher production efficiency as well as to decrease in production cost by establishing reasonable breeding indices.

This study was carried out to identify genetic makers associated with muscle growth and differentiation using the candidate gene approach and physico-chemical analysis.

Candidate gene were selected through studying Genebank database and previously published reports. Myogenin family of genes and those speculated to have effects on muscle development were examined using PCR-RFLP analyses. Allele frequencies were determined. Cloning and nucleotide sequence analysis were done to search SNP. Gene expression profile was studied using RT-PCR. Various conditions were examined to establish a standard genetic diagnosis system for a selected DNA marker.

Statistical analysis was performed to correlate meat quality and muscle fiber development. Physico-chemical properties of various haplotypes were analysed using parameters including growth, meat production and meat quality.

Histological examination was carried out to group by meat quality. Metabolic rates and degree of protein degradation were examined to determine biochemical factors affecting meat quality. Concentrations of ATP, glycogen-6-hosphate(G6P) and lactate measured to identify intrinsic elements influencing muscle properties. Finally, physico-chemical data were correlated to results from the PCR-RFLP analyses to determine genetic markers for the muscle growth and

differentiation.

Statistical analysis was carried out using SAS/STAT 9.13 package throughout this study.

Molecular biological tools were employed to identify genes that had been suggested to influence differentiation of the muscle fiber. Statistical analyses were carried out to determine genetic markers by correlating genotypes with growth performances and meat production traits. Physicochemical analyses were also performed to examine effects of the genetic markers. Results are summarized as follows;

Identification of DNA markers associated with the muscle fiber development and analysis of correlation between genotypes and muscle growth and physicochemical characteristics

MyoD family of gene were selected as candidates through database screening.

RFLP analysis showed that there were polymorphic sites in the 5'-regulatory region of the myogenin gene.

Cloning and sequence analysis revealed an SNP site in the 5'regulatory region of the myogenin.

Genotypes of the myogenin are TT, TC and CC.

RFLP polymorphisms were found in the 5'-regulatory region and within intron 1 of the myf6 gene.

Genotypes found to have positive effects on meat quality are TC of the myogenin and BB of the myf4, respectively, and BBTC haplotype was chosen as a possible selectable marker for muscle fiber growth and differentiation.

RT-PCR analysis revealed expressions of the myogenin and the myf6 were affected by genotypes.

Physicochemical mechanism for the muscle and its histological development

Physicochemical analysis of the muscle was carried out to examine changes in metabolic and biochemical properties upon different histological conditions associated with muscle growth.

Major muscle fiber type in the longissimus muscle was typeIIB indicating strong anaerobic metabolic capability. No difference was found between males and females

Effects of histological properties on meat quality was also examined. There marked differences in

degree of meat quality indices including water content and meat color among three meat type groups (RFN, PSE and RSE).

PSE meat was shown to have higher number of type IIB fibers significantly.

It was also shown that number and size of fibers may affect increase in total muscle mass.

Lactate concentration was found to be an appropriate prognostic tool for the meat quality.

Underlying causatives for the meat quality changes are summarized as follows;

Increase in type IIB fiber content facilitate postmortem metabolism.

Late developing PSE and RSE meats can be explained by glycogen content and postmortem metabolism during early postmortem period.

Another mechanism for the RSE is, apart from protein degradation, spatial decrease in myofilament lattice due to decreases in the final pH and water content.

Myogenin genotype TC showed better growth performance and red-meat production due to its association with higher number of muscle fiber number. It was also shown that meat quality of the TC genotype was mostly RFN.

The HH group that showed higher growth rate and better red meat production exhibited higher number of fibers and their density.

There was no difference in metabolic characteristics between groups.

The BB type of the myf6 gene showed to associated with higher number of fibers.

The BBTC haplotype group was shown to have higher number of fibers resulting in higher production efficiency of red meat and total muscle mass.

Genotyping results were shown to correlate with results from the physico-chemical analyses.

Genetic diagnosis condition was adjusted using selected markers and their primers.

Our data suggest that genetic makers from this study could be used for selection and breeding programs in pig. It is also expect that informations developed here will influence similar areas in other domestic animals. Further studies will be helped by data obtained from our physico-chemical analyses.

LIST OF CONTENTS

Chapter 1. Introduction	1
Section 1. Background	3
Section 2. Goals of the study	6
Chapter 2. Current States of Research and Development	11
Section 1. Current state	13
Section 2. The future prospect	15
Chapter 3. Materials, Methods and Results	17
Section 1. Methods	19
1. Searching for DNA Marker related to muscle cell differentiation	30
2. Effects of genotypes in DNA Marker on muscle growth and tissue developments	23
3. Effect of metabolic and histological characteristics on meat quality traits	27
Section 2. Results	33
1. Searching for DNA Marker related to muscle cell differentiation	33
I. Target gene profile analysis	33
II. Gene Cloning	38
III. Sequencing analysis	39
IV. Development of methods for DNA diagnosis	43
A) Myogenin - BspCNI PCR-RFLP	44
B) Myf6 - BseRI PCR-RFLP	45
C) Myf6 - MspI PCR-RFLP	47
2. Effects of genotypes on muscle growth and developments	49
I. Analysis of genetic characteristics related to muscle growth in the population	49
II. Effects of genotypes on muscle growth and muscle fiber developments	61
1) Distribution of genetic polymorphisms	61
2) Correlation about genotypes and characteristics	65
3) Selection of DNA Marker related to meat quantity	80
III. Application of DNA Marker	80
1) Examination of mixed DNA Marker	80
2) Application of DNA Marker	85
3. Physico-chemical mechanism for muscle growth and development and analysis of muscle properties	88

I. Analysis of physicochemical properties on muscle growth characteristics	88
1) Carcass properties and meat quality distribution	88
2) Histological analysis of muscle	91
3) Analysis of physicochemical variations on muscle	98
II. Investigation of factors affecting meat quality using muscle developmental characteristics	102
1) Analysis of histological and metabolic properties under various muscle differentiation conditions	102
2) Physicochemical investigation of factor affecting meat quality	114
3) Investigation of factors affecting muscle mass and meat quality	118
III. Effect of total muscle mass increase on meat quality variations	124
1) Examination of factors affecting pre- and postmortem metabolism	124
2) Validation of genetic markers for determination of meat quality	133
3) Modelling of porcine meat using histological and physico-chemical properties	143
Chapter 4. Goal achievement and contribution to related industries	149
Section 1. Achievements of goals	149
Section 2. Expected contributions to related industries	152
Chapter 5. Potential applications	153
Chapter 6. Archives for current informations	154
Chapter 7. References	156

목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요	1
제 1 절 연구개발의 필요성	3
제 2 절 연구개발의 목표와 내용	6
제 2 장 국내외 기술개발 현황	11
제 1 절 국내·외기술 현황	13
제 2 절 앞으로의 전망	15
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과	17
제 1 절 연구개발수행 방법	19
1. 근섬유 발달관련 DNA 표지유전자 탐색	20
2. DNA 표지유전자형에 따른 근육성장 및 조직학적 발달분석	23
3. 근육성장과 조직학적 발달에 대한 이화학적 기전 및 육질변이	27
제 2 절 연구수행 내용 및 결과	33
1. 근섬유 발달관련 DNA 표지유전자 탐색	33
가. 근섬유 발달 관련 유전자 및 그들의 발현 profile 분석	33
나. 표지유전자 Cloning	38
다. 유전자의 염기서열 분석	39
라. 표지유전자형 탐색용 진단기법 개발	43
가) Myogenin - BspCNI PCR-RFLP	44
나) Myf6 - BseRI PCR-RFLP	45
다) Myf6 - MspI PCR-RFLP	47
2. DNA 표지유전자형에 따른 근육성장 및 조직학적 발달분석	49
가. 실험개체군의 근육성장관련 형질 분석	49
나. 표지유전자에 따른 근육성장 및 조직학적 발달분석	61
1) 유전자 다형성 분포 조사	61
2) 유전자 다형성과 형질과의 상관분석	65
3) 산육형질 관련 표지 유전자 선발	80
다. 표지유전자의 실용화 및 검증.	80
1) 복합 표지유전자의 활용성 검토	80
2) 표지유전자의 실용화	85
3. 근육성장과 조직학적 발달에 대한 이화학적 기전 및 육질변이	88
가. 근육성장관련 형질의 이화학적 특성 분석	88

1) 도체특성 및 육질분포 분석88
2) 근육의 조직학적 특성 분석91
3) 근육의 이화학적 변이분석98
나. 표지유전자형에 따른 도체특성 및 육질 분석102
1) 근육분화형질에 따른 근육의 조직학적/대사적 변이 분석102
2) 근육의 이화학적 특성을 이용한 돈육질 변이 요인 탐색114
3) 산육형질 및 돈육질 변이 관련 생체요인 탐색118
다. 산육량 증가와 돈육질 변이간의 연관성 분석 및 작용기전 규명124
1) 도축 전·후의 대사변이 요인 규명124
2) 표지유전자 실용화에 따른 육질변이 검증133
3) 표지유전자 및 근육의 조직학적 특성을 이용한 돈육질 modeling143
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도149
제 1 절 목표달성도149
제 2 절 관련분야에의 기여도152
제 5 장 연구개발결과의 활용계획153
제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보154
제 7 장 참고문헌156

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 필요성

1. 기술적 측면

골격근의 성장과 발달을 이해하는 것은 육용가축의 육량적·육질적 측면에서 매우 중요한 의미를 지니고 있다. 근육은 근섬유로 이루어져 있으며 근육량은 근섬유의 수와 크기에 의해 결정되어진다. 근육의 성장은 출생전 근섬유의 수적인 증가와 출생 후 크기성장으로 구분된다. 출생후 근섬유의 크기성장은 무제한적으로 일어나는 것이 아니라 축종 및 품종에 따른 유전적, 생리적 요인에 의해 제한 받기 때문에 이러한 적육생산능력은 출생전 결정되는 근섬유수에 의해 크게 영향받게된다.

오랜 기간 돼지의 육종은 사료효율과 성장률을 증가시키는 방향으로 이루어져 왔으며, 등지방을 비롯한 지방량을 줄이고 적육비율을 높인 살코기형 돈육생산 방향으로 진행되어왔다. 현재 적육생산 효율면에서 상당한 발전을 가져왔으나 이는 주로 근섬유의 크기 성장에 의한 결과로 해석되고 있으며, 이러한 결과로 돼지는 스트레스에 민감해지고 이상돈육의 발생이 증가하는 등 육질의 저하를 가져오게 되었다.

육량과 육질에 대한 최근의 연구결과 문헌에 따르면 근섬유의 비대성장에 의한 육량증가보다는 근섬유의 크기는 정상적이면서 근섬유 수의 증가에 의한 육량증대시 성장률 증가와 함께 육질 측면에서도 고급육 생산이 가능하다고 보고되고 있다.

근육형성기간중 근세포의 분열정도가 근섬유수를 결정하는 중요한 요인으로 작용하며 이러한 근섬유의 수는 유전적인 요인에 의해 영향받게된다(Handel과 Stickland, 1987). 돼지의 경우 근섬유 수의 변이 중 약 75%는 유전적 요인에 의해 발생하게되며 이러한 수치는 가축의 선발에 이용되는 다른 특성들과 비교할 때 비교적 큰 수치이다.

근육형성과 관련된 유전자의 발견은 근육의 양을 조절하고 조직의 크기를 결정하는 성장조절인자로서의 가능성을 제시해 주고 있다. 최근 근육발달에 관한 분자 생물학적 근거를 밝히기 위한 연구들이 시도되고 있으나, 근육성장효율 측면에서 조직학적으로 근섬유 수의 조절 및 근육량이 결정되는 기전을 이해하기에는 부족한 실정이다.

포유동물의 근섬유 형성은 배발달과정에서 결정되어지며 이에 관여하는 유전자로 현재 MyoD gene family가 제안(Wright 등, 1989) 되고 있는데, 주로 동물 중 생쥐에서 이들의 분자기전이 연구되고 있다. 이들은 전사 단계에서 근섬유의 분화를 조절하는 인자로서 이들에 의해 근섬유 분화가 결정되어지는 것으로 알려져 있다. 따라서 이들의 분자기전에 대한 연구는 근섬유의 분화를 조절하여 소비자의 기호에 적합한 돈육을 생산하는데 필수적이라고 하겠다. 돼지에 있어 근육의 성장과 조절 기능의 역할을 하는 이들 유전자군은 MyoD, myogenin, myf-5, MRF4 등으로 구성되어있으며, 이러한 유전자군은 근육형성과정 중 근원

세포의 증식, 분화에 관여하며 일부 유전자는 출생후에도 지속적으로 발현하여 근육형성을 조절하는 것으로 알려져 있다.

최근 근육발달과 성장에 관여하는 myogenin 유전자 좌위에서의 변이와 다형현상이 보고되어(Ann Soumillion 등, 1997) 근섬유 발달에 관여하는 유전자를 이용한 분자생물학적 접근이 시도되고 있다. 따라서 근섬유발달과 억제, 성장지연 등과 관련된 유전적 요인들을 이용한 육종지표로서의 활용이 가능한 것으로 판단된다. 기존의 사양관리와 통계적 선발육종을 통한 연구에서 벗어나 근육발달에 관련된 유전자를 이용한 연구가 시도되고 있으나 현재까지의 연구진행은 유전자의 다형성분석에 머물러 있거나, 실험실내 분석을 통한 현상과약 수준에 그치고 있으며 발현유전자에 대한 정보 또한 빈약한 실정이다. 이러한 상황에서 **돼지의 근육발달과 관련된 유전자군을 이용하여 표지유전자를 선별하고 실제 사양을 통한 검증과 근육성장에 대한 이화학적 변이를 규명하는 것은 매우 중요한 것이라 할 수 있다.**

2. 경제 · 산업적 측면

축산은 다른 일차산업과 마찬가지로 산업경제 규모의 신장과 부의 축적 및 기술력의 발전에 역행하여 종사인구의 감소 및 생산물의 가격안정화내지는 하락 등이 야기되며 이로 인한 전반적인 수익성의 감소가 수반되게된다. 이러한 현상이 최근 국내의 축산분야에서도 나타나고 있으며 현재까지 적용되어온 운영 관리체계를 통한 생산비용의 절감과 품질향상을 위한 노력은 매우 제한적일 수밖에 없었다.

국내 육류소비량 중 돼지고기가 차지하는 비율은 약 52%로 양돈산업은 축산의 기간산업이라 할 수 있다. 반면에 최근에 발생한 돈육의 다이옥신 파문, 구제역 사건 및 유럽의 광우병, Escherichia coli O157:H7 등의 식품 안전성에 대한 근본적인 문제나 돈육 수출차질로 인해 돈육산업의 위축현상이 나타나고 있다. 이에 따른 돈육생산의 개발목표도 안전성 검사 같은 수동적인 대책보다는 근본적으로 환경적 변화에 부합되는 생산성 향상과 고품질의 위생적인 식육을 생산하기 위한 다양한 신기술개발 시스템으로 변화시켜야만 국내 돈육산업의 이익을 극대화 할 수 있다.

현재 국내 돈육생산의 연구는 안전성을 고려한 위해요소 중점관리제도 연구와 기능성 식품의 생산에 초점이 맞추어져 있으나 양돈 생산에 있어서 근본적인 신기술의 접목을 통한 생산성 향상과 효율적인 돈육생산의 기틀을 마련하는 것 역시 매우 시급한 선결과제로 판단된다. 이러한 연구를 통해 **가축생산에 있어서 생산효율의 증가는 물론 보다 합리적인 육종지표를 확립함에 따라 가축생산비 절감의 이점을 얻을 수 있을 것으로 추정된다.**

3. 사회·문화적 측면

현재 전세계적으로 돈육산업은 품질향상을 위한 시스템 구축에 많은 노력을 기울이고 있으며, 국내에서도 자구책 마련을 위한 여러 시도들이 이루어지고 있다. 최근 양돈산업에서는 양돈계열화의 일환으로서 사육단계에서의 올인-올아웃 (All-in/ All-out), 조기격리이유 (Segregated early weaning), 분리사육(Off-site production) 등 새로운 기법을 이용하여 생산시스템을 재구축 함으로써 생산성 향상은 물론 위생문제의 근본적인 해결을 가능케 하는 방안이 이미 상당한 진전을 보이고 있다. 그러나 생산성 향상 및 품질에 직접적인 영향을 미치는 산육능력 개량에 관해서는 뚜렷한 해결책을 제시하지 못하고 있다.

돈육은 동물 단백질 원으로서 우리의 식생활에 널리 이용되어져왔다. 하지만 점차적인 식생활 양태의 변화 및 근래 양돈산업의 생산비 증가와 이에 기인한 시장의 불안정으로 인하여 돈육의 일반적 기호성이 점차 하락 추세에 있다. 이러한 전반적인 침체 현상을 극복하기 위한 수단으로 양돈산업의 효율성 제고를 들 수 있다. 이는 곧 생산품의 부가가치 제고로 이어 질 수 있을 것이다. 돼지의 성장 및 생산효율 증가는 생산성 향상을 통한 경쟁력 획득을 위한 직접적인 방법이다. 이러한 **사회적·시대적 요구에 보다 신속하게 대응하기 위해서는 관련 유전자에 대한 구체적 조명을 통한 육종 효과의 극대화를 도모해야 할 것으로 판단되며 이를 통해 양돈산업의 개선효과를 극대화 할 수 있을 것으로 평가된다.**

제 2 절 연구개발의 목표와 내용

본 과제는 돼지의 산육능력 향상을 통한 생산성 제고(증대)의 일환으로 근세포 분화에 관여하는 유전인자를 이용하여 표지유전자를 개발하고 이에 따른 근육성장 및 근육의 이화학적 변이를 다각적으로 규명하여 산육량과 관련된 분자유종의 실용화방안을 개발하기 위한 연구이다.

이를 위해 근세포 분화에 관여하는 유전인자들을 분자생물학적 기법을 이용하여 다형성과 유전자형 구분을 통해 표지인자를 개발하는 연구를 실시한다. 또한 개발된 표지유전자형에 따른 형질발현을 검증하기 위해서 돼지의 산육능력 및 조직학적 특성과의 상관관계를 분석한다. 이러한 결과의 기전을 규명하기 위해 근육성장과 관련하여 근육내 이화학적 특성을 분석하고 육질변이와의 연관성을 분석함으로써 궁극적으로 육질을 고려한 산육량 증가에 관련된 표지유전자의 실용화방안을 구축하고자 한다.

1. 시험가축확보 및 시험축군 조성

현재 국내에서 이용되고 있는 부계 1품종을 이용해서 검정실험을 실시한다. 1차년도에는 종모돈 5두에 두당 종빈돈 3두를 교배하며, 이들 모돈 15두로부터 생산된 총 60두(모돈당 4두: ♂2, ♀2)의 자돈에서 산육능력과 도체능력 및 근육의 이화학적 특성을 조사한다. 2차년도에는 1차년도에서 근섬유관련 후보유전자로 규명된 것들의 표지유전자형(3가지)에 따른 산육 및 도체, 근섬유수관련 근육의 이화학적 특성에 대해 조사한다. 3차년도에는 표지유전자형간의 교배를 통하여 근섬유 관련 후보유전자의 유전양식을 규명한다.

2. 근섬유 발달관련 DNA 표지유전자 탐색

가. 근섬유 발달 관련 유전자 및 그들의 발현 profile 분석

중배엽 세포에서 myoblast, myotube 그리고 muscle fiber로의 발달은 생쥐에서 잘 알려져 있다. 중배엽에서 myoblast로의 초기분화는 외부의 신호(external stimulation)에 의해서 시작되어진다. myoblast 내에서는 myoD유전자와 myf-5유전자가 상호 억제하며 myoblast를 myotube로의 분화를 촉진한다. 이 시기에 MRF-4 유전자가 활성화되고 myotube에서 muscle fiber로의 최종분화는 myogenin 유전자에 의해 조절되어진다.

포유동물에서 근섬유의 크기는 분화개시전 mesodermal progenitor의 증식과 myoblast의 성

장인자에 의한 증식이 관건이다. 한편 근섬유의 조정은 위에서 언급된 분화인자들이 근섬유 단백질의 발현에 미치는 조절작용에 의해 크게 좌우된다고 본다. 그러므로 본 연구는 근섬유의 분화발달 전후의 성장인자들과 분화인자들의 활성도를 분자(유전자)수준에서 분석하고 이들이 근섬유의 크기와 조성에 대해 구체적으로 어떻게 영향을 미치는지에 대해서 구명하여 돼지에서 근섬유 분화발달을 체계적으로 이해한다. 이러한 기본 data를 이용하여 중간 및 개체간의 유전자 발현 및 활성도 profile을 비교·분석하고 그 차이가 어디에서 기인하는지 알아내어 근섬유 발달에 표지유전자가 될 수 있는 후보유전자를 탐색한다.

나. 표지유전자 cloning

근섬유 형성과 관련한 후보유전자의 변이나 다형성을 찾고, 그에 따라서 발생하는 유전자형과 성장 및 산육형질, 육질 등의 대상형질과의 연관성을 분석하기 위해서 후보유전자를 동정한다. 표적 유전자의 부분만 대량으로 확보하기 위해서 유전자의 cloning을 실시함으로써 보다 정확하고 정제율이 높은 후보유전자 부위를 확보한다.

다. 유전자의 염기서열 분석

Cloning된 표지유전자의 염기서열을 분석하여 중간 및 개체간의 차이를 규명한다. 염기서열 분석 결과를 바탕으로 후보유전자의 변이를 관찰하거나 표지유전자를 손쉽게 탐지할 수 있는 표지유전자 특이 primer를 제조할 수 있다. 표지유전자 부위가 변이를 나타낼 경우 그 변이에 따른 유전자형을 쉽게 탐지하고 분석할 수 있는 방법을 개발한다.

3. DNA 표지유전자형에 따른 근육성장 및 조직학적 발달

가. 실험개체군의 근육성장관련 형질 분석

국내 돈군의 근육성장형질 발현현황을 파악·분석하기 위해 돈군을 분리·비교분석하며 또한 신생자돈과 육성돈간의 근육성장관련능력을 분석하여 체계화한다. 우선 돈군의 근육성장관련 자료를 조사·분석하기 위해서 돈군을 대상으로 성장특성(생시체중, 이유시체중, 일령체중 등)과 근육 조직학적 특성(근섬유 수, 근섬유 단면적 등)을 분석하여 근육성장관련 능력을 평가한다. 또한 환경적 영향(예: 영양, 건강상태, 기타사양관리상태)에 의한 근육성장능력이 고·저능력으로 분별되지 않게 하기 위해 철저한 data base 분석관리하에 모든 사양관리대상의 측

군들이 균일한 환경하에서 사양·사육되도록 하여 외부환경요인에 의한 산육능력 변이를 제외한다. 따라서 이를 위한 통계처리는 최적선형불편추정법(BLUP)을 이용하여 분석 후 이를 근거로 하여 근육성장능력과 관련된 육종가 추정 후 근육생산능력을 비교·분석한다. 조사자료를 좀더 세분화 및 계열화하기 위해서 개체간 근육성장능력을 분석비교하여 체계화하고 이러한 분석은 바로 유전력의 분석을 위한 기초자료로의 제공이라는 의미가 있으므로 그 실시가 필수적이다.

나. 표지유전자에 따른 근육성장 및 조직학적 발달분석

체계화된 이상의 조사자료(1차년도)에 의거하여 유전자 다형성을 조사하기 위해 primer 또는 probe를 이용하여 개체별 DNA를 분리·정제하여 RFLP의 restriction pattern과 비교 분석한다. 또한 유전자 상관관계분석을 위해 개체의 근육성장능력 및 조직발달능력기록과 restriction pattern을 비교 분석하고 유전자형과 이의 실제 표현형질의 관련성을 설명할 수 있는 최적 선형모형을 개발한다. 이를 기초로 증체 개체의 구조적 선별을 위한 유전력을 산출하여 산육형질 향상을 나타내는 돈군을 선발하고 통계적으로 신뢰도가 높은 검증방법을 모색한다. 또한 검색된 표지유전자를 도구로 사용함으로써 산육형질의 차이를 보이는 돈군간의 유전형질 특이성을 RFLP를 사용하여 조사·분석한다. 이로 인해 얻어지는 새로운 정보들을 통합하여 염색체상의 좌위를 분석함으로써 연관지도를 작성할 수 있으며, 밝혀진 유전자의 염기서열을 토대로 하여 신속한 유전자 다형성의 검색을 위한 수단의 제시가 가능할 것으로 기대된다. 일례로 적합한 표지유전자의 선발에 이은 PCR 방법의 적용을 들 수 있으며, PCR을 활용해 근육성장 관련 유전자들에 대한 DNA marker의 탐색 및 활용성을 검토한다.

다. 표지유전자의 실용화 및 검증

상기에서 분석된 유전자형과 이의 실제 표현형질의 관련성을 설명할 수 있는 최적선형모형의 개발한다. 이를 통하여 산육형질과 육질면에서 우수한 능력을 보유한 개체의 구조적 선별을 위한 기초자료를 분석하고 퇴교배를 통한 형질발현을 조사·검토하여 통계적으로 가장 신뢰도가 높은 검증방법을 모색한다. 증체 개체의 가계도에 의한 증체·육질능력분석을 위해 근육성장·조직발달과 관련된 유전자에 따른 육질능력을 가계별 개체의 일당증체량, 사료효율, 도체중, 등지방두께, 도체등급 등으로 분리하여 분석하며 육질과 관련된 조직학적 요인의 검증자료들을 통해 증체능력과의 상관분석을 실시한다. 또한 후보유전자의 분포를 검증하고 근육성장과 육질능력 관련 형질발현 유전자형의 개체간 차이와의 상관분석을 실시한다. 이 결과를 토대로 증체 및 육질면에서 우수 개체 선별을 위한 유전력 산출을 위한 최적 선형모형을 개발

하며, 선발을 통한 개량효과의 추정으로 기존의 개량체계와 비교한다.

4. 근육성장과 조직학적 발달에 대한 이화학적 기전 및 육질변이

가. 근육성장관련 형질의 이화학적 특성 분석

근육성장과 관련된 조직학적 특성변이에 따른 근육의 대사적, 생화학적 특성을 관찰하여 근육내 이화학적 특성을 분석한다. 대사적 특성을 관찰하기 위해 근섬유 형태에 따른 산화적/혐기적 대사, glycogen 함량, 모세혈관 밀도 등의 차이를 이용하여 fiber type을 구분하며 각 근섬유조성에 따른 대사적 특성을 조사한다. 또한 이러한 작용의 생화학적 기전을 이해하기 위하여 대사와 관련된 중요 근육내 효소의 활성을 측정하여 평가한다.

근섬유 조성에 따른 성장속도의 변화를 관찰하기 위해 각 근섬유형을 분석하고 이들의 단백질 합성비율을 측정한다. 또한 근섬유형의 비율을 측정하여 이들과 산육형질과의 관계를 규명한다.

나. 근육분화형질을 이용한 돈육질 변이요인 탐색

제2세부과제에서 제안된 근육분화형질을 이용하여 도축 직후, 사후강직 후의 단계별 생체변이를 관찰하고 이러한 근육분화형질에 따른 사후대사 및 육질변이요인을 탐색한다. 각 단계별 분석항목을 통계적 기법을 이용하여 육질변이요인 탐색을 위한 가장 적합한 항목을 설정하고 이들의 실용화 방안을 모색한다. 또한 근육내 각 생체인자들의 작용변이를 관찰하기 위해 생화학적 기법을 이용하여 주요 효소의 활성과 고에너지 인산화합물의 변화를 측정한다. 또한 근육의 기본단위인 근섬유를 조직학적으로 분석하여 각 근섬유의 대사적 특성 비교를 통해 대사변이의 기전을 규명한다.

다. 산육량 증가와 돈육질 변이간의 연관성 분석 및 작용기전 규명

산육능력의 향상소질을 가지는 개체의 경우 생체 내 밀접히 관련된 표지인자의 존재가 관찰되고 있다. 따라서 이러한 생체인자를 이용할 경우 근육내 이화학적 변이에 대한 예측이 가능해질 뿐 아니라 이 결과를 토대로 돈육질 형성기전에 대한 이해를 넓힐 수 있다. 따라서 돼지의 도축직후, 사후강직 후 근육을 채취하여 glycogen 함량과 근육내 다른 에너지원의 변화를 관찰하고, 각 단계별 근육내 에너지원의 변화에 따른 추정치를 검증하여 적합한 예측요인을

조사한다.

1, 2차년도 연구결과를 바탕으로 설정한 예측 model로 생체 bioassay 결과와 육질을 추정할 수 있는 요인의 상관도를 추정하여 그 특성을 모색함으로써 가장 정확한 추정요인을 선별할 수 있는 조건을 설정한다. 또한 1, 2차년도 연구결과를 종합하여 산육형질 및 육질 측정항목에 관여하는 인자와 사후 측정시간에 대한 회귀분석으로 육질을 관별하는데 추정치가 높은 변수를 확인한 후 돈육질에 따라 그룹을 나누어 추정치가 높은 변수에 대해 분석을 실시하여 돈육질에 대한 modelling을 실시한다.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1 절 국내·외 기술 현황

현재까지 국내에서 근육성장과 관련하여 근세포 수준에서의 유전학적 접근은 시도된 바 없으며, 세계적으로도 최근 일부 유전자에 대한 다형성 분석에 대한 연구만 있을 뿐 근육성장과 이화학적 기전에 대한 실제적인 접근은 미약한 실정이다.

근세포는 근육의 기본 단위로 근육성장 및 근육의 이화학적 특성을 설명하는 기본 단위로 활용할 수 있다. 뿐만 아니라 각 근섬유는 산화적/혐기적대사특성, 수축속도, 섬유의 크기, 모세혈관 비율 등 독특한 특성을 지니고 있기 때문에 육량적 측면 뿐 아니라 사후 근육의 대사변이와 육질 형성과도 밀접히 연관되어 있다(Pette와 Staron, 1990). 이러한 이유로 최근 근세포 분화와 조직학적 특성에 관여하는 유전인자에 대한 관심이 높아지고 있다.

근세포의 세포증식은 임신기간 90일 이내에 종료되는데(Wigmore와 Stickland, 1983), 1차 근원세포(primary myoblast)의 빠른 융합에 의해 1차 근섬유(primary fiber)의 형성이 선행된 후 그 표면에 2차 근섬유(secondary fiber)의 발달이 이루어진다(Duxson과 Usson, 1989).

동물의 근육생산량은 이러한 과정에 의해 형성된 근섬유 수(muscle fiber number)와 깊은 관련이 있으며(Luff와 Goldspink, 1967), 돼지의 경우 근세포 수는 출생 이전에 이미 고정된다(Staun, 1972). Handel과 Stickland(1987)는 돼지에 있어 출생전 형성된 근섬유수가 최고의 적육성장 능력을 결정한다고 보고하였다. 자돈은 생시체중, 성장율, 근섬유 수 등에서 다양한 변이를 보이는데(Dwyer와 Stickland, 1991), 이들 변이 중 많은 부분이 유전적 요인에 의해 결정되어진다(Coppieters 등 1993).

돼지에 있어 근세포 분화를 조절하는 유전자는 MyoD(Davis 등, 1987), myogenin (Wright 등, 1989), myf-5(Braun 등, 1989), MRF4(Miner 등, 1990) 등이 보고되고 있으며, 이들의 유전적 변이를 밝히려는 연구가 시도되고 있다. 현재 돼지 myf-4 유전자에 대한 다형성이 보고되었으며(Ernst 등, 1993), 최근 근육발달과 성장에 관여하는 myogenin 유전자 좌위의 변이와 다형성에 대한 유전자형 구분이 시도되어(Ann Soumillion 등, 1997) 표지유전자 개발에 대한 가능성을 시사하였다. 그러나 유전자 내에 다형성의 위치와 육종선발계통 내에 표지인자로 이용 가능한 유전자의 선별은 이루어지지 못하고 있다.

돼지의 생산성 극대화를 위한 육종계획은 다양한 선발강도를 통해 근육이나 지방, 뼈 등 각 조직들에 적용되어져 왔다. 그중 총 근섬유 수, 근섬유 조성, 근섬유 단면적 및 모세혈관의 밀도는 근육성장과정에서 근육의 이화학적 특성에 중요한 영향을 주며, 도축 전·후 근육의 생화학적 대사변이를 가져와 결과적으로 육질에까지 영향을 미치게 된다(Karlsson 등, 1994).

근세포 분화에 관여하는 여러 유전자의 영향으로 근섬유 수와 근육내 조직학적 특성에 변

이를 가져오며 이에 따른 근육의 이화학적 특성변이가 나타나게 된다. 조직학적 연구결과 근섬유는 출생 후 2일 동안 분화하여 각 근섬유 type으로 구분되기 시작하고 성숙숙이 일어날 때까지는 type I fiber 비율의 증가가 관찰되며, 그 이후에는 감소하는 것으로 알려져 있다(Pette와 Staron, 1990). 또한 성장 중 oxidative fiber 단면적의 감소와 glycolytic fiber 단면적의 증가가 관찰된다(Essen-Gustavsson 등, 1994). 돼지의 경우, 각 근섬유의 구성비율은 각 개체와 근육에 따라 다르며(Sorensen 등, 1996), 이러한 근섬유 조성은 체중 25~90kg 사이의 성장기간 중에는 큰 변화를 나타내지 않지만 근섬유의 단면적, 모세혈관의 밀도, 여러 효소의 활성과 glycogen의 함량은 이 기간동안 큰 변화를 나타낸다(Oksbjerg 등, 1994). Klont 등(1998)은 사료효율과 oxidative fiber의 면적간에 부의 상관관계가 존재하며, 육량증가와 모세혈관의 밀도간에 정의 상관관계가 존재하는 것을 관찰하였다. 이를 바탕으로 적육생산형 육종의 결과 근섬유조성에 많은 변화를 가져와 그 결과로 glycolytic fiber의 비율이 증가하고 섬유직경이 증가했으며 이러한 변화는 직·간접적으로 육질에 영향을 미치고 있음을 시사하였다. 또한 oxidative fiber의 빈도가 높은 돼지의 경우 스트레스에 대한 저항능력이 크며 도축 후 pH 저하도 완만히 일어난다(Ruusunen과 Puolanne, 1997).

이상의 연구 결과들을 종합하여 보면 여러 가지 유전인자들이 서로 상호보완적 혹은 길항작용을 통하여 태아의 근육 생성과 발달에 관여하고 있으며, 이러한 유전인자들의 탐색과 이들의 다형성 분석은 골격근의 발달과 근육의 이화학적 특성에 대한 육종지표로서의 이용가능성이 높은 것으로 평가된다.

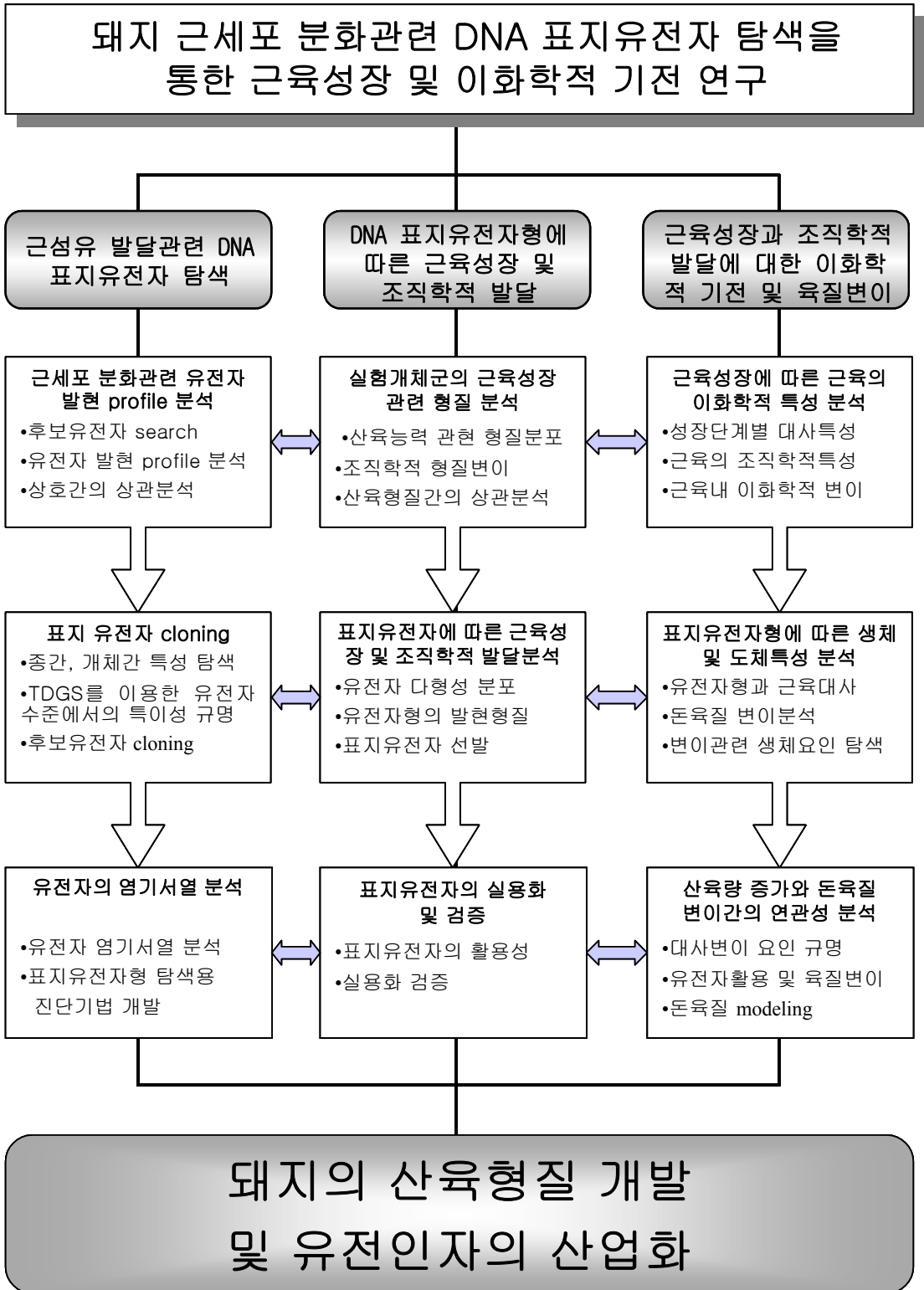
제 2 절 앞으로의 전망

최근 눈부신 속도로 발전과 개선이 이루어지고 있는 분자생물학적 방법론과 세포 수준에서의 근육의 이화학적 기전 이해를 통해 근육성장에 대한 유전인자의 선별이 가능해졌다. 더욱이 양돈산업에서 가장 생산성을 높일 수 있는 요인이 근육성장효율 증대라는 점에서 주목할 만 하다. “동물 유전자원의 독점화“ 자체가 곧바로 유전자원의 개발과 동일한 의미로 간주되는 시점에서 이에 대한 선점노력은 곧 바로 경쟁력우위의 확보로 이어질 수 있을 것이다. 따라서 미국의 PIC USA와 영국의 PIC UK가 이 분야의 연구에 돌입하여 시장독점을 위한 상호 협동체계의 구축에 노력을 경주하고 있는 현시점에서 근세포 분화관련 유전자의 다형성을 분석하고, 표지인자로 실용화할 경우 국내 양돈 산업이 국제 경쟁력이 있는 산업으로 발돋움할 수 있는 계기가 될 것으로 기대된다.

현재까지는 근섬유의 분화에 관여하는 유전자들의 규명과 그들이 근섬유의 분화발달에 관여하여 근섬유 크기와 조성에 구체적으로 어떠한 영향을 미치는지에 대한 연구가 국내외적으로 진행되어 있지 않다. 그러므로 이러한 인자들이 근섬유를 구성하고 있는 근섬유 구조 단백질의 발현과 분화에 미치는 영향을 분석하여 실용화할 경우 돼지 산육형질에 대한 신속하고 효과적인 육종지표로 이용할 수 있다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 연구개발수행 방법



1. 근섬유 발달관련 DNA 표지유전자 탐색

가. 근섬유 발달 관련 유전자 및 그들의 발현 profile 분석

1) Internet을 통한 근섬유 발달 관련 후보유전자 검색

근섬유 발달과 관련된 후보유전자 검색을 위해 지금까지 성장 및 육질과 관련하여 기존의 보고된 유전자들을 정리하였으며, NCBI의 gene bank로부터 이들 유전자의 sequence 및 발현부위에 대한 *in silico* data를 토대로 근섬유의 크기와 조성에 대해 후보유전자(candidate gene)로 선정하는 기준을 설정하였다.

2) 유전자 및 유전자 발현 profile 분석

선정된 후보유전자인 myogenin 유전자의 근섬유발달 단계에서의 작용과 **유전자 및 유전자 발현 profile 분석**을 위해 기존의 연구결과를 바탕으로 가설을 설정하여 이에 대한 검증 및 분석을 실시하였다. 즉, 아미노산 구조에서 종간, 개체간 차이가 없음을 토대로 porcine myogenin 유전자의 발현은 유전자의 발현량을 조절하는 promoter 지역에 종간 개체간의 차이를 나타내는 변이가 존재할 수 있을 것 이라는 가설을 설정하고 이에 대한 검증을 하기 위해서 RT-PCR(Reverse transcriptase - polymerase chain reaction)을 수행하였다.

먼저 Myogenin 유전자가 개체별로 차등하게 발현하는지를 관찰하기 위하여 사후 도축된 지 45분 지난 등심근 조직 sample에서 mRNA를 채취하였다. 채취한 mRNA를 reverse transcriptase를 이용한 PCR 반응을 통해서 cDNA를 합성하고, Myogenin 유전자의 coding sequence에 맞게 primer를 제작하여 목적으로 하는 cDNA만 증폭시켜 보았다. 이 방법은 sample별로 다르게 발현하는 myogenin의 mRNA 수준을 확인할 수 있게 해 줌으로써 근섬유 형성과 관련하여 myogenin 유전자가 다르게 발현됨을 밝히고, 이러한 차이가 근섬유 발달과 산육형질등에 영향을 줄 것으로 예상할 수 있게 해줄 것이다. 또한 이후 찾게 될 유전적 변이에 의한 형질차이를 주는 DNA Marker 선정에 중요한 근거로 제시될 것이다. 이와 함께 추가로 MyoD gene family 중에 myogenin 유전자에 상가적으로 작용할 수 있을 것으로 판단되어지는 Myf6 유전자에 대해서도 **유전자 발현 profile 분석**을 위해서 mRNA를 추출하고 cDNA 합성을 통해 myogenin과 primer만 달리하고 동일한 방법으로 RT-PCR을 수행하였다.

나. 표지유전자 cloning

근섬유 형성과 관련한 후보유전자의 변이나 다형성을 찾고, 그에 따라서 발생하는 유전자

형과 성장 및 산육형질, 육질 등의 대상형질과의 연관성을 분석하기 위해서는 후보유전자의 동정이 필요하다. 표적으로 하는 유전자의 부분만 대량으로 확보하기 위해서는 PCR만의 방법으로도 가능하지만, SNP등 유전자의 염기서열까지 파악하기 위해서 후보유전자의 cloning을 이용했다. cloning을 실시함으로써 보다 정확하고 정제율이 높은 후보유전자 부위를 확보할 수 있었다.

후보유전자를 cloning하기 위하여 먼저 Gene bank로부터 얻은 Porcine myogenin genomic DNA의 서열에 대한 정보를 가지고 transcriptional factor binding site 및 개체간 다형부위를 찾기 위하여 primer를 제작하여 약 2.1kb 정도를 증폭하였다. 이러한 증폭산물에 대해 염기서열 분석의 효율을 높이기 위하여 다시 세부분으로 나누어 primer를 제작하여 각각을 다시 증폭하였으며, 각각 증폭된 산물들은 TA-vector에 삽입하여 cloning을 실시하였다. 이와 함께 MyoD gene family 중에 myogenin 유전자에 상가적으로 작용할 수 있을 것으로 판단되어지는 Myf6 유전자에 대한 실험은 이미 밝혀진 유전자형에 대한 것이므로 의미가 없다고 판단하여, cloning을 실시하지는 않았고, direct sequencing을 통하여 기존에 밝혀진 염기서열을 확인하고, 마찬가지로 기존에 밝혀진 SNP를 중심으로 분석을 실시하였다.

다. 유전자의 염기서열 분석

Cloning을 통하여 확보된 Porcine myogenin 5' promoter region에 대한 염기서열을 분석하였다. 염기서열 분석을 통하여 myogenin 유전자의 발현양상이 달라지게 되는 원인을 DNA수준에서 확인할 수 있으며, 특히 5' promoter region에서 작용하는 upstream transcription factor의 차이가 유전자의 발현양을 조절할 것이라는 가설을 구체적으로 뒷받침 해줄 수 있는 근거가 될 것이다. 또한 밝혀진 염기서열의 개체별 차이에 따라서 다형성을 예상할 수 있고, SNP같은 DNA marker를 찾아낼 수 있는 분석자료로 활용할 수 있다.

분석방법으로 먼저 Cloning한 target sequence를 PCR을 통해서 다시 동정을 하고, 확보된 부분을 sequencing 하였다. 대상 개체군 내에서 sample을 random 하게 10개 추출하여 PCR을 수행하였고, PCR product 내의 반응하고 남은 Template나 Primer를 없애주기 위해서 purypication을 실시하였다. 이렇게 얻어진 10개의 sample을 양방향에서 sequence를 분석하기 위해서 3반복씩 총 8번의 sequencing 반응을 의뢰하였다.

염기서열의 분석결과 Porcine myogenin 5' promoter region에서 새로이 1개의 SNP(single nucleotide polymorphism)를 발견하게 되었다. 이를 근거로 5' promoter region의 SNP가 myogenin의 발현에 차이를 줄만한 분자생물학적 근거를 마련할 수 있었고, 유전자형을 결정하여 성장형질 및 산육형질, 육질, 조직학적인 발달등의 대상형질과의 연관성을 분석할 수 있게 되었다. 추가적으로 품종별 이러한 변이의 차이가 있는지 확인하게 될 것이며, 최종적

으로는 근섬유 형성과 관련하여 조직학적인 차이를 통한 산육형질 증가를 가져올 수 있는 유전적인 DNA Marker로 활용할 것이다.

라. 표지유전자형 탐색용 진단기법 개발

1) 종간 및 개체간의 특이성 탐색

표지유전자형을 탐색하기에 앞서 종간 및 개체간의 특이성을 분석하였다. 개체간의 porcine myogenin 5' promoter region에서 한 염기가 차이를 보이는 SNP에 대한 분석을 실시한 후 이를 두 종간 비교 분석하였다. 비교분석을 위해서 앞서 분석된 Yorkshire종과 동일한 방법으로 다시 Landrace종에 대해서 cloning과 염기서열분석을 실시하였다. 분석결과는 품종간의 특이성 유무, 즉 차이유무에 따라서 앞으로 개발될 표지유전자의 활용성 범위가 달라지게 될 것이다. 품종별로 차이가 없다면 표지유전자를 품종에 상관없이 보다 보편적으로 이용할 수 있을 것이고, 차이가 있다면 Yorkshire나 Landrace에 국한되어 이용할 수 있을 것이다.

