발 간 등 록 번 호
11-1541000-001497-01

한우 육량·육질 조기 선발용 DNA Kit 산업화 기술 개발

Development of a DNA Kit for selection on growth and meat quality at early stages in Hanwoo

충북대학교 산학협력단

농 림 수 산 식 품 부

제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “한우 육량·육질 조기 선발용 DNA Kit 산업화 기술 개발” 연구과제의 보