2) 표지유전자형 탐색용 진단기법 개발

본 연구에서 Porcine myogenin 5' promoter region에서 새롭게 밝혀낸 SNP 부위를 표지 유전자로 선정하고, 활용하기 위해서는 보다 손쉽게 SNP에 따른 유전자형을 파악할 수 있는 탐색용 진단기법 개발이 필요하다. 이를 위해서 PCR-RFLP(Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism)방법을 이용하였다. DNA marker를 한 번의 PCR 반응과 효소처리로서 밝혀낼 수 있는 가장 효율적인 방법의 하나로써, Restriction mapper software program을 이용해서 새롭게 밝혀낸 SNP부위를 인식할 수 있는 제한효소(Restriction enzyme)를 찾아내고, 유전자형별로 효소 처리에 따라서 다르게 나타나는 band 형태를 파악하였다. 이를 통해서 대상 개체군들의 유전자형을 모두 파악할 수 있었으며, 표지 유전자가 보다 보편적으로 이용될 수 있는 가능성을 확인할 수 있었다. 동시에 기존에 밝혀진 Myf6의 SNP 부위에 대한 유전자형도 myogenin과 동일한 방법을 이용하여, SNP 부위를 인지할 수 있는 제한효소를 찾아내었으며, 대상 개체군에 대해서 모두 유전자형 분석을 실시하였다.

2. DNA 표지유전자형에 따른 근육성장 및 조직학적 발달분석

가. 실험개체군의 근육성장관련 형질 분석

1) 실험가축 확보 및 시험축군 조성

Yorkshire 1품종 이용 (종모돈 7두 × 종빈돈 22두)

종모돈 1두당 × 종빈돈 3~4두

↓

자돈 (총 148두, 모돈당 4두~11두 : ♂ 2두, ♀ 2~9두)

2) 조사항목 측정방법

검정실험은 농림부 고시 제2000-19호('00.3.6)의 돼지 검정요령에 의거 실시하였으며, 검정항목은 개시체중, 개시일령, 종료체중, 종료일령, 보정등지방두께, 일당증체량 등 6개 항목과 종돈산육능력검정요령에 따라 90kg도달일령, 정육율 등을 조사하였다. 조사항목별 측정방법은 아래와 같다.

① 개시체중

개시체중은 검정개시시 $30 \pm 5\text{kg}$ 의 체중을 측정하였다.

② 개시일령

개시일령은 생년월일부터 검정개시일까지의 일령을 기록하였다.

③ 종료체중

종료체중은 검정종료시 $90 \pm 5\text{kg}$ 의 체중을 측정하였다.

④ 종료일령

종료일령은 생년월일부터 종료체중 측정일까지의 일령을 기록하였다.

⑤ 등지방두께

등지방두께는 초음파 측정기를 사용하여 제10늑골의 1개부위를 측정하였다.

90kg시의 등지방두께는 다음의 보정공식을 이용하였다.

$$\text{측정시두께} + \{[(90\text{kg}-\text{측정체중}) \times \text{측정시 등지방두께}] / (\text{측정시체중}-11.34)\}$$

⑥ 일당증체량

일당증체량은 검정기간중의 증체량을 검정일수로 나눈 것으로 다음과 같이 측정하였다.

$$(\text{종료시체중} - \text{개시체중}) / (\text{종료일} - \text{개시일})$$

⑦ 90kg 도달일령

90kg 도달일령은 생년월일로부터 90kg 도달시의 일령으로서 다음의 보정공식을 이용하였다.

$$\text{측정시일령} + \{(90\text{kg}-\text{측정체중}) \times (\text{측정시일령}-38) / \text{측정시체중}\}$$

⑧ 정육율

정육율은 SONO-600을 이용하여 조사하고 체중에 따른 보정계수는 다음의 정육율 보정계수를 적용하였다.

<정육율의 보정계수>

무 게 (kg)	보 정 계 수(%)
70 ~ 75	-2.0
75 ~ 80	-1.5
80 ~ 85	-1.0
85 ~ 90	-0.5
90 ~ 95	0.0
95 ~ 100	+0.5
100 ~ 105	+1.0
105 ~ 110	+1.5
110 ~ 115	+2.0
115 ~ 120	+2.5

3) 통계분석 방법

근육성장·조직학적 특성과 최종 도체품질과의 상관관계 분석을 위하여 SAS/ STAT 9.13 package를 이용하여 분석을 실시하였다.

나. 표지유전자에 따른 근육성장 및 조직학적 발달분석

표지유전자의 다형성에 따른 유전자형의 근육성장 및 조직학적 발달항목에서의 분포조사는 제 1세부 과제에서 연구된 Porcine myogenin 5' promoter region에서 밝혀진 SNP site를 대상으로 실시하였다. 개체별로 나타난 유전자형을 종합하여 유전자형 빈도를 구하고, 품종별 유전자형 분포의 차이를 확인하였다. 마찬가지로 기존에 밝혀진 Myf6 유전자좌위안의 SNP에 대한 유전자형의 분포를 동일 개체군 내에서 확인하고, 이 같은 표지유전자에서 밝혀진 SNP에 따른 유전자형과 근육성장 및 육질, 조직학적 특성과의 관련성을 분석하기 위해 고정모형 효과를 설정하고 이들의 상관분석을 실시하였다. 통계분석은 SAS 9.13 package에서 제공되는 SAS/GLM procedure를 이용하였고, 최소제곱평균(Least Squares Means)을 구하여 유의차를 평가하고 연관성을 분석하였다.

$$Y_{ijklm} = \mu + \text{Geno}_i + \text{Sex}_j + \text{Season}_k + \text{Breed}_l + e_{ijklm}$$

Y_{ijklm} = 각 형질의 측정치

μ = 전체 평균

Geno_i = myogenin과 Myf6 유전자형 ($i=1,2,3$)

Sex_j = 성별의 효과 ($j=1,2$)

Season_k = 도축시기에 따른 계절 효과 ($k=1,2,3$)

Breed_l = 품종의 효과 ($l=1,2$)

e_{ijklm} = 임의 오차

산육형질관련 표지유전자 선발은 다형성에 따라 나타난 유전자형별 산육형질과의 상관관계 분석을 통하여 긍정적 영향을 나타내는 유전자형을 선발하였다.

다. 표지유전자의 실용화 및 검증

1) 복합표지유전자의 활용성 검토

앞서 밝혀진 myogenin과 myf6에 대한 SNP에 따른 유전자형을 각각 성장, 산육형질 및 육질과의 연관성을 분석하고, 이에 따른 최적의 선형모델을 제시하였다. 이에 적절한 양 유전자형을 복합 표지유전자로 선정하여, Haplotyping을 실시하고, 앞선 방법과 동일하게 Haplotype과 성장, 산육형질 및 육질과의 연관성을 분석하였다. 이 결과를 근거로 진단 및 탐색용 복합 표지유전자로서의 활용성을 검토하였다. 따라서 Haplotype을 고정효과로 선정

하고, 이러한 고정효과에 따른 산육형질 차이를 밝히는 고정효과 모형을 제시하였다. 통계분석은 앞선 연구와 마찬가지로 SAS 9.13 package에서 제공되는 SAS/GLM procedure를 이용하였고, 최소제곱평균(Least Squares Means)을 구하여 유의차를 평가하고 연관성을 분석하였다.

$$Y_{ijklm} = \mu + \text{Haplo}_i + \text{Sex}_j + \text{Season}_k + \text{Breed}_l + e_{ijklm}$$

Y_{ijklm} = 각 형질의 측정치

μ = 전체 평균

Haplo_i = Haplotype 유전자형 (i=1,2,3)

Sex_j = 성별의 효과 (j=1,2)

Season_k = 도축시기에 따른 계절 효과 (k=1,2,3)

Breed_l = 품종의 효과 (l=1,2)

e_{ijklm} = 임의 오차

2) 표지유전자의 실용화

새롭게 개발된 표지유전자 진단방법은 Myogenin 5' promoter region의 SNP를 PCR-RFLP 방법을 통하여 유전자형을 분석하고, 적절한 유전자형을 진단해내는 방법이다. 그러나 이러한 방법은 동일 실험실 내에서 동일한 조건하에서 실시된 방법으로 표지유전자가 보다 보편성을 갖고 실용화할 수 있도록 다른 조건에서 표지유전자의 유전자형을 분석해보았다. 그렇게 함으로써 분석을 하는 실험자가 다르고 동일한 실험조건이 아닌 상황에서도 진단방법에 따라서 분석을 시행할 시에 표지유전자의 유전자형을 정확하게 진단해 낼 수 있는 방법을 제시하였다. 본 연구에서 변화를 준 조건은 RFLP 분석시에 사용되는 제한효소(Restriction enzyme)를 동일 인식부위를 가진 다른 제한효소로 처리해 봄으로써 동일한 개체에 대해서 유전자형이 같은 결과로 분석이 가능한지 확인해 보았다. 이러한 결과는 새로이 발견해 낸 SNP 부위를 통한 유전자형 분석을 보다 간편하고 보편적인 방법을 개발하는데 이용되어질 것이다.

3. 근육성장과 조직학적 발달에 대한 이화학적 기전 및 육질변이

가. 근육성장관련 형질의 이화학적 특성분석

제2세부과제의 실험설계를 통해 교배된 자돈의 성장단계별 성장특성 확인 후 출하돈의 도체특성, 근육의 조직학적/이화학적 특성 및 최종 육질변이를 분석하기 위해 실험군을 동일 일령(172.7 ± 1.7 일)에서 일반적인 방식에 의해 도축한 후 시료를 채취하였다. 내장적출 후 축산물 등급판정사에 의한 등급판정이 이루어졌다. 실험군의 도체특성 분석은 출하시 체중, 도축 후 온도체중을 측정하였으며 두 측정치를 이용하여 도체율을 분석하였다. 또한 11~12 번째 흉추 및 최종 흉추부위에서 등지방 두께를 측정하였으며, 최종 늑골부위의 등심근 단면적을 측정하였다.

사후 45분에 흉추 5번과 6번 사이를 절개하여 등심근 일부를 채취, 액체질소에 침지하여 사후 초기 대사속도, 단백질의 변성도 및 조직학적 특성 분석에 이용하였다. 이후 냉각이 완료된 사후 24시에 등심근을 채취하여 이화학적 변이 및 최종 육질분석을 실시하였다.

근육의 조직학적 특성을 분석하기 위해 myosin ATPase activity를 이용한 근섬유 조성분석을 실시하였다(Brooke와 Kaiser, 1970). 근섬유의 단편은 미세절편기(CM 1850, Leica Co., Mannheim, Germany)를 이용하여 두께 10 μm 의 연속적인 절편을 얻었으며, 조직의 변성을 막기 위해 -25°C 를 유지한 상태에서 채취하였다. 채취한 절편은 현미경 관찰(CX 40, Olympus Co., Osaka, Japan)을 하였고, Image-Pro@Plus, Image & Graphics, Seoul, Korea)를 이용하여 단위면적당 근섬유 수(fiber number)를 측정하였다. 또한 근섬유 크기(fiber area), 직경(fiber diameter), 둘레(fiber perimeter)를 측정하였다. 총 근섬유 수는 단위면적당 근섬유 수(근섬유 밀도)에 등심근 단면적을 곱하여 측정하였다. 근섬유 형태의 구분은 Brooke와 Kaiser (1970)의 방법을 이용하였다. 염색방법은 myosin의 ATPase 활성을 이용한 혐기적 염색방법을 통해 근섬유 형태를 구분하였다. 분석의 정확성을 위해 시료당 500~600개의 근섬유를 분석하였으며, pre-incubation 조건으로 pH 4.6과 pH 10.4을 이용하여 실시하였다. 각 실험방법에 의해 염색된 조직절편을 현미경 하에서 관찰하여 근섬유를 세 type으로 구분하였다(type I, dark; type IIa, pale; type IIb, intermediate). 근육의 대사특성을 확인하기 위해 근육을 구성하고 있는 근섬유의 각 type별 근섬유 수(number percentage)와 각 근섬유형이 차지하고 있는 상대적인 면적비(area percentage)를 측정하였다.

근육내 사후 변화를 분석하기 위해 사후 대사속도 및 이에 따른 단백질 변성도를 측정하였다. 사후 대사속도를 측정하기 위해 사후 초기 근육의 pH($\text{pH}_{45\text{min}}$)를 측정하였으며, 근육내 ATP 및 이들의 분해산물들의 비율을 이용한 R-value를 측정하였다. Adenosine

nucleotides(ATP, ADP, AMP)의 최대 흡광도가 258~260 nm이고 IMP와 inosine은 248 nm, hypoxanthine은 250 nm인 것을 이용하여 260, 258, 250, 248 nm에서 흡광도를 측정 한 다음 그 측정치의 비율로 $R_{248}(A_{248}/A_{260})$, $R_{250}(A_{250}/A_{260})$, $R_{258}(A_{258}/A_{250})$ 을 계산하였다. 단백질 변성도는 근육내 총 단백질 용해도(total protein solubility), 근형질단백질 용해도(sarcoplasmic protein solubility) 및 근원섬유단백질의 용해도(myofibrillar protein solubility)를 분석하여 변성 정도를 확인하였다.



Serial sections of snap-frozen *longissimus dorsi* muscle stained for myosin ATPase activity after acidic preincubation at pH 4.6. (A). Stained sections were examined by a computerized image analysis system (B).

이상의 도체특성, 근육의 조직학적/이화학적 특성을 분석한 후 일반적인 돈육질 평가방법인 보수력, 육색을 측정하였다. 보수력은 유리육즙량 측정(bag drip method)과 여과지 흡수법을 이용하였다. 유리 육즙량(bag drip loss)의 경우는 Honikel(1987)의 방법을 변형하여 실시하였다. 사후 24시에 일정한 크기(4 × 7 × 2.5 cm)로 등심근을 잘라내어 무게를 잰 후 shackle에 걸고 polyethylene bag으로 육의 표면적이 닿지 않도록 싼 후 봉하여 48시간 저온실(2 ± 2℃)에 매달아 놓고 48시간 후에 감량을 측정한 후 유리 육즙량(%)을 산출하였다. 여과지 흡수법의 경우 Kauffman 등(1986)의 방법을 변형하여 실시하였다. 등심근의 단면을 절개하여 20분간 냉장실(2 ± 2℃)에 방치시킨 후 건조시킨 지름 4.25 cm의 여과지(Whatman #2)를 등심단면적에 완전하게 포개어 유리되는 수분량을 적시어 칭량저울(Model 8606, Mettler Co., Switzerland)에서 흡수된 양(mg)을 측정하였다. 육색은 색도계(Model CR-300, Minolta Camera Co., Osaka, Japan)를 백색판으로 표준화(C: Y = 91.7, x =

0.3138, $y = 0.3200$)시킨 다음 사후 45분, 24시에 측정하였다. 등심근을 절개하여 저온실($2 \pm 2^{\circ}\text{C}$)에서 blooming time을 30분으로 하여 CIE L^* , a^* , b^* 값을 측정하였다.

돈육질 구분방법은 육색의 명도(lightness)와 보수력을 이용하여 정상육(reddish-pink, firm, non-exudative; RFN), PSE(pale, soft, exudative), RSE(reddish-pink, soft, exudative) 및 DFD(dark, firm, and dry)육으로 구분한 후 돈육질 그룹에 따른 특성분석을 실시하였다.

Pale, soft, and exudative (PSE): drip loss $> 6.0\%$, $L^* > 50$

Reddish-pink, soft, and exudative (RSE): drip loss $> 6.0\%$, $L^* \leq 50$

Reddish-pink, firm, and non-exudative (RFN): drip loss $\leq 6.0\%$, $L^* \leq 50$

Dark, firm, and dry (DFD): drip loss $< 2.0\%$, $L^* < 43$



Representation of pork quality class. Desirable pork quality is shown in the ham on A. It is reedish pink, the muscle is firm and holds its shape and has a normal amount of exudate (RFN). Undesirable pork quality is shown on B and C. The ham on B is pale, soft, and exudative (PSE) and the ham on C is dark, firm, and dry (DFD).

나. 표지유전자형에 따른 도체특성 및 육질분석

제2세부과제의 실험설계를 통해 생산된 자돈의 성장단계별 성장특성을 확인한 후 출하돈의 도체특성, 근육의 이화학적 특성 및 최종 육질변이를 분석하기 위해 실험군을 동일일령에서 도축한 후 등심근 시료를 채취하였다. 내장적출 후 축산물 등급판정사에 의한 등급판정을 실시하였으며, 실험군의 도체특성은 출하시 체중, 도축 후 온도체중을 측정하여 도체율을 분

석하였다. 또한 11~12번째 흉추 및 최종 흉추부위에서 등지방 두께를 측정하였으며, 최종 늑골부위의 등심근 단면적을 측정하였다. 냉각을 실시하기 전인 사후 45분에 흉추 5번과 6번 사이를 절개하여 등심근 일부를 채취, 액체질소에 침지하여 사후 초기 대사속도, 고에너지 인산화합물의 변화측정, 단백질의 변성도 및 조직학적 특성 분석에 이용하였다. 이후 냉각이 완료된 사후 24시에 등심근을 채취하여 이화학적 변이 및 최종 육질분석을 실시하였다.

제1세부과제에 의해 제안된 표지유전자의 효과를 분석하기 위해 표지유전자형에 근거하여 분석을 실시하였다. 돼지의 성장특성 및 도체성적에 대한 표지유전자의 효과를 분석하기 위해 일당증체량, 90kg 도달일령 등을 측정하였고, 도축 후 등지방두께, 도체중, 도체율, 등심근 단면적 등의 도체성적을 조사하였다. 표지유전자형에 따른 근육 조직학적 특성을 분석하기 위해서 근섬유의 특성을 분석하였다(Brooke와 Kaiser, 1970). 분석의 정확성을 위해 시료당 500~600개의 근섬유를 분석하였으며, 근섬유를 세 type으로 구분하였다(type I, dark; type IIa, pale; type IIb, intermediate). 각 근섬유의 크기 분석을 위해 근섬유 단면적(fiber area), 직경(fiber diameter), 표면 둘레(fiber perimeter)를 계산하였으며, 근섬유 수 분석을 위해 단위면적당 근섬유 수(fiber number per mm²)와 총 근섬유 수(total fiber number)를 측정하였다. 근육의 대사특성을 확인하기 위해 근육을 구성하고 있는 각 근섬유의 type별 근섬유 수(fiber number percent)와 각 근섬유형이 차지하고 있는 상대적인 면적비(fiber area percentage)를 측정하였다.

제1세부과제에서 제시한 표지유전자에 따른 근육의 이화학적 특성을 분석하기 위해 사후 대사속도 및 이에 따른 단백질 변성도를 측정하였다. 사후 대사속도를 측정하기 위해 사후 초기 근육의 pH(pH45min)와 최종 pH(pH24h)를 측정하였다. 단백질 변성도는 근육내 총 단백질 용해도(total protein solubility), 근형질단백질 용해도(sarcoplasmic protein solubility) 및 근원섬유단백질의 용해도(myofibrillar protein solubility)를 분석하여 변성 정도를 확인하였다. 또한, 산육형질 및 돈육질 변이 관련 생체요인을 분석하기 위해 근육내 주요 고에너지 화합물인 ATP와 glucose-6-phosphate(G6P), glycogen 농도 변화를 분석하였으며, glycogen과 glucose의 대사산물인 lactate의 농도를 분석하여 돈육질 변이와의 상관성을 조사하였다. 이상의 분석항목들은 근섬유의 특성과 도체특성 및 성장특성과의 연관성을 분석하기 위해 상관분석을 실시하였다.

다. 산육량 증가와 돈육질 변이간의 연관성 분석 및 작용기전 규명

도축 전·후의 대사변이 요인을 규명하기 위해 본 연구과제에서는 각 개체의 성장·도체특성과 근섬유의 특성을 이용하여 근육의 대사변이 요인을 규명하며, 이를 통해 육질이 향상

된 적육형 돈육 모델을 설정하고자 하였다. 각 개체의 성장특성인 생체중, 온도체중 및 등심근 단면적을 이용하여 muscle mass(MM)를 heavy, light 군집으로 형성하였고, 근육의 대사적/이화학적 특성 및 근육의 크기에 영향을 미치는 근섬유의 수와 크기(TFN)를 이용하여 high, medium, low 군집으로 분류하였다. 군집분석은 SAS(SAS Institute, Carry, NC, USA)를 이용하였으며 성장특성과 근섬유의 특성은 거리의 개념인 유클리디안 거리(euclidean distance)와 유클리디안 제곱거리값을 기초로 하여 data의 유사성을 측정해 거리가 가까운 대상끼리 군집을 형성하였다. 군집화의 방법은 순차적으로 군집화하는 계층적 군집화 방법을 사용하였다.

군집은 근육량이 우수하면서 총 근섬유의 수가 많은 군집(HH), 근육량이 우수하면서 근섬유 수는 medium인 군집(HM), 근육량은 적지만 근섬유 수는 medium인 군집(LM), 근육량과 근섬유 수가 적은 군집(LL)으로 4개의 군집을 형성하였다. 군집을 설정 후 성장특성, 도체특성, 근섬유의 대사적/이화학적 특성, 육질항목 및 단백질 용해도에 대해 각 군집간의 분산분석을 실시하였으며, 분석은 SAS의 General Linear Model(GLM) procedure에 의해 분석되었으며, 유의성 검증은 F-test를 사용하여 검증하였다.

제1세부과제에서 제시한 표지유전자의 실용화 구축을 위해 표지유전자가 돈육질변이에 미치는 영향을 분석하였으며, 제안된 표지유전자가 표현형질에 미치는 정확한 효과 추정을 위해 실험군의 성장특성, 도체특성 및 근육의 조직학적/대사적 변이와의 연관성을 다각적으로 분석하였다. 제3세부과제에서는 제안된 Myf-6와 MG5'의 genotype에 의해 분석을 실시하였으며, 본 실험에서는 haplotype에 근거하여 분석을 실시하였다. 제안 표지유전자인 MG5' 유전자좌위에서는 TT, TC, CC 유전자형이 관찰되었으며, TT 유전자형은 253두 중 2두만이 발견되어 이 유전자형은 형질에 대해 정확한 효과 추정을 위해서 연관성 분석에서 제외하였다. 제안 표지유전자 Myf-6 유전자좌위에서는 AA, AB, BB 유전자형이 관찰되었으며, AA 유전자형은 253두 중 3두만이 발견되어 MG5'의 TT 유전자형과 같이 분석에서 제외하였다. 따라서 Myf-6와 MG5'의 haplotype은 ABCC, ABTC, BBCC, BBTC이 유전자형으로 제안되었으며, 제안된 유전자형에 따른 표현형질을 분석하였다.

각 군집과 유전자형에 따른 돼지의 성장특성 및 도체성적을 분석하기 위해, 일당증체량, 90kg 도달일령 등을 측정하였고, 도축 후 등지방무게, 도체중, 도체율, 등심근 단면적 등의 도체성적을 조사하였다. 표지유전자형에 따른 근육 조직학적 특성을 분석하기 위해서 근섬유의 특성을 분석하였다(Brooke와 Kaiser, 1970). 각 근섬유의 크기 분석을 위해 근섬유 단면적(fiber area)을 계산하였으며, 근섬유 수 분석을 위해 단위면적당 근섬유 수(fiber number per mm²)와 총 근섬유 수(total fiber number)를 측정하였다. 근육의 대사특성을 확인하기 위해 근육을 구성하고 있는 각 근섬유의 type별 근섬유 수와 각 근섬유형이 차지하고 있는 상대적인 면적비를 측정하였다.

각 군집과 유전자형에 따른 돈육질 변이에 미치는 영향을 분석하기 위해서 도축후 45분에 육색(L^* , a^* , b^*), 등심근의 온도, pH(pH_{45min})를 측정하였으며, 도축후 24시에는 육색(L^* , a^* , b^*), 등심근의 온도, pH(pH_{24h}) 및 보수력(water holding capacity)를 측정하였다. 보수력 항목으로는 유리육즙량과 여과지흡수법을 이용하였다. 단백질 용해도는 단백질 변성정도를 측정하는 실험으로 사후 45분과 24시에 근육내 총 단백질 용해도(total protein solubility), 근형질단백질 용해도(sarcoplasmic protein solubility) 및 근원섬유단백질의 용해도(myofibrillar protein solubility)를 분석하여 근육 단백질의 변성 정도를 확인하였다.

제 2 절 연구수행 내용 및 결과

1. 근섭유 발달관련 DNA 표지유전자 탐색

가. 근섭유 발달 관련 유전자 및 그들의 발현 profile 분석

1) Internet을 통한 근섭유 발달 관련 후보유전자 검색

Internet을 통한 후보유전자 검색에 앞서 후보유전자로서의 가능성에 대한 기준은 포유류에서 근육의 형성 및 성장에 관련된 유전자들 중심으로 검색이 되었다. 기존에 보고된 근육 형성 및 성장에 관련된 유전자와 관련 형질 및 다형부위는 Table 1-1과 같다.

Table 1-1. Candidate genes for muscle formation and muscle growth

Gene name	Variation region	Breed	Traits	Reference	
<i>MyoD</i>	1st intron	Pietrain	Half carcass	Cieslak <i>et al.</i> (1999)	
		Landrace	meat weight,		
		Yorkshire	meat percentage		
<i>Myf-5</i>	1st intron	Yorkshire	Birth weight	Soumilion <i>et al.</i> (1997)	
			Carcass weight	Te Pas <i>et al.</i> (1999)	
			Growth rate		
<i>Myogenin</i>	3'-region	Yorkshire	Lean weight	Soumilion <i>et al.</i> (1997)	
			Birth weight		Te Pas <i>et al.</i> (1999)
			Carcass weight		
<i>PIT-1</i>	cDNA	Chinese breed × European breed	Growth rate	Yu <i>et al.</i> (1995)	
			Backfat		
		Large white Landrace	Thickness	Stancekova <i>et al.</i> (1999)	
			Backfat		
			thicknes		
<i>H-FABP</i>	2nd Intron	Duroc	Lean content	Gerbens <i>et al.</i> (1999)	
			Body weight		
			Backfat thickness		

이러한 후보유전자들 중에서 근육에서의 발현정도가 높은 유전자를 선별하기 위하여 근육 세포에서의 유전자 발현정도를 알아보기 위하여 human과 mouse 근육에서의 EST *In silico* data를 NCBI의 각 조직별 유전자의 발현정도를 나타내는 CGAP의 gene의 cDNA virtual northern을 이용하여 근육에서의 발현정도가 가장 높은 MyoD gene family를 선정하게 되었다. 후보유전자로 선정된 MyoD gene family의 근섬유세포 발달단계에서의 역할은 많은 연구가 되어 있으며, 특히 mouse에서 많은 실험들을 통해 잘 알려져 있다.

중배엽에서 myoblast로의 초기 분화는 외부의 신호(external stimulation)에 의해서 시작되어지는데, myoblast에서는 myoD 유전자와 myf-5 유전자가 상호 억제작용을 하며 single nucleate인 myoblast를 multi-nucleate인 myotube로의 분화를 촉진한다. 이 시기에 MRF-4 (Myf-6) 유전자가 활성화 되고 myotube에서 muscle fiber로의 최종분화는 myogenin 유전자에 의해 조절되어 지는 것으로 알려져 있다.

특히 MyoD gene family 중에서도 myotube에서 muscle fiber로의 분화에 가장 큰 역할을 하는 myogenin은 mouse를 이용한 유전자발현억제 실험을 통하여 myogenin 유전자의 발현이 제한된 개체에서 muscle fiber 형성이 억제된다는 점에서 근섬유형성 및 발달에 주요한 역할을 할 것으로 기대되는 점에서 후보유전자로 선택을 하였다. 또한 Myf-6 유전자는 앞서 언급한대로 myogenin에 앞서서 발현되어 지는 것으로 보고되었다. 이 유전자의 발현의 차이가 myogenin의 발현에 영향을 미칠 것이라고 판단하였다. 따라서 기존에 밝혀진 Porcine myf-6 유전자의 SNP들 중에서 Intron 1 region에 있는 것과 myogenin과 마찬가지로 5' promoter region에 있는 것을 선택하여 후보유전자로 선정하였다. Intron의 유전자 변이를 줄 수 있는 SNP를 선정한 이유는 Differential expression 되는 방법들의 중에 하나인 alternative splicing 등에 의해 유전자 발현 정도에 변화를 줄 수 있고, 이러한 현상이 결국 myogenin 유전자에 상가적으로 작용하여 근세포 분화에 영향을 미치고, 산육형질까지 변화를 줄 것으로 판단하였기 때문이다.

2) 유전자 및 유전자 발현 profile 분석

Myogenin 유전자의 구조분석을 위해 먼저 기존에 보고된 유전자의 단백질 발현부위 (coding region)에서의 연구결과를 살펴보았다. 보고에 따르면 porcine myogenin 유전자에서 개체간, 종간에 mRNA를 생성하는 Exon 부위에서는 염기서열의 차이가 없음을 보고하였다 (Soumillion 등, 1997). 이러한 결과에 의하면 같은 아미노산 염기서열을 가지는 상태에서 유전자 발현의 정도 차이에 의해 근섬유형성의 개체간 차이를 나타낼 수 있음을 추측케 한다.

근섬유의 조성은 앞서 언급한 분화인자들이 근섬유 단백질의 발현에 미치는 조절작용에 의해 크게 좌우된다고 판단된다. 두가지 측면, 즉 질적인 면과 양적인 면에서 근섬유형성에 영

향을 미친다고 하겠다. 앞에서 언급한 바와 같이 질적인 면, 즉 아미노산 배열에 있어 이 유전자의 중간 개체간의 차이는 발견되지 않았기에 이 유전자의 양적인 면, 즉 발현량에 차이가 있을 것으로 간주하였다. 그러므로 이러한 조절인자들의 조절 부위에서의 유전자 염기배열의 차이가 자체 발현량에 차이를 초래할 것이고 이 양적인 차이가 근섬유 크기와 조성에 영향을 미칠 것이라는 가설을 세웠다.

이러한 가설을 구체적으로 검토하기 위하여 **myogenin 유전자의 profile 분석**이 필요했고, 확인 방법으로 mRNA 수준에서의 발현양상을 보기위한 RT-PCR(Reverse transcriptase - polymerase chain reaction)을 이용하였다. sample은 사후 45분이 지난 등심근을 이용했고, Trizol을 이용하여 mRNA를 추출한 후 random primer를 사용하여 PCR 반응을 통해서 cDNA를 합성하였다. RT-PCR 반응시 확보된 cDNA를 통해서 myogenin 유전자의 CDs(coding region) 부분을 증폭시켜 줄 수 있는 specific한 primer를 제작하였다. Forward primer의 sequence는 5'-GCA GGC TCA AGA AGG TGA AT-3'(20mer)이고, Reverse primer의 sequence는 5'-ATT GTG GGC ATC TGT AGG GT-3'(20mer)로 제작하였고, 증폭부위가 exon 1부터 exon 3을 모두 포함하도록 하였다. 또한 부가적으로 myogenin에 앞서 활성을 유도하는 **MRF-4(이하 Myf6)유전자 profile 분석**을 통하여 이 유전자의 myogenin에 대한 상가적 유전효과를 예측해 보았다. Myf6도 역시 RT-PCR을 통해서 유전자 발현양상을 확인하였다. mRNA합성은 myogenin과 동일한 sample에 대하여 동일한 방법으로 추출하였고, cDNA까지 합성하였다. RT-PCR 반응시 확보된 cDNA를 통해서 Myf6 유전자의 CDs 부분을 증폭시켜 줄 수 있는 specific한 primer를 제작하였다. Forward primer의 sequence는 5'-GAG AGG AGG AGG CTG AAG AAA-3'(21mer)로, Reverse primer의 sequence는 5'-ACG ATG GAA GAA AGG CAC C-3'(19mer)로 제작했다. 증폭 부위는 myogenin과 마찬가지로 exon 1부터 exon 3를 모두 포함하도록 제작하였다(Figure 1-1).

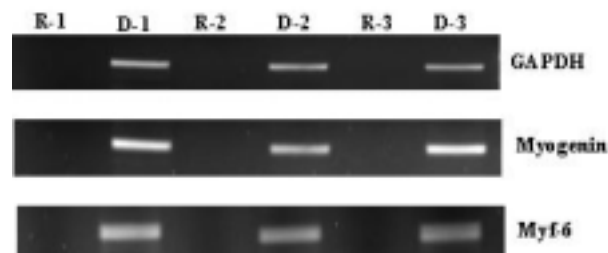


Figure 1-1. Candidate gene profile analysis. Lanes is RNA expression of GAPDH, Myogenin, Myf-6 RT-PCR band ; lane - R1,2,3 is RNA PCR band, lane - D1,2,3 is cDNA PCR band.

발현된 mRNA의 상대적인 양을 측정하여 각 sample 끼리의 비교를 위해서 Gel image analysis system(Kodak Gel logic 100)을 이용하여 band의 intensity를 분석하였다. 먼저 표준이 될 수 있는 mRNA 발현양을 측정하기 위해서 GAPDH housekeeping gene의 발현 intensity를 측정하였고, 이 수치를 기준으로 sample 끼리의 비교를 실시하였다(Table 1-1, Figure 1-2).

Table 1-1. The results of band intensity analysis.

		sample1	sample2	sample3
<i>GAPDH</i>	Net. intensity	136221.26	186296.81	211328.43
	band intensity	45.10	73.46	83.56
<i>Myogenin</i>	Net. intensity	76057.31	54396.00	91181.59
	band intensity	98.06	71.75	127.95
	Myogenin/GAPDH	2.17	0.98	1.53
<i>Myf6</i>	Net. intensity	174849.00	175079.15	156860.71
	band intensity	114.27	119.00	113.22
	Myf6/GAPDH	2.53	1.62	1.35

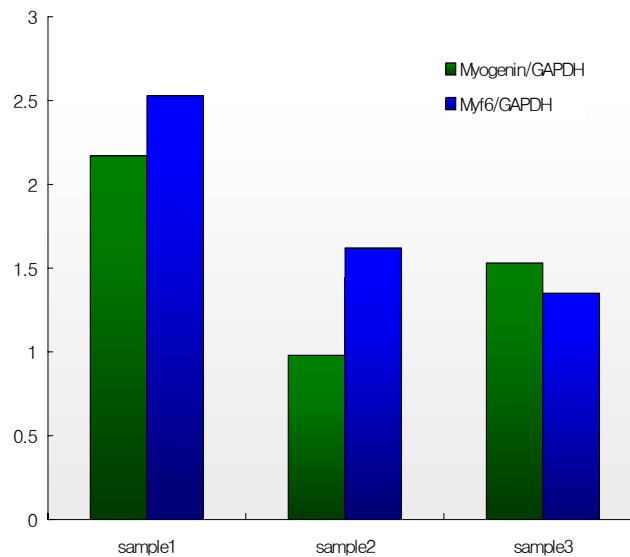


Figure 1-2. The Graph of band intensity analysis. Green bar is *myogenin/GAPDH* ; Blue bar is *Myf6/GAPDH*

비교 분석을 실시한 결과 sample 간에 다소 차이가 있었지만, 특히 1번 sample의 경우 다른 sample들에 비해서 Myogenin이나 Myf6 모두 발현양이 많은 것으로 관찰되었다. 상대적인 발현양이 sample1은 myogenin에서 2.17, Myf6에서 2.53인데 비해서 sample 2와 3의 경우는 각각 0.98과 1.53, 1.62와 1.35를 나타내면서 sample1과 큰 차이를 나타내었다. 이를 통해서 아미노산 배열에 있어 이 유전자들의 중간 개체간의 차이는 발견되지 않았기에 이 유전자들의 발현이 질적인 면에서 차이가 없을 것이고, 발현량에 차이가 있을 것이라는 가설을 좀 더 구체화 할 수 있게 되었고, 조절인자들의 조절 부위에서의 유전자 염기배열의 차이등이 이들 유전자의 자체 발현량에 차이를 초래할 것이고 이 양적인 차이가 근섬유 크기와 조성에 영향을 미칠 것이라고 판단하여 이후 실험을 진행하였다. 그 결과 Myogenin의 경우 5' promoter region에서 단일염기서열에서 다형성(SNP)이 발견되었고, 그 다형성을 토대로 유전자형을 분석해 보았을 때, sample1이 TC 유전자형을 나타내었고, 나머지 sample2와 3은 CC 유전자형으로 분석되었다. 또한 Myf6의 경우도 기존에 밝혀진 intron 1 region의 SNP에 따른 유전자형을 분석해 보았을 때, 마찬가지로 sample1이 BB 유전자형이었고, 나머지 sample2와 3는 AB 유전자형이었다. 이후에 더 자세히 서술하였지만, 이로써 이러한 유전자형의 차이가 유전자 발현을 조절하고 결과적으로 발현양에 영향을 미칠 것으로 판단하게 되었다.

나. 표지유전자 cloning

돼지의 Myogenin 5' promoter region은 genomic DNA로부터 자체 제작한 primer를 통해서 한번의 PCR 반응을 통해서 바로 얻을 수 있었지만, 높은 정제율과 이후 실시될 염기서열 분석의 효율을 높이기 위해서 대상유전자의 cloning을 실시하였다. Porcine myogenin 5' promoter region의 동정을 위하여 Gene bank(accession no. X89007 and U14331)에 등록된 genomic DNA sequence를 바탕으로 Forward, Reverse primer(Forward 5'-GCT CAG AGG ACA AGA GTG TAA ACC C-3(25mer)'과 Reverse 5'-GAA GTA GGG GGA TGT CTC ATA CAG-3'(24mer))를 각각 제작하여 PCR을 수행하였다.

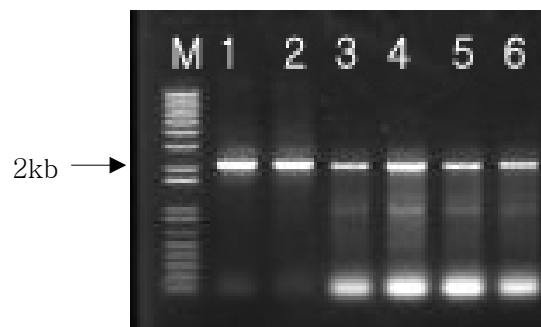


Figure 1-3. Porcine myogenin 5' promoter region PCR.

PCR수행 결과 약 2.1kb의 증폭산물을 얻을 수 있었다(Figure 1-3). 증폭된 porcine myogenin 5' promoter region의 이후 연구할 염기서열 분석을 위하여 약 2.1kb부위를 각 약 700bp씩 세 부분으로 나눌수 있도록 internal 한 primer를 제작하였다. Primer set는 다음과 같이 M5-1 Reverse 5'-AGT GTT CCC AAT ACA GGA AGG TGA AC-3'(26mer), M5-2 Forward 5'-GTT CAC CTT CCT GTA TTG GGA ACA CT-3'(26mer), Reverse 5'-CTT AGG TCT CAT GTG ACT GGG GAT AA-3'(26mer), M5-3 Forward 5'-TTA CCC CAG TCA CAT GAG ACC TAA G-3'(25mer)로 제작하였고, PCR 반응을 시켜 증폭한 뒤, E. coli용 TA- vector에 cloning한 후 *EcoRI* enzyme을 이용하여 각 세 개의 insert를 확인하였다(Figure 1-4, Figure 1-5).

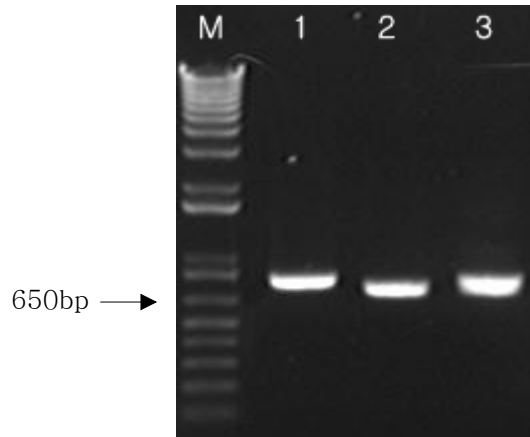


Figure 1-4. Porcine myogenin 5' promoter region internal PCR.

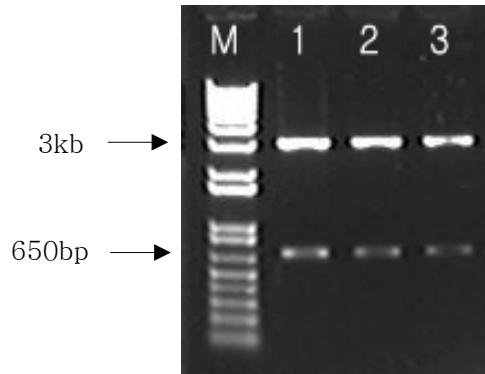


Figure 1-5. Enzyme digestion of TA-vector cloning plasmid DNA with EcoRI.

TA-vector size \approx 3.1kb, Insert size \approx 700bp

다. 유전자의 염기서열 분석

1) Porcine myogenin 5' promoter region의 염기서열 분석

Autosequencing system을 이용하여 Cloning을 통하여 확보된 Porcine myogenin 5' promoter region 약 2.1kb의 염기서열을 분석하였다. 염기서열 분석은 대상 개체군 내에서 random 하게 추출한 10개의 sample에 대해서 실시하였고, insert를 확인한 clon을 PCR

product 내의 반응하고 남은 Template나 Primer를 없애주기 위해서 정제하였다. 이렇게 얻어진 약 700bp씩 3부분으로 분류된 2.1kb의 10개의 sample에 대한 염기서열을 양방향에서 분석하기 위해서 3반복씩 총 8번의 sequencing 반응 Autosequencing system을 통해 실시하였다(Figure 1-6).

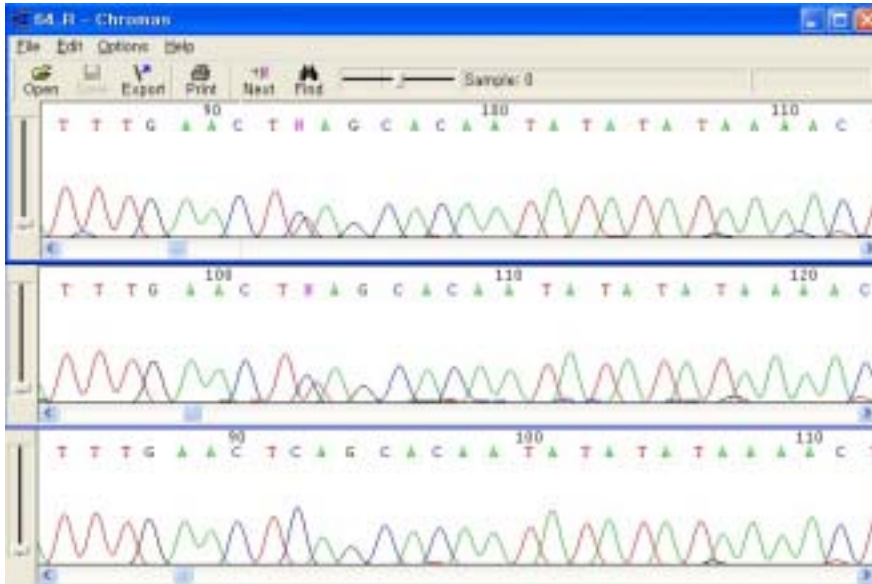


Figure 1-6. Confirmation of sequence data.

```

G : AAGTAGTCCTCCTCCACCTGACATTTGAACTTAGCACAATATATATAAACTAAT
1-1 : AAGTAGTCCTCCTCCACCTGACATTTGAACTCAGCACAATATATATAAACTAAT
1-2 : AAGTAGTCCTCCTCCACCTGACATTTGAACTCAGCACAATATATATAAACTAAT
2-1 : AAGTAGTCCTCCTCCACCTGACATTTGAACTCAGCACAATATATATAAACTAAT
2-2 : AAGTAGTCCTCCTCCACCTGACATTTGAACTCAGCACAATATATATAAACTAAT
3-1 : AAGTAGTCCTCCTCCACCTGACATTTGAACTCAGCACAATATATATAAACTAAT
3-2 : AAGTAGTCCTCCTCCACCTGACATTTGAACTCAGCACAATATATATAAACTAAT
4-1 : AAGTAGTCCTCCTCCACCTGACATTTGAACTTAGCACAATATATATAAACTAAT
4-2 : AAGTAGTCCTCCTCCACCTGACATTTGAACTTAGCACAATATATATAAACTAAT
5-1 : AAGTAGTCCTCCTCCACCTGACATTTGAACTCAGCACAATATATATAAACTAAT
5-2 : AAGTAGTCCTCCTCCACCTGACATTTGAACTTAGCACAATATATATAAACTAAT
  
```

Figure 1-7. Sequence data of the myogenin 5' promoter regions in different individuals. SNPs are indicated in a box.

1 gtaaaccgag gtaaggattt tctttcttt tttttcttg gtgggattg cgftaaaaat
61 atagattcct tttcagttca tctagacagg acaaagcaag gttatagcct acagcccca
121 gctgccactt tttattacac tttttcacc tcaaaggcca agaaccacaaat tacagacctt
181 gctactccac ctgacatgc ttgggtttg aaaaaaaaaa tgtctagttt tgcctctcc
241 ttatctctgt tcctaccct gaaagacacc agcattttcc tgctctca gcacaatgag
301 aggaaggaa gacaggttt tcaagctcca ttcagatctt acctcccctg tgacgtctc
361 cctgaatccc cagcacaate tctctctc tttttctt ttattgtctt tgcactggt tagaataat
421 gtctcatctg tcacaggaga agggatcaga cttagtcaaa cggctaggg ggaaaaactg
481 ggacaagat agaagctaga gggagcagac tgcagtcaaa accagaaggc ctccttcac
541 atcaggggtt gggctcttt ggggtggccac cagggtctac tagacagtaa ggtcctcaag
601 ggacagacc tgcttgggtc cccgtaatct tcagccataa gactgaacct tgtcactgc
661 ctgactctg ttcacctcc tttttggga aactgtctt cttagactcc aaggtctctg
721 ctgagagggt actatggact gagaagccca aagttaagt agtctctc cactgacat
781 ttgaactTag cacaatat ataaaactaa tggcttggga gttccctggt ggcgcagtgg
841 gtttaggact agtcatcact gcagcagctc agattgtga tgggcacgg gtttggtgct
901 ggccaggaac ttcacatgct tggggcacag caaaaagaaa acgaaacaaa aactgaagge
961 ttatgtggga agaccacaac aatacaagcc aagtggtaag gagagggcat attaatgga
1021 gttgaaggt ctctctttt tttcttccc accacacca cagtaaggag ccaggaaaac
1081 cctagtattc aaaaggggta ggagacaaag ttgaagaggt gacataggag gacaaaacaa
1141 atgattcagg gtgagaaagg gcctaataga tcttgacctt gtcattgtgg ggaaggtggt
1201 gatgtgcaga ctgtaaattc taatctttgc tctgacctg gccagctgta ttgagagaa
1261 aacttccact gctccggcaa aaaggaaaa cagaacaaa atattctct tgcctcaatt
1321 tatccccagt cacatgagac ctaagagcat gatgtcaaag ctgctctgaa accccaaat
1381 tgagtccatt tgcccacatt tcaatctct taccaggac actgagtacc aatacctgc
1441 tctaattga agcactctca ccctctgggg ggggatctt ttttaagaga **gtctcactg**
1501 actgacacag tctgggtaag gtgctgtgag gaagcagggg gatgcataaa ctgactctc
1561 caggcccctt ccagctaca cctaccccc cccccctc accccacc cactggctt
1621 ctttgggact ggcgagtagg caggcgcaca gctaggagta attgaaagga **gcagatgaga**
1681 ggagaatgtg tgcctcccc cacctccca gcccatggg ggctgcagag aatgaaaac
1741 taatcaaat acacctatg gcctccttac ccgtgcacag gagcctgctg gggcagggg
1801 caggctggct gtggggaggg ggggtgcagg gggagagga aggggaatca catctaatcc
1861 actgtaaagc tcttgatgtg cagcaacagc ttgaggggg ctcaggttc tggcggtg
1921 **gctatattta** tct**tggtc** **catgccagc** gggagggttt **aatggcacc** **cagcagttg**
1981 cgtgaggggc tgcaggagct tggggctgg tggcaggaac aagtctttc tgaccc**ATG**
2041 gaggtgatg agacatccc ctactc

Figure 1-8. Nucleotide sequences of porcine myogenin 5' promoter region. Capital letters are for the translation initiation site, bold letters for the transcriptional factor binding site and underline for SNP (single nucleotide polymorphism) site, respectively.

염기서열 분석 결과 전사 시작 코돈으로부터 5' upstream에 TATA box 및 몇몇 transcriptional factor binding site를 확인 할 수 있었으며(Figure 1-8), 특히 5' upstream -1070bp에서 개체간이 변이를 보이는 SNP site(T 또는 C)를 확인 할 수 있었다(Figure 1-7). 기존에 없던 새로이 발견하게 된 SNP site로서 염기서열을 분석한 나머지 다른 부위에서 SNP를 확인할 수 없었다는 점과 SNP의 염기가 이중수소결합인 T에서 3중수소결합을 하는 C로 바뀐다는 점, 그리고 SNP가 발견된 부위가 5' promoter region이라는 점에서 특정 형질과 linkage 되어 있는 genetic marker일 가능성을 예상할 수 있다. 또한 이상과 같은 분석결과는 근섬유 발달과 관련된 유전자의 유전자 염기서열 즉, 유전적 구조의 차이에 의한 변이를 확인함과 동시에 유전자와 유전자 발현과의 상관관계분석을 통하여 후보유전자 분석을 통한 표지유전자 개발에 대한 가능성을 제시할 수 있게 해 줄 것이다. 따라서 이러한 유전자 염기서열 결과는 제2세부과제에서 실시할 예정인 유전자 다형성 분포 조사와 동시에 근섬유 형성 및 성장에 관련된 다른 유전자들과의 연관성 분석을 통해 중간, 개체간의 유전적 특이성 및 다양성을 규명하는데 기초적인 자료로 이용될 수 있을 것이라 판단되어 진다.

2) Porcine myogenin 유전자 구조 및 분석

앞서 분석된 염기서열과 기존에 분석된 염기서열을 바탕으로 porcine myogenin 유전자의 구조는 Figure 1-9와 같다.

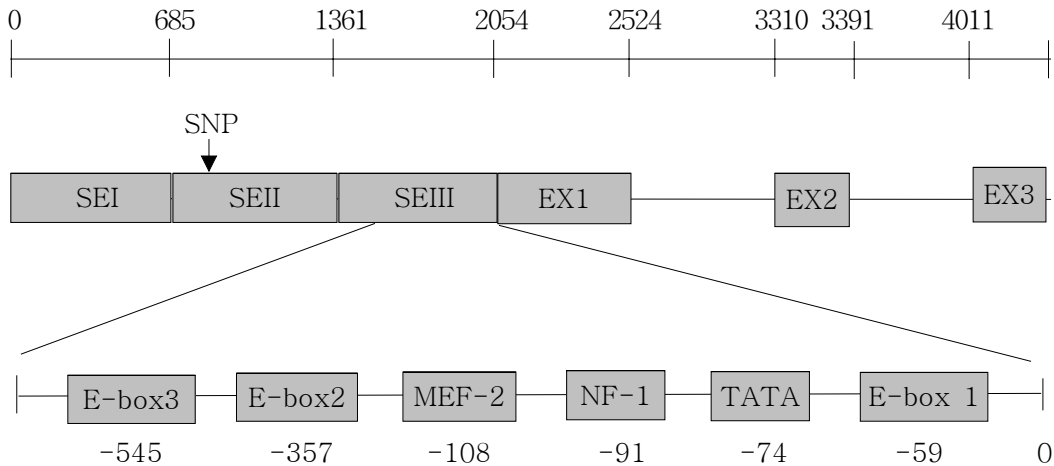


Figure 1-9. Porcine myogenin gene structure and transcriptional binding sites.

SNP : Single nucleotide polymorphism, TATA : TATA box,

E-Box : CANNTG, transcription factor binding consensus sequence

NF-1 : nuclear factor 1 site, MEF-2 : myocyte-specific enhancer factor 2 site

Porcine myogenin 전체 유전자의 크기는 약 2.1kb로 다른 MyoD gene family와 마찬가지로 3개의 exon으로 구성되어 있으며, 아미노산을 전사하는 mRNA의 염기는 human과 97%, mouse와 98%의 유사성을 가지고 있다. 또한 기존 실험에 의하여 porcine myogenin 유전자의 OFR(open reading frame)에서 개체간, 품종간 염기서열의 차이를 보이지 않는다고 보고되고 있어 그 발현에 차이는 promoter region에 binding되는 factor들에 의하여 조절되는 것으로 판단되어 진다.

본 연구결과에서는 transcriptional factor binding site로써 염기서열이 알려져 있는 site에서 개체간의 변이는 발견하지 못하였지만, 기존에 보고 되지 않은 5' upstream에서 SNP site 발견은 개체간의 유전적 변이를 설명할 수 있는 가능성을 가진다. 또한 특정형질의 유전적 표지인자(genetic marker)로써의 가능성을 가진다는 점에서 제2세부과제와 제3세부과제에서 측정되어 지는 항목들과의 직접적인 상관관계 분석을 통하여 그 효과를 직접적으로 확인할 수 있을 것으로 판단된다. 따라서 전체실험대상 개체에 대한 genotype을 구분할 수 있는 실험방법의 개발이 이후 연구에 수행되었다.

라. 표지유전자형 탐색용 진단기법 개발

1) 종간 및 개체간의 특이성 탐색

기존에 분석한 Yorkshire 품종에 대한 염기서열 분석방법과 동일하게 Landrace 품종에 대해서도 분석을 실시하였다(Figure 1-10). 그 결과 Landrace 품종도 Yorkshire와 동일한 염기 부위에서 SNP site를 확인할 수 있었고, 그 밖의 염기서열도 차이를 보이지 않았다. 따라서 개체간에 밝혀진 SNP가 품종간에 차이없이 동일하게 발견됨으로써 SNP를 근거로 선정한 표지유전자를 품종에 상관없이 보다 보편적으로 이용할 수 있는 근거를 마련하게 되었다.

```

Y-1 : AAGTAGTCTCCTCCACCTGACATTTGAACTCAGCACAATATATATAAACTAAT
Y-2 : AAGTAGTCTCCTCCACCTGACATTTGAACTCAGCACAATATATATAAACTAAT
Y-3 : AAGTAGTCTCCTCCTCCACCTGACATTTGAACTTAGCACAATATATATAAACTAAT
Y-4 : AAGTAGTCTCCTCCTCCACCTGACATTTGAACTCAGCACAATATATATAAACTAAT
Y-5 : AAGTAGTCTCCTCCTCCACCTGACATTTGAACTCAGCACAATATATATAAACTAAT
Y-6 : AAGTAGTCTCCTCCTCCACCTGACATTTGAACTTAGCACAATATATATAAACTAAT
Y-7 : AAGTAGTCTCCTCCTCCACCTGACATTTGAACTTAGCACAATATATATAAACTAAT

L-1 : AAGTAGTCTCCTCCTCCACCTGACATTTGAACTCAGCACAATATATATAAACTAAT
L-2 : AAGTAGTCTCCTCCTCCACCTGACATTTGAACTCAGCACAATATATATAAACTAAT
L-3 : AAGTAGTCTCCTCCTCCACCTGACATTTGAACTTAGCACAATATATATAAACTAAT
L-4 : AAGTAGTCTCCTCCTCCACCTGACATTTGAACTCAGCACAATATATATAAACTAAT
L-5 : AAGTAGTCTCCTCCTCCACCTGACATTTGAACTCAGCACAATATATATAAACTAAT
L-6 : AAGTAGTCTCCTCCTCCACCTGACATTTGAACTTAGCACAATATATATAAACTAAT
L-7 : AAGTAGTCTCCTCCTCCACCTGACATTTGAACTTAGCACAATATATATAAACTAAT
  
```

Figure 1-10. SNPs of the myogenin 5' promoter region in Yorkshire(Y) and Landrace(L) individuals.

2) 표지유전자형 탐색용 진단기법 개발

본 연구에서 Porcine myogenin 5' promoter region에서 새롭게 밝혀낸 SNP 부위를 표지 유전자로 선정하고, 활용하기 위해서 보다 손쉽게 SNP에 따른 유전자형을 파악할 수 있는 탐색용 진단기법 개발하게 되었다. 또한 myogenin에 상가적으로 작용할 수 있는 Myf6를 표지유전자로 선정하였고, 기존에 밝혀진 두 개의 SNP에 대하여 유전자형을 결정하고 각각의 유전자형을 탐색할 수 있는 진단기법을 개발하였다. 이들의 진단기법은 모두 PCR-RFLP(Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism)을 통해서 개발이 이루어졌고 이 방법을 통해서 유전자형 분석이 이루어 질 수 있게 되었다.

가) Myogenin - BspCNI PCR-RFLP

표지유전자를 한 번의 PCR 반응과 효소처리로서 탐색하고 진단해 낼 수 있는 가장 효율적인 방법의 하나로써 PCR_RFLP 방법을 이용하여 탐색기법을 개발하였다. Restriction mapper software program을 이용해서 새롭게 밝혀낸 SNP부위를 인식할 수 있는 제한효소(Restriction enzyme)를 찾아내고, 효소 처리에 따라서 다르게 나타나는 band 형태를 파악하여 유전자형을 구분할 수 있었다. PCR 반응시 primer는 Forward(5' - GTT CAC CTT CCT GTA TTG GGA ACA CT - 3', 26mer)와 Reverse(5' - CTT AGG TCT CAT GTG ACT GGG GAT AA - 3')로 제작하여 각각 $1\mu\text{l}$ (20pmol/ μl)씩 첨가하였고, 그 외의 반응 첨가물은 10×PCR buffer(100mM Tris-Cl; pH 8.3, 500mM KCl, 15mM Mg₂Cl) $5\mu\text{l}$, 10×dNTP mix(each 25mM) $5\mu\text{l}$, 10×Enhancer $5\mu\text{l}$, Taq DNA polymerase(5 unit/ μl ; Genemed) $0.5\mu\text{l}$ 와 ddH₂O $30.5\mu\text{l}$, Template DNA $2\mu\text{l}$ (약 100ng)였다.

PCR 반응에는 GeneAmp PCR system 2400(Perkin-Elmer Co., USA)기기를 사용하였고, PCR 반응조건은 94°C에서 5분간 pre-denaturation 한 후, 94°C에서 denaturation 1분, annealing 60°C 1분, extension 72°C 1분을 한 cycle로 하여 35cycle을 반복한 후, 마지막으로 72°C에서 15분으로 PCR 반응을 종료하였다.

이렇게 확보된 Myogenin 5' promoter region을 restriction mapper software program을 이용해서 찾아낸 BspCNI 제한효소로 처리하였다. BspCNI enzyme 처리 첨가물은 BspCNI enzyme $2\mu\text{l}$ (2 unit/ μl , NEB(New England BioLabs)), 10×Enzyme buffer $1.5\mu\text{l}$, 10×BSA $1.5\mu\text{l}$, 10×S-adenosylmethionine(SAM, 200 μM / μl) $1.5\mu\text{l}$, ddH₂O $5.5\mu\text{l}$, PCR product $3\mu\text{l}$ 로 총 volume이 $15\mu\text{l}$ 였다. 이 혼합물을 25°C Incubator에서 약 16시간동안 반응시키고, PAGE(Poly-acrylamide Gel Electrophoresis)를 이용하여 그 band pattern을 확인하였다 (Figure 1-11).

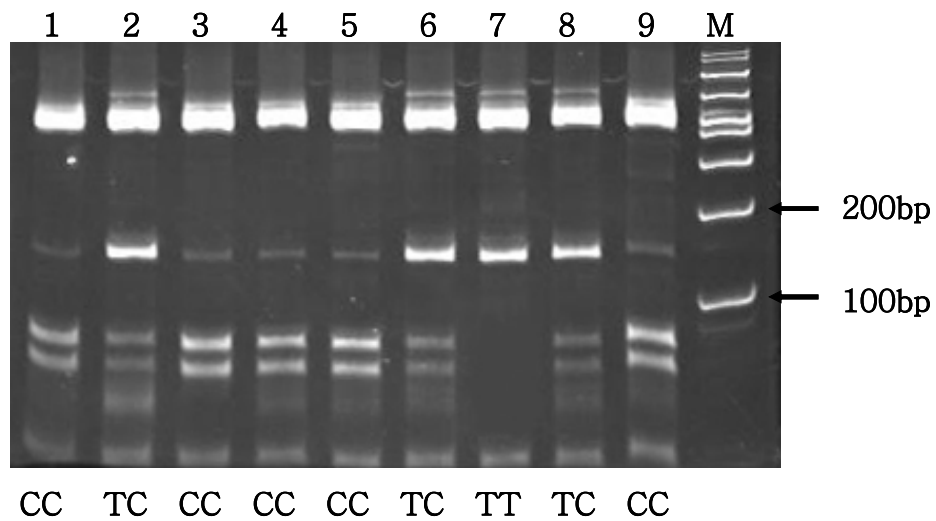


Figure 1-11. Results from the Myogenin - BspCNI PCR-RFLP analysis.

T allele : 463bp + 158bp + 43bp

C allele : 463bp + 82bp + 76bp + 43bp

분석결과 SNP를 중심으로 제한효소가 작용하는 부위의 우무에 의하여 생산되는 band의 형태를 C allele(158bp band)과 T allele(82bp, 76bp band)로 구분했으며, 유전자형을 CC와 TC, TT로 구분하였다. 이를 통해서 대상 개체군들의 유전자형을 모두 파악할 수 있었으며, 표지유전자형을 보다 간단한 방법으로 탐색하고 진단할 수 있게 되었다. 또한 이러한 유전자형 분석자료를 이용하여 성장형질 및 산육형질, 육질, 조직학적인 발달등의 대상형질과의 연관성을 분석할 수 있었다. 이렇게 얻어진 결과를 통해서 최종적으로는 근섬유 형성과 관련하여 조직학적인 차이를 통한 산육형질 증가를 가져올 수 있는 유전적인 DNA Marker로 활용되어질 것이다.

나) Myf6 - BseRI PCR-RFLP

Myf6의 Intron 1 부위에 있는 SNP를 탐지해 낼 수 있는 분석방법을 개발하기 위하여 myogenin과 마찬가지로 PCR-RFLP를 이용하였다. Gene Bank에 등록된 accession number를 이용하여 유전자 염기서열을 알아내고, Restriction mapper software program을 이용해서 SNP부위를 인식할 수 있는 제한효소(Restriction enzyme)를 찾아내었다. 효소 처리에 따라서 다르게 나타나는 band 형태를 파악하여 유전자형을 구분할 수 있었다. PCR 반응시 primer는 Forward(5' - TGC TGC ACC GGC TGG ATC AG - 3', 20mer)와 Reverse(5' - GCA GGA AAT CCG CAC CCT CAA - 3', 21mer)로 제작하여 각각 $1\mu\text{l}$ (20pmol/ μl)씩

첨가하였고, 그 외의 반응 첨가물은 10×PCR buffer(100mM Tris-Cl; pH 8.3, 500mM KCl, 15mM Mg₂Cl) 5 μ l, 10×dNTP mix(each 25mM) 5 μ l, 10×Enhancer 5 μ l, Taq DNA polymerase(5 unit/ μ l; Genenmed) 0.5 μ l 와 ddH₂O 29.5 μ l, Template DNA 3 μ l(약 100ng/ μ l)였다.

PCR 반응에는 GeneAmp PCR system 2400(Perkin-Elmer Co., USA)기기를 사용하였고, PCR 반응조건은 94°C에서 5분간 pre-denaturation 한 후, 94°C에서 denaturation 30초, annealing 65°C 30초, extension 72°C 30초를 한 cycle로 하여 40cycle을 반복한 후, Last extension을 72°C에서 10분으로 하여 PCR 반응을 종료하였다.

이렇게 확보된 Myf6의 Intron 1 부위를 Restriction mapper software program을 이용해서 찾아낸 BseRI 제한효소로 처리하였다. BseRI enzyme 처리 첨가물은 BseRI enzyme 0.5 μ l(4 unit/ μ l, NEB(New England BioLabs)), 10×Enzyme buffer2를 1 μ l, PCR product 8.5 μ l로 총 volume이 10 μ l였다. 이 혼합물을 37°C Incubator에서 약 18시간동안 반응시키고, 1.5% Agarose gel을 이용하여 잘려진 band pattern을 확인하였다(Figure 1-12).

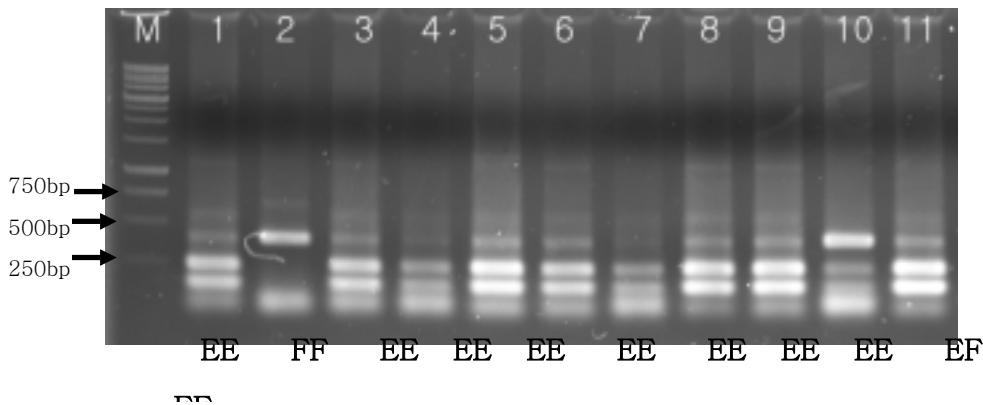


Figure 1-12. Results from the Myf6 - BseRI PCR-RFLP analysis.

F allele : 379bp, E allele : 216bp + 163bp

유전자형 분석결과 SNP를 중심으로 세 개의 유전자형이 모두 관찰되었으며 band가 잘리는 형태와 안잘리는 형태에 따라서 E allele(216bp, 163 bp band)과 F allele(379bp band)로 구분했으며, 유전자형을 EE와 EF, FF로 구분하였다. 이를 통해서 대상 개체군들의 유전자형을 모두 파악할 수 있었으며, Myf6의 Intron 1 부위의 SNP를 대상으로 하는 표지유전자형 분석을 위와같은 방법으로 탐색하고 진단할 수 있게 되었다. 이렇게 밝혀진 Myf6 Intron 1 region의 유전자형 분석자료는 성장형질 및 산육형질, 육질, 조직학적인 발달등의 대상형질과의 연관성 분석을 통하여 표지유전자로서의 활용성을 검증받았다. 이와같은 결과를 통해서 myogenin과 함께 근섬유 형성과 관련하여 조직학적인 차이를 통한 산육형질 증가를 가져올 수 있는 복합 표지유전자로서 활용되어질 것이다.

다) Myf6 - MspI PCR-RFLP

Myf6의 5' region에 있는 염기하나가 C에서 T로 바뀌는 transition에 의해서 나타나는 Polymorphic site가 보고된 바 있다(Ernst CW, Rothschild MF 외, 1994). 이에 본 연구에서는 Myf6 유전자의 표지유전자로서의 활용성을 판단하기 위해서, Intron 1 부위의 BseRI polymorphic site외에 추가로 5' region의 변이를 추가로 검색하였고, 앞에서 보고된 바대로 동일한 실험을 수행하였다. 실험수행 결과 MspI 효소 처리에 따라서 다르게 나타나는 band 형태를 파악하여 유전자형을 구분할 수 있었다. PCR 반응시 primer는 Forward(5' - AGC CTG AAA GTC ATG TAT AAC C - 3', 22mer)와 Reverse(5 '- TAC CAT CAC TCC CTG GAT ACA A - 3', 22mer)로 제작하여 각각 1 μ l(20pmol/ μ l)씩 첨가하였고, 그 외의 반응 첨가물은 10 \times PCR buffer(100mM Tris-Cl; pH 8.3, 500mM KCl, 15mM Mg₂Cl) 2 μ l, 10 \times dNTP mix(each 25mM) 2 μ l, 10 \times Enhancer 2 μ l, Taq DNA polymerase(5 unit/ μ l; Genemed) 0.2 μ l 와 ddH₂O 10.8 μ l, Template DNA 1 μ l(약 100ng/ μ l)였다.

PCR 반응에는 GeneAmp PCR system 2400(Perkin-Elmer Co., USA)기기를 사용하였고, PCR 반응조건은 94 $^{\circ}$ C에서 5분간 pre-denaturation 한 후, 94 $^{\circ}$ C에서 denaturation 30초, annealing 60 $^{\circ}$ C 30초, extension 72 $^{\circ}$ C 1분을 한 cycle로 하여 30cycle을 반복한 후, Last extension을 72 $^{\circ}$ C에서 10분으로 하여 PCR 반응을 종료하였다.

이렇게 확보된 Myf6 5' promoter region을 MspI 제한효소로 처리하였다. MspI enzyme 처리 첨가물은 MspI enzyme 0.5 μ l(10 unit/ μ l, NEB(New England BioLabs)), 10 \times Enzyme buffer를 1 μ l, ddH₂O를 3.5 μ l, PCR product 5 μ l로 총 volume이 10 μ l였다. 이 혼합물을 37 $^{\circ}$ C Incubator에서 약 3시간동안 반응시키고, 1% Agarose gel을 이용하여 잘려진 band pattern을 확인하였다(Figure 1-13).

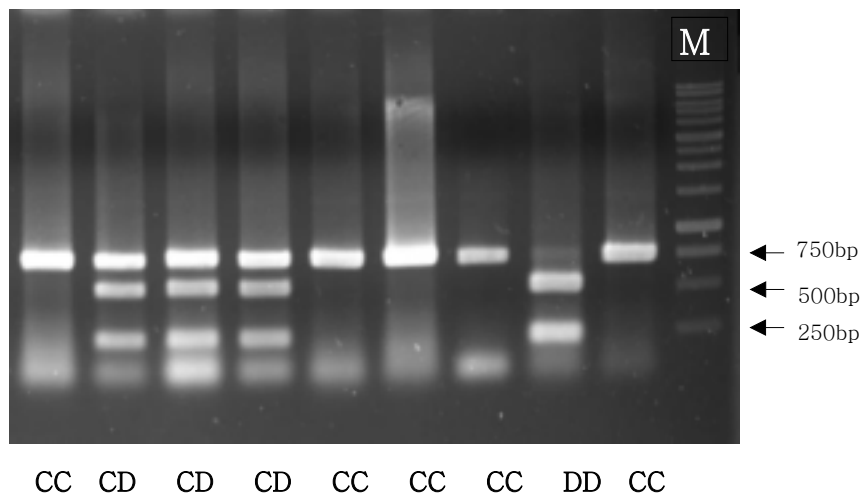


Figure 1-13. Results from the Myf6 - MspI PCR-RFLP analysis.

C Aelle = 713 bp, D Aelle = 459 bp + 254 bp

Myf6 - MspI PCR-RFLP를 통한 유전자형 분석결과 SNP를 중심으로 세 개의 유전자형이 모두 관찰되었다. band가 잘리는 형태와 안잘리는 형태에 따라서 D allele(459bp, 254 bp band)과 C allele(713bp band)로 구분했으며, 유전자형을 CC와 CD, DD로 구분하였다. 이와 같은 방법을 통해서 대상 개체군내의 모든 개체들의 유전자형을 파악할 수 있었으며, Myogenin과 마찬가지로 Myf6의 5' promoter region의 SNP를 대상으로 하는 표지유전자형 분석을 위와같은 방법으로 간단하게 탐색하고 진단할 수 있게 되었다. 이렇게 밝혀진 Myf6 5' promoter region의 유전자형 분석자료는 myogenin과 Myf6 Intron 1 변이의 분석자료와 함께 성장형질 및 산육형질, 육질, 조직학적인 발달등의 대상형질과의 연관성 분석에 이용되었다. 이를 통하여 다양한 복합 표지유전자 조합이 가능했고, 근섬유 형성과 관련하여 조직학적인 차이를 통한 산육형질 증가를 가져올 수 있는 복합 표지유전자 선발에 중요한 자료로 이용되었다. 이와 같은 표지유전자형의 탐색기법 개발을 통해서 쉽게 대상형질과의 분석이 가능해졌고, PCR-RFLP를 통한 비교적 쉬운 분석방법을 통해서 표지유전자의 분석이 용이하게 이루어질 것임을 판단하였다.

2. DNA 표지유전자형에 따른 근육성장 및 조직학적 발달분석

가. 실험개체군의 근육성장관련 형질 분석

1) 시험가축확보 및 시험축군구성

실험설계상의 실험축군 조성은 현재 국내에서 이용되고 있는 Yorkshire종을 이용하여 종모돈 5두에 두당 종빈돈 3두를 교배하여, 이들 모돈 15두로부터 생산된 총 60두(모돈당 4두: ♂2, ♀2)의 자돈에서 산육능력과 도체성적 및 근육의 이화학적 특성을 조사하는 것이었으나, 실험군 조성 중 교배가능한 종모돈이 7두, 종빈돈이 22두로 늘어나면서 자돈의 수가 증가되어 총 148두를 생산해 실험에 이용하게 되었다.

실험계획 따라 조성된 실험군의 혈통지도는 Figure 2-1과 같다.

2) 실험개체군의 성장능력관련 형질 분석

실험개체군의 일당증체량 및 일령체중 등 검정실험으로 측정 가능한 성장관련 항목들을 분석함으로써 실험군 집단의 기초적인 성장특성에 대하여 분석하였다. 이는 국내 돈군의 근육성장형질 발현 현황을 파악·분석하기 위한 것으로 총 148두 중 성적이 누락된 개체를 제외한 나머지 132두에 대하여 형질을 분석하였으며, 성별에 따른 능력도 비교하였다.

근섬유는 근육의 기본단위로 근섬유수와 크기에 따라 근육성장능력 및 도체성적과 연관되어있다. 따라서 본 연구에서는 기본적인 성장능력과 더불어 근섬유수와 근섬유크기를 조사하였다. 이는 Table 2-1, 2-2과 같다.

Table 2-1. Growth performance and histological characteristics in the Yorkshire breed*

Traits	Yorkshire
LW at slaughter (kg)	101.90 ± 10.20
Age at 90kg (day)	149.41 ± 11.39
Average daily gain (g/day)	909.39 ± 141.66
Back fat thickness (mm)	12.30 ± 2.47
Total muscle fiber number ($\times 10^4$)	123 ± 24
Cross-sectional area of muscle fiber (μm^2)	4025.2 ± 932.6

* Means ± standard deviations.

종도	Y1A9427D			Y1B9029D			Y1A9917D			Y1A9037D			Y1A9629D			Y1B9031D			Y1A9648D			
세대	Y 2 B 9 0 2 4 D	Y 2 B 9 0 2 5 D	Y 2 B 9 2 9 0 D	Y 2 B 9 1 4 4 D	Y 2 B 9 1 9 4 D	Y 2 B 9 2 9 0 D	Y 2 A 9 6 6 6 2 D	Y 2 A 9 6 6 5 D	Y 2 B 9 1 6 5 D	Y 2 A 9 4 1 4 D	Y 2 A 9 6 8 3 D	Y 2 A 9 6 8 3 D	Y 2 A 9 1 4 5 D	Y 2 A 9 3 1 1 D	Y 2 A 9 6 1 7 D	Y 2 A 9 4 1 9 D	Y 2 A 9 4 2 0 D	Y 2 A 9 4 2 1 D	Y 2 A 9 4 2 2 D	Y 2 A 9 2 8 6 D	Y 2 A 9 3 8 0 D	Y 2 A 9 4 0 7 D
추진 실험군	Y1B9162E Y1B9163E Y2B9159E Y2B9160E Y2B9161E Y1B9234E Y1B9235E Y2B9228E Y2B9229E Y2B9230E Y2B9231E Y2B9232E Y2B9233E Y1B9428E Y1B9429E Y2B9418E Y2B9419E Y2B9420E Y2B9421E Y2B9422E Y2B9423E	Y1B9004E Y1B9005E Y2B9197E Y2B9198E Y2B9199E Y2B9000E Y2B9001E Y2B9002E Y2B9003E Y1B9332E Y1B9333E Y1B9334E Y1B9335E Y2B9006E Y2B9007E Y2B9008E Y2B9009E Y2B9010E Y2B9011E Y2B9012E Y2B9013E Y2B9014E Y2B9015E Y2B9016E Y2B9017E Y2B9018E Y2B9019E Y2B9020E Y2B9021E Y2B9022E Y2B9023E Y2B9024E Y2B9025E Y2B9026E Y2B9027E Y2B9028E Y2B9029E Y2B9030E Y2B9031E Y2B9032E Y2B9033E Y2B9034E	Y1B9380E Y1B9381E Y2B9375E Y2B9376E Y2B9377E Y2B9378E Y2B9379E Y1B9395E Y1B9396E Y2B9389E Y2B9390E Y2B9391E Y2B9392E Y2B9393E Y2B9394E Y1B9339E Y1B9340E Y1B9341E Y2B9324E Y2B9325E Y2B9326E Y2B9327E Y2B9328E Y2B9329E Y2B9330E Y2B9331E Y2B9332E	Y1B9294E Y1B9295E Y2B9290E Y2B9291E Y2B9292E Y1B9175E Y1B9338E Y2B9335E Y2B9336E Y2B9337E Y1B9174E Y2B9171E Y2B9172E Y2B9173E	Y1B9179E Y1B9180E Y2B9177E Y2B9178E Y1B9169E Y1B9170E Y2B9165E Y2B9166E Y2B9167E Y1B9305E Y1B9367E Y2B9300E Y2B9361E Y2B9362E Y2B9363E Y2B9364E Y2B9365E	Y1B9042E Y1B9043E Y2B9037E Y2B9038E Y2B9039E Y2B9040E Y2B9041E Y2B9042E Y2B9043E Y1B9044E Y1B9045E Y2B9030E Y2B9046E Y2B9047E Y2B9048E Y2B9049E Y1B9077E Y1B9078E Y2B9073E Y2B9074E Y2B9075E Y2B9076E	Y1B9274E Y2B9270E Y2B9271E Y2B9272E Y1B9186E Y1B9187E Y2B9181E Y2B9182E Y2B9184E Y2B9185E Y1B9218E Y1B9219E Y2B9212E Y2B9213E Y2B9214E Y2B9215E Y2B9216E Y2B9217E															

Figure 2-1. Scheme representiry construction of pedigree.

Table 2-1는 Yorkshire종 132두에 대한 성장능력 및 조직학분석 결과이다. 2000년 종돈농장검정사업보고에서 Yorkshire종 14,075두의 능력현황은 일당증체량(g/일) 865.9 ± 106.5 , 90kg 도달일령(일) 147.0 ± 12.5 , 보정등지방(mm) 13.77 ± 2.9 , 종료체중(kg) 95.7 ± 12.6 이었다. 이와 비교하여 본 실험개체군의 성적은 일당증체량(g/일) 909.39 ± 141.66 , 90kg도달일령(일) 149.41 ± 11.39 , 보정등지방(mm) 12.30 ± 2.47 , 종료체중(kg) 101.90 ± 10.21 로 기존보고보다 성장능력면에서 개량되었음을 알 수 있었다.

조직학적 특성인 근섬유수와 근섬유크기는 동종에 대한 기존의 연구와 비슷한 결과를 나타냈다. Table 2-2은 성별에 따른 성장능력 및 조직학적능력을 비교한 결과이다. 암퇘지는 일당증체량(g/일) 980.45 ± 110.72 , 90kg 도달일령(일) 144.08 ± 9.15 , 보정등지방(mm) 11.04 ± 1.87 , 종료체중(kg) 105.53 ± 10.47 이며, 수퇘지는 880.04 ± 143.12 , 151.56 ± 11.54 , 12.76 ± 2.60 , 100.44 ± 9.76 으로, 암퇘지의 경우 일당증체량이나 90kg 도달일령, 일령체중은 수퇘지에 비해 떨어지는 것으로 나타났으나 등지방두께는 수퇘지보다 높게 나타나 바람직한 개량이 이루어지고 있음을 보여주었다.

조직학적특성인 근섬유수 및 근섬유크기는 성별에 따른 경향이나 유의차가 나타나지 않았다.

Table 2-2. Growth performances and histological characteristics in Yorkshire male and female*

Traits	Male	Female
LW at slaughter (kg)	105.53 ± 10.47 ^a	100.44 ± 9.76 ^b
Age at 90kg (day)	144.08 ± 9.15 ^b	51.56 ± 11.54 ^a
Average daily gain (g/day)	980.45 ± 110.72 ^a	880.04 ± 143.12 ^b
Back fat thicknees (mm)	11.04 ± 1.87 ^b	12.76 ± 2.60 ^a
Total muscle fiber number (×10 ⁴)	121.2 ± 5.6	123.5 ± 4.9
Cross-sectional area of muscle fiber (μm ²)	3913.7 ± 140.0	3967.0 ± 121.2

^{a,b} Within same rows, means with different letters area significantly different ($P < 0.05$).

* Means ± standard deviations.

3) 품종별 연차별 성장능력관련 형질 분석

가) 품종별 성장능력관련 형질 분석

실험군 내의 두 품종인 Yorkshire와 Landrace에 대해서 비교 분석을 하였다. 이는 품종에 따른 성장능력 및 산육형질, 육질과 조직학적인 차이를 밝히는 데 그 목적이 있다. 또한 앞으로 밝혀질 표지유전자의 활용범위를 결정하고, 통계분석시 개체간의 오차를 줄여줌으로써 활용시 나타날 수 있는 오류를 최대한 줄여줄 수 있을 것이다.

먼저 성장능력에 관한 형질의 분석결과는 대체적으로 Landrace가 Yorkshire에 비해 우수한 것으로 관찰되었다. 도체중(Weight at slaughter, kg)과 일당증체량(Average daily gain, g/day)에서 Landrace가 우수한 것으로 나타났고, 이는 Landrace가 Yorkshire에 비해서 빠른 성장과 그에 따른 상대적인 도체중의 증가가 이루어진 것으로 판단된다. 다른 성장관련 형질항목인 90kg 도달일령(Age at 90kg, day)이나 도체율(Carcass percent, %)도 통계적인 유의차는 없었으나 수치적으로는 Landrace가 더 높은 것으로 관찰되었다. (Table 2-3)

산육형질도 Landrace가 Yorkshire보다 더 우수한 것으로 관찰되었다. 산육형질을 나타내는 항목은 등지방층 두께(Back fat thickness, mm)와 등심근 단면적(Loin eye area, cm²)으로, 등지방두께에서는 차이가 없었지만 등심근 단면적에서 Landrace가 월등하게 우수했다.

하지만 육질면에서는 Yorkshire가 Landrace보다 더 우수했다. 물론 개체수와 연차에서 Yorkshire가 더 많았지만, 보수성(Drip loss, %)과 육색(Lightness, L*)이 전체적으로 큰 차이를 보임으로써, 개체군내에서의 Landrace 육질이 매우 안좋았음을 인지할 수 있었다. 이 유는 Landrace의 Mean Square 값을 볼때, PSE 돈육의 기준치를 넘었고, 이것은 품종 자체

의 문제라기 보다는 도축시기나 도축시에 나타날 수 있는 여러 문제점으로 인한 품종 전체의 육질저하가 원인이라고 사료된다.

조직학적인 면에서는 Yorkshire나 Landrace 두 품종에서 큰 차이가 없는 것으로 관찰되었다(Table 2-4). 다만 총 근섬유수(Total muscle fiber number, $\times 1,000$)에서 Landrace가 Yorkshire에 비해서 더 많은 것으로 관찰되었는데, 이는 근섬유수의 증가로 인한 산육형질 증가와 연결 지을 수 있다. 그밖에 조직학을 나타내는 항목인 단위면적당 근섬유수(Cross-sectional area of muscle fiber, μm^2)나 근섬유 조성(Muscle fiber number percent, %)에서는 큰 차이가 없는 것으로 관찰되었다.

Table 2-3. Growth, carcass and meat quality measurements in Yorkshire and Landrace

Breed	Yorkshire	Landrace
Weight at slaughter(kg)	101.4 \pm 0.85 ^b	109.3 \pm 1.43 ^a
Age at slaughter(day)	175.2 \pm 0.51	173.7 \pm 0.86
Age at 90kg (day)	159.5 \pm 1.03	149.2 \pm 1.74
Average daily gain (g/day)	791.1 \pm 9.35 ^b	838.4 \pm 15.77 ^a
Carcass percent (%)	73.77 \pm 0.22	74.13 \pm 0.37
Back fat thickness (mm)	15.09 \pm 0.43	14.36 \pm 0.71
Loin eye area (cm ²)	43.92 \pm 0.52 ^b	49.14 ^a (0.86)
Drip loss (%)	4.88 \pm 0.20 ^a	6.69 \pm 0.33 ^b
Lightness (L [*])	47.89 \pm 0.20 ^a	50.47 \pm 0.34 ^b

^{a,b} different superscript differ in the same row ($P < 0.05$)

Table 2-4. Muscle fiber characteristics in Yorkshire and Landrace

Breed	Yorkshire	Landrace
Total muscle fiber number, ($\times 1,000$)	1164 \pm 19.1 ^b	1267 \pm 33.5 ^a
Cross-sectional area of muscle fiber, (μm^2)	3848 \pm 49.6	3948 \pm 87.6
Muscle fiber number, (No./mm ²)	266.1 \pm 3.34	257.4 \pm 5.89
Muscle fiber number percent, (%)		
Type I	8.30 \pm 0.29	8.82 \pm 0.52
Type IIa	10.36 \pm 0.35	9.49 \pm 0.63
Type IIb	81.34 \pm 0.39	81.77 \pm 0.70

^{a,b} different superscript differ in the same row ($P < 0.05$)

나) 연차별 성장능력관련 형질 분석

품종별로 나타나는 형질과의 차이를 분석함으로써, 통계분석시 나타날 수 있는 품종간의 오차를 줄여줄 수 있었다. 그러나 동일 품종안에서도 도축시기나 계절(또는 연차)별로 나타날 수 있는 차이로 인한 오차가 발생할 수 있고, 이를 줄이기 위해서 각 품종별로 존재하는 계절별 차이를 분석했다. Yorkshire 종에서는 총 개체군 내에서 3개의 연차가 있었고, 이를 Exp1, Exp2, Exp3로 나타내었다. Landrace 내에서는 2개의 연차가 있었고, 이를 Exp1, Exp2로 나타내어 그룹화를 했으며, 형질과의 연관성을 분석 하였다.

(1) Yorkshire 내에서 나타나는 연차별 연관성 분석

Yorkshire 내에서는 총 3개의 연차가 있었다. 이를 Exp1과 Exp2와 Exp3로 나타내었고, 형질과의 연관성 분석결과 Exp2와 Exp3의 개체들이 Exp1의 개체에 비해서 성장능력이나 산육형질 면에서 뒤떨어지는 것으로 관찰되었다(Table 2-5). 성장형질을 나타내는 항목인 도체중(Weight at slaughter, kg)과 일당증체량(Average daily gain, g/day) 90kg 도달일령(Age at 90kg, day)등에서 성적이 매우 저조했으며, 등지방층 두께(Back fat thickness, mm)와 등심근 단면적(Loin eye area, cm²)으로 판단할 수 있는 산육형질 또한 Exp1에 비해 매우 저조했다. 특히 육질항목인 보수성(Drip loss, %)과 육색(Lightness, L*)에서는 Exp2가 매우 저조하게 나타났다. 이같은 결과는 Landrace에서도 비슷하게 나타났으며, 이는 그 연차에 전체적으로 개체의 도축시기나 도축시에 여러 가지의 문제점이 있었을 것으로 추정되

되어진다.

조직학적인 면에서는 연차별로 큰 차이는 없는 것으로 관찰되었고, 다만 총 근섬유수 (Total muscle fiber number, $\times 1,000$)에서 Exp1이 더 많은 것으로 관찰 되었다(Table 2-6). 이는 품종별 비교에서도 언급한 대로 근섬유수 증가에 따른 성장형질의 증가로 연결지어서 생각해 볼 수 있다.

Table 2-5. Growth, carcass and meat quality measurements in Yorkshire

Exp	Exp1	Exp2	Exp3
Weight at slaughter (kg)	109.5 \pm 1.60 ^a	96.5 \pm 1.44 ^c	100.4 \pm 1.08 ^b
Age at slaughter (day)	172.3 \pm 1.14 ^a	174.8 \pm 1.03 ^{ab}	176.8 \pm 0.77 ^b
Age at 90kg (day)	147.5 \pm 1.97 ^a	167.3 \pm 1.77 ^c	160.5 \pm 1.34 ^b
Average daily gain (g/day)	946.0 \pm 15.11 ^a	757.1 \pm 13.58 ^b	739.1 \pm 10.27 ^b
Carcass percent (%)	74.0 \pm 0.50 ^{ab}	74.81 \pm 0.44 ^a	73.08 \pm 0.33 ^b
Back fat thickness (mm)	20.33 \pm 0.77 ^a	11.31 \pm 0.67 ^b	14.67 \pm 0.51 ^c
Loin eye area (cm ²)	47.56 \pm 1.02 ^a	42.28 \pm 0.91 ^b	43.16 \pm 0.70 ^b
Drip loss (%)	4.63 \pm 0.38 ^a	6.84 \pm 0.34 ^b	3.89 \pm 0.26 ^a
Lightness (L [*])	47.05 \pm 0.33 ^a	49.58 \pm 0.29 ^b	47.31 \pm 0.22 ^a

^{a,b,c} different superscript differ in the same row ($P < 0.05$)

Table 2-6. Muscle fiber characteristics in different Exp in Yorkshire

Exp	Exp1	Exp2	Exp3
Total muscle fiber number ($\times 1,000$)	1225 \pm 34.1 ^a	1105 \pm 35.8 ^b	1159 \pm 25.2 ^{ab}
Cross-sectional area of muscle fiber (μm^2)	3944 \pm 93.2	3815 \pm 98.0	3813 \pm 67.9
Muscle fiber number, (No./mm ²)	258.8 \pm 6.37	267.1 \pm 6.70	269.5 \pm 4.64
Muscle fiber number percent, (%)			
Type I	6.85 \pm 0.55 ^b	10.43 \pm 0.57 ^a	8.03 \pm 0.40 ^b
Type IIa	10.38 \pm 0.68 ^b	7.35 \pm 0.71 ^a	11.80 \pm 0.49 ^b
Type IIb	82.77 \pm 0.75 ^b	82.22 \pm 0.78 ^b	80.18 \pm 0.54 ^a

^{a,b,c} different superscript differ in the same row ($P < 0.05$)

(2) Landrace 내에서 나타나는 연차별 연관성 분석

Landrace 내에서는 두 개의 연차가 있었고, Exp1과 Exp2로 나타내었다. 먼저, 각 형질별로 차이점을 서술하면, 도체중(Weight at slaughter, kg)과 일당증체량(Average daily gain, g/day), 90kg 도달일령(Age at 90kg, day)등의 성장형질은 Exp1이 더 우수했으며, 산육형질에서는 등지방층 두께(Back fat thickness, mm)와 등심근 단면적(Loin eye area, cm²)의 수치가 모두 Exp1이 두껍게 관찰되었다. 육질항목은 보수성(Drip loss, %)과 육색(Lightness, L*)에서 두 연차간에 큰 차이가 없는 것으로 관찰되었다(Table 2-7).

조직학적인 면에서는 Yorkshire의 연차별 비교와 마찬가지로 Exp1과 Exp2간에 큰 차이는 없는 것으로 관찰되었고, 총 근섬유수(Total muscle fiber number, $\times 1,000$)에서 Exp1이 더 많은 것으로 관찰 되었다(Table 2-8).

Table 2-7. Growth, carcass and meat quality measurements in Landrace

Exp	Exp1	Exp2
Weight at slaughter(kg)	114.2 ± 1.97 ^a	104.4 ± 1.97 ^b
Age at slaughter(day)	173.0 ± 0.84	174.4 ± 0.84
Age at 90kg (day)	144.1 ± 1.99 ^a	154.2 ± 1.97 ^b
Average daily gain (g/day)	898.2 ± 18.9 ^a	780.4 ± 18.7 ^b
Carcass percent (%)	73.58 ± 0.31 ^b	74.68 ± 0.31 ^a
Back fat thickness (mm)	18.30 ± 0.75 ^b	10.53 ± 0.73 ^a
Loin eye area (cm ²)	52.58 ± 1.17 ^a	45.80 ± 1.15 ^b
Drip loss (%)	6.43 ± 0.45	6.96 ± 0.44
Lightness (L*)	49.95 ± 0.65	50.97 ± 0.64

^{a,b,c} different superscript differ in the same row ($P < 0.05$)

Table 2-8. Muscle fiber characteristics in Landrace

Exp	Exp1	Exp2
Total muscle fiber number (×1,000)	1363 ± 45.6 ^a	1107 ± 59.1 ^b
Cross-sectional area of muscle fiber (μm ²)	3884 ± 122.3	4054 ± 159
Muscle fiber number, (No./mm ²)	260.9 ± 7.92	251.7 ± 10.28
Muscle fiber number percent, (%)		
Type I	8.26 ± 0.56	9.71 ± 0.71
Type IIa	9.79 ± 0.62	9.01 ± 0.78
Type IIb	82.09 ± 0.90	81.28 ± 1.13

^{a,b} different superscript differ in the same row ($P < 0.05$)

4) 근섬유 수 · 크기에 따른 성장능력 및 도체성적의 연관성 분석

도축 후 조직학적 분석결과 중 근섬유수 및 크기와 성장능력 및 도체성적 항목간의 연관성 분석을 실시하였다. 이를 통해 근섬유수 및 크기와 관련되어 성장능력 및 도체능력을 개량할 때 이용될 표지유전자 개발에 기초자료로 이용되고, 검정실험의 성적으로 근육을 구성하는 근섬유의 조직학적 성적을 예측해 볼 수 있는 자료로도 이용될 것이다. 분석결과는 Table 2-9,10,11과 같다.

근육의 성장은 근섬유 수와 크기에 의하여 결정되어진다. Table 2-9은 근섬유수와 근육성장관련능력 및 도체성적의 연관성을 분석한 결과이다. 실험군 전체를 근섬유 수를 기준으로 상위, 중위, 하위 세 그룹으로 구분하여 근섬유 수가 근육성장 및 도체성적에 미치는 영향을 분석하였다.

Table 2-9. Effects of muscle fiber number on growth and carcass measurements

	Class of total fiber number ($\times 10^4$)		
	High 140~185 (상위 20%)	Middle 98~140	Low 75~98 (하위 20%)
Total fiber number ($\times 10^4$)	158 \pm 15 ^{a*}	121 \pm 10 ^b	91 \pm 8 ^c
Fiber area (μm^2)	3654.16 \pm 526.07 ^b	3863.87 \pm 565.49 ^b	4495.16 \pm 366.33 ^a
LW at slaughter (kg)	113.06 \pm 12.23	109.79 \pm 11.42	104.44 \pm 7.74
Average daily gain (g/day)	937.38 \pm 141.16	941.54 \pm 143.88	969.38 \pm 103.92
Age at 90kg (day)	147.63 \pm 13.24	148.15 \pm 14.42	145.25 \pm 7.27
Carcass weight (kg)	84.75 \pm 9.16	80.58 \pm 8.06	79.13 \pm 6.83
Carcass percentage (%)	75.04 \pm 4.11	73.44 \pm 1.57	75.83 \pm 4.98
Loin-eye area (cm^2)	57.09 \pm 5.13 ^a	46.78 \pm 6.62 ^b	40.58 \pm 2.88 ^c
Live backfat thickness (mm)	9.27 \pm 5.16	11.94 \pm 2.67	11.61 \pm 1.77
Carcass backfat thickness (mm)	20.00 \pm 4.87	20.62 \pm 5.65	21.50 \pm 2.73

* Within same rows, means with different letters are significantly different ($P < 0.05$).

※ Means \pm standard deviations.

각 그룹의 근섬유수 평균은 상위그룹에서 하위그룹 순으로 158 \pm 15, 121 \pm 10, 91 \pm 8로 나타났으며, 이에 따른 근섬유의 크기(μm^2)는 3654 \pm 526, 3864 \pm 565, 4495 \pm 366이다. 즉

근섬유수가 많은 개체일수록 근섬유크기가 작고, 근섬유수가 적은 개체일수록 근섬유크기가 크다는 것을 확인할 수 있었다($P < 0.05$).

일당증체량(g/day)의 경우 근섬유수 보다는 크기와 관련이 있다고 기존에 보고되어있는데 이를 입증하는 결과로 근섬유크기가 큰 하위그룹이 969.38 ± 103.92 , 상위그룹이 937.38 ± 141.16 으로 하위그룹이 더 큰 경향을 보였다. 이에 따라 90kg 도달일령도 하위그룹이 145.25 ± 7.27 , 상위그룹이 147.63 ± 13.24 로 근섬유수가 적고 근섬유크기가 큰 그룹의 성장이 빠르게 나타났다. 도축시체중도 같은 경향을 나타내었으나 이 항목들의 평균간에는 유의성이 나타나지 않았다.

등심근단면적은 상위그룹이 하위그룹보다 넓은 것으로 나타났다($P < 0.05$). 근섬유수는 태어날때부터 지니고있는 성적인데, 이러한 근섬유수가 많은 그룹이 적은그룹에 비해 근섬유크기도 작고 일당증체량도 작은 경향을 보이지만, 도축 후 결과에서는 근섬유수가 많은 그룹의 등심근단면적이 더 발달된 결과를 보였다. 또한 근섬유수의 차이는 등지방두께 및 도체품질항목과 연관성을 나타내지 않았다.

Table 2-10. Effects of muscle fiber size on growth and carcass measurement*

	Class of fiber area (μm^2)		
	High 4500~5500 (상위 20%)	Middle 3400~4500	Low 3000~3400 (하위 20%)
Fiber area (μm^2)	$4812 \pm 354^{\text{a}}$ *	$39052 \pm 329^{\text{b}}$	$3203 \pm 125^{\text{c}}$
Total fiber number ($\times 10^4$)	$108 \pm 25^{\text{b}}$	$119 \pm 16^{\text{b}}$	$149 \pm 24^{\text{a}}$
LW at slaughter (kg)	108.19 ± 9.32	109.87 ± 12.79	109.06 ± 6.72
Average daily gain (g/day)	965.88 ± 137.98	945.00 ± 139.79	929.63 ± 125.90
Age at 90kg (day)	145.25 ± 10.04	147.73 ± 13.64	149.00 ± 10.25
Carcass weight (kg)	81.00 ± 6.82	81.62 ± 9.39	79.50 ± 4.17
Carcass percentage (%)	74.90 ± 1.89	74.37 ± 3.65	72.94 ± 1.68
Loin-eye area (cm^2)	51.39 ± 10.82	46.37 ± 6.50	47.61 ± 7.90
Live backfat thickness (mm)	12.31 ± 2.41	10.73 ± 3.66	12.51 ± 1.96
Carcass backfat thickness (mm)	20.88 ± 4.52	20.88 ± 5.52	19.75 ± 3.99

* Within same rows, means with different letters are significantly different ($P < 0.05$).

** Means \pm standard deviations.

Table 2-10은 근섬유크기와 근육성장관련능력 및 도체성적의 연관성을 분석한 결과로, 도축한 실험군을 근섬유크기를 기준으로 상위, 중위, 하위 세 그룹으로 나누어 근섬유크기와 개체성적과의 연관성을 분석하였다.

근섬유크기(μm^2)의 평균은 상위그룹에서 하위그룹 순으로 4812 ± 354 , 3905 ± 329 , 3203 ± 125 로 나타났으며, 이에 따른 근섬유의 수($\times 10^4$)는 108 ± 25 , 119 ± 16 , 149 ± 24 로 그룹간에 뚜렷한 차이($P < 0.05$)를 나타내었다. 즉 근섬유크기가 큰 개체일수록 근섬유수가 적고, 근섬유크기가 적은 개체일수록 근섬유수가 많다는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 표 2-3의 근섬유수를 기준으로 한 분석과도 일치하는 결과로 근섬유수와 크기 간에 부의상관관계를 확인하였다.

일당증체량(g/day)의 경우 근섬유크기가 큰 상위그룹에서 하위그룹 순으로 965.88 ± 137.98 , 945.00 ± 139.79 , 929.63 ± 125.90 이었으며, 90kg 도달일령은 상위그룹에서 하위그룹 순으로 145.25 ± 10.04 , 147.73 ± 13.64 , 149.00 ± 10.25 으로, 근섬유크기가 큰 개체가 성장이 빠름을 의미하며 이는 표 2-3의 일당증체량 및 90kg도달일령 항목의 분석결과를 입증하는 결과이기도하다. 등심근단면적과 근섬유크기의 연관성은 그룹간의 경향이나 유의성이 나타나지 않았는데 이는 후기 성장에 관련 있는 근섬유면적의 크기의 특성 때문이라 생각된다.

Table 2-11. Effects of muscle fiber number and size on growth and carcass measurements*

Trait	H - H**	H - L	L - H	L - L
Total fiber number ($\times 10^4$)	$135.04 \pm 5.2^a*$	143.27 ± 4.1^a	99.49 ± 4.12^b	113.4 ± 5.25^b
Fiber area (μm^2)	4226 ± 111^a	3397 ± 87^a	4549 ± 87^b	3568 ± 111^a
LW at slaughter (kg)	111.68 ± 3.95	112.15 ± 3.10	106.92 ± 3.10	106.63 ± 3.95
Average daily gain (g/day)	935.88 ± 48.59	934.15 ± 38.12	978.23 ± 38.12	923.25 ± 48.59
Age at 90kg (day)	151.75 ± 4.42	147.38 ± 3.47	145.46 ± 3.47	146.75 ± 4.42
Carcass weight (kg)	84.50 ± 2.86	81.92 ± 2.25	80.00 ± 2.25	78.13 ± 2.86
Carcass percentage (%)	75.73 ± 1.07	73.11 ± 0.84	74.88 ± 0.84	73.35 ± 1.07
Loin-eye area (cm^2)	57.14 ± 2.02^a	48.46 ± 1.59^b	45.12 ± 1.59^{bc}	40.49 ± 2.02^c
Live backfat thickness (mm)	10.92 ± 1.15	12.56 ± 0.90	11.15 ± 0.90	10.24 ± 1.15
Carcass backfat thickness (mm)	20.13 ± 1.81	19.69 ± 1.42	21.38 ± 1.42	21.63 ± 1.81
pH _{45min}	6.14 ± 0.06^a	5.94 ± 0.05^{bc}	6.09 ± 0.05^{ac}	6.15 ± 0.06^a

* Within same rows, means with different letters are significantly different ($P < 0.05$).

** Least square means \pm standard error

*** H-L - High and low group by total fiber number

H-L - High and low group by fiber area

Table 2-11은 위의 결과를 토대로 근섬유수에 따른 그룹과 근섬유크기를 기준으로 구분한 그룹으로 나누어 이 항목들의 상관관계에 따른 근육성장 및 도체성적에 대한 연관성을 분석하였다(근섬유수가 많고 근섬유크기도 큰 그룹을 A, 근섬유수가 많고 근섬유크기가 작은 그룹을 B, 근섬유수가 적고 근섬유크기가 큰 그룹을 C, 근섬유수가 적고 근섬유크기도 작은 그룹을 D그룹이라 명명함).

각 그룹에 따른 근섬유수($\times 10^4$)는 A그룹에서 D그룹 순으로 135.04 ± 5.2 , 143.27 ± 4.1 , 99.49 ± 4.12 , 113.4 ± 5.25 로 나타났다($P < 0.05$). 근섬유수가 많고 크기가 작은 B그룹이 근섬유수가 가장 많았고, 그 다음이 A, D그룹, 근섬유수가 적고 크기가 큰 C그룹이 가장 적은 근섬유수를 나타냈다.

근섬유크기(μm^2)는 A그룹에서 D그룹 순으로 4226 ± 111 , 3397 ± 87 , 4549 ± 87 , 3568 ± 111 로 나타났다. 근섬유수가 적고 근섬유크기가 큰 C그룹이 가장 컸으며, 근섬유수가 많고 근섬유크기가 적은 A그룹이 가장 작은 값을 나타냈다($P < 0.05$). 이는 앞의 Table 2-9,10의 연관성분석의 결과를 통합해서 보여주는 것이다.

유의성은 나타나지 않았지만 도축시체중(kg)은 근섬유수가 많은 A, B그룹이 C, D그룹보다 많은 경향을 보였고, 일당증체량은 근섬유수가 적고 근섬유크기가 큰 C그룹이 가장 높게 나타났다. 근섬유수가 많고 근섬유크기가 큰 개체가 높았다. 이는 앞의 Table 2-9,10의 근섬유수와 크기를 분석한 결과에서도 이러한 경향을 보였다.

등심근단면적(cm^2)은 Table 2-11의 결과와 마찬가지로 근섬유수가 많은 그룹이 컸으며, A그룹이 가장 크고, B, C, D그룹 순으로 크기가 작아졌다.

pH₄₅ 항목의 경우 그룹간 유의적인 차이($P < 0.05$)를 나타냈으며, 근섬유수가 많고 크기가 큰 그룹에서 pH가 높아 사후 근육의 대사속도가 안정적임을 나타냈다. 또한 도체중(kg)과 정육율(%)도 근섬유수가 많고 근섬유크기가 큰 집단에서 능력이 좋은 경향을 보였다.

근섬유수와 크기간의 상관관계를 분석한 결과 높은 부의상관관계($r=-0.57$, $P < 0.0001$)를 나타내었다(Table 2-12). 등심근단면적은 근섬유수와 근섬유크기 모두와 정의상관관계에 있으나 근섬유수와 더 높은 정의상관관계($P < 0.0001$)에 있었다. 도축시체중은 근섬유수와 정의상관관계에 있으며, 근섬유크기와 부의상관관계($P < 0.01$)에 있음이 나타났다. 그리고 나머지 항목에서는 앞의 Table 2-12의 결과와 같이 경향은 보였으나 유의성을 나타내지는 않았다.

본 연구에서 실시한 근육성장관련형질들의 기초자료분석과 근섬유수·크기와 성장능력 및 도체능력간의 분석으로 관련형질들간의 특성과 연관성을 체계화 하였다.

특히 근섬유수가 많고 크기가 큰 개체를 선발하여 이용한다면 성장능력이 우수하면서도 육질이 좋은 개체를 생산해 낼 수 있으며, PSE육의 발생을 줄일 수 있을 것이다.

이러한 결과로 근육성장관련 후보유전자 탐색의 방향을 제시하였으며, 표지유전자의 실제

표현형질과의 관련성을 설명할 수 있는 최적선형모형을 개발하는데 밑거름이 될 것이다.

Table 2-12. Effects of muscle fiber number and size on growth and carcass measurements

	Total fiber number	Fiber area
Fiber area	-0.57 ^{***}	-
Total fiber number	-	-0.57 ^{***}
Loin eye area	0.66 ^{**}	0.22
Carcass weight	0.25	-0.04
Live backfat thickness	-0.03	0.04
Carcass backfat thickness	-0.12	0.06
Average daily gain	0.01	0.04
Age at 90kg	0.01	0.02
LW at slaughter	0.30 [*]	-0.15
Carcass percentage	0.15	-0.03
pH _{45min}	-0.14	0.14

^{*}($P < 0.01$), ^{**}($P < 0.001$), ^{***}($P < 0.0001$)

나. 표지유전자에 따른 근육성장 및 조직학적 발달분석

1) 유전자 다형성 분포 조사

앞선 연구에서 개체군 내에서 성장형질 및 산육형질 육질등과 대상형질과의 연관성을 분석하였다. 이에 근섬유형성과 관련한 후보유전자를 검색·선발하고, 이 유전자들의 다형성(Polymorphism)을 분석하였다. 이런 유전자들의 다형성과 근육성장과 관련한 형질 및 조직학적인 발달항목들과의 연관성 분석을 통하여 표지유전자 선발 가능성을 예측하고, 활용성을 검토하였다. 다형성은 SNP(single nucleotide polymorphism)에 의해서 나타날 수 있는 염기서열 차이와 그에 따른 유전자 발현 수준의 차이를 조사한 것으로서, 이러한 차이가 근육성장과 조직학적인 발달에 어떠한 영향을 미치는가에 따라서 표지유전자로서의 선발 가능성이 있다고 볼 수 있다. 본 연구에서는 근섬유(muscle fiber) 형성과 관련한 후보유전자의 검색을 통해서 MyoD gene family를 후보유전자 집단으로 선정하였다. 그 중에서도 myotube에서 muscle fiber로의 분화에 가장 큰 역할을 하는 myogenin에 대한 새로운 SNP를 5' promoter region에서 밝혀내었고, 다형질과 형질과의 연관성 분석을 통해 표지유전자

로서의 가능성을 예측하였다. 또한 myotube 단계에서 mogenin의 발현을 촉진하는 것으로 알려진 MRF-4(Myf6)의 다형성을 검색하고, 기존에 밝혀진 두 개의 SNP(MspI, BseRI)와 형질과의 연관성을 분석하였다. 마지막으로 발생초기 단계에서 성장 전반에 걸친 여러 유전자들의 발현을 촉진하는 것으로 알려진 Pit-1(PROP1)유전자의 SNP(MspI, RsaI)와 형질과의 연관성을 분석하였다.

가) Myogenin 5' promoter region

대상군 내 *Myogenin* - BspCNI PCR-RFLP에 의한 유전자형의 빈도를 보면, Landrace종과 Yorkshire종 대상군 내에서 TT유전자형이 각각 1두씩 관찰되었으며, TC와 CC유전자형이 각각의 품종에서 74%와 24% 62%와 33%를 나타내었으며 품종별로 유전자형빈도가 차이가 있는 것으로 관찰되었다.(Table 2-13) 본 연구의 대상이 된 대상군 내에서는 C 유전자가 T 유전자에 비하여 predominant한 유전자로 판단되어 지지만, 이러한 집단 내 유전자 좌위에서의 유전자의 편귀 현상이 본 연구에 의하여 처음으로 발견된 유전자 좌위라는 점과 기존의 연구 결과의 정보를 얻을 수 없다는 점에서 현재로써는 정확한 원인에 대하여 판단하기가 어렵다고 생각된다. 따라서 결과에 대한 보다 정확한 해석을 위하여 다른 집단을 대상으로 한 분석을 실시함과 동시에 본 연구에 사용된 품종 외 다른 품종에서의 유전자형 분석과 비교를 통하여 집단 및 품종에 대한 유전자 빈도의 정확한 추정이 가능할 것으로 판단된다. 또한 경제 형질과의 연관성 분석을 통하여 대상 집단 내 유전자 편귀 현상에 대한 정확한 분석이 가능할 것으로 사료된다.

Table 2-13. Frequency of genotypes by MG5 / BspCNI PCR-RFLP analysis

Breed	N	Genotype			Gene frequency	
		CC	TC	TT	p	q
Yorkshire	186	135	50	1	0.86	0.14
		0.74	0.24	0.02		
Landrace	67	40	26	1	0.79	0.21
		0.62	0.33	0.05		
Total	253	175	76	2	0.84	0.16
		0.70	0.27	0.03		

p is C gene frequency and q is T gene frequency

N is Number of pig

나) Myf6 intron1 region

Yorkshire 종 내 Myf6 - BseRI PCR-RFLP에 의한 유전자형의 빈도를 보면, AA유전자형이 총 3두가 관찰되었으며, AB와 BB유전자형이 각각 30%와 67%를 나타내었다(Table 2-14). 이미 품종간의 비교를 통해서 유전자형의 차이가 없다고 밝혀진 점과, myogenin에서 나타난 바처럼 Landrace에서의 반복수나 육질 문제로 인한 문제를 제기하지 않기 위해서 Myf6에 대한 분석은 Landrace에서는 의미가 없다고 판단하여 실시하지 않았다.

Table 2-14. Frequency of genotypes by Myf6 / BseRI PCR-RFLP analysis

Breed	N	Genotype			Gene frequency	
		AA	AB	BB	p ^a	q
Yorkshire	184	3	60	121	0.18	0.82
		0.03	0.30	0.67		

p is A gene frequency and q is B gene frequency

N is Number of Pig

다) Myf6 5' promoter region

Yorkshire 와 Landrace에 대해서 모두 실시한 Myf6 - MspI PCR-RFLP에 의한 유전자형 빈도는 TT유전자형이 251마리의 개체군 내에서 모두 12가 관찰되었으며, 그 빈도가 6%로 측정되었다. CC 유전자형이 58%, TC 유전자형이 36%로 각각 관찰되었다(Table 2-15).

Table 2-15. Frequency of genotypes by Myf6 - MspI PCR-RFLP analysis

Breed	N	Genotype			Gene frequency	
		CC	CD	DD	p	q
Yorkshire	186	125	57	4	0.83	0.17
		0.69	0.28	0.03		
Landrace	65	18	39	8	0.58	0.42
		0.34	0.48	0.18		
Total	251	143	96	12	0.76	0.24
		0.58	0.36	0.06		

p is C gene frequency and q is T gene frequency

N is Number of Pig

따라서 C 유전자 빈도가 0.76, T 유전자 빈도가 0.24로 3:1의 비율을 나타내었다. 그러나 Yorkshire의 CC 유전자형이 69%, TC 유전자형이 28%였고, Landrace의 CC 유전자형이 34%, TC 유전자형이 48%로 관찰됨으로써 품종끼리의 유전자형 빈도가 매우 차이가 있었음이 관찰되었다. 이 자료만으로는 이같은 품종끼리의 빈도차이를 밝힐 수 없었고, 따라서 다른 품종이나 개체의 반복수 증가 등의 추가 실험을 통한 연구가 필요하다고 판단한다.

라) Pit-1 - MspI polymorphism

대상 개체군인 Yorkshire와 Landrace내에서 실시한 Pit-1 - MspI PCR-RFLP 를 통한 유전자형 분석결과 품종끼리 그 빈도가 다소 차이가 있었다. Yorkshire의 경우는 C allele과 D allele이 약 1:1의 비율로 나타남으로써, 세 개의 유전자형이 각 1:2:1의 비율을 보였다. 이와는 다르게 Landrace는 C allele과 D allele이 2:3의 비율을 보였으며, 유전자형 빈도에서도 각각이 15%, 47%, 38%를 보였다. 그러나 Landrace의 개체수가 Yorkshire에 비해서 크게 작았고, 품종을 종합하여 분석하였을 경우에는 Yorkshire의 결과와 마찬가지로 각 유전자형의 비율이 1:2:1을 보였다(Table 2-16).

Table 2-16. Frequency of genotypes by Pit-1 / MspI PCR-RFLP analysis

Breed	N	Genotype			Gene frequency	
		CC	CD	DD	p	q
Yorkshire	186	55	82	49	0.52	0.48
		0.27	0.50	0.23		
Landrace	67	15	21	31	0.38	0.62
		0.15	0.47	0.38		
Total	253	70	103	80	0.48	0.52
		0.23	0.50	0.27		

p is C gene frequency and q is D gene frequency

N is Number of Pig

마) Pit-1 - RsaI polymorphism

대상 개체군인 Yorkshire와 Landrace 총 254마리에 대한 Pit-1 - RsaI PCR-RFLP 분석결과 E allele과 F allele의 비율이 약 8:2로 관찰되었다. 품종간에 약간의 차이가 있었지만 FF 유전자형이 Landrace에서 관찰되지 않은점에 비추어 봤을 때 그 차이는 미묘하다고 볼 수 있다. EE 유전자형과 EF 유전자형이 각각 66%와 30%로 관찰되었다(Table 2-17).

Table 2-17. Frequency of genotypes by Pit-1 - RsaI PCR-RFLP analysis

Breed	N	Genotype			Gene frequency	
		EE	EF	FF	p	q
Yorkshire	186	110	73	3	0.79	0.21
		0.62	0.33	0.05		
Landrace	68	52	16	-	0.88	0.12
		0.77	0.21	0.02		
Total	254	162	89	3	0.81	0.19
		0.66	0.30	0.04		

p is C gene frequency and q is D gene frequency

N is Number of Pig

2) 유전자 다형성과 형질과의 상관분석

분산 분석을 통한 돼지의 성장, 산육 및 육질 형질에 대한 유전자 좌위에서의 유전자형 효과는 고정 모형을 통하여 얻어진 최소 제곱 평균을 이용하여 추정하였다. 성장형질은 90kg 도달일령(Age at 90kg, day), 일당증체량(Average daily gain, kg), 지육율(Carcass percent, %)등으로 나타내었고, 산육형질은 등지방층 두께(Back fat thickness, mm), 등심근 단면적(Loin eye area, cm²)으로 나타내었으며, 육질 항목은 보수력(Drip loss, %)과 육색(Lightness, L*)으로 나타내었다. 또한 조직학적인 발달항목은 총 근섬유수(Total muscle fiber number, ×1,000), 근섬유면적(Cross-sectional area of muscle fiber, μm²) 그리고 단위면적당 근섬유수(Muscle fiber number, No./mm²)로 나타내었다. 이에 더 세부적이고 심층적인 조직학적인 항목에 대한 분석은 제 3세부 과제에서 다루기로 하였다.

가) Myogenin-BspCNI PCR-RFLP

Myogenin-BspCNI PCR-RFLP에 의하여 밝힌 5' promoter region 의 SNP에서 얻어진 유전자형 분석 결과 Myogenin의 TT 유전자형은 Landrace종, Yorkshire종 각각 1두씩만이 관찰되었다. 이와 같은 경우 유전자형에 대한 형질과의 정확한 효과 추정이 어려워, TT 유전자형을 대상형질과의 연관성 분석에서 제외하였다. 먼저 Yorkshire종에서의 유전자형의 경우에는 육질에서 육색이 CC 유전자형이 더 뛰어난 것으로 관찰되었으나(P < 0.05), 두 유전자형이 모두 정상 범위임으로 큰 의미가 없다고 판단되어 지고, 따라서 증체량 등의 성장형질과 함께 육질도 두 유전자형 간에 뚜렷한 차이를 나타내지 않는다고 볼 수 있다. 그러나

산육형질인 등지방층 두께가 TC 유전자형이 CC 유전자형에 비해 더 얇은 것으로 나타났고 ($P < 0.01$), 등심근 단면적 또한 약 10% 유의차 수준에서 TC 유전자형이 더 넓은 것으로 관찰되었다(Table2-18).

Table 2-18. Effects of MG5 genotypes on growth, carcass, meat quality and muscle fiber characteristics measurements in Yorkshire

Variable	MG5		Significance ^a
	CC	TC	
Age at 90kg (day)	158.5 ± 1.24	157.0 ± 1.87	NS
Average daily gain (g/day)	820.9 ± 9.63	812.4 ± 14.45	NS
Carcass percent (%)	73.77 ± 0.31	73.73 ± 0.47	NS
Back fat thickness (mm)	15.71 ± 0.44 ^b	13.60 ± 0.67 ^a	**
Loin eye area ^b (cm ²)	43.20 ± 0.63	44.81 ± 0.95	NS
Drip loss ^b (%)	5.03 ± 0.25	5.05 ± 0.37	NS
Lightness ^b (L*)	41.03 ± 0.40 ^a	42.50 ± 0.61 ^b	*
Total muscle fiber number (×1,000)	1146 ± 23.3	1189 ± 36.52	NS
Cross-sectional area of muscle fiber (μm ²)	3830 ± 62.61	3824 ± 98.43	NS
Muscle fiber number,(No./mm ²)	267.4 ± 4.27	266.7 ± 6.72	NS

^a NS is no significant, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$

^b Taken on the longissimus muscle

Landrace종의 경우 유전자형간의 성장 및 육질형질에 대한 뚜렷한 차이를 보이지 않았다 (Table 2-19). 산육형질의 경우도 수치적으로는 TT 유전자형이 등지방층 두께가 얇고, 등심근 단면적이 넓게 나타났지만, 통계적인 유의차는 없는 것으로 관찰되었다. 육질의 측정 항목인 보수력과 육색의 경우 전체 유전자형 평균에서 일반적인 PSE돈육 판단의 기준인 보수

력 6%이상과 육색 50이상에 비추어 볼때, 보수력이 6%이상이고 육색이 거의 45에 가까운 것으로 나타났는데, 이러한 결과는 실험군내의 Landrace중에서 약 50%정도가 PSE 돈육 판정을 받아 전체적인 육질 평가 항목이 낮게 나타난 것으로 판단된다. 따라서 결과적으로 Landrace 종은 유전자형에 따른 성장, 산육 및 육질형질 전체에 대해서 큰 차이가 없었지만, 실험 개체수가 Yorkshire에 비해 현저히 적고, PSE 돈육의 비율이 50%에 달하는 것을 감안하여 추가 실험이 요구된다고 사료된다.

Table 2-19. Effects of MG5 genotypes on growth, carcass, meat quality and muscle fiber characteristics measurements in Landrace

Variable	MG5		Significance ^a
	CC	TC	
Age at 90kg (day)	149.26 ± 1.69	147.96 ± 2.18	NS
Average daily gain (g/day)	847.1 ± 16.70	836.0 ± 21.51	NS
Carcass percent (%)	74.25 ± 0.28	73.85 ± 0.35	NS
Back fat thickness (mm)	14.89 ± 0.65	13.38 ± 0.81	NS
Loin eye area ^b (cm ²)	48.41 ± 1.08	50.06 ± 1.34	NS
Drip loss ^b (%)	7.10 ± 0.41	6.11 ± 0.51	NS
Lightness ^b (L*)	46.03 ± 1.01	44.01 ± 1.26	NS
Total muscle fiber number (×1,000)	1219 ± 47.3	1243 ± 58.6	NS
Cross-sectional area of muscle fiber (μm ²)	4025 ± 131.1	3898 ± 162.5	NS
Muscle fiber number,(No./mm ²)	256.2 ± 8.37	254.8 ± 10.38	NS

^a NS is no significant

^b Taken on the longissimus muscle

이상과 같이 Yorkshire종과 Landrace종에서의 결과를 종합해 보면 두 품종에서 다소 정도의 차이는 있으나, 산육 형질에서 TC 유전자형이 좀 더 우세한 경향을 보였다. 하지만 Landrace의 적은 개체수의 문제점 해결과 두 품종에 공통적으로 적용되는 유전자형의 효과에 대해서 자세히 추정하기 위해서 두 품종을 합하고, 품종간에 나타나는 오차를 제거해 주는 분산분석을 실시하였다(Table 2-20). 그 결과 일당증체량 등의 성장형질에서는 두 유전자형끼리 차이가 없었으며, 육질 또한 Mean Square값이 Landrace로 인해 보수력과 육색이 높게 관찰된 점을 제외하면, 두 유전자형끼리의 차이는 없었다. 하지만, 산육형질인 등지방층 두께가 고도의 유의차를 보이며 TC 유전자형이 얇았고($P < 0.001$), 등심근 단면적 또한 낮은 수준에서 TC 유전자형이 두꺼웠음을 관찰할 수 있었다($P < 0.1$).

Table 2-20. Effects of MG5 genotypes on growth, carcass and meat quality measurements in Whole Pig

Variable	MG5		Significance ^a
	CC	TC	
Age at 90kg (day)	153.8 ± 1.06	153.2 ± 1.58	NS
Average daily gain (g/day)	817.8 ± 8.60	803.6 ± 12.82	NS
Carcass percent (%)	73.73 ± 0.25	73.53 ± 0.37	NS
Back fat thickness (mm)	14.96 ± 0.38 ^b	12.96 ± 0.56 ^a	***
Loin eye area ^b (cm ²)	45.51 ± 0.55 ^b	47.16 ± 0.82 ^a	†
Drip loss ^b (%)	5.60 ± 0.22	5.42 ± 0.32	NS
Lightness ^b (L*)	49.11 ± 0.23	48.94 ± 0.34	NS
Total muscle fiber number (×1,000)	1179 ± 22.62	1229 ± 32.65	NS
Cross-sectional area of muscle fiber (μm ²)	3902 ± 62.5	3821 ± 89.1	NS
Muscle fiber number,(No./mm ²)	262.8 ± 4.14	264.5 ± 5.99	NS

^a NS is no significant, *** $P < 0.001$, † $P < 0.1$

^b Taken on the longissimus muscle

나) Myf6-BseRI PCR-RFLP

Myf6-BseRI PCR-RFLP에 의하여 밝힌 intron 1 부위의 SNP에서 얻어진 유전자형 분석 결과 Myf6의 AA 유전자형이 전체 개체에서 3두밖에 관찰되지 않았다. 이와 같은 경우 myogenin에서와 마찬가지로 유전자형에 대한 형질과의 정확한 효과 추정이 어려워, AA 유전자형을 대상형질과의 연관성 분석에서 제외하였다. Myf6의 경우도 역시 산육형질에서 두 유전자형의 차이가 있었다(Table 2-21).

Table 2-21. Effects of Myf6 - BseRI genotypes on growth, carcass, meat quality and muscle fiber characteristics measurements in Yorkshire

Variable	<i>Myf6 - BseRI</i>		Significance ^a
	AB	BB	
Age at 90kg (day)	157.4 ± 1.68	158.1 ± 1.25	NS
Average daily gain (g/day)	820.2 ± 13.02	815.8 ± 9.73	NS
Carcass percent (%)	74.91 ± 0.41 ^a	73.23 ± 0.03 ^b	*
Back fat thickness (mm)	16.10 ± 0.61 ^b	14.54 ± 0.45 ^a	*
Loin eye area ^b (cm ²)	42.84 ± 0.82	44.00 ± 0.62	NS
Drip loss ^b (%)	4.66 ± 0.33	5.21 ± 0.25	NS
Lightness ^b (L [*])	47.81 ± 0.29	48.13 ± 0.21	NS
Total muscle fiber number (×1,000)	1113 ± 30.4	1174 ± 23.1	NS
Cross-sectional area of muscle fiber (μm ²)	3879 ± 84.1	3812 ± 64.3	NS
Muscle fiber number,(No./mm ²)	262.9 ± 5.72	268.7 ± 4.37	NS

^a NS = no significant, * = P < 0.05

^b Taken on the longissimus muscle

BB 유전자형이 AB 유전자형에 비해서 등지방층 두께(Back fat thickness, mm)가 더 얇았으며, 등심근 단면적(Loin eye area, cm²)에서는 수치적으로만 차이가 있었다. 일당증체량(Age at 90kg, day)이나 90kg 도달일령(Age at 90kg, day) 등 성장형질에서는 두 유전자형간에 차이가 없었으며, 도체율(Carcass percent, %)에서만 AB 유전자형이 더 높은 것으로 분석되었다. 보수력(Drip loss^b, %)이나 육색(Lightness^b, L*)에서는 차이가 없어서 두 유전자형간에 육질에서는 큰 차이가 없다고 판단되며, 총 근섬유수(Total muscle fiber number, ×1,000) 등의 조직학적인 발달특징은 BB 유전자형이 AB 유전자형에 비해 수치적으로 높게 나타났으나 유의차는 있지 않았다.

다) Myf6 - MspI PCR-RFLP

MspI RFLP를 통하여 나타난 Myf6 5' promoter region의 SNP 변이의 유전자형 분석결과 C allele과 D allele의 유전자형 빈도가 품종간에 다소 차이가 있었으며, 따라서 이들 유전자형과 성장형질 및 산육형질, 육질과 조직학적인 발달항목과의 연관성 분석결과도 품종끼리 차이가 있었다.

먼저 Yorkshire종에 대한 분석결과를 보면, 성장형질에서는 도체율(Carcass percent, %)을 제외한 90kg 도달일령(Age at 90kg, day)과 일당증체량(Average daily gain, kg)에서는 유전자형간의 차이가 없었다. 도체율은 대체로 D 유전자를 포함한 유전자형이 우수한 것으로 나타났다. 산육형질에서는 등지방층 두께(Back fat thickness, mm)에서는 유전자형간의 차이가 없었으나, 등심근 단면적(Loin eye area, cm²)에서는 DD 유전자형이 다른 유전자형에 비해서 우세한 것으로 밝혀졌다. 육질면에서는 유전자형간의 차이가 없었으며, 조직학적인 발달면에서도 모두 차이가 없었다. 다만, DD 유전자형이 총 근섬유수(Total muscle fiber number, ×1,000)에서 수치적으로 다른 유전자형들보다 높게 나타났으나 유의차는 없는 것으로 관찰되었다(Table2-22).

Landrace종은 대상형질 전반에 걸쳐서 유전자형간의 차이가 나타나지 않았다(Table2-23). 따라서 성장항목과 산육형질 및 육질, 조직학적인 발달 모두 유전자형간의 차이가 없었다.

Yorkshire종과 Landrace종을 종합해서 분석해 본 결과, 성장형질 항목 중 하나인 도체율에서 D 유전자를 포함하는 CD 유전자형과 DD 유전자형이 CC 유전자형보다 우세하게 관찰된 것을 제외하고는 다른 대상형질들에서는 유전자형간의 차이가 없는 것으로 분석되었다(Table2-24).

Table 2-22. Effects of Myf6 - MspI genotypes on growth, carcass, meat quality and muscle fiber characteristics measurements in Yorkshire

Variable	<i>Myf6 - MspI</i>			Significance ^a
	CC	CD	DD	
Age at 90kg (day)	158.5 ± 1.25	156.6 ± 1.73	160.3 ± 6.40	NS
Average daily gain (g/day)	813.2 ± 9.50	832.4 ± 13.21	784.1 ± 48.70	NS
Carcass percent (%)	73.22 ± 0.30 ^b	74.73 ± 0.42 ^a	76.64 ± 1.54 ^a	*
Back fat thickness (mm)	15.66 ± 0.65	16.22 ± 0.83	15.61 ± 2.80	NS
Loin eye area ^b (cm ²)	43.94 ± 0.62 ^{ab}	42.92 ± 0.86 ^b	50.03 ± 3.16 ^a	*
Drip loss ^b (%)	5.10 ± 0.24	4.91 ± 0.34	5.49 ± 1.25	NS
Lightness ^b (L [*])	48.05 ± 0.21	47.92 ± 0.29	48.18 ± 1.07	NS
Total muscle fiber number (×1,000)	1174 ± 23.4	1118 ± 31.8	1281 ± 110.4	NS
Cross-sectional area of muscle fiber (μm ²)	3809 ± 63.5	3889 ± 87.2	3837 ± 302.6	NS
Muscle fiber number,(No./mm ²)	268.6 ± 4.33	263.0 ± 5.94	266.0 ± 20.6	NS

^a NS is no significant, * $P < 0.05$

^b Taken on the longissimus muscle

Table 2-23. Effects of Myf6 - MspI genotypes on growth, carcass, meat quality and muscle fiber characteristics measurements in Landrace

Variable	<i>Myf6 - MspI</i>			Significance ^a
	CC	CD	DD	
Age at 90kg (day)	149.6 ± 2.55	148.4 ± 1.78	148.7 ± 3.83	NS
Average daily gain (g/day)	864.7 ± 25.2	836.3 ± 17.6	823.4 ± 37.8	NS
Carcass percent (%)	74.80 ± 0.41	73.90 ± 0.28	73.63 ± 0.61	NS
Back fat thickness (mm)	14.31 ± 0.99	13.83 ± 0.67	15.92 ± 1.48	NS
Loin eye area ^b (cm ²)	48.82 ± 1.59	49.74 ± 1.08	49.33 ± 2.38	NS
Drip loss ^b (%)	6.53 ± 0.63	6.74 ± 0.43	7.01 ± 0.95	NS
Lightness ^b (L*)	50.78 ± 0.88	50.90 ± 0.60	48.88 ± 1.32	NS
Total muscle fiber number (×1,000)	1226 ± 74.9	1235 ± 52.2	1228 ± 99.2	NS
Cross-sectional area of muscle fiber (μm ²)	4089 ± 207.5	3922 ± 144.7	4128 ± 274.9	NS
Muscle fiber number,(No./mm ²)	254.4 ± 13.2	254.9 ± 9.2	247.5 ± 17.6	NS

^a NS is no significant, * $P < 0.05$

^b Taken on the longissimus muscle

Table 2-24. Effects of Myf6 - MspI genotypes on growth, carcass, meat quality and muscle fiber characteristics measurements in Whole Pig

Variable	<i>Myf6 - MspI</i>			Significance ^a
	CC	CD	DD	
Age at 90kg (day)	154.4 ± 1.28	153.2 ± 1.34	153.0 ± 3.61	NS
Average daily gain (g/day)	812.6 ± 10.3	815.9 ± 10.8	797.5 ± 29.2	NS
Carcass percent (%)	73.20 ± 0.29 ^b	74.09 ± 0.30 ^a	74.44 ± 0.82 ^a	*
Back fat thickness (mm)	14.11 ± 0.46	14.39 ± 0.48	15.05 ± 1.30	NS
Loin eye area ^b (cm ²)	46.20 ± 0.67	45.80 ± 0.69	48.25 ± 1.87	NS
Drip loss ^b (%)	5.53 ± 0.26	5.56 ± 0.27	5.71 ± 0.74	NS
Lightness ^b (L*)	43.16 ± 0.50	43.68 ± 0.52	40.74 ± 1.41	NS
Total muscle fiber number (×1,000)	1212 ± 27.5	1181 ± 27.4	1219 ± 70.3	NS
Cross-sectional area of muscle fiber (μm ²)	3866 ± 75.5	3874 ± 75.5	4017 ± 193.9	NS
Muscle fiber number,(No./mm ²)	265.1 ± 5.07	262.0 ± 5.07	255.0 ± 13.0	NS

^a NS is no significant, * $P < 0.05$

^b Taken on the longissimus muscle

라) Pit-1 - MspI PCR-RFLP

Pit-1 유전자에서 나타난 SNP 중 MspI RFLP를 분석한 결과 나타난 세 개의 유전자형인 CC 와 CD, DD은 C allele과 D allele의 유전자 빈도가 거의 1:1로 관찰됨으로써, 1:2:1의 비율을 보였다. 하지만 이 유전자형들과 성장 및 산육형질, 육질 그리고 조직학적 발달등의 대 상형질과의 연관성 분석 결과는 상호간의 연관성이 크게 없는 것으로 관찰되었다.

Table 2-25. Effects of Pit-1 - MspI genotypes on growth, carcass, meat quality and muscle fiber characteristics measurements in Yorkshire

Variable	<i>Pit-1 - MspI</i>			Significance ^a
	CC	CD	DD	
Age at 90kg (day)	159.8 ± 1.88	159.0 ± 1.51	154.7 ± 1.98	NS
Average daily gain (g/day)	812.3 ± 14.47	816.8 ± 11.61	827.1 ± 15.25	NS
Carcass percent (%)	73.90 ± 0.47	73.78 ± 0.38	73.88 ± 0.49	NS
Back fat thickness (mm)	14.92 ± 0.68	15.24 ± 0.55	15.03 ± 0.72	NS
Loin eye area ^b (cm ²)	44.27 ± 0.91	43.93 ± 0.76	43.11 ± 1.00	NS
Drip loss ^b (%)	5.72 ± 0.36	5.22 ± 0.29	4.22 ± 0.38	NS
Lightness ^b (L*)	48.25 ± 0.32	48.13 ± 0.25	47.81 ± 0.33	NS
Total muscle fiber number (×1,000)	1169 ± 35.8	1160 ± 27.9	1145 ± 37.2	NS
Cross-sectional area of muscle fiber (μm ²)	3748 ± 96.1	3838 ± 75.3	3909 ± 100.1	NS
Muscle fiber number,(No./mm ²)	269.1 ± 6.58	266.1 ± 5.15	265.5 ± 6.90	NS

^a NS is no significant, * $P < 0.05$

^b Taken on the longissimus muscle

앞서 연구를 진행한 myogenin이나 Myf6의 다형성들이 Yorkshire종 내에서는 형질과 연관성이 대개 있는 것으로 관찰된 것에 비해서, Pit-1 - MspI RFLP 분석결과 나타난 유전자형들의 형질과의 연관성은 거의 없는 것으로 분석되었다(Table 2-25). 성장형질이나 산육형

질, 육질 모두 유전자형간의 차이가 없었으며, 특히 조직학적인 발달면에서도 차이가 없는 것으로 나타났다.

Table 2-26. Effects of Pit-1 - MspI genotypes on growth, carcass, meat quality and muscle fiber characteristics measurements in Landrace

Variable	<i>Pit-1 - MspI</i>			Significance ^a
	CC	CD	DD	
Age at 90kg (day)	146.8 ± 3.24	147.9 ± 2.32	150.6 ± 2.27	NS
Average daily gain (g/day)	820.1 ± 32.1	851.5 ± 23.0	846.8 ± 22.5	NS
Carcass percent (%)	73.72 ± 0.53	73.90 ± 0.38	74.46 ± 0.36	NS
Back fat thickness (mm)	16.24 ± 1.20 ^b	15.22 ± 0.87 ^b	12.63 ± 0.81 ^a	*
Loin eye area ^b (cm ²)	50.13 ± 2.06	48.81 ± 1.49	48.88 ± 1.40	NS
Drip loss ^b (%)	6.41 ± 0.79	7.11 ± 0.57	6.51 ± 0.54	NS
Lightness ^b (L*)	51.11 ± 1.14	50.90 ± 0.83	49.82 ± 0.78	NS
Total muscle fiber number (×1,000)	1254 ± 80.1	1172 ± 68.6	1247 ± 59.1	NS
Cross-sectional area of muscle fiber (μm ²)	3845 ± 218	4231 ± 187	3902 ± 161	NS
Muscle fiber number,(No./mm ²)	257.0 ± 14.1	242.6 ± 12.1	261.8 ± 10.4	NS

^a NS is no significant, * $P < 0.05$

^b Taken on the longissimus muscle

Landrace종에서도 역시 등지방층 두께(Back fat thickness ,mm)가 DD 유전자형이 다소 얇은 것으로 관찰된 것을 제외하고는 Yorkshire 종과 마찬가지로 대상형질과 연관성이 없는 것으로 관찰되었다(Table 2-26).

Table 2-27. Effects of Pit-1 - MspI genotypes on growth, carcass, meat quality and muscle fiber characteristics measurements in Whole Pig

Variable	Pit-1 - MspI			Significance ^a
	CC	CD	DD	
Age at 90kg (day)	155.4 ± 1.61	153.9 ± 1.36	151.8 ± 1.64	NS
Average daily gain (g/day)	800.5 ± 13.1	815.5 ± 11.0	820.8 ± 13.2	NS
Carcass percent (%)	73.64 ± 0.37	73.56 ± 0.31	73.80 ± 0.37	NS
Back fat thickness (mm)	14.44 ± 0.58	14.78 ± 0.49	13.74 ± 0.58	NS
Loin eye area ^b (cm ²)	46.67 ± 0.86	46.07 ± 0.71	45.42 ± 0.84	NS
Drip loss ^b (%)	6.13 ± 0.32	5.71 ± 0.27	4.84 ± 0.32	NS
Lightness ^b (L*)	43.40 ± 0.64	43.41 ± 0.54	42.61 ± 0.63	NS
Total muscle fiber number (×1,000)	1214 ± 32.7	1181 ± 29.0	1190 ± 32.9	NS
Cross-sectional area of muscle fiber (μm ²)	3775 ± 88.9	3943 ± 78.9	3906 ± 90.0	NS
Muscle fiber number,(No./mm ²)	265.9 ± 5.99	259.4 ± 5.32	264.6 ± 6.07	NS

^a NS is no significant, * $P < 0.05$

^b Taken on the longissimus muscle

Yorkshire 종과 Landrace를 종합하여 분석해 보아도 결과는 역시 Yorkshire 종만 분석했을 때와 마찬가지로 유전자형과 성장형질, 산육형질, 육질, 조직학적인 발달 등 모든 대상형질의 연관성이 없는 것으로 관찰되었다(Table 2-27). 이로써 Pit-1 유전자의 MspI polymorphism은 본 연구에서 목표로 하는 근섬유 형성과 관련한 표지유전자로써, 특히 산육형질 및 성장과 관련한 유전자로서 그 활용이 적절하지 못할 것으로 사료되어 진다.

마) Pit-1 - RsaI PCR-RFLP

Pit-1에서 나타난 또 하나의 SNP인 RsaI polymorphism을 분석한 결과 E allele과 F allele로 결정되어지는 EE, EF, FF 세 개의 유전자형이 나타났다. 그러나 대상 개체군 내에서 FF 유전자형은 총 254마리 중에서 Yorkshire에서만 3마리가 관찰되었고, 따라서 유전자형과 성장형질, 산육형질 및 육질, 조직학적인 발달과의 연관성 분석에서는 FF 유전자형을 제외시켰다. EE, EF 두 개의 유전자형에 대해서 대상형질과의 연관성을 분석한 결과는 동일 유전자 안에서 나타난 MspI polymorphism 분석결과와 마찬가지로 두 개의 유전자형간의 형질과의 연관성이 없는 것으로 관찰되었다(Table 2-28,29,30).

Table 2-28. Effects of Pit-1 - RsaI genotypes on growth, carcass, meat quality and muscle fiber characteristics measurements in Yorkshire

Variable	<i>Pit-1 - RsaI</i>		Significance ^a
	EE	EF	
Age at 90kg (day)	157.0 ± 1.30	160.0 ± 1.53	NS
Average daily gain (g/day)	827.2 ± 9.76 ^a	797.7 ± 11.5 ^b	*
Carcass percent (%)	73.83 ± 0.33	73.65 ± 0.38	NS
Back fat thickness (mm)	15.42 ± 0.48	14.75 ± 0.55	NS
Loin eye area ^b (cm ²)	43.61 ± 0.67	43.89 ± 0.77	NS
Drip loss ^b (%)	5.12 ± 0.26	5.03 ± 0.30	NS
Lightness ^b (L [*])	48.13 ± 0.22	47.85 ± 0.25	NS
Total muscle fiber number (×1,000)	1140 ± 25.0	1181 ± 28.3	NS
Cross-sectional area of muscle fiber (μm ²)	3861 ± 67.6	3801 ± 77.3	NS
Muscle fiber number,(No./mm ²)	263.6 ± 4.62	271.6 ± 5.24	NS

^a NS is no significant, * $P < 0.05$

^b Taken on the longissimus muscle

Table 2-29. Effects of Pit-1 - RsaI genotypes on growth, carcass, meat quality and muscle fiber characteristics measurements in Landrace

Variable	<i>Pit-1 - RsaI</i>		Significance ^a
	EE	EF	
Age at 90kg (day)	148.9 ± 1.51	148.6 ± 2.67	NS
Average daily gain (g/day)	840.2 ± 15.02	845.5 ± 26.41	NS
Carcass percent (%)	74.24 ± 0.25	73.67 ± 0.44	NS
Back fat thickness (mm)	14.42 ± 0.58)	13.83 ± 1.04	NS
Loin eye area ^b (cm ²)	49.13 ± 0.95	49.08 ± 1.71	NS
Drip loss ^b (%)	6.91 ± 0.36	5.94 ± 0.65	NS
Lightness ^b (L*)	50.9 ± 0.52	48.8 ± 0.93	NS
Total muscle fiber number (×1,000)	1221 ± 42.2	1244 ± 72.8	NS
Cross-sectional area of muscle fiber (μm ²)	3988 ± 117.5	3958 ± 202.8	NS
Muscle fiber number,(No./mm ²)	254.7 ± 7.48	257.0 ± 12.92	NS

^a NS is no significant, * $P < 0.05$

^b Taken on the longissimus muscle

Table 2-30. Effects of Pit-1 - RsaI genotypes on growth, carcass, meat quality and muscle fiber characteristics measurements in Whole Pig

Variable	<i>Pit-1 - RsaI</i>		Significance ^a
	EE	EF	
Age at 90kg (day)	153.1 ± 1.03	155.2 ± 1.48	NS
Average daily gain (g/day)	817.9 ± 8.31	797.5 ± 11.85	NS
Carcass percent (%)	73.73 ± 0.24	73.49 ± 0.34	NS
Back fat thickness (mm)	15.54 ± 0.37	13.96 ± 0.53	NS
Loin eye area ^b (cm ²)	45.97 ± 0.55	46.14 ± 0.78	NS
Drip loss ^b (%)	5.64 ± 0.21	5.33 ± 0.30	NS
Lightness ^b (L*)	43.24 ± 0.41	42.85 ± 0.59	NS
Total muscle fiber number (×1,000)	1183 ± 22.1	1218 ± 30.5	NS
Cross-sectional area of muscle fiber (μm ²)	3894 ± 60.59	3850 ± 84.19	NS
Muscle fiber number,(No./mm ²)	261.3 ± 4.05	267.4 ± 5.63	NS

^a NS is no significant, * $P < 0.05$

^b Taken on the longissimus muscle

이로써 Pit-1 유전자는 발생초기에 성질발육에 영향을 미친다고 알려졌지만, 본 연구에서 목표로 하는 근섬유 형성과 관련하여 성장과 산육형질에 영향을 미치고, 육질을 변화시키지 않거나 향상시킬 수 있는 표지유전자로서의 활용은 불가하다고 판단하고, 이에 대한 추가 분석이나 실험은 의미가 없다고 사료되어 실시하지 않았다.

3) 산육형질 관련 표지 유전자 선발

Myogenin의 경우, Landrace종과 Yorkshire종 두 품종을 합쳐 유전자형 효과를 추정해 본 결과 앞서 언급한 바와 같이 TC 유전자형이 CC 유전자형에 비하여 성장형질에서는 차이가 없으나, 산육형질에서는 등지방층 두께가 더 얇고 등심근 단면적이 더 큰 것으로 나타났다. 또한 TC유전자형과 CC유전자형 간의 육질 측정 항목에서 차이가 나타나지 않는 것으로 나타났다는데, 이러한 결과들을 종합하여 보면 TC 유전자형의 경우 CC 유전자형에 비하여 성장 속도에는 차이가 없지만, 등지방층 두께가 얇고 등심근 단면적이 더 커서 좀 더 많은 적육생산량을 나타내면서, 육질의 저하를 가져오지 않을 것으로 판단된다.

Myf6의 경우, myogenin 과 마찬가지로 산육형질에 영향을 미치며, BB 유전자형이 AB 유전자형보다 등지방층 두께가 더 얇게 관찰되었다. 또한 육질이나 성장형질에 유전자형끼리의 차이가 없다는 것이 관찰되었다. 종합해보면 myogenin의 TC 유전자형과 유사하게 Myf6의 BB 유전자형이 AB 유전자형에 비하여 성장 속도에 차이가 없으면서, 더 많은 적육생산량을 나타낼 수 있고, 육질의 저하도 가져오지 않을 것이라고 판단할 수 있다. 이는 Myf6의 유전자형이 myogenin에 상가적인 유전효과를 줄 수 있다는 것을 간접적으로 나타내 주는 근거가 될 수 있다. 따라서 이를 근거로 본 실험에서 밝혀낸 Porcine *myogenin* 5' promoter region의 SNP 부위에서 나타난 TC 유전자형과 함께 Myf6의 intron 1 부위에서 나타나는 BB 유전자형이 복합 표지유전자로서 활용하기에 적합하다고 사료된다.

다. 표지유전자의 실용화 및 검증

1) 복합표지유전자의 활용성 검토

가) Myf6 × Myogenin Haplotypes

앞선 연구에서 근세포분화와 관련된 유전자를 검색하고, 후보유전자를 선정하여 유전자 발현차이에 따른 유전자형을 결정하였다. 이 유전자형에 따른 성장, 산육형질 및 육질과의 연관성을 분석하여 표지유전자를 선정하였다. 그 결과로서 제 1세부 과제에서 새롭게 밝혀낸 Porcine *myogenin* 5' promoter region의 SNP site와 기존에 밝혀진 Myf6의 intron1 부위의 SNP가 분석되었고 최종적으로 표지유전자들로서 선정되었다. 이를 실용화하기 위해서는 이들 유전자가 복합 표지유전자로서 적합한지 검증할 필요가 있었다. 이를 위해서 myogenin에서는 TT 유전자형을 제외하고 myf6에서는 AA 유전자형을 제외한 TC와 CC, AB와 BB 유전자형에 대한 Haplotype을 만들었다. Haplotype으로 ABCC, ABTC, BBCC, BBTC 총 4개의 형이 만들어졌다. 이들 4개의 Haplotype을 앞선 연구에서 행했던 것과 마찬가지로 성

장, 산육형질 및 육질과의 연관성을 분석하였고, 이를 통해 복합 표지유전자로서의 활용성을 검토하였다.

실험군은 앞선 연구에서 밝혀진대로 myogenin 표지유전자를 Yorkshire와 Landrace 두 품종에 대해서 실시한 결과 Landrace 실험군의 개체수 문제와 이상적인 육질문제로 인하여 이후 실시된 Myf6 유전자에 대해서는 분석을 실시하지 않았고, 따라서 Haplotype에 대한 분석도 마찬가지로 Yorkshire 품종에 대해서만 실시되었고, 총 181두에 대해서 분석되었다. 그 결과 각각의 Haplotype이 21%, 13%, 52%, 14%로 약 1:1:3:1의 비율로 분포되어있음을 확인했다(Table 2-31).

Table 2-31. Myf6×Myogenin haplotypes in Yorkshire

Breed	N	Haplotype			
		ABCC	ABTC	BBCC	BBTC
Yorkshire	184	37	23	95	26
		0.21	0.13	0.52	0.14

N is Number of Pig

이들 Haplotype을 성장형질인 90kg 도달일령(Age at 90kg, day), 일당증체량(Average daily gain, kg), 지육율(Carcass percent, %)과 산육형질인 등지방층 두께(Back fat thickness, mm), 등심근 단면적(Loin eye area, cm²), 그리고 육질 측정 항목인 보수력(Drip loss, %)과 육색(Lightness, L*)등에 관한 상호 연관성을 분석하였다. 이에 덧붙여서 조직학적인 발달을 나타내주는 총 근섬유수(Total muscle fiber number, ×1,000), 근섬유면적(Cross-sectional area of muscle fiber, μm²) 그리고 단위면적당 근섬유수(Muscle fiber number, No./mm²)에 대해서도 연관성을 분석했다(Table 2-32).

그 결과 myogenin과 Myf6에서 표지유전자로서 적합한 유전자형인 TC 와 BB의 복합형태인 BBTC Haplotype이 다른 type들에 비해서 산육형질 및 조직학적인 발달 면에서 우세하다는 점이 관찰되었다. 산육형질을 나타내는 등지방 두께의 경우 BBTC type이 다른 것에 비해 월등히 얇았으며($P < 0.01$), 등심근 단면적 또한 수치적으로 가장 큰 값을 나타내었다. 또한 다른 Haplotype에 비해서 90kg 도달일령, 일당증체량 등 성장형질을 비교해봐도 큰 차이가 없었으며, 육질 또한 마찬가지로 차이가 없었다. 또한 조직학적인 발달 부분에서도 BBTC type은 다른 type들에 비해서 차이가 있었는데, 일단 총 근섬유수에서 제일 많은 수치를 보였으며($P < 0.1$), 근섬유의 면적이 수치적으로 작게 나타났다. 이는 산육형질 증가가 부피증가가 아닌 근섬유수에 의한 증가로 인함을 뒷받침해주는 결정적인 근거가 된다. 이같

은 결과를 종합해보면, BBTC type이 성장형질에 변화를 주지 않고 육질도 저하가 없으면서 최상의 산육형질을 나타내줄 수 있고, 이러한 산육형질의 증가는 단순한 부피증가가 아닌 근섬유수의 증가로 인하여 이루어질 것이다. 따라서 BBTC type은 본 연구에서 근섬유 분화와 관련한 산육형질을 개량하기 위한 표지유전자로서 가장 적합하다고 사료되어 진다.

Table 2-32. Effects of Myf6 and Myogenin haplotypes for growth, carcass, meat quality and muscle fiber characteristics measurements in Whole Yorkshire

Variable	<i>Myf6</i> × <i>Myogenin</i> haplotypes				Significance ^a
	ABCC	ABTC	BBCC	BBTC	
Age at 90kg (day)	157.5 ± 2.1	157.2 ± 2.8	158.4 ± 1.5	157.2 ± 2.5	NS
Average daily gain (kg)	828.7 ± 16.4	805.4 ± 22.0	814.8 ± 11.5	819.5 ± 19.3	NS
Carcass percent (%)	75.36 ± 0.52 ^a	74.97 ± 0.69 ^{ab}	73.13 ± 0.36 ^b	73.44 ± 0.61 ^b	*
Back fat thickness (mm)	16.45 ± 0.75 ^b	15.56 ± 1.00 ^b	15.38 ± 0.52 ^b	12.19 ± 0.88 ^a	***
Loin eye area ^b (cm ²)	42.131.04	43.85 ± 1.40	43.83 ± 0.74	44.26 ± 1.25	NS
Drip loss ^b (%)	4.55 ± 0.42	4.84 ± 0.56	5.24 ± 0.29	5.06 ± 0.49	NS
Lightness ^b (L*)	40.89 ± 0.69	41.39 ± 0.92	41.22 ± 0.48	42.72 ± 0.81	NS
Total muscle fiber number (×1,000)	1098 ± 37.9 ^b	1140 ± 54.0 ^{ab}	1166 ± 27.6 ^{ab}	1199 ± 48.7 ^a	†
Cross-sectional area of muscle fiber (μm ²)	3900 ± 104.9	3840 ± 149.2	3817 ± 75.9	3790 ± 135.0	NS
Muscle fiber number/(mm ²)	261.4 ± 7.2	265.8 ± 10.2	268.9 ± 5.2	268.6 ± 9.2	NS

a NS is no significant, *** $P < 0.001$, * $P < <0.05$, † $P < 0.1$

b Taken on the longissimus muscle

나) Myf6-RsaI × Myf6-MspI haplotypes

앞서 분석한 Myogenin과 Myf6-MspI 유전자형들의 Haplotype과 성장형질, 산육형질, 육질 및 조직학적인 발달항목과의 연관성 분석결과에 덧붙여 추가적으로 Myf6 내에서 존재했던 2개의 polymorphism site에 대해서 Haplotype을 조성해 보았다. 앞서 언급한 대로 Myf6 유전자는 Myogenin에 앞서서 발현함으로써 Myogenin의 발현을 조절할 수 있고, 상가적으로 유전효과를 나타낼 수 있음이 입증되었다. 따라서 Myf6 내에서 발생한 두 개의 다형성에 대해서 기존에 각기 분석했던 대상형질과의 연관성 검정을 Haplotype을 조성하여 실시했다. 이는 두 개의 polymorphism이 동일 염색체 안에 존재하다는 점에서 Myogenin과 Myf6가 염색체가 다름에 따라서 발생할 수 있는 복합 표지유전자로서의 문제점을 보완해 줄 수 있을 것으로 사료된다.

RsaI RFLP 분석결과 나타났던 세 개의 유전자형 중에서 전체 개체군 내에서 단 12마리 밖에 관찰되지 않았던 AA 유전자형은 Haplotype 조성시 제외시켰고, 마찬가지로 MspI RFLP 분석결과 나타난 세 개의 유전자형 중에서 전체 개체군 내에 Yorkshire 종에서만 단 3마리 관찰되었던 DD 유전자형은 분석에서 제외시켰다. 따라서 조성결과 4개의 Haplotype들이 조성되었고, ABCC, ABCD, BBCC, BBCD와 같이 나타내었다(Table 2-33). 전체 Yorkshire 종 179마리 중에서 각각 순서대로 6마리, 53마리, 118마리, 2마리가 관찰되었으며, 비율로 나타내면 ABCD가 30%, BBCC가 66%를 나타냈고, 다른 두 개의 type은 3%와 1%를 나타내었다. 따라서 3%와 1%를 나타낸 ABCC와 BBCD type은 대상형질과의 연관성 분석대상에서 제외시켰다.

Table 2-33. Myf6-RsaI and Myf6-MspI Haplotypes in Whole Yorkshire

Breed	N	<i>Myf6-RsaI × Myf6-MspI haplotypes</i>			
		ABCC	ABCD	BBCC	BBCD
Yorkshire	179	6	53	118	2
		0.03	0.30	0.66	0.01

N is Number of Pig

이렇게 선정된 최종 두 개의 Haplotype인 ABCD와 BBCC에 대해서 성장형질, 산육형질 및 육질, 조직학적 발달항목과의 연관성 분석을 실시하였다(Table 2-34). 분석결과는 주목할 만 하게도 Myogenin과 Myf6-MspI Haplotype의 분석결과와 유사하게 나타났다. 산육형질을 나타내는 등지방층 두께(Back fat thickness ,mm)의 경우 BBCC type이 ABCD type에 비해 더 얇은 것으로 나타났으며($P < 0.05$), 등심근 단면적(Loin eye area^b ,cm²) 또한 수치

적으로는 넓은 것으로 관찰되었다. 성장형질에서는 도체율(Carcass percent ,%)이 고도의 유의차($P < 0.001$)를 보이며 ABCD type이 더 우수한 것으로 관찰되었고, 90kg 도달일령 (Age at 90kg ,day)과 일당증체량(Average daily gain ,g/day)등의 나머지 성장형질에서는 별다른 차이를 보이지 않았다. 보수력(Drip loss^b ,%)과 육색(Lightness^b (L*))등 육질항목에서는 두 type 간에 차이가 없었다. 조직학적인 발달면에서도 BBCC type은 ABCD type에 비해서 총 근섬유수(Total muscle fiber number ,×1,000)가 더 많은 것으로 분석되었다($P < 0.1$). 나머지 항목들도 유의차는 없었지만, 수치적으로는 BBCC type이 우수한 것으로 나타났다.

Table 2-34. Effects of Myf6-RsaI and Myf6-MspI Haplotypes for growth, carcass, meat quality and muscle fiber characteristics measurements in Whole Yorkshire

Variable	<i>Myf6-RsaI</i> × <i>Myf6-MspI</i> haplotypes		Significance ^a
	ABCD	BBCC	
Age at 90kg (day)	156.6 ± 1.23	158.3 ± 1.28	NS
Average daily gain (kg)	828.1 ± 13.69	815.2 ± 9.69	NS
Carcass percent (%)	74.85 ± 0.44 ^a	73.21 ± 0.31 ^b	***
Back fat thickness (mm)	16.16 ± 0.63 ^b	14.75 ± 0.45 ^a	*
Loin eye area ^b (cm ²)	42.79 ± 0.90	44.08 ± 0.64	NS
Drip loss ^b (%)	4.68 ± 0.36	5.10 ± 0.25	NS
Lightness ^b (L*)	41.31 ± 0.59	41.58 ± 0.42	NS
Total muscle fiber number (×1,000)	1105 ± 33.9 ^b	1174 ± 24.5 ^a	†
Cross-sectional area of muscle fiber (μm ²)	3920 ± 93.1	3826 ± 66.9	NS
Muscle fiber number,(/mm ²)	260.9 ± 6.34	267.8 ± 4.55	NS

a NS is no significant, *** $P < 0.001$, * $P < <0.05$, † $P < 0.1$

b Taken on the longissimus muscle

이 같은 결과를 종합해 보았을 때, Myogenin과 Myf6-MspI Haplotype의 BBTC type과 유사하게 BBCC type은 ABCD type에 비해서 산육형질이 우수하고, 도체율을 제외한 성장형질에서는 차이가 없으며, 육질에서도 큰 차이를 보이지 않는 것으로 분석할 수 있다. 이런 성적을 보일 수 있는 근거로 근섬유 형성과 관련하여, 총 근섬유수가 많은 것을 표지로 할 수 있으며, 이에 적합하게 두 type 간에 근섬유수의 차이가 관찰되어졌다. 이로써 Myf6×Myogenin Haplotypes의 BBTC type과 동시에 Myf6-RsaI × Myf6-MspI Haplotypes의 BBCC type도 역시 본 연구에서 목표로 하는 육질의 저하를 막고, 산육형질 증가를 가져올 수 있는 근섬유 분화 형성과 관련한 복합 표지유전자로서 활용이 가능할 것으로 판단한다.

2) 표지유전자의 실용화

근섬유 형성과 관련한 유전자를 선정하여 염기서열에 나타나는 변이를 찾아 유전자형을 밝히고, 그들 유전자형과 성장형질, 산육형질 및 육질, 조직학적 발달항목과의 연관성 분석을 통해서 표지유전자로서의 적합성을 검정하였다. 앞서 밝혀진 대로 표지유전자로서 Myogenin과 Myf6 유전자를 선정하고 유전자 내에 존재하는 SNP에 따른 유전자형과 대상형질과의 연관성을 분석하였다. 이에 복합표지유전자로서 Myf6×Myogenin Haplotypes의 BBTC type과 Myf6-RsaI × Myf6-MspI Haplotypes의 BBCC type를 유전자 Marker로 선정하였다. 하지만 이같은 결과는 동일 실험실의 동일한 실험조건에서 관측되어진 결과로서, 표지유전자를 보다 보편성을 주고 실용화 가능케 하기 위해서 기존의 실험조건과 다른 실험조건에서 유전자형 분석을 시행하였다.

앞서 분석한 유전자형 분석은 알려진 Sequence에 따른 제한효소 부위를 찾고 유전자 변이에 따라 다르게 잘라지는 band의 길이에 따른 차이로 구분되는 유전자형 분석방법인 RFLP(Restriction Fragment Length Polymorphism)를 이용하였다. 하지만 동일 유전자내의 유전자형 분석은 같은 제한효소(Restriction enzyme)와 같은 실험기기를 이용한 것이므로, 이 표지유전자의 유전자형 분석방법이 보다 보편성을 갖기 위해서, 같은 염기서열을 인식하지만 다른 부위를 잘라줄 수 있는 새로운 제한효소(Restriction enzyme)를 사용하였다. 또한 한가지 PCR machine에서 수행했던 유전자형 분석을 다른 machine에서 수행해 봄으로써, 실험장소에 따른 결과의 차이유무를 확인하였다.

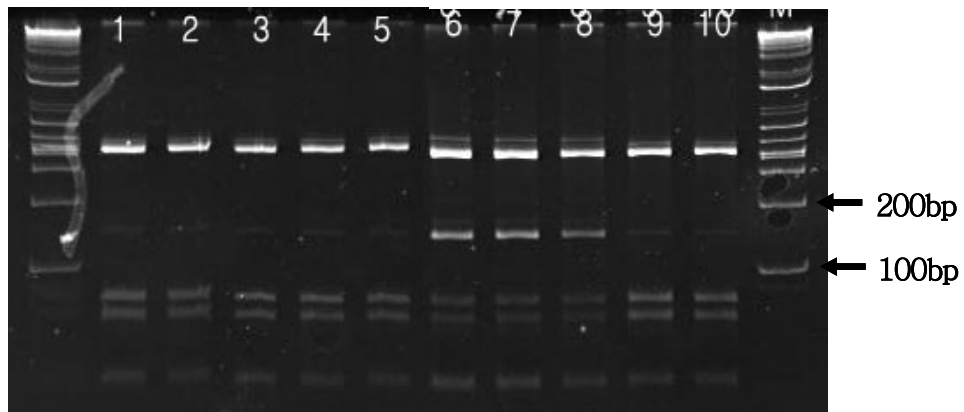
가) BspCNI → BseMII

Myogenin 5' promoter region에 존재하는 polymorphism을 분석하기 위하여 기존에 이용했던 방법은 PCR을 통하여 대상 유전자를 확보하고, BspCNI enzyme을 처리하여 유전자형에 따라서 다르게 나타나는 band 형태를 분석하는 것이었다. 먼저 PCR primer는

Forward(5' - GTT CAC CTT CCT GTA TTG GGA ACA CT - 3', 26mer)와 Reverse(5' - CTT AGG TCT CAT GTG ACT GGG GAT AA - 3')를 각각 1 μ l(20pmol/ μ l)씩 첨가하였고, 반응 첨가물은 10 \times PCR buffer(100mM Tris-Cl; pH 8.3, 500mM KCl, 15mM Mg₂Cl) 5 μ l, 10 \times dNTP mix(each 25mM) 5 μ l, 10 \times Enhancer 5 μ l, Taq DNA polymerase(5 unit/ μ l; Genenmed) 0.5 μ l 와 ddH₂O 30.5 μ l, Template DNA 2 μ l(약 100ng)였다.

PCR 반응에는 GeneAmp PCR system 2400(Perkin-Elmer Co., USA)기기를 사용하였고, PCR 반응조건은 94 $^{\circ}$ C에서 5분간 pre-denaturation 한 후, 94 $^{\circ}$ C에서 denaturation 1분, annealing 60 $^{\circ}$ C 1분, extension 72 $^{\circ}$ C 1분을 한 cycle로 하여 35cycle을 반복한 후, 마지막으로 72 $^{\circ}$ C에서 15분으로 PCR 반응을 종료하였다.

이렇게 확보된 Myogenin 5' promoter region을 본 연구에서 밝힌 SNP에 따른 유전자형을 분석하기 위하여 BspCNI으로 처리하는 것이 기존의 방법이였다. BspCNI enzyme 처리 첨가물은 BspCNI enzyme 2 μ l(2 unit/ μ l, NEB(New England BioLabs)), 10 \times Enzyme buffer 1.5 μ l, 10 \times BSA 1.5 μ l, 10 \times S-adenosylmethionine(SAM, 200 μ m/ μ l) 1.5 μ l, ddH₂O 5.5 μ l, PCR product 3 μ l로 총 volume이 15 μ l였다. 이 혼합물을 25 $^{\circ}$ C Incubator에서 약 16시간동안 반응시켰다. 그 결과가 Figure 2-2와 같았다.



CC CC CC CC CC TC TC TC CC CC

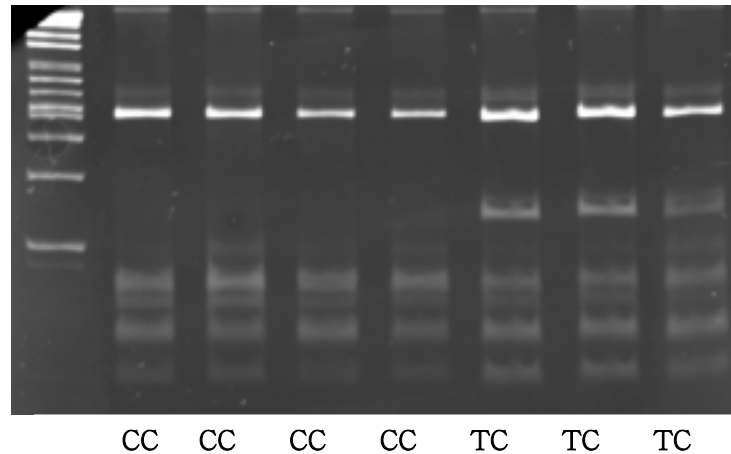
BspCNI : Recognition Sequence : CTCAG (9/7)

5' - C T C A G N N N N N N N N N - 3'

3' - G A G T C N N N N N N N N N - 5'

Figure 2-2. BspCNI PCR-RFLP results and genotypes (Recognition site)

이와는 다른 방법으로 동일 유전자형을 분석하기 위하여 BseMII를 처리해 보았다. BseMII enzyme 처리 첨가물은 BspCNI enzyme 1 μ l(1unit/ μ l, Fermentas), 10 \times Enzyme buffer Tango(33mM Tris-acetate(pH7.9), 10mM magnesium acetate, 66mM potassium acetate, 0.1mg/ml BSA) 1 μ l, 10 \times S-adenosylmethionine(SAM) 1 μ l, ddH₂O 5.5 μ l, PCR product 1.5 μ l 로 총 volume이 10 μ l였다. 이 혼합물을 55 $^{\circ}$ C Incubator에서 약 16시간동안 반응시켰다. 그 결과는 Figure 2-3과 같았다.



BseMII : Recognition Sequence : CTCAG (10/8)

5' - C T C A G N N N N N N N N N N - 3'

3' - G A G T C N N N N N N N N N N - 3'

Figure 2-3. BseMII PCR-RFLP and results (Recognition site)

두 enzyme의 처리 결과 사진을 비교해 보면 BspCNI 처리 사진이 해상도가 더 좋긴 하지만, 두 처리 사진 모두 CC 유전자형과 TC 유전자형 분석에는 무리가 없었다. 양쪽 사진의 TC 유전자형은 순서대로 동일한 개체였으며, size marker 또한 1kb plus ladder marker로 동일한 것을 사용하였다. 이와같이 동일한 PCR product를 동일한 인식부위를 가진 다른 제한효소(Restriction enzyme)로 처리해 봄으로써 동일한 결과를 얻을 수 있었고, 이를 통해서 Myogenin 5' promoter region에서 새로이 밝혀낸 SNP가 보다 보편적인 방법으로 분석이 가능한 것이 확인 되었다. 또한 성장형질 및 산육형질, 육질, 조직학적인 발달과의 연관성이 확인 되었으므로, 표지유전자로서 그 활용이 매우 적절할 것으로 예상된다.

3. 근육성장과 조직학적 발달에 대한 이화학적 기전 및 육질변이

가. 근육성장관련 형질의 이화학적 특성 분석

1) 도체특성 및 육질분포 분석

근육성장과 조직학적 발달에 대한 이화학적 기전을 분석하기 위해 제2세부과제의 실험설계를 통해 교배된 자돈의 성장단계별 성장특성 분석 후 동일 실험군에 대한 도축 후 도체특성, 근육의 조직학적/이화학적 특성 및 최종 육질변이를 분석하였다.

Yorkshire 순종에 대한 성장특성과 도체특성을 분석하기 위해 실험군을 동일일령(172.7±1.7일)에서 도축하여 도체특성을 분석하였다(Table 3-1). 도축 전 측정된 출하시 체중의 경우 국내에서 일반적으로 출하되는 체중을 나타내었으며, 각 개체간에 비교적 큰 변이(89.5~140.5 kg)가 나타남을 확인할 수 있었다. 이러한 이유는 실험군의 성장특성 분석을 위해 동일 일령에서 도축된 결과로 판단되며, 각 개체간 성장속도에 뚜렷한 차이가 있음을 확인할 수 있다. 도축 후 측정된 온도체중과 도체율 결과에서도 이와 동일한 경향이 나타났으며, 특히 근육량을 추정할 수 있는 등심근 단면적 분석결과 체중과 함께 근육량에서도 큰 변이가 확인되었다(35.4~68.1 cm²).

Table 3-1. Descriptive statistics of carcass traits

Variables	Mean	Standard deviation	Minimum value	Maximum value
Live weight at slaughter (kg)	109.39	11.08	89.50	140.50
Carcass weight (kg)	81.10	8.09	67.00	102.00
Carcass percent (%)	74.20	3.11	70.64	87.38
Backfat thickness (mm)	20.67	5.00	9.00	28.00
Loin eye area (cm ²)	47.56	7.76	35.36	68.09

성별에 따른 도체특성의 차이를 분석한 결과 등지방 두께에서 유의적인 차이($P < 0.05$)가 나타났으며, 그 외 항목에서는 뚜렷한 차이는 보이지 않았다(Table 3-2). 등지방 두께의 경우 일반적으로 알려진 바와 같이 암컷에서 두꺼운 결과를 보였다. 일반적으로 수컷의 경우 암컷에 비해 성장속도가 빠른 특성을 보이거나 본 연구에서 분석된 실험군의 도체특성 분석결과 전체적으로 성별에 따른 뚜렷한 차이는 관찰되지 않았다. 이러한 이유는 분석된 항목들이 성별에 의한 차이보다는 Table 3-1에서 관찰된 바와 같이 각 개체간의 변이가 크게 작용한 것으로 평가된다.

Table 3-2. Carcass traits in different sex

Carcass traits	Sex		Level of significance
	Female	Male	
Live weight at slaughter (kg)	107.5 (9.89) ¹	111.9 (12.33)	NS
Carcass weight (kg)	80.50 (7.96)	81.89 (8.42)	NS
Carcass percent (%)	74.90 (3.68)	73.26 (1.83)	NS
Backfat thickness (mm)	22.00 (4.95)	18.89 (4.61)	*
Loin eye area (cm ²)	48.26 (8.41)	46.63 (6.92)	NS

¹ Standard error of least-square means.

Levels of significance: NS = not significant, * $P < 0.05$.

실험군의 육질등급분포와 이상개체의 확인을 위해 등급판정결과를 분석한 결과 등외등급 및 특이사항이 발견되지 않았으며 이상도체의 출현은 나타나지 않았다. 암컷의 경우 A등급이 37.5%, B등급 25.0%, C등급 33.3%, D등급이 4.2%의 비율을 나타내었으며 수컷의 경우 C등급 72.2% 및 D등급 27.8%의 분포를 나타내었다. 본 실험에 이용된 수컷의 경우 성장특성 분석을 위해 비거세수컷을 이용하였기 때문에 등급판정시 A, B등급은 나타나지 않았다.

도체특성과 최종 육질판정에 의해 구분된 돈육질 그룹간의 연관성을 분석하기 위해 정상

육과 이상육에서의 도체특성을 분석하였다(Table 3-3). 육질판정 결과를 기준으로 돈육질 그룹을 구분하기 위해 보수성과 육색을 이용하여 판정하였다. 보수력 항목의 경우 정확도와 대표성이 우수한 bag drip 방법을 판별항목으로 이용하여 dry, normal, exudative 세 그룹으로 구분하였다. 육색의 경우 돈육질 평가시 일반적으로 이용되는 명도(lightness) 항목을 이용하여 명도가 낮은 dark, 정상인 reddish-pink, 그리고 창백한 육색을 나타내는 pale 세 그룹으로 구분하였다.

이상의 육질항목을 이용하여 본 실험군을 분석한 결과 RFN(정상육)이 64.3%, PSE 9.5%, 그리고 RSE 26.2%로 나타났다. 현재 국내에서 구분되는 이상육인 PSE육의 경우 본 연구에서는 그 비율이 국내 출현율에 비해 낮은 경향을 나타냈으나, 조직감이 떨어지고 육즙삼출량이 많은 RSE육을 함께 고려할 경우 현재까지도 이상육의 출현이 높음을 확인할 수 있었다. DFD육의 경우 돈육에서는 그 발생빈도가 낮으며 본 실험군에서는 나타나지 않았다.

돈육질 그룹에 따른 도체특성 분석결과 이상육(PSE, RSE)에서 체중 및 등심근 단면적이 큰 경향을 보였으며 반대로 등지방 두께의 경우 정상육이 높은 경향을 나타냈다. 도체특성 및 근육량의 경우 조직을 구성하고 있는 근섬유의 특성에 의해 크게 영향 받는 것으로 알려져 있다. 따라서 도체특성에 대한 이상의 연구결과를 보다 심도있게 분석하고자 이후 근육 및 근섬유의 조직학적 특성분석을 실시하였다.

Table 3-3. Carcass traits among pork quality classes

Carcass traits	Quality classes			Level of significance
	PSE	RSE	RFN	
Live weight at slaughter (kg)	114.0 (14.08) ¹	111.7 (14.47)	107.8 (9.05)	NS
Carcass weight (kg)	84.00 (10.42)	81.73 (10.11)	80.41 (7.02)	NS
Carcass percent (%)	73.68 (0.81)	73.24 (1.77)	74.67 (3.64)	NS
Backfat thickness (mm)	19.25 (8.18)	19.91 (5.91)	21.19 (4.18)	NS
Loin eye area (cm ²)	48.17 (3.27)	50.56 (7.46)	46.25 (8.16)	NS

¹ Standard error of least-square means.

Levels of significance: NS = not significant.

2) 근육의 조직학적 특성 분석

근섬유는 근육의 기본단위로 대사, 육질, 이상육 발생 등의 기전을 설명하는 기본 단위로 활용될 수 있다. 뿐만 아니라 각 근섬유는 산화적 대사/혐기적 대사, 수축속도, 섬유의 크기, glycogen함량, 모세혈관 비율 등으로 구분되어지므로 육질, 육량, 사후대사, 이상육의 발생과 밀접히 연관되어 있다. 따라서 본 연구에서는 성장특성 및 근육의 이화학적 변이를 규명하는데 있어서 중요한 평가항목으로 근육의 조직학적 특성 분석을 실시하였다.

근육의 조직학적 특성을 분석하기 위해 myosin ATPase activity를 이용한 근섬유 조성분석을 실시하였으며(Figure 3-1), 염색된 조직절편을 현미경 하에서 관찰하여 염색정도에 따라 근섬유를 세 type으로 구분할 수 있었다(type I, dark; type IIA, pale; type IIB, intermediate).

근섬유 크기 분석을 위해 단면적(area), 직경(diameter), 표면 둘레(perimeter)를 측정하였고 근섬유 수 분석을 위해 단위면적당 총 근섬유 수(fiber number/mm²)와 총 근섬유 수(total fiber number)를 측정하였다. 또한 근육의 대사특성을 확인하기 위해 근섬유의 각 type별 근섬유 수(fiber number percent)와 각 근섬유형이 차지하고 있는 상대적인 면적비(relative area of fibers)를 측정하였다(Table 3-4).

근육을 구성하고 있는 근섬유의 수를 근섬유형에 따라 분석한 결과 단위면적당 근섬유 수 및 총 근섬유 수 모두에서 type IIB fiber의 수가 대부분을 차지하고 있어 분석에 이용한 등심근의 경우 혐기적 대사특성이 강한 것으로 평가되었다. 반면 호기적 대사지표로 이용할 수 있는 type I fiber의 비율이 가장 낮게 나타나 백색근의 특성을 확인할 수 있었다.

각 근섬유는 fiber type에 따라 형태적/대사적 차이를 나타낸다. 본 연구에서도 근섬유형에 따른 각 근섬유의 단면적을 분석한 결과 type I, IIA에 비해 type IIB fiber의 크기가 월등히 큰 것을 확인하였다. 따라서 위의 근섬유 수 결과와 함께 고려해 보면 등심근의 경우 근섬유의 크기가 가장 크고, 혐기적 대사특성을 나타내는 type IIB fiber의 비율이 높게 나타나 근육 전체를 구성하는 대부분의 근섬유가 type IIB fiber로 확인되었다.

근섬유의 형태적/대사적 특성을 이용하여 근육의 전체적인 대사특성을 분석한 결과 type IIB fiber 수가 82.8%로 대부분을 차지하고 있으며, type I fiber 수와 중간형 섬유인 type IIA fiber 수는 각각 6.9%와 10.4%의 비율로 존재하였다. 또한 전체 근섬유 면적에 대한 각 type별 근섬유 면적의 비율을 계산한 결과 type I fiber의 면적은 전체 근섬유의 약 5.4%, type IIA fiber의 경우 6.2%, 그리고 type IIB fiber type은 88.4%로 나타났다. 따라서 전체 근섬유 면적에서도 type IIB fiber가 차지하는 비율이 높게 나타났으며 근섬유 수에서도 가장 많기 때문에 전체 등심근 면적에서 type IIB fiber가 차지하는 비율이 더 높게 나타나는 것을 확인할 수 있었다.

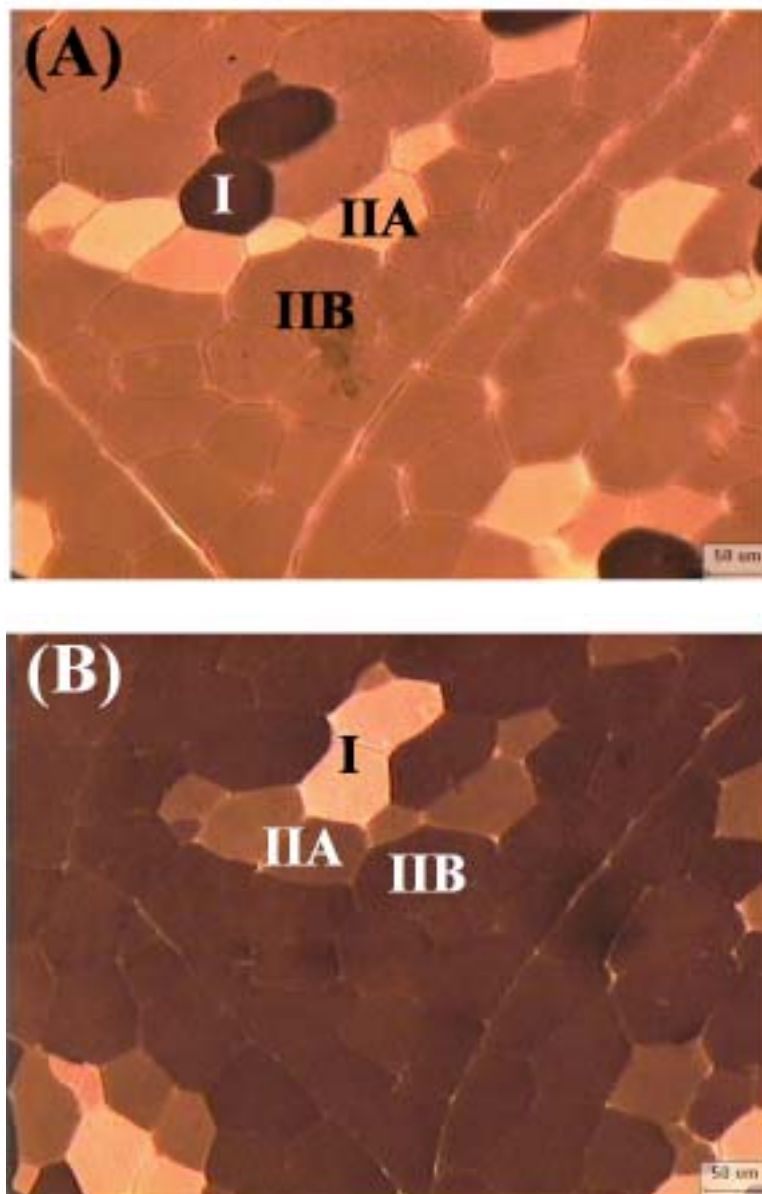


Figure 3-1. Myosin ATPase histochemistry after preincubation at pH 4.7 (A) and pH 10.4 (B) in the porcine longissimus muscle. Representative staining of the muscle fiber cross-sections. Magnification of 100 × was used (Bar = 50 µm). Abbreviations: I, fiber type I (slow-twitch, oxidative); IIA, fiber type IIA (fast twitch, oxido-glycolytic); IIB, fiber type IIB (fast-twitch, glycolytic).

1차년도 연구를 통해 확립된 근육의 조직학적 분석결과를 종합하여 평가하면, 시료로 이용된 등심근의 경우 백색근의 특성을 나타내고 있었으며, 근육의 성장 및 크기와 관련된 근섬유 수 및 근섬유 단면적의 대부분이 type IIB fiber에 의해 설명되어 짐을 알 수 있었다. 따라서 이후 분석에서는 근육의 조직학적 특성을 나타내는 지표로 type IIB fiber의 비율을 중요한 평가 항목으로 활용하였다.

Table 3-4. Descriptive statistics of muscle fiber characteristics

Variables	Mean	Standard deviation	Minimum value	Maximum value
Density of fibers/mm ²				
Mean	431	97	189	628
Type I	30	10	15	55
Type IIA	45	16	14	78
Type IIB	357	82	150	524
Total fiber number ×1,000)				
Mean	1225	236	763	1848
Type I	82	24	38	123
Type IIA	126	38	42	215
Type IIB	1012	212	649	1542
Cross-sectional area of fiber (μm ²)				
Mean	3945	587	3023	5535
Type I	3152	601	2154	4746
Type IIA	2366	465	1583	3595
Type IIB	4232	665	3219	6341
Muscle fiber number percentage(%)				
Type I	6.85	1.99	3.09	11.11
Type IIA	10.38	2.63	3.34	16.12
Type IIB	82.77	3.49	76.99	92.12
Muscle fiber area percentage (%)				
Type I	5.45	1.69	2.43	9.73
Type IIA	6.18	1.59	1.91	9.60
Type IIB	88.37	2.61	82.27	95.35

성별에 따른 조직학적 특성 분석결과 근섬유 수와 조성에 있어서 뚜렷한 차이는 보이지 않았으나 암컷이 수컷에 비해 type IIB fiber가 약간 높은 경향을 나타내었다(Table 3-5, 3-6). 이러한 원인은 암컷이 등심근 단면적에 있어서 약간 높은 경향을 나타내었으며, 근섬유의 수와 면적에 있어서 type IIB fiber가 높은 비율을 나타내기 때문인 것으로 판단되어진다.

근육의 조직학적 특성이 돈육질에 미치는 영향을 분석하기 위해 전체 실험군을 정상육(RFN)과 이상육(PSE, RSE)으로 구분하여 각 그룹간 차이를 분석하였다(Table 3-7). 단위면적당 근섬유 수의 경우 통계적인 유의성은 인정되지 않았으나 PSE, RSE, RFN 그룹 순으로 근섬유 수가 많은 경향을 보였다. 이러한 결과는 전체 근육내 총 근섬유 수 분석결과에서 보다 뚜렷한 차이를 나타내었으며($P < 0.05$), 정상육에서 총 근섬유 수가 적은 결과를 나타내었다.

근육을 구성하고 있는 총 근섬유 수를 보다 구체적으로 분석한 결과 type I 및 IIA fiber에서는 차이가 나타나지 않았으며 type IIB fiber에서만 차이를 나타냈다. 따라서 이상육(PSE, RSE)의 경우 정상육에 비해 혐기적 대사특성이 강한 type IIB fiber에 의한 육질저하를 예측할 수 있었다. 돈육질 그룹에 따른 근섬유의 크기를 분석한 결과 각 근섬유형에 따른 차이만 나타났으며 돈육질 그룹간에 차이는 나타나지 않았다.

Table 3-5. Muscle fiber type characteristics in different sex

	Sex		Level of significance
	Female	Male	
Density of fibers/mm ²			
Mean	442.0 (99.12) ¹	416.1 (93.01)	NS
Type I	29.33 (11.78)	31.01 (9.11)	NS
Type IIA	45.12 (15.01)	45.12 (17.18)	NS
Type IIB	368.11 (85.88)	340.8 (76.77)	NS
Total fiber number (×1,000)			
Mean	1235 (235.0)	1212 (529.9)	NS
Type I	79.11 (24.12)	87.12 (25.10)	NS
Type IIA	127.8 (44.87)	125.94 (30.73)	NS
Type IIB	1028 (202.1)	989.1 (229.9)	NS
Cross-sectional area of fiber (μm ²)			
Mean	3967 (638.1)	3914 (529)	NS
Type I	3072 (570.1)	3265 (642.3)	NS
Type IIA	2455 (432.9)	2240 (495.8)	NS
Type IIB	4237 (732.5)	4225 (578.4)	NS

¹ Standard error of least-square means.

Levels of significance: NS = not significant.

Table 3-6. Muscle fiber type composition in different sex

	Sex		Level of significance
	Female	Male	
Muscle fiber number percentage (%)			
Type I	6.51 (1.94) ¹	7.33 (2.02)	NS
Type IIA	10.19 (2.71)	10.64 (2.57)	NS
Type IIB	83.30 (3.65)	82.03 (3.19)	NS
Muscle fiber area percentage (%)			
Type I	5.05 (1.58)	6.01 (1.72)	NS
Type IIA	6.25 (1.49)	6.08 (1.77)	NS
Type IIB	88.70 (2.52)	87.90 (2.75)	NS

¹ Standard error of least-square means.

Levels of significance: NS = not significant.

등심근 단면적 내 총 근섬유 수를 측정된 결과 type IIB fiber의 수가 이상육 그룹에서 유의적으로 높게 나타났으며($P < 0.05$), 단위면적당 근섬유 수와 면적비율의 경우 type IIB fiber에서 PSE 그룹이 유의적으로 높은 수치를 나타냈다($P < 0.05$).

근섬유의 조직학적 특성을 종합적으로 분석해 보면 근섬유 수 및 크기, 근육을 구성하는 근섬유 조성은 그 구성비율이 가장 높은 type IIB fiber에 의해 대부분 결정되어지는 것으로 판단되었다. 또한 type I, IIA fiber의 수 관찰에서 나타난 결과를 통해 이상육 그룹에서는 호기적 대사를 주로 수행하는 type I과 중간형 섬유인 type IIA fiber의 수가 정상육에 비해 낮게 나타나는 경향을 보였다. 따라서 근섬유의 조직학적 특성은 성장특성 및 근육의 대사 특성에 영향을 주며, 이후 최종 육질을 결정하는 주요 항목으로 확인되었다. 특히 대부분의 특성을 설명하고 있는 type IIB fiber의 구성비를 중심으로 분석한 후, 호기적 대사특성을 고려하여 type I 및 중간형 섬유의 특성을 함께 분석하는 것이 효과적인 것으로 평가되었다.

Table 3-7. Muscle fiber characteristics among pork quality classes

	Quality classes			Level of significance
	PSE	RSE	RFN	
Density of fibers/mm²				
Mean	487.3 (96.11) ¹	444.1 (133.0)	422.3 (80.12)	NS
Type I	29 (13)	27 (5)	31 (11)	NS
Type IIA	36 (30)	49 (17)	44 (14)	NS
Type IIB	423.1 (52.78)	369.2 (116.7)	347.3 (65.07)	NS
Total fiber number (×1,000)				
Mean	1370 ^a (84.71)	1347 ^a (215.7)	1154 ^b (233.8)	*
Type I	69.77 (27.07)	85.78 (23.11)	83.12 (25.11)	NS
Type IIA	113.8 (62.17)	148.1 (39.17)	119.8 (33.11)	NS
Type IIB	1181 ^a (25.22)	1113 ^a (187.9)	952 ^b (210.7)	*
Cross-sectional area of fiber (μm²)				
Mean	3521 (270.1)	3794 (564.8)	4068 (600.1)	NS
Type I	2801 (455.1)	3004 (619.2)	3252 (598.7)	NS
Type IIA	1947 (262.1)	2397 (495.0)	2400 (460.6)	NS
Type IIB	3740 (309.8)	4047 (167.6)	4362 (682.9)	NS

¹ Standard error of least-square means.

Levels of significance: NS = not significant; * $P < 0.05$.

^{a,b} Means with different superscripts within a row are significantly different.

Table 3-8. Muscle fiber type composition among pork quality classes

	Quality classes			Level of significance
	PSE	RSE	RFN	
Muscle fiber number percent (%)				
Type I	4.99 (1.69) ¹	6.46 (2.07)	7.22 (1.90)	NS
Type IIA	8.11 (4.14)	10.92 (2.10)	10.41 (2.62)	NS
Type IIB	86.90 ^a (4.75)	82.61 ^b (2.70)	82.38 ^b (3.47)	*
Muscle fiber area percentage (%)				
Type I	3.93 (1.37)	5.13 (1.71)	5.74 (1.65)	NS
Type IIA	4.39 ^b (2.15)	6.81 ^a (1.21)	6.13 ^a (1.56)	*
Type IIB	91.68 ^a (3.30)	88.06 ^b (2.21)	88.13 ^b (2.53)	*

¹ Standard error of least-square means.

Levels of significance: NS = not significant; * $P < 0.05$.

^{a,b} Means with different superscripts within a row are significantly different.

3) 근육의 이화학적 변이 분석

전체 실험군의 근육내 이화학적 변이를 분석하기 위해 사후 대사속도(pH45min, pH24hr, R-value), 단백질 변성도(protein solubility) 및 육질항목(bag drip, filterpaper fluid uptake, lightness, redness, yellowness)을 분석하였다. 본 연구에서 분석된 실험돈군에 대한 항목별 기술통계량을 Table 3-9에 제시하였다.

사후 초기 대사속도의 지표인 pH_{45min}, 사후 대사의 범위를 확인할 수 있는 pH_{24h}, 육색 평가항목 중 명도, 보수력 분석방법인 bag drip 측정치의 경우 각 항목을 대표하는 정상적인 평균치를 나타냈으며, 최소값과 최대값의 변이가 일반적으로 관찰되는 범위에 해당하는 것으로 평가되었다. 따라서 실험에 이용된 돈군이 일반 돈육질을 대표할 수 있는 균일한 실험군임을 확인하였다.

Table 3-9. Meat quality traits and protein solubility in the porcine *longissimus* muscle

Variables	Mean	Standard deviation	Minimum	Maximum
Meat quality traits				
pH _{45min}	6.07	0.19	5.55	6.34
pH _{24h}	5.54	0.13	5.23	5.79
Bag drip (%)	4.63	3.10	0.89	13.31
FFU (mg)	42.11	21.18	18.11	111
Lightness (L*)	47.05	2.39	42.10	53.45
Redness (a*)	7.30	1.24	4.44	9.82
Yellowness (b*)	4.16	1.04	2.38	8.05
R-value	1.05	0.16	0.85	1.42
Protein solubility (mg/g)				
Total protein	193.55	12.87	144.96	208.23
Sarcoplasmic protein	64.30	4.36	53.79	71.93
Myofibrillar protein	129.25	11.51	91.17	147.84

Abbreviation: FFU, filter-paper fluid uptake.

전체 실험군의 이화학적 특성 및 육질변이를 분석하기 위해 실험군을 정상육(RFN)과 이상육(PSE, RSE)으로 구분하여 각 그룹간 차이를 분석하였다(Table 3-10). 사후 초기 대사속도를 예측할 수 있는 근육의 pH_{45min} 분석결과 PSE 그룹에서 가장 낮은 pH를 나타내었으며($P < 0.01$), 근육내 에너지화합물의 농도비를 이용한 R-value 분석결과 이상육(PSE, RSE)에서 높은 값을 나타내었다($P < 0.001$).

이러한 결과를 종합하여 사후 근육의 대사속도를 평가해 보면, 정상육에 비해 이상육의 경우 사후 에너지화합물의 고갈속도가 빠르게 나타났으며 근육의 pH 저하속도로 판단할 때 PSE 그룹에서 대사속도가 가장 빠른 것으로 판단된다. 그러나 사후대사 완료 후 근육의 pH 측정결과 각 그룹간에 차이를 보이지 않아 전체적인 사후대사의 범위는 그룹간에 유사함을 확인할 수 있었다.

일반적으로 이상육의 출현은 사후 근육의 온도가 높은 상태에서 빠른 pH 저하에 기인한 단백질 변성으로 받아들여진다. 이상의 사후 대사 평가결과에서 나타난 바와 같이 돈육질 그룹간에 사후 초기 대사속도의 뚜렷한 차이가 확인되어, 이에 따른 근육내 단백질의 변성 정도를 분석하였다. 총 단백질 용해도 분석결과 pH 저하속도가 가장 빠르게 나타났던 PSE 그룹에서 총단백질 용해도가 가장 낮게 나타났으며($P < 0.001$) 이러한 결과는 근원섬유단백질의 용해도 결과에서도 동일하게 나타났다($P < 0.001$). 또한 근형질 단백질의 경우 이상육(PSE, RSE)이 정상육에 비해 용해도가 낮은 결과를 나타내었다($P < 0.05$). 단백질 변성이 진행될수록 단백질의 용해도가 낮아지므로 위의 단백질 용해도 분석결과를 통해 근육 단백질의 변성 정도를 종합하여 평가하면 이상육에서 사후 단백질 변성이 뚜렷하게 증가하는 것을 확인할 수 있으며 특히 PSE 그룹에서 총 단백질 및 근원섬유 단백질의 변성 정도가 가장 심하게 발생하는 것으로 판단된다.

이상의 결과를 돈육질 평가항목과 함께 고려하여 분석하면 보수성의 경우 이상육(PSE, RSE)에서 높은 유리육즙량을 보였으며($P < 0.001$), 명도항목의 경우 PSE 그룹에서 가장 높은 값을 나타내($P < 0.001$) 육색이 가장 창백한 결과를 나타냈다.

본 연구에서 실시한 근육의 사후 변화 및 최종 육질분석은 차년도 연구에서 진행할 표지 유전자형에 따른 육질변이 및 표지유전자의 효용성 검증에 필수적인 평가항목으로 판단되며, 근육의 성장특성 및 육량적 변화에 따른 최종 돈육질 변이를 검증함으로써 유전자원의 실용화에 기여할 것으로 기대된다.

Table 3-10. Meat quality traits and protein solubility among pork quality classes

	Quality classes			Level of significance
	PSE	RSE	RFN	
Meat quality traits				
pH _{45min}	5.83 ^b (0.35) ¹	6.00 ^a (0.22)	6.13 ^a (0.10)	**
pH _{24hr}	5.51 (0.10)	5.49 (0.09)	5.56 (0.15)	NS
Bag drip (%)	8.97 ^a (3.30)	7.79 ^a (1.54)	2.70 ^b (1.45)	***
FFU (mg)	77 ^a (28)	57 ^b (18)	30 ^c (9)	***
Lightness (L [*])	51.75 ^a (1.63)	46.31 ^b (1.90)	46.65 ^b (1.87)	***
Redness (a [*])	7.91 (1.05)	7.41 (1.21)	7.16 (1.28)	NS
Yellowness (b [*])	5.56 ^a (1.82)	3.88 ^b (0.81)	4.07 ^b (0.87)	*
R-value	1.26 ^a (0.22)	1.14 ^a (0.16)	0.98 ^b (0.11)	***
Protein solubility (mg/g)				
TPS	157.40 ^b (30.03)	178.63 ^a (22.48)	193.42 ^a (8.85)	***
SPS	64.23 ^b (8.16)	64.22 ^b (4.54)	67.95 ^a (3.89)	*
MPS	93.17 ^b (22.07)	114.41 ^a (19.27)	125.47 ^a (7.21)	***

¹ Standard error of least-square means.

Levels of significance: NS = not significant; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

^{a,b} Means with different superscripts within a row are significantly different.

Abbreviations: FFU, filter-paper fluid uptake; TPS, total protein solubility; SPS, sarcoplasmic protein solubility; MPS, myofibrillar protein solubility.

나. 표지유전자형에 따른 도체특성 및 육질 분석

1) 표지유전자형에 따른 근육의 조직학적/대사적 변이 분석

제1세부과제에 의해 제안된 표지유전자의 작용기전 및 이화학적 특성을 분석하기 위해 제1세부과제에서 제시한 유전자형에 근거하여 분석을 실시하였다. 제시된 유전자는 MG5', Myf-6의 유전자 좌위이며, 각각의 유전자형에 따른 근육성장능력 및 육질변이와의 연관성 분석을 통하여 표지유전자의 실용성을 검증하였다.

제1세부과제에서 제안한 표지유전자인 myogenin 5'(MG5') 유전자좌위에서는 TT, TC, CC의 유전자형 관찰되었으며, Myf-6 유전자 좌위에서는 AA, AB, BB 유전자형이 관찰되었으나 MG5'의 TT유전자형과 Myf-6의 AA 유전자형은 총 253두 중 각각 2두, 3두만이 발견되어 표지유전자가 형질에 미치는 정확한 효과를 추정하기 위해 연관성 분석에서 제외하였다. 전체 실험군의 표지유전자에 따른 성장특성 및 도체특성을 Table 3-11, 3-12에 제시하였다. 각 개체의 도축일령은 176.4 ± 1.03 으로 동일일령에서 도축하여 도축특성을 측정하였다. MG5' 유전자 좌위의 경우 성장특성인 90 kg 도달령, 일당증체량에서는 유전자형간 유의적인 차이가 없었으나, 도축 후 측정된 온도체중은 TC 유전자형의 개체군이 무거운 경향을 나타냈다($P < 0.1$). 산육형질에서는 TC 유전자형이 CC 유전자형에 비해 등지방 두께가 유의적으로 얇았으며($P < 0.05$) 등심근 단면적이 큰 것으로 나타냈다($P < 0.05$). Myf-6의 유전자 좌위의 경우, 성장특성에서는 90 kg 도달령, 일당 증체량 및 생체중에서 유전자형간의 유의적인 차이가 나타내지 않았다. 또한 도체 특성인 도체중에서도 유전자형간의 유의적인 차이는 없었지만, 폐지의 산육형질을 나타내는 등심근 단면적에서도 유전자형간의 효과는 인정되지 않았지만, 도체율에서는 AB 유전자형이 BB 유전자형에 비해 높은 수치를 나타냈다($P < 0.001$).

이를 종합하여 분석해보면 MG5' 유전자좌위의 TC 유전자형은 도체특성인 도체중이 무거웠으며 산육형질인 등심근 단면적이 CC 유전자형에 비해 높은 수치를 나타내 높은 적육 생산능력을 나타냈다. Myf-6 유전자좌위의 유전자형은 성장특성이나 도체특성에서 뚜렷한 차이를 나타내지 않아 유전자형에 따른 적육 생산능력의 차이는 인정되지 않았다.

Table 3-11. Growth performance and carcass characteristics in pigs categorized by myogenin 5' (MG5') genotype

	MG5' genotype		Level of significance
	TC	CC	
Growth performance			
Age at 90 kg (days)	156.2 (1.71) [†]	157.2 (1.12)	NS
Daily gain (g)	811.9 (15.03)	799.6 (9.80)	NS
Age at slaughter (days)	176.3 (1.21)	176.5 (0.98)	NS
LW at slaughter (kg)	105.3 (1.39)	102.5 (0.91)	NS
Carcass characteristics			
Carcass weight (kg)	77.91 ^a (1.03)	75.57 ^b (0.68)	†
Carcass percentage (%)	74.11 (0.35)	73.73 (0.23)	NS
Backfat thickness (mm)	13.41 ^b (0.66)	15.48 ^a (0.48)	*
Loin eye area (cm ²)	46.81 ^a (0.84)	44.57 ^b (0.56)	*

[†] Standard error of least-square means.

Levels of significance: NS = not significant, † $P < 0.1$, * $P < 0.05$.

^{a,b} Means with different superscripts within a row are significantly different.

Abbreviation: LW, live weight.

Table 3-12. Growth performance and carcass characteristics in pigs categorized by Myf-6 genotype

	Myf-6		Level of significance
	AB	BB	
Growth performance			
Age at 90 kg (days)	160.2 (1.86) ¹	159.2 (1.32)	NS
Daily gain (g)	798.0 (16.75)	787.8 (11.84)	NS
Age at slaughter (days)	176.3 (1.21)	176.5 (0.98)	NS
LW at slaughter (kg)	101.5 (1.47)	101.2 (1.03)	NS
Carcass characteristics			
Carcass weight (kg)	76.25 (1.11)	73.88 (0.78)	NS
Carcass percentage (%)	75.15 ^a (0.41)	73.06 ^b (0.30)	***
Backfat thickness (mm)	15.56 (0.75)	14.76 (0.53)	NS
Loin eye area (cm ²)	43.81 (0.86)	44.10 (0.61)	NS

¹ Standard error of least-square means.

Levels of significance: NS = not significant, *** $P < 0.001$.

^{a,b} Means with different superscripts within a row are significantly different.

Abbreviation: LW, live weight.

근섬유는 근육을 이루는 세포로서 골격근의 수축과 이완의 단위이며, 골격근 조직의 구조적인 주체라고 할 수 있다. 이러한 근섬유는 나이, 성별, 영양상태, 육종 및 근육의 종류 등 여러 가지 요인에 영향을 받으며, 각 근섬유의 유형은 대사적인 특징, 즉 호기적인 대사와 혐기적인 대사에 기준하여 구분되기 때문에, 근섬유 유형의 특성은 가축의 성장, 사후 대사 과정 및 육질 등에 광범위하게 영향을 준다.

따라서 본 연구에서는 제1세부과제에서 제시한 표지유전자형이 근섬유의 조직학적 특성에 미치는 영향을 다각적으로 분석하였다(Table 3-13, 3-14). MG5' 유전자 좌위의 단위면적(mm^2)당 전체 근섬유 수는 유전자형간의 차이가 없었지만, type IIA의 경우 TC가 CC 유전자형에 비해 유의적으로 낮은 수치를 나타냈다($P < 0.1$). 총 근섬유 수에서는 TC 유전자형이 CC 유전자형에 비해 높은 경향을 보였으며(1231 vs. 1172), type IIB의 근섬유 수에서 유의적으로 높은 수치를 나타냈다(1016 vs. 952, $P < 0.05$). 근섬유의 단면적 크기의 경우 MG5' 유전자 좌위 유전자형간의 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 이와 같이 TC 유전자형을 가진 개체는 CC 유전자형을 가진 개체에 비해 근섬유 크기에서는 차이가 없었으나 근섬유의 수는 더 많은 것으로 분석되었다.

Myf-6 유전자 좌위의 경우, BB 유전자형이 AB 유전자형에 비해 전체 단위면적당 근섬유 수에서 유의적으로 높은 수치를 나타냈으며(266.9 vs. 239.8, $P < 0.05$), 단위면적당 type IIB의 근섬유 수에서도 높은 경향을 나타냈다(220.32 vs. 198.42, $P < 0.1$). 총 근섬유 수에서는 유전자형간의 유의적인 차이를 나타내진 않았지만, BB 유전자형이 총 근섬유수와 type IIB의 근섬유 수에서 높은 경향을 나타냈다. 반면 근섬유 크기에서는 AB 유전자형의 전체 근섬유 크기($P < 0.05$)와 type IIB의 근섬유 크기($P < 0.05$)에서 높은 수치를 나타냈다.

이와 같이 Mg5' 유전자 좌위의 TC 유전자형은 총 근섬유에서 CC 유전자형에 비해 높은 경향을 나타냈는데, 이는 TC 유전자형의 높은 type IIB 근섬유 수에 의해 결정된다고 판단된다. Myf-6 유전자 좌위의 BB 유전자형의 경우에는 작은 근섬유 크기로 인해 AB 유전자형에 비해 높은 근섬유 밀도를 나타냈다.

Table 3-13. Muscle fiber characteristics in pigs categorized by myogenin 5' (MG5') genotype

	MG5' genotype		Level of significance
	TC	CC	
Density of fibers/mm²			
Mean	263.1 (5.44) ¹	264.4 (3.46)	NS
Type I	22.08 (1.25)	21.09 (0.78)	NS
Type IIA	24.55 ^b (1.63)	27.85 ^a (1.03)	†
Type IIB	217.2 (5.13)	215.1 (3.22)	NS
Total fiber number (×1,000)			
Mean	1231 (31.3)	1172 (20.1)	NS
Type I	101.2 (5.50)	96.33 (3.54)	NS
Type IIA	115.1 (7.41)	122.1 (4.72)	NS
Type IIB	1016 ^a (28.41)	952.1 ^b (18.21)	*
Cross-sectional area of fiber (μm²)			
Mean	3840 (80.20)	3875 (51.12)	NS
Type I	2972 (89.1)	2942 (56.2)	NS
Type IIA	2290 (79.31)	2382 (50.12)	NS
Type IIB	4145 (94.44)	4186 (59.62)	NS

¹ Standard error of least-square means.

Levels of significance: NS = not significant, † $P < 0.1$, * $P < 0.05$.

^{a,b} Means with different superscripts within a row are significantly different.

Table 3-14. Muscle fiber characteristics in pigs categorized by Myf-6 genotype

	Myf-6 genotype		Level of significance
	AB	BB	
Density of fibers/mm²			
Mean	239.8 ^b (9.93) [†]	266.9 ^a (6.73)	*
Type I	16.33 (1.44)	18.28 (0.99)	NS
Type IIA	24.84 (2.16)	27.43 (1.49)	NS
Type IIB	198.4 ^b (9.27)	220.3 ^a (6.39)	†
Total number of fiber (×1,000)			
Sum	1126 (61.81)	1244 (41.86)	NS
Type I	77 (7.02)	85 (4.84)	NS
Type IIA	117.1 (10.36)	126.5 (7.14)	NS
Type IIB	930.3 (56.43)	1027 (38.91)	NS
Cross-sectional area of fiber (μm²)			
Sum	4231 ^a (158.3)	3813 ^b (107.2)	*
Type I	3244 (164.5)	3119 (113.4)	NS
Type IIA	2481 (123.5)	2290 (85.17)	NS
Type IIB	4563 ^a (181.0)	4082 ^b (124.8)	*

[†] Standard error of least-square means.

Levels of significance: NS = not significant, † $P < 0.1$, * $P < 0.05$.

^{a,b} Means with different superscripts within a row are significantly different.

MG5' 유전자 좌위의 유전자형에 따른 근섬유의 대사적/이화학적 특성 분석결과를 Table 3-15에 나타냈다. 근섬유 수 조성의 경우 TC 유전자형은 근섬유 type IIA의 수 조성에서 CC 유전자형에 비해 낮은 경향을 나타냈다(9.26 vs. 10.52%, $P < 0.1$). 반면 근섬유 type IIB의 수 조성은 TC 유전자형이 높은 경향을 나타냈다(82.45 vs. 81.02, $P < 0.1$).

근섬유 크기의 조성은 근섬유 수의 조성과 비슷한 결과를 나타냈는데, 근섬유 type IIA의 크기 조성에서 TC 유전자형이 CC 유전자형에 비해 유의적으로 낮았으나(5.44 vs. 6.44%, $P < 0.05$), 근섬유 type IIB의 크기 조성은 CC에 비해 높은 경향을 나타냈다(88.25 vs. 87.21%, $P < 0.1$). 이는 TC 유전자형의 근섬유 type IIB의 수와 크기 조성이 CC 유전자형에 비해 유의적으로 높아 상대적으로 근섬유 type I, IIA의 수와 크기의 조성이 낮은 것으로 분석되었다. Myf-6 유전자의 경우는 근섬유 수, 크기의 조성에서 AB, BB 유전자형간에 유의적 차이가 없었다(Table 3-16).

MG5'와 Myf-6 유전자 좌위 유전자형이 도체 및 성장특성과 근섬유의 조직학적 특성에 미치는 영향을 종합하여 분석해보면, MG5' 유전자 좌위의 유전자형인 TC 유전자형은 CC 유전자형에 비해 산육형질인 등지방 두께와 등심근 단면적에서 우수한 성적을 나타냈다. 근섬유의 조직학적 특성분석의 경우, 근섬유의 크기는 유전자형간에 유의적인 차이가 없었지만, TC 유전자형이 CC 유전자형에 비해 근섬유 수가 많은 경향을 보였다. 이는 TC 유전자형의 등심근 단면적 크기의 증가가 근섬유의 수의 증가로 기인된 것으로 평가되어 T유전자가 C 유전자에 비해 많은 근섬유 수를 형성하는데 있어 우월하게 작용하는 것으로 분석되었다.

Myf-6 유전자 좌위의 경우 BB 유전자형과 AB 유전자형간의 성장 및 도체 특성에서 유의적인 차이를 보이지 않았으며, 등심근 단면적에서도 유의적 차이가 없었다. BB 유전자형은 단위 면적당 근섬유 수에서 유의적으로 높은 수치를 보였으나, 근섬유 크기에서는 AB 유전자형에 비해 작은 것으로 평가되어 BB 유전자형이 근섬유 분화에 있어 AB 유전자형에 비해 근섬유 분화에 더 큰 영향을 미치는 것으로 분석되었다.

Table 3-15. Muscle fiber number percentage and area percentage in pigs categorized by myogenin 5' (MG5') genotype

	MG5' genotype		Level of significance
	TC	CC	
Muscle fiber number percentage (%)			
Type I	8.36 (0.48) [†]	8.46 (0.30)	NS
Type IIA	9.26 ^b (0.58)	10.52 ^a (0.36)	†
Type IIB	82.45 ^a (0.64)	81.02 ^b (0.46)	†
Muscle fiber area percentage (%)			
Type I	6.31 (0.36)	6.35 (0.22)	NS
Type IIA	5.44 ^b (0.38)	6.44 ^a (0.24)	*
Type IIB	88.25 ^a (0.48)	87.21 ^b (0.30)	†

[†] Standard error of least-square means.

Levels of significance: NS = not significant, † $P < 0.1$, * $P < 0.05$.

^{a,b} Means with different superscripts within a row are significantly different.

Table 3-16. Muscle fiber number percentage and relative area of muscle fiber in pigs categorized by Myf-6 genotype

	Myf-6 genotype		Level of significance
	AB	BB	
Muscle fiber number percentage (%)			
Type I	6.23 (0.58) ¹	6.94 (0.40)	NS
Type IIA	10.46 (0.78)	10.31 (0.54)	NS
Type IIB	82.61 (1.02)	82.75 (0.71)	NS
Muscle fiber area percentage (%)			
Type I	5.29 (0.47)	5.63 (0.32)	NS
Type IIA	6.11 (0.47)	6.16 (0.33)	NS
Type IIB	88.97 (0.75)	88.21 (0.52)	NS

¹ Standard error of least-square means.

Levels of significance: NS = not significant.

MG5' 유전자의 경우, TC 유전자형은 사후 45분의 명도(L*)에서 CC 유전자형에 비해 유의적으로 높은 수치를 나타냈다(43.36 vs. 42.08, $P < 0.05$)(Table 3-17). 사후 대사 속도를 예측 할 수 있는 pH, 도체온도, R-value 항목에서는 유전자형 간의 유의적인 차이를 보이지 않았다. 보수력 측정항목인 유리육즙량에서 TC 유전자형은 CC 유전자형에 비해 높은 육즙량을 나타냈다($P < 0.1$) 또한 여과지 흡수법에서도 TC 유전자형이 CC 유전자형에 비해 육즙량이 많은 것으로 분석되었으나($P < 0.01$) 두 유전자형 모두 정상육 기준수치($2.0 \leq \text{drip loss} \leq 6.0 \%$)를 나타냈다. Myf-6의 유전자의 경우, AB와 BB 유전자형 간의 사후 45분 및 사후 24시의 대사적 특성 및 돈육질 변이 항목에서 유의적인 차이를 보이지 않았으며, 돈육질 평가 기준이 되는 명도와 유리육즙량에서 정상육의 범주를 초과하지 않았다(Table 3-18).

제1세부과제에서 제시한 MG5' 및 Myf-6 유전자 좌위의 유전자형이 근육의 조직학적/대사적 특성 및 육질 변이에 미치는 영향을 종합적으로 분석해 보면 MG5' 유전자의 TC 유전자형은 CC 유전자형에 비해 성장특성이 우수하게 분석되었으며, 특히 적육생산 능력이 우수한 것으로 평가되었다. 근육의 조직학적 분석결과에서는 TC 유전자형은 CC 유전자형에 비해 근섬유 수가 많은 것으로 분석되었으며, 육질항목에 있어서는 CC 유전자형에 비해 TC 유전자형에서 보수성 관련 항목에서 높은 육즙 손실을 나타내었지만 정상육 기준에 부합되었다.

Myf-6 유전자 좌위의 유전자형 효과에 대해 종합적으로 분석해보면 성장특성에서는 유전자형간에 큰 차이를 보이지 않았지만, 근섬유의 특성 분석결과 BB 유전자형이 AB 유전자형에 비해 근섬유 크기가 작고 단위면적당 근섬유 수와 총 근섬유 수가 높은 것으로 평가되었다. 근섬유 수, 크기의 조성에서 AB, BB 유전자 형간의 유의적 차이가 관찰 되지 않았으며 사후 대사적 특성 및 돈육질 항목에서도 유전자형간에 차이가 없었다.

Table 3-17. Postmortem metabolite rate and meat quality traits in pigs categorized by MG5' genotype

	MG5' genotype		Level of significance
	TC	CC	
45 min postmortem			
Muscle pH	5.97 (0.05) ¹	5.99 (0.03)	NS
Temperature	33.01 (0.43)	33.20 (0.28)	NS
R-Value	1.15 (0.04)	1.08 (0.03)	NS
Lightness (L*)	43.26 ^a (0.59)	42.08 ^b (0.39)	*
24 h postmortem			
Muscle pH	5.54 (0.02)	5.56 (0.01)	NS
Temperature	5.15 ^a (0.18)	4.46 ^b (0.12)	**
Drip loss (%)	5.86 ^a (0.32)	5.13 ^b (0.21)	†
Filter-paper fluid uptake (mg)	63.83 ^a (4.41)	49.93 ^b (2.91)	**
Lightness (L*)	48.99 (0.35)	48.39 (0.23)	NS

¹ Standard error of least-square means.

Levels of significance: NS = not significant, † $P < 0.1$, ** $P < 0.01$.

^{a,b} Means with different superscripts within a row are significantly different.

Table 3-18. Postmortem metabolite rate and meat quality traits in pigs categorized by Myf-6 genotype

	Myf-6 genotype		Level of significance
	AB	BB	
45 min postmortem			
Muscle pH	6.04 (0.05) ¹	6.02 (0.03)	NS
Temperature	32.86 (0.48)	32.54 (0.34)	NS
R-Value	0.99 (0.05)	1.07 (0.03)	NS
Lightness (L*)	41.26 (0.54)	41.40 (0.38)	NS
24 h postmortem			
Muscle pH	5.60 (0.02)	5.57 (0.01)	NS
Temperature	4.77 (0.21)	4.59 (0.15)	NS
Drip loss (%)	4.91 (0.36)	4.80 (0.25)	NS
Filter-paper fluid uptake (mg)	47.69 (15.26)	47.89 (3.70)	NS
Lightness (L*)	48.23 (0.31)	47.82 (0.22)	NS

¹ Standard error of least-square means.

Levels of significance: NS = not significant.

2) 표지유전자 및 근육의 이화학적 특성을 이용한 근육질 변이 요인 탐색

근육의 이화학적 특성을 분석하기 위해 사후 대사속도를 예측할 수 있는 pH와 근육의 온도변화를 사후 45분과 24시에 측정하였으며, 근육질을 측정하기 위해 보수력과 명도, 단백질 용해도를 측정하여 품종과 성별에 의한 그룹으로 차이를 분석하였다.

품종과 성별에 따른 이화학적 특성 및 육질변이를 분석하였다(Table 3-19). 사후 초기 대사속도를 예측할 수 있는 사후 45분의 근육 pH 분석결과 랜드레이스종은 요크셔종에 비해 사후 대사가 빠르게 진행됨을 확인할 수 있었고($P < 0.001$), 이에 따라서 랜드레이스종이 보수력 항목에서 요크셔종에 비해 높은 수치를 나타냈다. 또한 육색측정 결과에서도 랜드레이스는 사후 45분과 24시 명도에서 요크셔종에 비해 높은 수치를 나타냈다($P < 0.001$). 사후 빠른 pH 저하는 단백질 변성을 가져오게 된다. 이러한 단백질의 변성정도는 단백질 용해도를 통해 분석하였는데 그 결과, 요크셔종에 비해 랜드레이스종이 변성정도가 더 높은 경향을 나타내었다. 이러한 결과를 종합하여 평가해 보면 육질에 영향을 미치는 요인으로 성별에 의한 효과보다는 품종에 의한 효과가 더 큰 것으로 분석되었다.

본 연구에서는 성장특성 및 근육의 이화학적 변이를 규명하는데 있어서 중요한 평가항목으로 근육의 조직학적 특성 분석을 품종 및 성별에 의한 그룹으로 구분하여 분석하였다(Table 3-20). 근섬유 형태에 따라 분석한 결과 단위면적당 근섬유 수 및 총 근섬유 수에서 근섬유 type IIB가 대부분을 차지하고 있어 분석에 이용한 등심근의 경우 혐기적 대사특성이 강한 것으로 평가되었다. 반면 호기적 대사지표로 이용할 수 있는 근섬유 type I의 비율이 가장 낮게 나타나 호기적인 대사특성은 적고 혐기적인 대사특성이 강한 백색근의 특성을 확인할 수 있었다. 성별에 따른 근섬유의 특징은 뚜렷한 차이를 확인할 수 없었으며, 근섬유 수의 경우 랜드레이스 암컷에서 다른 그룹에 비해 유의적으로 높게 나타났지만($P < 0.05$), 이는 등심근 단면적이 다른 그룹에 비해 넓게 나타나 그에 따른 결과로 분석된다(Table 3-21). 근섬유의 구성 비율에 있어서 da Costa 등(2002) 및 Chang 등(2003)은 품종에 따라서 차이가 있다고 보고하였으나, Ruusunen 등(1997)은 돼지의 근섬유 구성에 있어서 종간에서의 차이보다 개체간의 변이가 더 크게 작용한다고 보고하였고, 본 연구결과에서도 개체간의 변이가 더 크게 작용한 것으로 평가되었다.

Table 3-19. Meat quality traits and protein solubility in different groups by breed and sex

	Landrace		Yorkshire		Level of significance
	Female	Male	Female	Male	
Meat quality traits					
pH _{45min}	5.79 ^c (0.06) ¹	5.86 ^{bc} (0.07)	6.09 ^a (0.05)	6.04 ^{ab} (0.29)	***
pH _{24h}	5.49 ^b (0.02)	5.49 ^b (0.02)	5.60 ^a (0.02)	5.59 ^a (0.02)	***
Temperature (45 min PM)	35.71 ^a (0.52)	35.52 ^a (0.57)	32.59 ^b (0.43)	33.78 ^b (0.50)	***
Temperature (24 h PM)	4.89 ^{ab} (0.30)	4.54 ^b (0.33)	5.42 ^a (0.25)	4.09 ^b (0.29)	**
Drip loss (%)	6.86 (0.43)	6.47 (0.48)	5.90 (0.36)	5.60 (0.41)	NS
FFU (mg)	72.04 (6.92)	70.00 (7.69)	60.65 (5.73)	54.17 (6.66)	NS
Lightness (L* _{45min})	46.66 ^a (0.87)	43.54 ^b (0.97)	41.71 ^b (0.72)	41.69 ^b (0.84)	***
Lightness (L* _{24h})	50.75 ^a (0.50)	49.95 ^{ab} (0.55)	47.91 ^c (0.41)	48.99 ^{bc} (0.48)	***
Protein solubility (mg/g)					
TPS	179.99 (5.58)	175.33 (6.92)	188.59 (5.09)	188.20 (5.88)	NS
MPS	114.70 (4.66)	109.45 (5.78)	120.52 (4.25)	120.80 (4.91)	NS
SPS	65.28 (1.33)	65.88 (1.65)	68.07 (1.21)	67.41 (1.40)	NS

¹ Standard error of least-square means.

Levels of significance: NS = not significant; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

^{a,b,c} Means with different superscripts within a row are significantly different.

Abbreviations: FFU, filter-paper fluid uptake; TPS, total protein solubility; SPS, sarcoplasmic protein solubility; MPS, myofibrillar protein solubility

Table 3-20. Muscle fiber characteristics in different groups by breed and sex

	Landrace		Yorkshire		Level of significance
	Female	Male	Female	Male	
Density of fibers/mm²					
Sum	266.8 (7.6.2) ¹	245.8 (8.67)	255.7 (6.21)	271.1 (6.76)	NS
Type I	24.30 (1.57)	22.0 (1.72)	21.7 (1.29)	23.2 (1.31)	NS
Type IIA	25.41 (1.68)	23.2 (1.83)	22.3 (1.27)	23.6 (1.48)	NS
Type IIB	216.9 (7.32)	202.7 (8.34)	211.6 (5.81)	223.8 (6.33)	NS
Total fiber number (×1,000)					
Sum	1316 ^a (42.22)	1163 ^b (48.18)	1164 ^b (34.1)	1161 ^b (37.10)	*
Type I	116.7 (7.81)	104.1 (8.08)	95.20 (5.87)	101.3 (6.10)	NS
Type IIA	120.9 (7.11)	109.1 (8.09)	105.0 (6.71)	103.7 (6.21)	NS
Type IIB	1084 (40.0)	965.4 (45.49)	965.2 (33.49)	953.8 (35.21)	NS
Cross-sectional area of fiber (μm²)					
Mean	3836 (114.1)	4088 (129.7)	3979 (93.11)	3769 (100.2)	NS
Type I	2715 (108.7)	2872 (123.5)	2971 (86.07)	3089 (94.55)	NS
Type IIA	2378 (109.3)	2426 (124.4)	2406 (87.28)	2195 (95.12)	NS
Type IIB	4140 (130.3)	4481 (148.2)	4263 (103.8)	4034 (113.7)	NS

¹ Standard error of least-square means.

Levels of significance: NS = not significant; * $P < 0.05$.

^{a,b} Means with different superscripts within a row are significantly different.

Table 3-21. Muscle fiber type composition in different groups by breed and sex

	Landrace		Yorkshire		Level of significance
	Female	Male	Female	Male	
Muscle fiber number percentage (%)					
Type I	9.24 (0.55) ¹	9.00 (0.63)	8.54 (0.44)	8.73 (0.48)	NS
Type IIA	9.34 (0.56)	9.11 (0.63)	8.86 (0.44)	8.90 (0.48)	NS
Type IIB	81.41 (0.80)	82.09 (0.91)	82.60 (0.64)	82.37 (0.69)	NS
Muscle fiber area percentage (%)					
Type I	6.56 (0.42)	6.15 (0.48)	6.30 (0.33)	7.04 (0.36)	NS
Type IIA	5.86 (0.41)	5.31 (0.46)	5.38 (0.32)	5.18 (0.35)	NS
Type IIB	87.58 (0.61)	88.54 (0.70)	88.32 (0.49)	87.79 (0.53)	NS

¹ Standard error of least-square means.

Levels of significance: NS = not significant.

본 연구에서는 근육의 이화학적 특성을 이용한 돈육질 변이요인을 품종과 성별에 의한 그룹으로 구분하여 분석하였다. 품종과 성별에 따른 이화학적 특성 및 육질변이는 성별에 대한 효과보다는 품종에 대한 효과가 더 큰 것으로 분석되었으며, 품종과 성별에 따른 근육의 조직학적 특성을 분석 결과에서는 품종 및 성별에 따른 뚜렷한 경향을 확인 할 수 없었다. 이를 종합해보면 돈육질의 변이요인은 성별보다는 품종이 크게 작용을 하며, 돼지의 근섬유 구성에 있어서는 성별이나 품종간의 차이보다는 개체간의 변이가 크게 작용된 것으로 평가된다.

3) 산육형질 및 돈육질 변이 관련 생체요인 탐색

산육형질 및 돈육질 변이 관련 생체요인을 분석하기 위해 근육의 조직생화학적 분석과 함께 근육내 주요 고에너지 인산화합물인 ATP농도를 분석하였으며, 그 외 glucose-6-phosphate(G6P), glycogen농도를 분석하였다. 또한 glycogen과 glucose의 대사산물인 lactate농도를 분석하여 사후 돈육질 변이와의 상관성을 조사하였다(Table 3-22).

생체 근육의 주요 에너지원인 ATP는 creatine phosphate와 호기적인 대사 그리고 혐기적인 대사를 통해 생성된다. 하지만 도축 후에는 방혈에 따라 산소공급이 중단되어 남아있는 산소를 소비하고 나면 호기적인 대사는 중단되며, 이때 대부분의 ATP는 creatine phosphate 및 혐기적 대사를 통해 보충된다. 이러한 혐기적인 대사는 glycogen과 G6P등을 이용하여 에너지를 생산하고 최종 대사물로 젖산(lactate)을 생성하게 된다. 생체 근육내 젖산은 혈액을 통해 간으로 이동되지만 사후에는 근육 내에 축적되게 된다. 이러한 젖산의 축적은 pH저하를 가져오게 되며, 사후 급격한 pH저하는 단백질 변성정도를 심화시켜 육질항목인 육색 및 보수성 등에 영향을 미치게 된다. 본 연구결과에서도 사후 45분 ATP는 pH와 정의 상관관계를 나타냈으며($P < 0.001$), 단백질 용해도와도 정의 상관관계를 나타냈다($P < 0.001$). 또한 ATP 및 이들의 분해산물인 hypoxanthine의 비율을 이용한 R-value와도 높은 부의 상관관계를 나타내었다($P < 0.001$). ATP와 육질항목에서는 45분 명도에서 부의 상관관계를 나타냈다($P < 0.001$). 해당작용의 최종생성물인 젖산의 경우에는 pH와 단백질 용해도 항목에서 부의 상관관계를 나타냈으며, R-value와는 정의 상관관계를 나타냈다($P < 0.001$). 이를 종합해보면 사후대사가 빠르게 진행되어 ATP의 소모와 젖산의 형성이 많아지면, pH는 저하하게 되며 단백질의 변성을 가져오는걸 알 수 있으며 그로인해 명도와 같은 돈육질 항목에까지 영향을 미치는 것을 알 수 있다.

Table 3-22. The relationships of metabolite content at 45 min and 24 h postmortem (between parentheses) to meat quality traits and muscle protein solubility in the porcine *longissimus* muscle

	ATP	G6P	Glycogen	Lactate
Measurements at 45 min PM				
Lightness	-.44 ^z (-.03)	-.11 (-.06)	-.47 ^z (-.02)	.35 ^z (-.11)
Muscle pH	.58 ^z (.13)	-.05 (-.02)	.38 ^z (.07)	-.52 ^z (-.15)
R-value	-.80 ^z (-.03)	-.04 (-.19)	-.55 ^z (-.02)	.60 ^z (-.04)
TPS	.40 ^z (.13)	.08 (.00)	.22 ^x (.03)	-.35 ^z (-.08)
MPS	.33 ^z (.08)	.22 ^x (.11)	.18 (.07)	-.28 ^y (.04)
SPS	.30 ^z (.17)	-.17 (-.20)	.19 (-.04)	-.28 ^y (-.26 ^x)
Measurements at 24 hr PM				
Drip loss	-.03 (.00)	.06 (.26 ^y)	.04 (.05)	.12 (.39 ^z)
Lightness	.05 (-.10)	.16 (.32 ^z)	.13 (-.02)	.03 (-.43 ^z)
Muscle pH	-.15 (.16)	-.24 ^x (-.53 ^z)	-.25 ^x (-.09)	.03 (.44 ^z)
TPS	.18 (.01)	-.03 (-.11)	.04 (-.13)	-.18 (-.27 ^y)
MPS	.26 ^y (-.06)	.06 (.07)	.16 (-.12)	-.14 (-.10)
SPS	-.03 (.12)	-.16 (-.36 ^z)	-.18 (-.10)	-.17 (-.45 ^z)

Levels of significance: ^x $P < 0.05$, ^y $P < 0.01$, ^z $P < 0.001$.

Abbreviations: PM, postmortem; G6P, glucose-6-phosphate; TPS, total protein solubility; MPS, myofibrillar protein solubility; SPS, sarcoplasmic protein solubility.

근섬유의 특성과 도체특성 및 성장특성과의 연관성을 분석하기 위해 분석항목간의 상관 분석을 실시하였다(Table 3-23). 성장특성의 경우, 성장이 빠를수록 단위면적당 근섬유 수와 는 부의 상관관계를 나타내고($P < 0.05$), 단면적과는 정의 상관관계가 있음을 확인할 수 있

었으나($P < 0.01$), 근섬유 형태와는 크게 영향이 없음을 확인하였다. 식육산업의 중요한 형질인 등심근 단면적의 경우, 근섬유의 단면적과는 정의 상관관계가 나타났으며($P < 0.05$), 이에 따라 단위면적당 근섬유 수와는 부의 상관관계를 나타내($P < 0.05$), 출생 후 근육량의 성장은 근섬유의 수적인 증가가 아니라 크기에 기인함을 알 수 있었다. 등심근 단면적의 경우, 총 근섬유 수와 높은 상관도를 나타내었으며($r^2 = 0.45$, $P < 0.001$), type IIB 근섬유 수와도 높은 상관도를 나타내어($r^2 = 0.40$, $P < 0.001$), 총 근섬유 수는 등심근 단면적과 높은 상관관계가 있음을 확인하였다. 단위면적당 근섬유 수와 면적비율의 경우, 전체적으로 근섬유 특성과 성장특성 및 도체특성을 상관분석 한 결과와 유사한 경향을 나타내었다(Table 3-24).

Table 3-23. Correlation coefficients between carcass traits and muscle fiber characteristics in the porcine *longissimus* muscle

	Cross-section area				Density of fibers per mm ²				Total number of fiber			
	Mean	I	IIA	IIB	Sum	I	IIA	IIB	Sum	I	IIA	IIB
Age at 90 kg	-.23 ^y	-.25 ^y	-.25 ^y	-.24 ^y	.22 ^x	-.31	-.19 ^x	.22 ^x	-.25 ^y	.09	-.35 ^z	-.21 ^x
LW of 90 days	.12	.00	.19 ^x	.14	-.11	-.17	.14	-.12	.23 ^x	.02	.24 ^y	.18 ^x
LW of 120 days	.15	.12	.21 ^x	.16	-.15	-.25 ^y	.16	-.15	.32 ^z	.00	.32 ^z	.28 ^y
LW of 150 days	.19 ^x	.21 ^x	.22 ^x	.21 ^x	-.19 ^x	-.25 ^y	.20 ^x	-.21 ^x	.26 ^y	-.01	.35 ^z	.21 ^x
Daily gain	.14	.26 ^y	.15	.13	-.15	-.27 ^y	.13	-.14	.33 ^z	-.04	.32 ^z	.31 ^z
LW at slaughter	.23 ^y	.25 ^y	.29 ^y	.24 ^y	-.24 ^y	-.27 ^y	.12	-.24 ^y	.28 ^y	-.02	.33 ^z	.24 ^y
Carcass weight	.28 ^y	.25 ^y	.32 ^z	.29 ^y	-.29 ^y	-.31 ^z	.10	-.28 ^y	.26 ^y	-.05	.32 ^z	.22
Carcass percentage	.17	-.01	.09	.15	-.15	-.08	-.13	-.12	-.04	-.08	-.09	-.02
Backfat thickness	.12	.19 ^x	.21 ^x	.10	-.11	-.28 ^y	.22 ^x	-.10	.22 ^x	-.14	.35 ^z	.20 ^x
Loin eye area	.19 ^x	.14	.22 ^x	.24 ^y	-.24 ^y	-.29 ^y	.08	-.21 ^x	.67 ^z	.15	.49 ^z	.63 ^z

Levels of significance: ^x $P < 0.05$, ^y $P < 0.01$, ^z $P < 0.001$.

Abbreviation: LW, live weight.

Table 3-24. Correlation coefficients between carcass traits and muscle fiber type composition in the porcine *longissimus* muscle

	Area percentage			Number percentage		
	I	IIA	IIB	I	IIA	IIB
Age at 90 kg	.23 ^y	-.29 ^y	.03	.26 ^y	-.29 ^y	.02
LW of 90 days	-.18 ^x	.20 ^x	-.01	-.12	.17	-.03
LW of 120 days	-.21 ^x	.22 ^x	-.01	-.20 ^x	.21 ^x	.00
LW of 150 days	-.18 ^x	.27 ^y	-.06	-.20 ^x	.28 ^y	-.05
Daily gain	-.18 ^x	.18 ^x	.00	-.24 ^y	.19 ^x	.05
Live weight at slaughter	-.18 ^x	.26 ^y	-.05	-.20 ^x	.24 ^y	-.02
Carcass weight	-.22 ^x	.26 ^y	-.02	-.22 ^x	.23 ^y	-.00
Carcass percentage	-.11	-.06	.13	-.04	-.08	.09
Backfat thickness	-.23 ^y	.31 ^z	-.06	-.27 ^y	.30 ^y	-.01
Loin eye area	-.23 ^y	.16	.06	-.21 ^x	.17 ^x	.05

Levels of significance: ^x $P < 0.05$, ^y $P < 0.01$, ^z $P < 0.001$.

Abbreviation : LW, live weight.

산육형질과 근육의 조직학적 특성의 상관관계 분석을 통한 연관성 모식도를 Figure 3-2에 나타냈다. 근섬유의 크기(CSA, cross-sectional area)는 등심근 단면적(LEA, loin eye area)과 정의 상관관계를 나타내며, 근섬유 크기가 증가할수록 도체중(CW, carcass weight)도 증가하였으며, 근섬유의 밀도(FD, fiber density per mm²)는 감소하였다. 근섬유의 수(TFN, Total fiber number)는 등심근 단면적과 정의 상관관계를 나타냈으며, 근섬유 수가 증가할수록 근섬유의 밀도는 증가하였다. 근섬유 수와 크기는 부의 상관관계를 나타내며, 근섬유 수는 근섬유 조성(fiber type composition)과는 정의 상관관계를 나타낸다. 이와 같이 근육의 조직학적 특성이라고 할 수 있는 근섬유 크기와 수는 성장특성 및 적육 생산능력에 영향을 미치며, 근육의 대사적/이화학적 특성이라고 할 수 있는 근섬유 조성과 연관성이 있

으며 사후 대사변이에 영향을 주어 돈육질에 영향을 미치게 된다. 따라서 근육의 조직학적/대사적 특성은 근육의 생산능력 및 육질변이에 있어 지표로 이용가능하며, 표지유전자의 실용화 구축에 있어 중요한 기초 데이터로 판단된다.

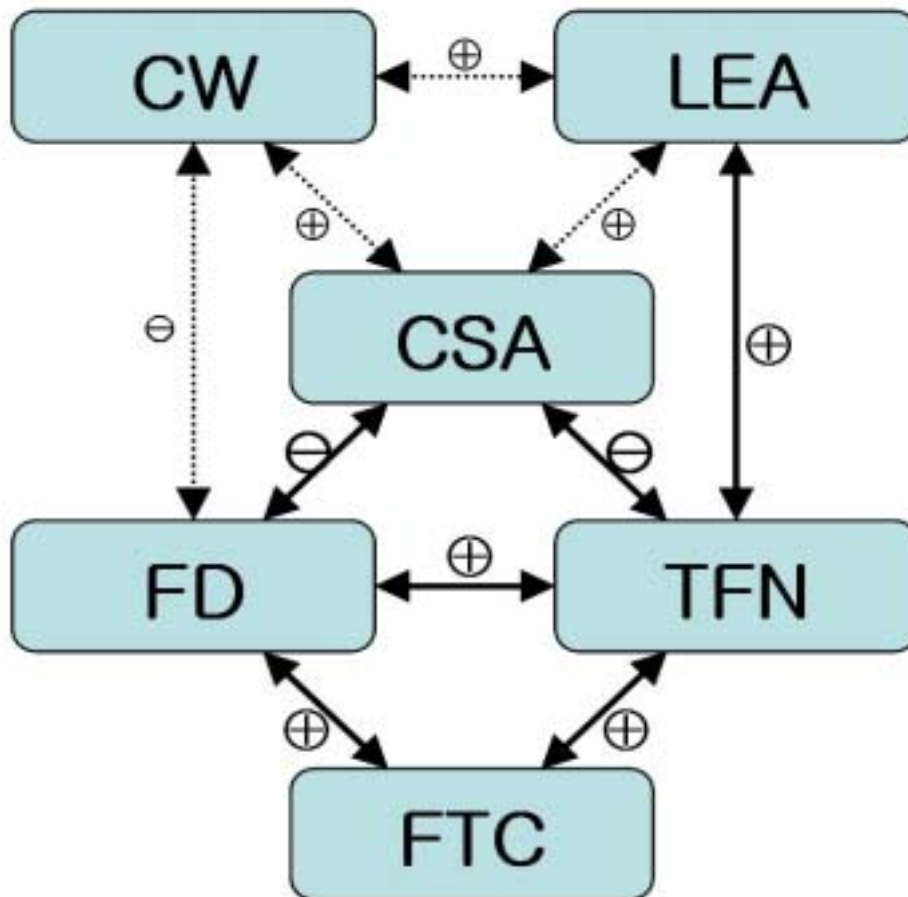


Figure 3-2. Schematic representation of the relationship between carcass traits and histological characteristics in pigs. Abbreviations: CW, carcass weight; LEA, loin eye area; CSA, cross-sectional area of muscle fiber; FD, fiber density per mm²; TFN, total fiber number; FTC, fiber type composition. Bold represent indicated moderate to high correlation.

제1세부과제에서 제안한 표지유전자 MG5' 및 Myf-6 유전자 좌위의 유전자형이 산육형질 및 육질 변이에 미치는 영향을 종합적으로 분석해 보면, MG5' 유전자의 TC 유전자형은 성장특성 및 적육생산 능력이 우수하였는데, 이는 TC 유전자형의 많은 근섬유수에 의한 것으로 분석되었으며, TC 유전자형을 가진 개체는 정상육 수준의 육질을 나타냈다. Myf-6 유전자 좌위의 BB 유전자형의 경우 근섬유 수는 높게 나타났으며 돈육질 항목에서는 유전자형간에 차이가 없었다. 따라서 MG5' 유전자의 TC와 Myf-6의 BB 유전자형은 근섬유 수 분화에 영향을 미쳐 적육생산 능력 증가를 가져오면서 돈육질을 향상시킬 수 있는 표지유전자라고 판단되며, 표지유전자 실용화 기준에 적합한 유전자라고 판단된다.

돈육질 관련 생체요인을 탐색해본 결과 근육의 주요 에너지원인 ATP, glycogen, G6P의 농도와 대사산물인 lactate 농도의 경우 육질변이와 육질예측에 있어 적합한 항목으로 판단된다. 근육의 조직생화학적 특성과 성장특성 및 도체특성과의 상관관계를 분석해본 결과 근육생산능력 및 산육량 증대에 있어서는 근섬유의 수와 크기 증가 모두 작용한 것으로 평가되며, 특히 근섬유 수는 적육 생산능력에 연관성이 큰 것으로 분석되었다. 이와 같이 근육의 조직학적 특성이라고 할 수 있는 근섬유 크기와 수는 성장특성 및 적육 생산능력에 영향을 미치며, 근육의 대사적/이화학적 특성이라고 할 수 있는 근섬유 조성의 연관성이 있으며 사후 대사변이에 영향을 주어 돈육질에 영향을 미치게 된다. 따라서 근육의 조직학적/대사적 특성은 근육의 생산능력 및 육질변이에 있어 지표로 이용가능하며, 표지유전자의 실용화 구축에 있어 중요한 기초 데이터로 판단된다.

다. 산육량 증가와 돈육질 변이간의 연관성 분석 및 작용기전 규명

1) 도축 전·후의 대사변이 요인 규명

현재까지 국내 축산식품에 있어 가장 중요한 과제는 가축의 육량 증대 및 육질 향상이라고 할 수 있다. 가축의 도체특성 및 성장률 등 경제적인 문제와 연관되는 육량은 오랜 기간 육종·육종 분야의 노력으로 인해 돼지 성장특성에 영향을 주었으며, 그 결과 살코기형 적육생산 방향으로 발전을 이루었다. 이와 같이 육량의 문제는 적육생산 시 효율면에서 큰 발전을 이루었지만, 과도한 육량증가로 인해 이상돈육의 증가를 가져오게 되었다. 근육의 성장은 출생 전 결정되어지는 근섬유 수와 출생 후 근섬유 크기 증가로 설명되어 질 수 있다. 따라서 본 연구과제에서는 각 개체의 성장·도체특성과 근섬유의 특성을 이용하여 근육의 대사변이 요인을 규명하며, 이를 통해 육질이 향상된 적육형 돈육 모델을 설정하고자 하였다.

각 개체의 성장특성인 생체중, 온도체중 및 등심근 단면적을 이용하여 muscle mass(MM) 군집을 heavy, light로 분류하고, 근육의 대사적/이화학적 특성 및 근육의 크기에 영향을 미치는 근섬유의 수와 크기(TFN)를 이용하여 high, medium, low 군집으로 분류하였다. 이를 조합하여 근육량이 우수하면서 총 근섬유의 수가 많은 군집(HH), 근육량이 우수하면서 근섬유 수는 medium인 군집(HM), 근육량은 적지만 근섬유 수는 medium인 군집(LM), 근육량과 근섬유 수가 적은 군집(LL)으로 4개의 군집을 형성하여 분석을 실시하였다. Table 3-25에는 각 군집의 분류기준인 도축 전 측정된 생체중, 도축 후 온도체중, 등심근 단면적, 근섬유 크기, 총 근섬유 수의 군집별 평균과 표준편차를 나타냈다. HH 군집의 생체중은 110.7 ± 11.15 으로 가장 높은 수치를 나타냈으며, 이에 따라 온도체중과 등심근 단면적도 가장 높게 나타났다. 또한 총 근섬유 수도 가장 높게 나타냈지만($1,666 \times 1,000 \pm 125.1 \times 1,000$), 근섬유의 크기는 다른 군집에 비해 가장 작은 수치를 나타내(3220 ± 415.6), HH 군집의 큰 등심근 단면적은 근섬유 크기보다는 근섬유 수에 의한 것으로 판단된다. LL 군집의 경우에는 생체중(101.4 ± 10.59), 온도체중(74.60 ± 8.20), 등심근 단면적(37.80 ± 5.41), 총근섬유 수($909.4 \times 1,000 \pm 82.93$)는 낮은 수치를 나타냈지만, 근섬유 크기(4390 ± 654.5)는 다른 군집에 비해 가장 큰 것으로 나타나, LL 군집의 작은 등심근 단면적은 큰 근섬유 크기와 적은 총 근섬유 수에 의한다고 판단된다.

Table 3-25. Carcass traits, muscle fiber characteristics in pigs categorized by the muscle mass and total number of fibers

Muscle mass (MM)	Heavy		Light	
	High (N = 33)	Medium (N = 77)	Medium (N = 81)	Low (N = 62)
Total fiber number (TFN)				
LW at slaughter (kg)	110.7 ± 11.15	107.60 ± 12.49	98.28 ± 10.44	101.4 ± 10.59
Carcass weight (kg)	82.06 ± 9.10	79.34 ± 9.14	72.58 ± 7.55	74.60 ± 8.20
Loin eye area (cm ²)	52.09 ± 7.42	48.90 ± 6.72	43.32 ± 5.04	39.80 ± 5.41
Cross-sectional area of fiber (μm ²)	3220 ± 415.5	3682 ± 462.1	3849 ± 457.4	4390 ± 654.5
Total fiber number (×1,000)	1666 ± 125.1	1322 ± 67.52	1126 ± 57.43	909.5 ± 82.93

Results presented means ± standard deviation.

근육량과 근섬유의 특성으로 분류한 군집에 따른 성장특성 및 도체특성은 Table 3-26에 나타났다. 각 군집의 도축일령은 176.4 ± 1.03 으로 동일일령에서 도축하여 도축특성을 측정하였으며, 각 군집간의 유의적인 차이가 인정되지 않았다. 근육량이 우수하고 총 근섬유 수가 많은 HH 군집의 경우, 출생 후 100일령 체중이 LM 군집에 비해 높았으며($P < 0.05$), 160일령 체중에서도 LM 군집에 비해 높은 경향으로 나타내 성장특성이 우수한 것으로 분석되었다. 도축 전 측정된 생체중과 도축후 측정된 도체중에서는 근육량이 풍부한 HH, HM 군집은 근육량이 작은 LM, LL 군집과 뚜렷한 차이를 나타냈다($P < 0.001$). 적육 생산량을 추정할 수 있는 등심근 단면적의 경우 HH, HM, LM 및 LL 군집이 각 군집간의 뚜렷한 차이를 나타냈는데($P < 0.001$), HH 군집의 경우 가장 큰 등심근 단면적을 나타냈으며(49.92 ± 1.26), LL 군집의 경우 가장 작은 등심근 단면적을 나타냈다(38.56 ± 0.84). 하지만, 도체울과 등지방 두께에서는 군집간의 유의적인 차이는 인정되지 않았다. 따라서 HH 군집은 LM 군집에 비해 성장속도가 우수하며, 적육 생산능력이 우수한 것으로 분석되었다.

Table 3-26. Growth performance and carcass traits in pigs categorized by the muscle mass and total number of fibers

Muscle mass (MM) Total fiber number (TFN)	Heavy		Light		Level of significance
	High	Medium	Medium	Low	
Weight at 100 days (kg)	47.36 ^a (1.35) ¹	45.36 ^{ab} (0.87)	43.30 ^b (0.74)	44.45 ^{ab} (0.89)	*
Weight at 160 days (kg)	94.79 ^a (2.48)	94.84 ^a (1.59)	89.79 ^b (1.36)	92.54 ^{ab} (1.63)	†
Age at slaughter (days)	177.6 (1.68)	176.7 (1.08)	176.3 (0.92)	176.0 (1.11)	NS
LW at slaughter (kg)	107.9 ^a (2.42)	106.4 ^a (1.55)	98.25 ^b (1.33)	99.09 ^b (1.60)	***
Daily gain (g)	787.8 (28.65)	822.8 (18.38)	788.7 (15.76)	799.15 (18.92)	NS
Carcass weight (kg)	79.98 ^a (1.86)	78.17 ^a (1.19)	72.18 ^b (1.02)	72.85 ^b (1.23)	***
Carcass percentage (%)	74.01 (0.74)	73.48 (0.47)	73.52 (0.40)	73.52 (0.49)	NS
Loin-eye area (cm ²)	49.92 ^a (1.26)	46.76 ^b (0.82)	42.36 ^c (0.70)	38.56 ^d (0.84)	***
Backfat thickness (mm)	14.41 (1.29)	15.14 (0.83)	14.07 (0.71)	14.71 (0.85)	NS

¹ Standard error of least-square means.

Levels of significance: NS = not significant, † $P < 0.1$, * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$.

^{a,b} Means with different superscripts within a row are significantly different.

Abbreviation: LW, live weight.

군집에 따른 근육의 조직학적 특성 분석결과는 Table 3-27에 나타났다. 근섬유의 밀도를 나타내는 단위면적당 전체 근섬유 수는 각 군집간의 유의적인 차이를 나타냈다($P < 0.01$). HH 군집의 밀도가 가장 높은 수치를 나타냈으며 HM, LM, LL 군집과 뚜렷한 차이를 나타냈다($P < 0.01$). 근섬유 type IIB 밀도의 경우에도 이와 유사한 차이를 나타냈는데, HH 군집이 가장 높은 밀도를 나타냈으며 HM, LM, LL 군집과 뚜렷하게 구분되었다($P < 0.01$). 하지만 HH 군집은 근섬유 type I의 밀도에서는 가장 낮은 경향을 나타냈으며($P < 0.1$), type IIA에서는 군집간의 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 군집의 따른 총 근섬유 수의 분석결과 HH 군집은 LL 군집과 뚜렷한 차이를 나타냈으며(1651×1000 vs. 902×1000), 다른 군집과 뚜렷한 차이를 나타냈다($P < 0.001$). 또한 HH 군집은 type IIA의 총 근섬유 수에서는 HM, LM, LL 군집과 뚜렷한 차이를 나타냈으며($P < 0.01$), type IIB에서는 LM, LL 군집보다 높은 근섬유 수를 나타내($P < 0.001$), HH 군집의 높은 총 근섬유 수는 type IIB에 의한 것으로 분석되었다. 하지만 호기적인 대사능력이 우월한 근섬유 type I의 총 근섬유 수에서는 HM, LM 군집과 유의적인 차이가 인정되지 않았다.

근섬유 크기의 경우, 혐기적 대사능력이 우월한 근섬유 type IIB의 크기가 가장 큰 것으로 분석되었다. 전체 근섬유 크기의 평균에서는 LL 군집은 HH 군집에 비해 뚜렷하게 높은 수치를 나타냈으며(4293 vs. $3114 \mu\text{m}^2$), LM이나 HM 군집과도 뚜렷한 차이를 나타냈다($P < 0.001$). LL 군집의 type I 근섬유 크기는 HH 군집에 비해 큰 경향을 나타냈으며($P < 0.1$), IIA의 크기에서도 LL 군집은 다른 군집에 비해 높은 수치를 나타냈다($P < 0.001$). 특히 type IIB의 크기는 전체 근섬유 크기의 결과와 마찬가지로 LL 군집이 가장 큰 크기를 나타냈으며, LM, HM, HH 군집순으로 차이를 나타냈다($P < 0.001$). 이와 같이 근섬유 크기의 변이도 총 근섬유 수와 같이 근섬유 type IIB의 영향을 가장 많이 받는 것으로 분석되었다.

군집에 따른 근육의 대사적 특성변이를 분석하기 위해 근섬유 type의 수와 크기 조성을 분석하였다(Table 3-28). 근섬유 수와 크기 조성의 경우 모두 근섬유 IIB의 조성이 가장 높아 돼지 등심근의 강한 혐기적 대사능력을 나타냈다. 근섬유 수 조성의 경우, HH 군집은 type I에서 가장 낮은 수치를 나타냈지만($P < 0.1$), type IIB에서는 HM이나 LL 군집과 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 이와 같이 HH 군집은 총 근섬유 수와 type IIB의 총 근섬유 수에서는 HM이나 LL 군집에 비해 뚜렷하게 높은 수치를 나타냈지만, 근섬유 type IIB의 수 조성에서는 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 근섬유 크기 조성의 경우에는 type I에서 HH 군집이 가장 낮은 수치를 나타냈으며($P < 0.01$), type IIB에서 HH 군집은 LM이나 LL 군집에 비해 높은 경향을 나타냈지만($P < 0.1$) HM 군집과는 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 이와 같이 HH 군집은 type IIB의 수와 크기 조성에서 다른 군집과 뚜렷한 차이를 나타내지 않았는데, 이것은 HH 군집의 type IIB 총 근섬유 수는 다른 군집에 비해 높지만 근섬유 크기는 뚜렷하게 작아 type IIB 조성에 미치는 영향은 미비한 것으로 판단된

다.

성장특성과 근섬유의 특성을 이용하여 분류한 군집에 따른 성장특성, 조직학적 특성을 종합하여 분석해 보면, HH 군집의 빠른 성장속도와 우수한 적육 생산능력은 다른 군집에 비해 높은 근섬유 수와 밀도에 의한 것으로 판단되었으며, 특히 돼지 등심근의 대부분을 차지하는 근섬유 type IIB에 영향을 받은 것으로 분석되었다. 한편 LL 군집의 경우 적육 생산능력은 HH 군집에 비해 떨어졌으며, 근섬유 수도 적었지만 근섬유 크기는 다른 군집에 비해 뚜렷하게 큰 것으로 분석되었다. 근섬유 조성의 경우 근섬유 type I이나 IIB에서 군집간에 유의적인 차이를 나타내긴 했지만, 뚜렷한 수치 상의 차이는 나타나지 않았으며 상호간의 연관성도 부족하여, 근육량과 근섬유 크기로 분류한 군집은 근섬유의 대사적 특성에 미치는 영향은 미비한 것으로 판단된다.

Table 3-27. Muscle fiber characteristics in pigs categorized by the muscle mass and total number of fibers

Muscle mass (MM)	Heavy		Light		Level of significance
	High	Medium	Medium	Low	
Total fiber number (TFN)					
Density of fibers/mm²					
Mean	327.3 ^a (9.15) ¹	283.6 ^b (4.08)	266.9 ^c (4.40)	235.4 ^d (5.18)	***
Type I	18.63 ^b (2.71)	22.66 ^{ab} (1.46)	24.23 ^a (1.30)	19.45 ^b (1.53)	†
Type IIA	33.13 (3.63)	28.68 (1.97)	28.82 (1.75)	24.28 (2.06)	NS
Type IIB	275.5 ^a (8.68)	232.3 ^b (4.70)	213.9 ^c (4.17)	191.5 ^d (4.91)	***
Total number of fiber (×1,000)					
Mean	1651 ^a (203.8)	1316 ^b (110.3)	1119 ^c (99.21)	902 ^d (115.4)	***
Type I	94.91 ^a (10.63)	103.8 ^a (6.28)	102.3 ^a (5.66)	75.21 ^b (6.58)	**
Type IIA	166.5 ^a (15.25)	132.7 ^a (8.38)	118.8 ^b (7.43)	93.81 ^c (8.64)	***
Type IIB	1399 ^a (214.0)	1078 ^b (117.5)	897.5 ^b (104.2)	732.7 ^b (121.1)	***
Cross-sectional area of fiber (μm²)					
Mean	3114 ^d (139.9)	3583 ^c (74.66)	3815 ^b (67.26)	4293 ^a (79.23)	***
Type I	2658 ^b (194.9)	2900 ^{ab} (105.4)	3049 ^a (93.7)	3172 ^a (110.3)	†
Type IIA	1944 ^c (143.8)	2121 ^{bc} (77.81)	2290 ^b (69.15)	2609 ^a (81.4)	***
Type IIB	3297 ^d (165.9)	3839 ^c (89.79)	4130 ^b (79.0)	4654 ^a (93.95)	***

¹ Standard error of least-square means.

Levels of significance: NS = not significant, † $P < 0.1$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

^{a-d} Means with different superscripts within a row are significantly different.

Table 3-28. Muscle fiber number and area composition in pigs categorized by the muscle mass and total number of fibers

Muscle mass (MM)	Heavy		Light		Level of significance
	High	Medium	Medium	Low	
Total fiber number (TFN)					
Muscle fiber number percentage (%)					
Type I	4.84 ^b (0.77) ¹	6.31 ^a (0.42)	7.13 ^a (0.37)	6.26 ^a (0.44)	†
Type IIA	6.23 (0.82)	6.09 (0.44)	6.48 (0.39)	6.27 (0.46)	NS
Type IIB	88.94 ^a (0.98)	87.60 ^{ab} (0.53)	86.38 ^b (0.47)	87.47 ^{ab} (0.56)	*
Muscle fiber area percentage (%)					
Type I	5.77 ^b (0.03)	7.97 ^a (0.56)	9.07 ^a (0.49)	8.52 ^a (0.58)	*
Type IIA	10.15 (1.31)	10.14 (0.71)	10.88 (0.63)	10.57 (0.74)	NS
Type IIB	84.08 ^a (1.34)	81.89 ^{ab} (0.72)	80.05 ^b (0.64)	80.92 ^b (0.76)	†

¹ Standard error of least-square means.

Levels of significance: NS = not significant, † $P < 0.1$, * $P < 0.05$.

^{a,b} Means with different superscripts within a row are significantly different.

근육량과 총 근섬유 수를 이용하여 분류한 군집에 따른 돈육질 변이와 사후 대사속도는 Table 3-29에 나타냈다. 초기 사후대사의 속도를 가늠할 수 있는 근육의 pH_{45min}에서는 군집간의 유의적인 차이를 나타내지 않았으며, R-value에서는 HH 군집은 LL 군집에 비해 유의적으로 높은 수치를 나타냈다(1.02 vs. 0.89, $P < 0.01$). 하지만 HH 군집이나 LL 군집 모두 정상육 수치(≤ 1.05)에 해당하였으며, 사후대사가 진행된 24시의 pH_{24h}에서도 군집간의 차이는 분석되지 않았다. 육질 측정항목인 육색의 명도에서는 군집간의 유의적인 차이를 나타내지 않았으나, 보수력 항목인 유리육즙량($P < 0.01$)과 여과지 흡수법($P < 0.05$)에서는 유의적인 차이를 나타냈다. 유리육즙량의 경우, HH 군집은 HM이나 LM 군집과는 유의적인 차이를 나타내지 않았지만, LL 군집에 비해 높은 수치를 나타냈으며(5.65 vs. 3.64, $P < 0.01$), 여과지 흡수법에서 HH나 LL 군집은 HM이나 LM군집에 비해 낮은 수치를 나타냈다($P < 0.01$).

단백질 용해도의 경우, 사후 45분 근형질 단백질 용해도에서는 HH와 HM 군집은 LM과 LL 군집에 비해 낮은 수치를 나타냈으며($P < 0.01$), 총 단백질 용해도에서도 HH와 HM 군집은 LM이나 LL 군집에 비해 낮은 수치를 나타냈다($P < 0.001$). 근원섬유 단백질의 용해도에서는 HH와 HM 군집은 LL 군집에 비해 낮은 단백질 용해도를 나타냈지만($P < 0.05$), LM 군집과는 뚜렷한 차이를 나타내지 않았다. 사후 24시 근형질 단백질의 용해도의 경우에는 HH 군집이 LL 군집에 비해 낮은 단백질 용해도를 나타냈으며(65.85 vs. 72.18, $P < 0.01$), HM이나 LM에 비해서도 낮은 단백질 용해도를 나타냈다. 총 단백질의 용해도에서는 LL 군집이 가장 높은 수치를 나타냈으며($P < 0.05$), HH, HM 및 LM 군집간의 유의적인 차이는 나타내지 않았다. 근섬유의 대사적 변이는 사후 대사속도에 영향을 미치게 된다. 근섬유 type IIB의 조성이 높은 경우, 근육의 혐기적 대사능력이 우월하여 사후 대사가 빠르게 진행될 수 있으며, 사후 대사속도를 예측할 수 있는 근육의 $\text{pH}_{45\text{min}}$, $\text{pH}_{24\text{h}}$ 과 정의 상관관계를 나타낸다. 또한 사후 빠른 pH의 저하는 단백질 변성을 가져오게 된다. 본 실험에서 HH 군집은 다른 군집에 비해 근섬유 type IIB의 조성이 유의적으로 높았다. 하지만 사후 대사속도를 가늠할 수 있는 사후 45분과 24시의 pH에서는 다른 군집과 유의적인 차이를 나타내지 않았으며 R-value에서는 정상육의 기준치를 초과하지 않아, 단백질 변성정도도 이와 유사한 결과로 분석되었다. 이는 HH 군집은 type IIB의 조성은 유의적으로 높지만 뚜렷한 수치상의 차이로 분석되지 않아 대사속도 변이에 큰 영향을 미치지 않은 것으로 판단된다.

이상의 결과를 종합하여 분석해보면, HH 군집은 빠른 성장속도와 우수한 적육 생산능력을 나타냈는데 이는 다른 군집에 비해 높은 근섬유 수와 밀도에 의한 것으로 판단된다. 군집간의 뚜렷한 대사적 특성 변이는 나타내지 않았으며, 군집에 따른 육질변이 분석 결과 군집간 뚜렷한 차이는 나타내지 않아, HH 군집의 경우 적육량이 우수하면서 돈육질이 향상된 모델로 판단된다.

Table 3-29. Meat quality traits and metabolic rate in pigs categorized by the muscle mass and total number of fibers

Muscle mass (MM)	Heavy		Light		Level of significance
	High	Medium	Medium	Low	
45 min postmortem					
Muscle pH	6.02 (0.08) ¹	5.97 (0.05)	5.96 (0.05)	6.11 (0.05)	NS
R-value (R_{248})	1.02 ^a (0.08)	1.10 ^a (0.04)	0.97 ^a (0.05)	0.89 ^b (0.06)	*
Lightness (L^*)	42.30 (0.94)	41.55 (0.61)	41.65 (0.52)	40.79 (0.63)	NS
24 h postmortem					
Muscle pH	5.56 (0.03)	5.58 (0.02)	5.57 (0.02)	5.59 (0.02)	NS
Lightness (L^*)	48.55 (0.53)	47.89 (0.34)	48.62 (0.29)	47.63 (0.20)	NS
Drip loss (%)	5.65 ^a (0.61)	5.24 ^a (0.39)	5.25 ^a (0.33)	3.64 ^b (0.40)	**
FFU (mg)	44.80 ^{ab} (9.04)	51.44 ^a (5.80)	53.49 ^a (4.94)	37.62 ^b (5.97)	*

¹ Standard error of least-square means.

Levels of significance: NS = not significant, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

^{a,b} Means with different superscripts within a row are significantly different.

Abbreviation: FFU, filter-paper fluid uptake.

Table 3-30. Protein solubility in pigs categorized by the muscle mass and total number of fibers

Muscle mass(MM)	Heavy		Light		Level of significance
	High	Medium	Medium	Low	
Total fiber number (TFN)					
45 min postmortem					
SPS (mg/g)	66.73 ^b (1.94) ¹	66.78 ^b (1.18)	71.06 ^a (1.17)	72.18 ^a (1.27)	**
TPS (mg/g)	194.0 ^b (3.89)	195.4 ^b (2.37)	203.5 ^a (2.35)	208.7 ^a (2.56)	***
MPS (mg/g)	127.3 ^b (3.03)	128.6 ^b (1.85)	132.4 ^{ab} (1.83)	136.5 ^a (1.99)	*
24 h postmortem					
SPS (mg/g)	65.85 ^c (1.36)	68.69 ^b (0.83)	69.57 ^b (0.82)	72.18 ^a (0.90)	**
TPS (mg/g)	185.8 ^b (4.01)	186.2 ^b (8.45)	189.0 ^b (2.43)	196.1 ^a (2.74)	*
MPS (mg/g)	120.0 (3.25)	117.5 (1.98)	119.5 (1.97)	123.9 (2.14)	NS

¹ Standard error of least-square means.

Levels of significance: NS = not significant, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

^{a-c} Means with different superscripts within a row are significantly different.

Abbreviations: SPS, sarcoplasmic protein solubility; MPS, Myofibrillar protein solubility; TPS, total protein solubility.

2) 표지유전자 실용화에 따른 육질변이 검증

제1세부과제에서 제시한 표지유전자의 실용화 구축을 위해 표지유전자가 돈육질변이에 미치는 영향을 분석하였으며, 제안된 표지유전자가 표현형질에 미치는 정확한 효과 추정을 위해 실험군의 성장특성, 도체특성 및 근육의 조직학적/대사적 변이와의 연관성을 다각적으로 분석하였다. 제3세부과제에서는 제안된 Myf-6와 MG5'의 genotype에 의해 분석을 실시

하였으며, 본 실험에서는 haplotype에 근거하여 분석을 실시하였다. 제안 표지유전자인 MG5' 유전자좌위에서는 TT, TC, CC 유전자형이 관찰되었으며, TT 유전자형은 253두 중 2두만이 발견되어 이 유전자형은 형질에 대해 정확한 효과 추정을 위해서 연관성 분석에서 제외하였다. 제안 표지유전자 Myf-6 유전자좌위에서는 AA, AB, BB 유전자형이 관찰되었으며, AA 유전자형은 253두 중 3두만이 발견되어 MG5'의 TT 유전자형과 같이 분석에서 제외하였다. 따라서 Myf-6와 MG5'의 haplotype은 ABCC, ABTC, BBCC, BBTC이 유전자형으로 제안되었다.

제1세부과제에서 제시한 표지유전자가 성장특성 및 도체특성에 미치는 영향을 분석하기 위해 실험군을 동일일령에서 도축하여 특성을 분석하였다(Table 3-31). 성장특성인 90 kg 도달령과 도축 전 측정된 출하체중, 도축 후 측정된 온도체중에서는 표지유전자 haplotype에 따른 뚜렷한 차이를 나타내지 않았다. 하지만 도체율에서는 ABTC 유전자형이 BBTC 유전자형에 비해 유의적으로 높은 수치를 나타냈으며($P < 0.05$), 등지방 두께에서는 BBTC 유전자형이 다른 유전자형에 비해 낮은 수치를 나타냈다($P < 0.01$). 또한 산육형질인 등심근 단면적의 경우, BBTC 유전자형이 ABCC, BBCC 유전자형에 비해 큰 경향을 나타냈다. 이와 같이 BBTC 유전자형은 성장특성에서는 다른 유전자형과 뚜렷한 차이를 나타내지 않았지만, 산육형질에서는 등지방 두께가 더 얇고 등심근 단면적은 더 큰 것으로 나타났다.

Table 3-31. Growth performance and carcass characteristics in pigs categorized by Myf-6 and myogenin 5' (MG5') haplotypes

	Myf-6 × MG5' haplotypes				Level of significance
	ABCC	ABTC	BBCC	BBTC	
Age at 90 kg (days)	141.8 (3.71) ¹	147.7 (7.01)	149.6 (2.76)	147.1 (3.90)	NS
Daily gain (g)	1024 (37.30)	928.2 (70.47)	932.1 (27.73)	930.5 (393.16)	NS
LW at slaughter (kg)	110.1 (3.69)	111.8 (6.97)	108.27 (2.74)	112.73 (3.87)	NS
Carcass weight (kg)	82.96 (2.67)	85.65 (5.04)	78.85 (1.99)	82.48 (2.80)	NS
Carcass percentage (%)	75.50 ^b (0.94)	76.49 ^b (1.77)	72.90 ^a (0.70)	73.22 ^{ab} (0.98)	*
Backfat thickness (mm)	23.13 ^b (1.38)	22.00 ^b (2.60)	20.76 ^b (1.02)	15.96 ^a (1.45)	**
Loin eye area (cm ²)	46.25 (2.42)	50.23 (4.58)	45.54 (1.80)	49.56 (2.54)	NS

¹ Standard error of least-square means.

Levels of significance: NS=not significant, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

^{a,b} Means with different superscripts within a row are significantly different.

Abbreviation: LW, live weight.

Myf-6와 MG5' 유전자 좌위의 haplotype에 따른 근육의 조직학적 특성 분석결과 단위면적당 총 근섬유 수에서 ABTC 유전자형(279.4 ± 20.19)과 BBTC 유전자형(268.34 ± 11.22)이 ABCC 유전자형(229.2 ± 10.69)에 비해 유의적으로 밀도가 높은 것으로 나타났다($P < 0.05$)(Table 3-32). 단위면적당 근섬유 IIB의 수는 ABCC 유전자형이 ABTC, BBTC 유전자형에 비해 낮은 수치를 나타내 총 근섬유 수와 유사한 차이를 나타냈다($P < 0.05$). 하지만 ABCC 유전자형의 단위면적당 근섬유 type I의 수는 ABTC, BBTC와 유의적인 차이를 나타내지 않아 ABTC와 BBTC 유전자형의 단위면적당 총 근섬유 수는 type I, IIA보다 type IIB의 단위면적당 근섬유 수에 의한 것으로 확인되었다. Haplotype에 따른 총근섬유 수는 ABCC 유전자형(1057 ± 64.46)이 ABTC(1388 ± 121.7)와 BBTC 유전자형(1317 ± 67.68)에 비해 낮은 수치를 나타냈다($P < 0.05$). 또한 type IIB의 총 근섬유 수에서도 ABCC 유전자형(865.2 ± 58.11)이 ABTC(1183 ± 109.9)와 BBTC 유전자형(1102 ± 65.06)에 비해 낮은 수치를 나타냈다($P < 0.05$). 이는 단위면적당 근섬유 수의 결과와 마찬가지로 ABTC와 BBTC 유전자형의 총 근섬유 수는 근섬유 type IIB의 총 근섬유 수에 영향을 받은 것으로 판단된다. Type I, IIA, IIB 근섬유 크기의 평균은 ABCC 유전자형이 ABTC와 BBTC 유전자형에 비해 큰 것으로 분석되었는데($P < 0.05$), 이는 돼지 등심근의 근섬유 type 중 구성 비율이 가장 높은 type IIB에 의해 결정되어진 것으로 판단된다.

Myf-6와 MG5' 유전자 좌위의 haplotype에 따른 근육의 이화학적 특성 변이를 분석하기 위해 haplotype에 따른 근섬유 유형의 수와 크기 조성을 분석하였다(Table 3-33). 근섬유 수 조성의 경우, type I에서는 ABCC 유전자형이 ABTC, BBTC 유전자형에 비해 높은 조성을 나타냈으나($P < 0.05$), 근섬유 IIA와 IIB는 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 근섬유 크기 조성의 경우 근섬유 type I, IIA, IIB에서 모두 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 이와 같이 근섬유의 분화와 발달에 영향을 미치는 Myf-6와 MG5' 유전자 좌위의 haplotype은 근섬유 수의 증가와 연관성이 있지만 근섬유 조성에는 큰 영향을 미치지 않는 것으로 분석되었다. 따라서 ABTC와 BBTC 유전자형은 산육형질 및 근섬유 수 증가에 있어 우량한 유전자로 판단되며, 특히 근섬유 type IIB의 수 증가와 연관성이 있다고 판단된다.

Table 3-32. Muscle fiber characteristics in pigs categorized by Myf-6 and myogenin 5' (MG5') haplotypes

	Myf-6 × MG5' haplotypes				Level of significance
	ABCC	ABTC	BBCC	BBTC	
Density of fibers/mm²					
Sum	229.2 ^a (10.69) [†]	279.4 ^b (20.19)	266.1 ^b (7.95)	268.3 ^b (11.22)	*
Type I	16.79 ^{ab} (1.50)	14.08 ^a (2.83)	19.92 ^b (1.11)	14.61 ^a (1.68)	*
Type IIA	24.45 (2.48)	26.27 (4.69)	27.40 (1.84)	27.52 (2.77)	NS
Type IIB	187.8 ^a (9.84)	238.3 ^b (18.61)	218.8 ^b (7.31)	223.6 ^b (11.01)	*
Total fiber number (×1,000)					
Sum	1057 ^a (64.46)	1388 ^b (121.7)	1206 ^{ab} (47.93)	1317 ^b (67.68)	*
Type I	78.28 (7.69)	72.37 (14.55)	90.42 (5.72)	71.31 (8.61)	NS
Type IIA	113.9 (11.74)	130.4 (22.21)	122.8 (8.73)	135.1 (13.15)	NS
Type IIB	865.2 ^a (58.11)	1183 ^b (109.9)	993.2 ^{ab} (43.20)	1102 ^b (65.06)	*
Cross-sectional area of fiber (μm²)					
Sum	4401 ^b (170.3)	3601 ^a (321.9)	3830 ^b (127.7)	3784 ^{ab} (178.8)	*
Type I	3265 (187.4)	3185 (354.5)	3057 (139.3)	3256 (210.8)	NS
Type IIA	2559 (137.3)	2174 (260.7)	2339 (102.1)	2179 (153.7)	NS
Type IIB	4765 ^b (193.1)	3807 ^a (365)	4087 ^a (143.6)	4072 ^a (116.2)	*

[†] Standard error of least-square means.

Levels of significance: NS=not significant, * $P < 0.05$.

^{a,b} Means with different superscripts within a row are significantly different.

Table 3-33. Muscle fiber number percentage and area percentage in pigs categorized by Myf-6 and myogenin 5' (MG5') haplotypes

	Myf-6 × MG5' haplotypes				Level of significance
	ABCC	ABTC	BBCC	BBTC	
Muscle fiber number percentage (%)					
Type I	7.35 ^b (0.59) ¹	5.17 ^a (1.12)	7.56 ^b (0.44)	5.54 ^a (0.66)	*
Type IIA	10.72 (0.89)	9.50 (1.68)	10.20 (0.66)	10.54 (1.00)	NS
Type IIB	81.93 (1.13)	85.33 (2.13)	82.24 (0.84)	83.91 (1.26)	NS
Muscle fiber area percentate (%)					
Type I	5.48 (0.51)	4.44 (0.97)	6.01 (0.38)	4.76 (0.57)	NS
Type IIA	6.20 (0.54)	5.72 (1.02)	6.22 (0.40)	6.01 (0.61)	NS
Type IIB	88.32 (0.84)	89.84 (1.59)	87.76 (0.62)	89.23 (0.94)	NS

¹ Standard error of least-square means.

Levels of significance: NS=not significant, * $P < 0.05$.

^{a,b} Means with different superscripts within a row are significantly different.

Myf-6와 MG5' 유전자좌위의 haplotype에 따른 대사적 특성변이를 분석하기 위해 사후 45분과 24시에 사후 대사속도를 측정하였다(Table 3-34). 사후 대사속도 및 진행정도를 예측할 수 있는 pH와 R-value를 사후 45분에 측정하였으며, 사후 24시에 pH를 다시 측정해 근육의 최종 pH를 나타냈다. 근육의 pH 경우, 사후 초기인 45분에는 ABCC 유전자형이 BBTC 유전자형에 비해 높았으나($P < 0.05$), 최종 pH의 경우 ABCC와 BBTC 유전자형간의 유의적인 차이가 없었다. 또한 사후 대사의 진행정도를 가늠할 수 있는 R-value의 경우에도 유전자형간의 유의적인 차이를 나타내지 않아 근육의 대사적 특성변이에 유전자형의 효과가 나타나지 않은 것으로 판단된다.

Table 3-34. Postmortem metabolite rate in pigs categorized by Myf-6 and myogenin 5' (MG5') haplotypes

	Myf-6 × MG5' haplotypes				Level of significance
	ABCC	ABTC	BBCC	BBTC	
45 min postmortem					
pH	6.09 ^b (0.06) ¹	6.16 ^c (0.10)	6.09 ^b (0.04)	6.01 ^a (0.06)	*
Temperature	33.91 (0.80)	32.87 (1.45)	33.87 (0.60)	35.40 (0.84)	NS
<i>R-Value (R₂₄₈)</i>	0.93 (0.06)	1.00 (0.11)	1.02 (0.04)	1.07 (0.06)	NS
<i>R-Value (R₂₅₀)</i>	0.98 (0.05)	1.04 (0.10)	1.06 (0.04)	1.05 (0.06)	NS
<i>R-Value (R₂₅₈)</i>	1.06 (0.04)	1.01 (0.07)	1.00 (0.03)	0.97 (0.04)	NS
24 h postmortem					
pH	5.62 ^b (0.04)	5.57 ^{ab} (0.08)	5.50 ^a (0.03)	5.54 ^{ab} (0.04)	**
Temperature	3.09 ^a (0.36)	5.15 ^b (0.68)	3.77 ^a (0.27)	4.83 ^b (0.38)	**

¹ Standard error of least-square means.

Levels of significance: NS=not significant, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

^{a-c} Means with different superscripts within a row are significantly different.

돈육질을 판단하는데 중요한 평가항목이며 PSE(pale, soft, and exudative)육 등 이상육을 판단하는 기준이 되는 육질 측정항목인 보수력과 육색을 측정하여 haplotype에 따른 돈육질 변이를 분석하였다(Table 3-35). 보수력 측정항목인 drip loss의 경우 ABCC 유전자형이 BBTC 유전자형에 비해 낮은 경향을 나타냈으며(2.41 vs. 5.54%, $P < 0.1$), filter-paper fluid uptake(여과지 흡수법)의 경우에도 ABCC 유전자형이 BBTC 유전자형에 비해 낮은 수치를 나타냈지만(32.60 vs. 50.63 mg, $P < 0.05$), ABCC 유전자형과 BBTC 유전자형 모두 정상육(reddish-pink, firm, non-exudative)의 기준수치($2.0 \leq \text{drip loss} \leq 6.0\%$)를 나타냈다. 육색측정 항목인 명도에서는 사후 45분과 24시 모두 유의적인 차이를 나타내지 않았으

며, 보수력과 마찬가지로 ABCC와 BBTC 유전자형 모두 정상육 기준수치($42 \leq L^* \leq 50$)를 나타냈다.

근육은 사후 대사의 결과로 젖산을 형성하며 근육의 pH가 저하하게 된다. 비정상적으로 빠른 대사는 사후 pH 저하속도에 영향을 주어 단백질 변성을 가져오게 된다. 이러한 단백질 변성은 단백질 용해도 분석을 통해 그 변성정도를 분석할 수 있다. 본 실험에서는 Myf-6와 MG5' 유전자좌위의 haplotype에 따른 단백질 변성정도를 측정하기 위해 총 단백질, 근형질과 근원섬유 단백질의 용해도를 측정하였다(Table 3-36). 사후 45분의 총 단백질, 근형질과 근원섬유 단백질 용해도의 경우 유전자형간의 유의적인 차이가 나타나지 않았으며, 사후 24시의 경우에는 근형질 단백질에서 유의적인 차이를 나타냈지만($P < 0.05$) ABCC와 BBTC 유전자형간에는 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

제1세부과제에서 제시한 Myf-6와 MG5' 유전자좌위의 haplotype에 따른 표현형질을 종합적으로 분석해보면, BBTC 유전자형은 식육산업의 중요한 산육형질인 등심근 단면적에서 우수한 형질을 나타냈으며 얇은 등지방 두께를 나타냈다. 근육의 조직학적 특성을 분석한 결과에서는 근섬유 수의 밀도와 총 근섬유 수가 다른 유전자형에 비해 유의적으로 높게 나타났으며, 근섬유 크기는 유의적으로 작게 나타났다. Haplotype에 따른 근육의 대사적 특성은 유전자형간의 뚜렷한 차이를 나타내지 않았다. 또한 haplotype에 따른 돈육질 변이의 경우, BBTC 유전자형은 ABCC 유전자형에 비해 높은 육즙손실을 나타냈지만 정상육 기준에 부합되었으며 육색의 경우에도 이와 유사하였다. 육질변이에 큰 영향을 미치지 않은 것으로 판단된다.

이상의 결과를 종합하여 분석해보면 제1세부과제에서 제시한 표지유전자인 Myf-6와 MG5' 유전자좌위의 haplotype은 유전자형간 산육형질 및 근섬유의 대사적/이화학적 특성에서 유의적인 차이가 인정된다. 특히 haplotype인 BBTC 유전자형은 근섬유 특성에 있어 근섬유의 크기보다는 수적인 증가에 영향을 미쳐 근육생산 및 산육량 증대에 영향을 미쳤지만 돈육질 변이에는 관여하지 않아 육질이 향상된 적육형 돈육생산에 적합한 haplotype으로 판단된다.

Table 3-35. Meat quality traits in pigs categorized by Myf-6 and myogenin 5' (MG5') haplotypes

	Myf-6 × MG5' haplotypes				Level of significance
	ABCC	ABTC	BBCC	BBTC	
45 min postmortem					
Lightness (L [*])	40.34 (1.34) ¹	41.54 (2.53)	39.98 (1.00)	41.46 (1.41)	NS
Redness (a [*])	5.50 ^b (3.70)	3.59 ^a (0.70)	6.17 ^b (2.75)	5.54 ^b (0.39)	*
Yellowness (b [*])	2.79 (0.32)	3.81 (0.61)	3.18 (0.24)	3.07 (0.34)	NS
24 h postmortem					
Drip loss (%)	2.41 ^a (0.94)	4.37 ^{ab} (1.77)	5.04 ^b (0.70)	5.54 ^b (0.98)	+
FFU (mg)	32.60 ^a (3.04)	38.87 ^{ab} (3.30)	41.49 ^b (2.23)	50.63 ^c (4.34)	*
Lightness (L [*])	46.36 (0.77)	48.09 (1.49)	47.22 (0.58)	47.31 (0.83)	NS
Redness (a [*])	7.79 ^b (0.38)	5.85 ^a (0.71)	7.50 ^b (0.28)	7.01 ^{ab} (0.40)	*
Yellowness (b [*])	4.37 (3.34)	3.20 (0.63)	4.40 (0.25)	3.94 (0.35)	NS

¹ Standard error of least-square means.

Levels of significance: NS=not significant, + $P < 0.01$, * $P < 0.05$.

^{a,b} Means with different superscripts within a row are significantly different.

Abbreviation: FFU, filter-paper fluid uptake.

Table 3-36. Protein solubility in pigs categorized by Myf-6 and myogenin 5' (MG5') haplotypes

	Myf-6 × MG5' haplotypes				Level of significance
	ABCC	ABTC	BBCC	BBTC	
45 min postmortem					
SPS (mg/g)	63.99 (1.44) ¹	66.48 (2.63)	64.52 (1.07)	64.09 (1.52)	NS
TPS (mg/g)	192.8 (3.97)	207.1 (7.24)	194.4 (2.96)	188.7 (4.18)	NS
MPS (mg/g)	128.7 (3.53)	140.6 (6.45)	129.9 (2.63)	124.6 (3.72)	NS
24 h postmortem					
SPS (mg/g)	68.80 ^a (1.32)	74.17 ^b (2.40)	65.03 ^a (0.98)	65.88 ^a (1.39)	*
TPS (mg/g)	192.1 (6.11)	203.6 (11.15)	182.6 (4.55)	182.0 (6.44)	NS
MPS (mg/g)	123.4 (5.25)	129.5 (9.58)	117.5 (3.91)	116.2 (5.53)	NS

¹ Standard error of least-square means.

Levels of significance : NS=not significant, * $P < 0.05$.

^{a,b} Means with different superscripts within a row are significantly different.

Abbreviation: SPS, sarcoplasmic protein solubility; TPS, total protein solubility; MPS, myofibrillar protein solubility.

3) 표지유전자 및 근육의 조직학적 특성을 이용한 돈육질 modeling

근육의 조직학적/이화학적 특성을 이용하여 돈육질 modeling 실시하였으며, 이를 이용하여 돈육질 그룹과의 연관성을 분석하였다. 또한 근육의 내인성 요인을 통해 이상돈육인 PSE(pale, soft, and exudative)나 RSE(reddish-pink, soft, and exudative)육의 발생원인을 규명하고자 하였다. 근육의 대사적 특성(metabolic property of muscle)은 근섬유의 대사적/이화학적 특성을 영향을 받는다. Figure 3-3의 A, B 근육의 경우 근섬유 type IIB의 조성이 높았으며, 근섬유 크기도 다른 근육에 비해 크게 나타내 혐기적 대사능력이 강한 것으로 분석되었으며 이와같은 경우 more glycolytic muscle로 표현하였다(Figure 3-4). E, F 근육의 경우에는 호기적 대사능력이 우월한 근섬유 type I의 조성이 다른 근육에 비해 높았으며, 근섬유의 크기도 작아 다른 근육에 비해 상대적으로 호기적인 대사능력이 우월한 것으로 분석되었다. 하지만 돼지 등심근의 경우 근섬유 type IIB의 조성이 다른 근섬유 type에 비해 높으며, E와 F 근육을 분석한 결과도 이와 같았기 때문에 less glycolytic 군집으로 표현하였다. 사후대사 속도(postmortem metabolic rate)는 사후대사 초기인 사후 45분의 pH와 R-value를 이용하여 대사속도가 빠른 군집과 정상 군집으로 분류하였다. 돈육질 그룹은 유리육즙량과 근육의 육색을 기준으로 하여 PSE(drip loss > 6.0%, $L^* > 50$), RSE(drip loss > 6.0%, $L^* \leq 50$), RFN(reddish-pink, firm, non-exudative; drip loss $\leq 6.0\%$, $L^* \leq 50$), DFD(dry, firm, and non-exudative; drip loss < 2.0%, $L^* < 43$) 그룹으로 분류하였으며, 본 실험에서 분석한 실험군 253두 중 DFD육은 발생되지 않아 분석에서 제외하였다.

전체 실험군에서 이상돈육인 PSE육은 17.3% 발생하였으며, 또 다른 이상돈육인 RSE육은 19.5% 차지해 전체 실험군 중 이상돈육이 차지하는 비율은 36.8%로 나타났으며, 정상육은 전체 실험군 중 63.2%를 차지하였다. 이상돈육인 PSE육을 근육의 내인성요인과 함께 설명할 경우 3가지의 경로가 존재한다. A의 경우에는 근섬유 type IIB의 조성이 높아 혐기적 대사가 강하며, 사후 대사속도가 빠르게 진행되어 단백질 변성정도가 심하며 육질도 떨어지는 경우로 일반적인 PSE 발생기작이라 할 수 있으며 전체 PSE육 발생을 중 대부분(69.2%)을 차지하였다. 또한 A의 경우와 유사한 D, G도 근섬유 type IIB의 조성이 높고 사후 대사속도가 빠른 경우로 대부분 이상육으로 형성되었다. B의 경우에는 사후 초기 근육의 pH와 단백질 변성정도는 A와 유사하게 나타내지만 대사속도는 정상인 경우였다. C(normal glycolysing PSE)는 혐기적 대사능력이 강하지 않으며 사후 대사속도 또한 정상인 경우로서 전체 PSE육 중 18.0%를 차지한다. 특히 C는 RFN육으로 형성되는 일반적인 경로인 J와 같은 경우로서, 이러한 normal glycolysing PSE육의 경우에는 도축 전 및 사후 초기의 많은 glycogen 함량으로 인해 사후 초기에는 대사속도가 빠르게 나타내지 않지만, 사후 24시

에는 많은 glycogen의 분해로 인한 젖산의 과다생성으로 인해 육질변이를 나타내며, 근육 단백질의 변성 민감도에 의한 것이라고 판단된다.

RSE육을 형성하는 3가지는 경로는 D, E, F가 분석되었는데, D의 경로는 혐기적 대사능력이 우월하며 사후 대사속도가 빠르게 진행되어 육질변이가 나타나는 경우로 높은 type IIB의 조성으로 설명할 수 있다. E는 사후 대사속도가 정상인 것을 제외하면 D와 비슷한 경우이다. F는 normal glycolysing RSE육으로 F가 지닌 근섬유의 대사적 특성이 육질변이에 미치는 영향은 미비한 것으로 분석되었으며, 낮은 최종 pH에 의한 현상인 것으로 판단된다.

RFN을 형성하는 4가지 경로는 G, H, I와 J가 있었으며, J의 경우 근육의 대사능력과 사후 대사속도가 정상으로 육질변이 및 단백질 변성에 영향을 미치지 않았으며 전체 RFN육 대부분(67.8%)을 차지하는 일반적인 정상육이라고 할 수 있다. H의 경우에는 근육의 혐기적 대사능력이 강한 것으로 분석되었지만 사후 대사속도는 정상을 나타냈으며 최종 육질과 단백질 변성정도도 정상이었으며 RFN육 중 23.1% 차지하였다.

본 연구의 결과를 종합적으로 분석하여 이상돈육의 발생원인을 정리하면 다음과 같다. (1) 근섬유 type IIB fiber 조성의 증가는 PSE 및 RSE 육에서 나타나는 사후대사의 가속화 현상을 설명하는 변수로 활용가능하다. (2) Late developing PSE 및 RSE육의 발생은 사후 초기 높은 glycogen 함량 및 사후대사의 범위로 설명 가능하다. (3) RSE육은 경증의 PSE육으로 판단되며 근육 pH 및 단백질 변성이 더 심화될 경우 PSE육으로 전환될 수 있다. (4) RSE육 발생의 또 다른 기전은 단백질 변성 외에 최종 pH 저하에 의한 myofilament lattice 공간의 감소에 의한 보수성 저하로 설명될 수 있다. (5) 이상돈육의 발생은 사후 대사속도와 대사범위뿐 아니라, 근육을 구성하는 단백질 및 각 단백질의 변성민감도의 차이에 의해 설명될 수 있다. (6) 육질의 변이는 근섬유 조성과 같은 내인성 요인과 도축 전후 외부적 요인의 상호작용에 의해 결정되는 종합적인 현상이다.

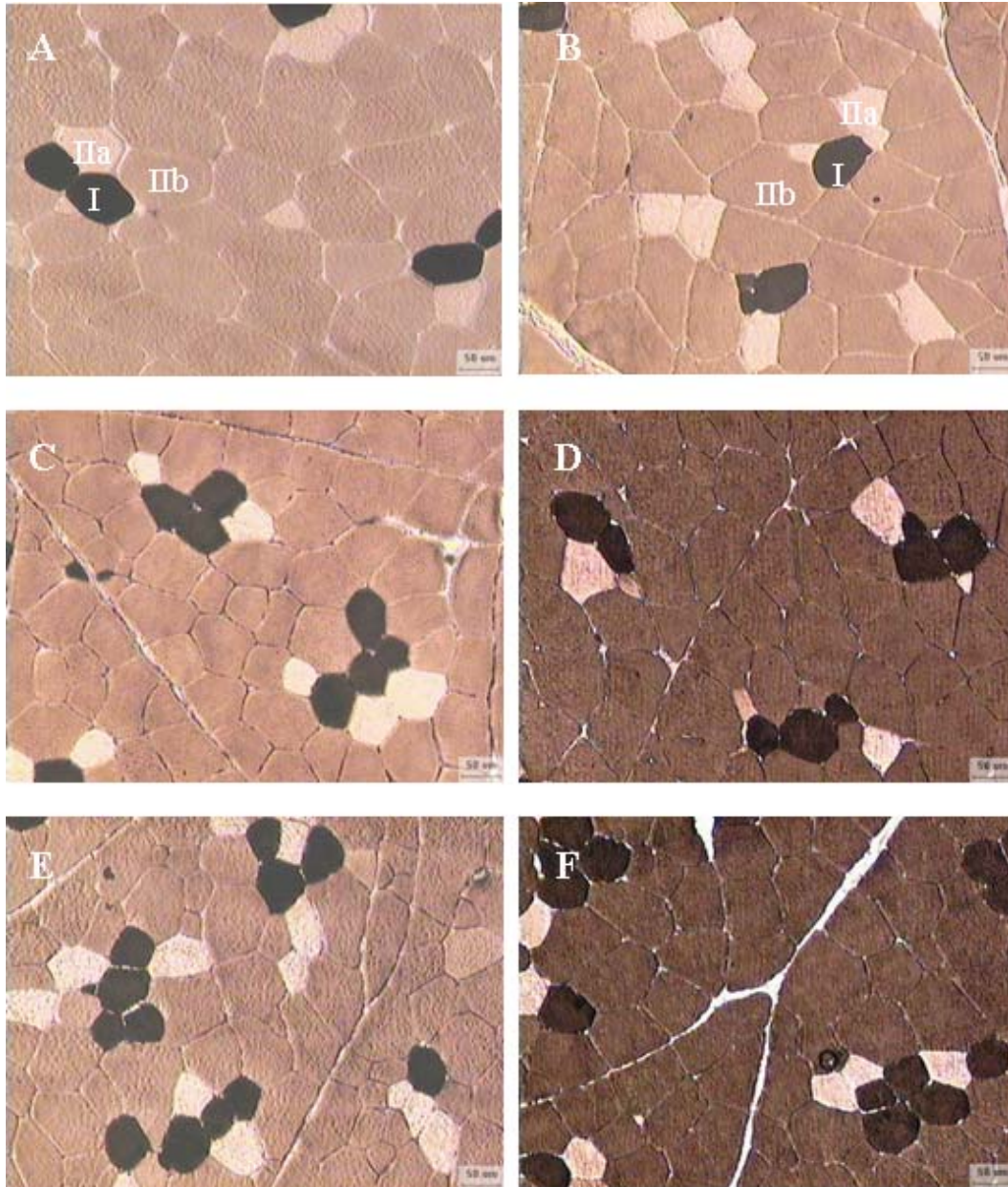


Figure 3-3. Serial sections of *longissimus thoracis* muscle, stained for mATPase activity after acidic preincubation at pH 4.7. Magnification of 100 was used (Bar = 50 μ m). Abbreviations: I, type I fiber (slow-twitch, oxidative); Ia, type IIa fiber (fast-twitch, oxido-glycolytic); Ib, type IIb fiber (fast-twitch, glycolytic). (A, B) muscle samples containing high ratio of type IIb fiber; (C, D) muscle samples containing intermediate ratio of type IIb fiber; (E, F) muscle samples containing high ratio of type I fiber.

Case	Metabolic property of muscle	Postmortem Metabolic rate	Quality classes	45 min PM				24 hr PM					Percentage	
				L*	SPS	TPS	MPS	PD	pH	SPS	TPS	MPS		NPIIb
A	More glycolytic	Fast	PSE (17.3%)	●	●	●	●		●	●	●	●	●	69.2 (11.9)
		Normal						●	●	●	●		●	12.8 (2.2)
	Less glycolytic									●	●			18.0 (3.1)
B	More glycolytic	Fast	RSE (19.5%)	●		●	●			●	●	●	●	18.2 (3.5)
		Normal						●					●	25.0 (4.9)
	Less glycolytic							●	●					56.8 (11.1)
C	More glycolytic	Fast	RFN (63.2%)		●									2.8 (1.8)
		Normal			●									23.1 (14.6)
	Less glycolytic	Fast												6.3 (4.0)
		Normal												67.8 (42.9)

Figure 3-4. General conclusions on the formation of undesirable pork. Abbreviations: L*, lightness; SPS, sarcoplasmic protein solubility; TPS, total protein solubility; MPS, myofibrillar protein solubility; PD, muscle pH difference between pH_{45min} and pH_{24hr}; NPIIb, number percentage of type IIB fiber.

표지유전자와 산육형질 및 근육의 조직학적 특성을 이용하여 적육 생산능력 및 돈육질 modeling을 실시하였다(Figure 3-5). 제1세부과제에서 제시한 Myf-6와 MG5' 유전자좌위의 haplotype은 BBTC(14.4%), BBCC(52.5%), ABTC(12.7%), ABCC(20.4%) 유전자형으로 나타났다. BBTC 유전자형을 가진 개체는 근섬유가 많은 군집일 확률이 50%였으며, 다른 유전자형에 비해 근섬유 수가 높은 것으로 나타났다. BBCC 유전자형은 대부분 근섬유 수가 적은 low 군집이었으며(73%), ABCC 유전자형의 경우 71%가 근섬유 수가 적은 low 군집으로 나타났다. 근섬유 수가 적은 군집은 대부분 근육량도 작다고 분석되어, 근섬유 수가 근육량에 영향을 미쳤다고 판단된다. 하지만 근섬유수가 적으면서 근육량은 많은 군집인 경우가 존재하였는데, 이는 근섬유의 수 보다는 근섬유 크기에 의한 육량증대라고 판단된다. 따라서 적육 생산능력 증진에 있어 근섬유 수와 크기 모두 고려해야 된다고 사료된다. BBTC 유전자형의 경우 성장특성에서 다른 유전자형에 비해 등심근 단면적이 큰 경향을 나타냈으며, 총 근섬유 수도 다른 유전자형에 비해 높게 나타났다. 이러한 BBTC 유전자형의 특성은 high-heavy(HH) 군집의 특성과 일치하며, 분석 결과 BBTC 유전자형을 가진 개체는 대부분 이러한 특성을 지니고 있었다. 근섬유 수가 많고 근육량이 우수한 BBTC 유전자형은 다른 유전자형에 비해 근육의 명도는 유의적인 차이를 나타내지 않았고, 유리 육즙량이 높았으나 정상육 수준에서 벗어나지 않는 수치를 나타냈다. HH 군집의 경우도 이와 유사하게 명도에서는 다른 군집과 유의적인 차이를 나타내지 않았으며, 유리 육즙량은 다른 군집에 비해 높은 수치를 나타냈지만 정상육 수준인 $2 < \text{drip loss} < 6\%$ 를 넘지 않는 수치를 나타냈다.

이상의 결과를 종합하여 분석해보면 표지유전자 Myf-6와 MG5'의 haplotype은 성장특성 및 근육의 육량증대에 영향을 미쳤다고 판단되며, 특히 haplotype인 BBTC 유전자형은 근섬유 특성에 있어 근섬유의 크기보다는 수적인 증가에 영향을 미쳐 근육 생산 및 산육량 증대에 영향을 미쳤지만 돈육질 변이에는 관여하지 않아 육질이 향상된 적육형 돈육생산에 적합한 haplotype으로 판단된다.

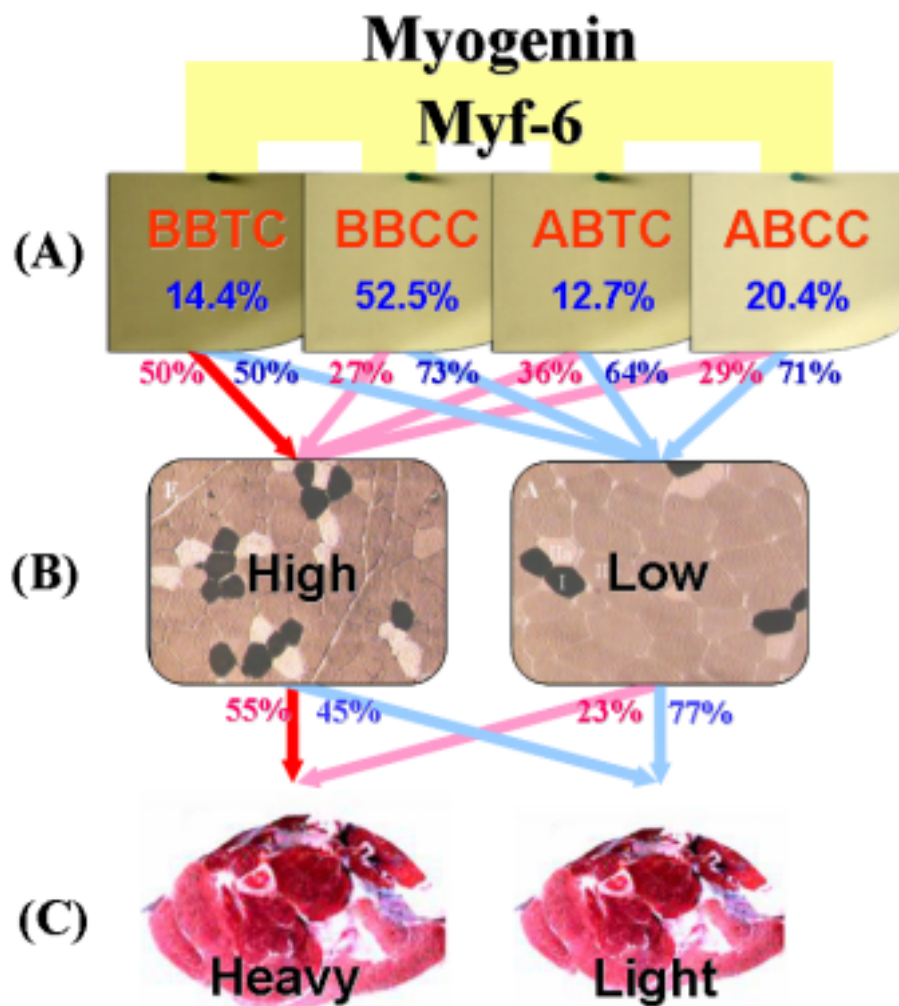


Figure 3-5. Effect of myogenin and Myf-6 on muscle fiber number and muscle mass. A, haplotypes of myogenin 5' promoter region and Myf-6 intron 1 region single nucleotide polymorphism; B, pigs categorized by the total number of fibers; C, pigs categorized by the muscle mass.

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 1 절. 목표달성도

구 분	연구개발 목표와 평가 착안 사항	연구개발 목표의 달성도	관련분야 기여도
1차년도 (2003)	(제1세부과제) ◎ 근섬유 발달 관련 유전자 및 그들의 발현 profile 분석 · Internet을 통한 후보유전자 탐색 및 정보확보 · 유전자 및 유전자 발현 profile분석 · 상호간의 상관관계 분석	100	크다
	(제2세부과제) ◎ 실험개체군의 근육성장관련 형질 분석 · 실험군의 산육능력 관련 형질분포 분석 · 성장 특성에 따른 근섬유 수 및 크기 분석 · 근육성장조직학적 특성과 최종 도체품질과의 상관관계	100	매우 크다
	(제3세부과제) ◎ 근육성장관련 형질의 이화학적 특성 분석 · 최종 도축 후 도체특성 및 육질분포 분석 · 근육의 조직학적 특성 분석 · 근육의 이화학적 변이분석	100	매우 크다

구 분	연구개발 목표와 평가 착안 사항	연구개발 목표의 달성도	관련분야 기여도
2차년도 (2004)	<p>(제1세부과제)</p> <p>◎ 표지유전자 cloning</p> <ul style="list-style-type: none"> · TDGS를 이용한 유전자 수준에서의 특이성 및 다양성 규명 · 후보유전자 cloning 	50	보통
	<p>(제2세부과제)</p> <p>◎ 표지유전자에 따른 근육성장 및 조직학적 발달분석</p> <ul style="list-style-type: none"> · 유전자 다형성 분포 조사 · 유전자 다형성과 근육성장 및 조직발달평가 항목과의 상관분석 · 산육형질 관련 표지유전자 선발 	100	매우 크다
	<p>(제3세부과제)</p> <p>◎ 근육분화형질을 이용한 돈육질 변이요인 탐색</p> <ul style="list-style-type: none"> · 근육분화형질에 따른 근육의 조직학적/대사적 변이 분석 · 근육의 이화학적 특성을 이용한 돈육질 변이요인 탐색 · 산육형질 및 돈육질 변이 관련 생체요인 탐색 	100	매우 크다

구 분	연구개발 목표와 평가 착안 사항	연구개발 목표의 달성도	관련분야 기여도
3차년도 (2005)	(제1세부과제) ◎ 유전자의 염기서열 분석 · 유전자 염기서열 분석 · 중간 및 개체간의 특이성 탐색 · 표지유전자형 탐색용 진단기법 개발	100	매우 크다
	(제2세부과제) ◎ 표지유전자의 실용화 및 검증 · 복합 표지유전자로서의 실용화 검증 · 표지유전자의 활용성 분석	100	매우 크다
	(제3세부과제) ◎ 산육량 증가와 돈육질 변이간의 연관성 분석 및 작용기전 규명 · 도축 전·후의 대사변이 요인 규명 · 표지유전자 실용화에 따른 육질변이 검증 · 근육의 조직학적/이화학적 특성을 이용한 돈육질 modeling	100	매우 크다
최종평가	표지유전자형 탐색용 진단기법 개발	100	매우 크다
	산육량 관련 표지유전자의 실용화 검증	100	매우 크다
	산육량 변이에 따른 근육내 이화학적 특성 및 돈육질 변이 분석	100	매우 크다

제 2 절. 관련분야에의 기여도

가. 기술적 측면

- 돼지 육종학 분야의 양적형질 분석방법 제시
- 돼지의 근섬유 발달 및 분화에 대한 분자유전학적 이해 및 유전자 자원 확보
- 돼지의 genome에 대한 기능적 이해 및 응용
- 표지유전자 개발로 인한 돈육의 양적형질 육종 방법 정립
- 고품질 돈육 생산 기반 확보
- 근육 단백질 생산 잠재력 증대를 통한 사료효율 개선
- 돼지 유전자원의 독점화 가능성 제시
- 개체선발방법의 단순화 및 후대능력 예측방법의 신뢰도 제고
- 학문적·기술적 국제경쟁력의 우위 선점
- 학제간 협동체제의 확립에 의한 연구의 질적 향상

나. 경제 · 산업적 측면

- 산육량 증대에 따른 양돈산업의 생산비 절감 및 수익성 증대
- 독점지식 및 기술력 확보에 의한 국내 양돈산업의 부가가치 제고
- 종돈의 수입비용의 절감
- 경쟁력 향상에 의한 양돈산업의 활성화
- 양돈산업의 국제경쟁력 확보에 의한 시장의 다양화
- 연관산업의 창조

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

본 과제에서 실시한 표지유전자에 따른 성장특성 및 근육의 육량증대 연구 결과, MG5'와 Myf-6의 haplotype은 돼지의 성장특성 및 근육의 육량증대에 영향을 미쳤다고 판단되며, 특히 haplotype인 BBTC 유전자형은 근섬유 특성에 있어 수적인 증가에 영향을 미쳐 근육생산 및 산육량 증대에 영향을 미쳤다고 판단되며, 돈육질 변이에는 관여하지 않아 육질이 향상된 적육형 돈육생산에 적합한 haplotype으로 판단된다.

하지만 근섬유수가 적으면서 근육량은 많은 경우가 존재하였는데, 이는 근섬유의 수보다는 근섬유 크기에 의한 육량증대라고 판단된다. 따라서 적육 생산능력 증진에 있어 근섬유 수와 크기 모두 고려해야 된다고 판단되며, 적육 생산증대에 있어 근섬유 수와 더불어 **근섬유 크기에 영향을 미치는 표지유전자 탐색 및 검증이 필요**하다고 판단된다.

근육의 조직학적 특성인 근섬유 수와 크기는 근육의 생산능력의 지표로 이용가능하며, 근육의 대사적/이화학적 특성을 나타내는 근섬유 조성은 사후 대사변이 및 육질변이에 영향을 미치는 것으로 분석되어 표지유전자 실용화 구축에 있어 중요 지표로 사용하였다. 하지만 근섬유의 특성은 근섬유가 지니고 있는 단백질에 의해 특성이 결정되어진다. 근섬유 특성에 영향을 미치는 단백질로는 myosin, actin, tropinin 등 여러 가지 단백질등이 존재하며, 특히 myosin isoform 조성에 영향을 받아 특성이 결정되어진다. 이와 같이 근섬유의 대사적/이화학적 특성을 보다 정확히 분석하려면 단백질의 특성분석이 뒤따라야 한다고 판단되며, 이를 위해서는 **proteomics 기법을 이용한 육질변이 관련 단백질의 정확한 profile 분석이 필요**하다. 이러한 근육 단백질의 proteomics 기법에 대한 국내 및 국제 연구는 아직 미흡하며 근육식품 품질에 대한 연구는 도입단계이다. 따라서 본 연구과제에서 확립된 근섬유의 조직화학적 분석기법과 더불어 proteomics 기법을 이용한다면 육질변이에 영향을 미치는 근육의 대사적 특성을 단백질 단위에서 보다 정확하게 분석가능 할 것으로 사료되며 이상육의 발현 기작을 밝힐 수 있을거라 판단된다.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

저 자	년 도	내 용	출 처
kunei 등	2005	Frequency distribution of a Cys430Ser polymorphism in peroxisome proliferator - activated receptor-gamma coactivator -1 (PPARGC1) gene sequence in Chinese and Western pig breeds.	J Anim Breed Genet 122:7-11.
Apple 등	2005	Effects of dietary magnesium and short-duration transportation on stress response, postmortem muscle metabolism, and meat quality of finishing swine.	J Anim Sci 83:1633-45.
Pan 등	2005	Analysis of gene expression information in the fat and muscle tissues of pig	Yi Chuan Xue Bao. 32:264-74.
Kim 등	2005	Joint analysis of two breed cross populations in pigs to improve detection and characterization of quantitative trait loci.	J Anim Sci 83:1299-40.
Zang 등	2005	Studies on carcass and meat quality performance of crossbred pigs with graded proportions of Laiwu Black genes	Yi Chuan. 27:65-9.
Amills 등	2005	Polymorphism of the pig 2,4-dienoyl CoA reductase 1 gene(DECRI) and its association with carcass and meat quality traits.	J Anim Sci. 83:493-8.
Nii 등	2005	Quantitative trait loci mapping for meat quality an muscle fiber traits in a Japanese wild boar x Large White intercross.	J Anim Sci. 83:308-15.

저 자	년 도	내 용	출 처
Kadarmideen 등	2004	Genetics of osteochondral disease and its relationship with meat quality and quantity, growth, and feed conversion traits in pigs.	J Anim Sci. 82:3118-27.
Tu RJ 등	2004	Sequencing analysis on partial translated region of uncoupling protein-3 gene and single nucleotide polymorphism associations with the porcine carcass and meat quality traits.	Yi Chuan Xue Bao. 31:807-12.
Serenius 등	2004	Genetic associations of prolificacy with performance, carcass, meat quality, and leg conformation traits in the Finnish Landrace and Large White pig populations.	J Anim Sci. 82:2301-6.
Thomsen 등	2004	Characterization of quantitative trait loci for growth and meat quality in a cross between commercial breeds of swine.	J Anim Sci. 82:2213-28
Suzuki 등	2004	Genetic correlation between serum insulin-like growth factor-1 concentration and performance and meat quality traits in Duroc pigs.	J Anim Sci. 82:994-9
Nissen 등	2004	Within-litter variation in muscle fiber characteristics, pig performance, and meat quality traits.	J Anim Sci. 82:414-21
Gentry 등	2004	Environmental effects on pig performance, meat quality, and muscle characteristics.	J Anim Sci. 82:209-17

제 7 장. 참 고 문 헌

Adelstein, R. S., and E. Eisenber. 1980. Regulation and kinetics of the actin-myosin-ATP interaction. *Annu. Rev. Biochem.* 49:921.

Ann Soumillion, J., Erkens, H.F., Johannes, A., Lenstra, A., Rettenberger, G., Marinus, F.W. and te Pas, G. (1997) Genetic variation in the porcine myogenin gene locus. *Mammalian Genome* 8:564-568.

Asghar, A. and A. R. Bhatti. 1987. Endogenous proteolytic enzymes in skeletal muscle: Their significance in muscle physiology and during postmortem aging events in carcasses. *Adv. Food Res.* 31:343.

Baker, D. M., and R. M. Santer. 1990. Development of a quantitative histochemical method for determination of succinate dehydrogenase activity in autonomic neurons and its application to the study of aging in the autonomic nervous system. *J. Histochem. Cytochem.* 38:525-531.

Barton-Gade, P. 1981. The measurement of meat quality in pigs post mortem. Page 359 in Froysten, T., Slinde, E., Standal, N. Ed. *Porcine Stress and Meat Quality - Causes and Possible Solutions to the Problems*, Agricultural Food Research Society, As, Norway,

Bechtel, P. J. 1986. Muscle development and contractile proteins. Page 2-35 in *Muscle as Food*. Bechtel, P. J., Ed. Orlando, Fla.: Academic Press.

Bendall, J. R., and H. J. Swatland. 1988. A review of the relationships of pH with physical aspects of pork quality. *Meat Sci.* 24:85-126.

Bottinelli, R., M. Canepari, C. Reggiani, and G. J. M. Stienen. 1994. Myofibrillar ATPase activity during isometric contraction and isomyosin composition in rat single skinned muscle fibres. *J. Physiol. (Lond.)* 481:663-675.

Braun, T., Bober, E., Buschhausen-Denker, G., Kotz, S., Grezeschik, K.H. and Arnold, H. (1989) Differential expression of myogenic determination genes in muscle cells: possible autoactivation by the Myf gene products. *EMBO J.* 8:3617-3625.

- Brooke, M. H., and K. K. Kaiser. 1970. Three myosin adenosine triphosphatase system: the nature of their pH liability and sulphhydryl dependence. *J. Histochem. Cytochem.* 18:670–672.
- Calkins, C. R., T. R. Dutson, G. C. Smith, and Z. L. Carpenter. 1982. Concentration of creatine phosphate, adenine nucleotides and their derivatives in electrically stimulated and nonstimulated beef muscle. *J. Food Sci.* 47:1350–1353.
- Chang, K. C., N. Da Costa, R. Blackley, O. Southwood, G. Evans, G. Plastow, J. D. Wood, and R. I. Richardson. 2003. Relationships of myosin heavy chain fibre types to meat quality traits in traditional and modern pigs. *Meat Sci.* 64:93–103.
- Chikuni, K., R. Tanabe, S. Muroya, and I. Nakajima. 2001. Differences in molecular structure among the porcine myosin heavy chain -2a, -2x, and -2b isoforms. *Meat Sci.* 57:311–317.
- Close, R. I. 1967. Properties of motor units in fast and slow skeletal muscles of the rat. *J. Physiol. (Lond.)* 193:45–55.
- Cooper, C. C., R. G. Cassens, L. L. Kastenschmidt, and E. J. Briskey. 1970. Histochemical characterisation of muscle differentiation. *Dev. Biol.* 23:169–184.
- Coppieters, W., Van de Weghe, A., Peelman, L., Depicker, A., Van Zeveren, A. and Bouquet, Y. (1993) Characterization of porcine polymorphic microsatellite loci. *Anim Genet* 24:163–170.
- Davis, R.L., Weintraub H. and Lassar, A.B. (1987) Expression of a single transfected cDNA converts fibroblasts to myoblast. *Cell* 51:987–1000.
- Depreux, F. F. S., A. L. Grant, and D. E. Gerrard. 2002. Influence of halothane genotype and body-weight on myosin heavy chain composition in pig muscle as related to meat quality. *Livest. Prod. Sci.* 73:265–273.
- Depreux, F. F. S., C. S. Okamura, D. R. Swartz, A. L. Grant, A. M. Brandstetter, and D. E. Gerrard. 2000. Quantification of myosin heavy chain isoform in porcine muscle using an enzyme-linked immunosorbent assay. *Meat Sci.* 56:261–269.

Duxson, M.J. and Usson, Y. (1989) Cellular insertion of primary and secondary myotubes in embryonic rat muscles. *Development*(Cambridge, England) 107:243–251.

Dwyer C.M. and Stickland, N.C. (1991) Sources of variation in myofibre number within and between litters of pigs. *Anim. Prod.* 52:527–533.

Eggert, J. M., F. F. S. Depreux, A. P. Schinckel, A. L. Grant, and D. E. Gerrard. 2002. Myosin heavy chain isoforms account for variation in pork quality. *Meat Sci.* 61:117–126.

Ernst C.W., Vake, D.A., Larson, R.G. and Rothschild, M.F. (1993) Rapid communication: *Msp* I restriction fragment length polymorphism at the swine MYOG locus. *J. Anim. Sci.* 71:3479

Essen-Gustavsson, B., and S. Fjelkner-Modig. 1985. Skeletal muscle characteristics in different breeds of pigs in relation to sensory properties of meat. *Meat Sci.* 13:33–47.

Essen-Gustavsson, B., Karlsson, A., Lundstrom, K. and Enfalt, A.C. (1994) Intramuscular fat and muscle fibre lipid contents in halothane-gene-free pigs fed high or low protein diets and its relation to meat quality. *Meat Science* 38:269–277

Fernandez, X., L. Lefaucheur, and M. Candek. 1995. Comparative study of two classifications of muscle fibres: Consequences for the photometric determination of glycogen according to fibre type in red and white muscle of the pig. *Meat Sci.* 41:225–235.

Fritz, J. D., D. R. Swartz, and M. L. Greaser. 1989. Factors affecting molecular-weight myofibrillar proteins. *Anal. Biochem.* 180:205–210.

Fry, A. C., C. A. Allemeier, and R. S. Staron. 1994. Correlation between percentage fiber type area myosin heavy chain content in human skeletal muscle. *Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.* 68:246–251.

Gentry, J. G., J. J. McGlone, J. R. Blanton Jr, and M. G. Miller. 2002. Impact of

spontaneous exercise on performance, meat quality, and muscle fiber characteristics of growing/finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 80:2833–2839.

Gil, M., M. A. Oliver, M. Gispert, A. Diestre, A. A. Sosnicki, A. Lacoste, and D. Carrion. 2003. The relationship between pig genetics, myosin heavy chain I, biochemical traits and quality of *M. longissimus thoracis*. *Meat Sci.* 65:1063–1070.

Gispert, M., L. Faucitano, M. A. Oliver, M. D. Guardia, C. Coll, K. Siggens, K. Harvey, and A. Diestre. 2000. A survey of pre-slaughter conditions, halothane gene frequency, and carcass and meat quality in five Spanish pig commercial abattoirs. *Meat Sci.* 55:97–106.

Gorza, L. 1990. Identification of a novel type 2 fibre population in mammalian skeletal muscle by combined use of histochemical myosin ATPase and anti-myosin monoclonal antibodies. *J. Histochem. Cytochem.* 38:257–265.

Hamalainen, N., and D. Pette. 1993. The histochemical profiles of fast fiber IIB, IID, and IIA in skeletal muscles of mouse, rat and rabbit. *J. Histochem. Cytochem.* 41:733–743.

Hammelman, J. E., B. C. Bowker, A. L. Grant, J. C. Forrest, A. P. Schinckel, and D. E. Gerrard. 2003. Early postmortem electrical stimulation simulates PSE pork development. *Meat Sci.* 63:69–77.

Handel, S.E. and Stickland, N.C. (1987) The effects of low birthweight on the ultrastructural development of two myofibre types in the pig. *J Anat.* 150:129–143

Hocquette, J. F., I. Ortigues-Marty, D. Pethick, P. Herpin, and X. Fernandez. 1998. Nutritional and hormonal regulation of energy metabolism in skeletal muscles of meat-producing animals. *Livest. Prod. Sci.* 56:115–143.

Honikel, K. O. 1987. Influence of chilling on meat quality attributes of fast glycolysing pork muscles. Page 273–283 in *Evaluation and Control of Meat Quality of Pigs*. P. V. Tarrant, G. Eikelenboom, G., Monin, Ed. Martinus Nijhof Publishers.

Honikel, K. O. and C. Fischer. 1977. A rapid method for the detection of PSE and

DFD porcine muscle. *J. Food Sci.* 42:1633–1636.

Huff-Lonergan, E., T. J. Bass, M. Malek, J. C. M. Dekkers, K. Prusa, and M. F. Rothschild. 2002. Correlations among selected pork quality traits. *J. Anim. Sci.* 80:607–627.

Joo, S. T., R. G. Kauffman, B. C. Kim, and C. J. Kim. 1995. The relationship between color and water holding capacity in postrigor porcine longissimus muscle. *J. Muscle Foods.* 6:211–226.

Joo, S. T., R. G. Kauffman, B. C. Kim, and G. B. Park. 1999. The relationship of sarcoplasmic and myofibrillar protein solubility to colour and water-holding capacity in porcine longissimus muscle. *Meat Sci.* 52:291–297.

Karlsson, A. H., R. E. Klont, and X. Fernandez. 1999. Skeletal muscle fibres as factors for pork quality. *Livest. Prod. Sci.* 60:255–269.

Karlsson, A., A. C. Enfalt, B. Essen-Gustavsson, K. Lundstrom, L. Rydhmer, and S. Stern. 1993. Muscle histochemical and biochemical properties in relation to meat quality during selection for increased lean tissue growth rate in pigs. *J. Anim. Sci.* 71:930–938.

Karlsson, A., Essen-Gustavsson, B. and Lundstrom, K. (1994) Muscle glycogen depletion pattern in halothane-gene-free pigs at slaughter and its relation to meat quality. *Meat Science* 38:91-101.

Kauffman, R. G., G. Eikelenboom, P. G. Van der Wal, B. G. Merkus, and M. Zaar. 1986. The use of filter paper to estimate drip loss of porcine musculature. *Meat Sci.* 18:191–200.

Kiessling, K. H., and I. Hansson. 1983. Fiber composition and enzyme activities in pig muscles. *Swedish J. Agric. Res.* 13, 257.

Klont, R. E., E. Lambooy, and von J. G. Logtestijn. 1993. Effect of pre-slaughter anaesthesia. *J. Anim. Sci.* 71:1477–1485.

Klont, R. E., L. Brocks, and G. Eikelenboom. 1998. Muscle fibre type and meat

quality. *Meat Sci.* 49:S219–S229.

Klont, R.E., Eikelenboom, G. and Brocks, L. (1998) Muscle fiber type and meat quality. In: *Proc. 44th Int. Congr. MeatSci. Tech., Barcelona, L9*, pp. 98-105.

Koh, K. C., T. D. Binder, K. W. McMilland, and K. W. Kim. 1993. The relationship between ATP and R-values in postmortem bovine longissimus dorsi muscle. *Meat Sci.* 19:207.

Larzul, C., L. Lefaucheur, P. Ecolan, J. Gogue, A. Talmant, P. Sellier, P. Le Roy, and G. Monin. 1997. Phenotypic and genetic parameters for longissimus muscle fiber characteristics in relation to growth, carcass and meat quality traits in Large White pigs. *J. Anim. Sci.* 75:3126–3137.

Lind, A., and D. Kernell. 1991. Myofibrillar ATPase histochemistry of rat skeletal muscle: A "Two-dimensional" quantitative approach. *J. Histochem. Cytochem.* 39:589–597.

Luff, A.R. and Goldspink, G. (1967) Large and Small muscles. *Life Sci.* 6:1821-1826.

Lundstrom, K., B. Essen-Gustavsson, M. Rundgren, I. Edfors-Lilja, and G. Malmfors. 1989. Effect of halothane genotype on muscle metabolism at slaughter and it's relationship with meat quality: A within-litter comparison. *Meat Sci.* 25:251–263.

Maltin, C. A., H. L. Sinclair, P. D. Warriss, C. M. Grant, A. D. Porter, M. I. Delday, and C. C. Warkup. 1998. The effects of age at slaughter, genotype and finishing system on the biochemical properties, muscle fibre type characteristics and eating quality of bull beef from suckled calves. *J. Anim. Sci.* 66:341–348.

Miner, J.H., Wold, B. and Brocks, L. (1990) Herculin, a fourth member of the MyoD family of myogenic regulatory genes. *Proc. Natl.Acad. Sci. USA.* 87, p. 1089-1093.

Monin, G., A. Mejenes-Quijano, and A. Talmant. 1987. Influence of breed and muscle metabolic type on glycolytic potential and meat pH in pigs. *Meat Sci.*

20:149–158.

Monin, G., and A. Ouali. 1991. Muscle differentiation and meat quality. *Dev. Meat Sci.* 5:89–157.

Moody, W. G., and R. G. Cassens. 1968. Histochemical differentiation of red and white muscle fibers. *J. Anim. Sci.* 27:961–968.

Offer, G. 1991. Modelling of the formation of pale, soft, and exudative meat: effects of chilling regime and rate and extent of glycolysis. *Meat Sci.* 30:157–184.

Oksbjerg, N., Henckel, P. and Rolph, T. (1994) Effects of salbutamol, a β_2 -adrenergic agonist, on muscles of growing pigs fed different levels of dietary protein. I. Muscle fibre properties and muscle protein accretion. *Acta Agric. Scand., Scet. J. Anim. Sci.* 44:12.

Ozawa, S., T. Mitsuhashi, M. Mitsumoto, S. Matsumoto, N. Itoh, K. Itagaki, Y. Kohno, and T. Dohgo. 2000. The characteristics of muscle fiber types of longissimus thoracis muscle and their influences on the quantity and quality of meat from Japanese Black steers. *Meat Sci.* 54:65–70.

Pearson, A. M. and R. B. Young. 1989. *Muscle and meat biochemistry*. San Diego, CA: Academic Press.

Peter, J. B., R. J. Barnard, V. R. Edgerton, C. A. Gillespie, and K. E. Stempel. 1972. Metabolic profiles of three fiber types of skeletal muscle in guinea pigs and rabbits. *Biochem.* 11:2627–2633.

Petersen, J. S., P. Henckel, H. Maribo, N. Oksbjerg, and M. T. Sorensen. 1997. Muscle metabolic traits, postmortem pH decline and meat quality in pigs subjected to regular physical training and spontaneous activity. *Meat Sci.* 46:259–275.

Pette, D. and Staron, R.S. (1990) Cellular and molecular diversities of mammalian skeletal muscle fibers. *Reviews in Physiology, Biochemistry and Pharmacology* 116:1–76.

Pette, D., and R. S. Staron. 1990. Cellular and molecular diversities of mammalian

skeletal muscle fibers. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* 116:1–76.

Pette, D., and R. S. Staron. 1997. Mammalian skeletal muscle fiber type transitions. *Int. Rev. Cytol.* 170:143–223.

Pette, D., and R. S. Staron. 2000. Myosin isoforms, muscle fiber types, and transitions. *Microsc. Res. Tech.* 50:500–509.

Rahelic, S., and S. Puac. 1981. Fiber types in longissimus dorsi from wild and highly selected pig breeds. *Meat Sci.* 5:439–450.

Rehfeldt, C., I. Fiedler, G. Dietl, and K. Ender. 2000. Myogenesis and postnatal skeletal muscle cell growth as influenced by selection. *Livest. Prod. Sci.* 66:177–188.

Reiser, P. J., R. L. Moss, G. G. Giulian, and M. L. Greaser. 1985. Shortening velocity in single fibers from adult rabbit soleus muscles is correlated with myosin heavy chain composition. *J. Biol. Chem.* 260:9077–9080.

Ruusunen, M. and Puolanne, E. (1997) Comparison of histochemical properties of different pig breeds. *Meat Science* 45:119–125.

Ryu, Y. C., and B. C. KIM. 2005. The relationship between muscle fiber characteristics, postmortem metabolic rate, and meat quality of pig longissimus dorsi muscle. *Meat Sci.* 71, 351–357.

Ryu, Y. C., M. S. RHEE, and B. C. KIM. 2004. Estimation of correlation coefficients between histological parameters and carcass traits of pig longissimus dorsi muscle. *Asian–Aust. J. Anim. Sci.* 17, 428–433.

SAS Institute. 2001. SAS user's guide, version 8.2. Cary, NC: SAS Institute.

Schiaffino, S., and C. Reggiani. 1996. Molecular diversity of myofibrillar proteins: Gene regulation and functional significance. *Physiol. Rev.* 76:371–423.

Sellier, P., and G. Monin. 1994. Genetics of pig meat quality, a review. *J. Muscle Foods* 5:187–219.

Serra, X., M. Gil, M. Gispert, L. Guerrero, M. A. Oliver, C. Sanudo, M. M. Campo, B. Panea, J. L. Olleta, R. Quintanilla, and J. Piedrafita. Characterisation of young bulls of the Bruna dels Pirineus cattle breed (selected from old Brown Swiss) in relation to carcass, meat quality and biochemical traits. 2004. *Meat Sci.* 66:425–436

Sorensen, M. T., N. Okasbjerg, N. Agergaard, and J. S. Petersen. 1996. Tissue deposition rates in relation to muscle fibre and fat cell characteristics in lean female pigs (*Sus Scrofa*) following treatment with porcine growth hormone (pGH). *Comp. Biochem. Physiol.* 113A:91–96.

Sorensen, M.T., Okasbjerg, N., Agergaard, N. and Petersen, J.S. (1996) Tissue deposition rates in relation to muscle fibre and fat cell characteristics in lean female pigs (*Sus Scrofa*) following treatment with porcine growth hormone (pGH). *Comparative Biochemistry and Physiology* 113A:91-96.

Staron, R.S., D. Pette. 1987b. Correlation between myofibrillar ATPase activity and myosin heavy chain composition in rabbit muscle fibers. *Histochemistry.* 86(1):19–23.

Staun, H. (1972) The nutritional and genetic influence on number and size of muscle fibres and their response to carcass quality in pigs. *World Rev. Anim. Prod.* 3:18-25.

Warner, R. D., R. G. Kauffman and M. L. Greaser. 1997. Muscle protein changes post mortem in relation to pork quality traits. *Meat Sci.* 45:339–352.

Wigmore, P.M.C. and Stickland, N.C. (1983) Muscle development in large and small pig fetuses. *J. Anat.* 137:235-245.

Wright, W.E., Sassoon, D.A. and Lin, V.K. (1989) MYOG, a factor regulating myogenesis, has a domain homologous to MyoD. *Cell* 56:607-617

Yates, L. D., and M. L. Greaser. 1983. Quantitative determination of myosin and actin in rabbit skeletal muscle. *J. Mol. Bio.* 168:123–141.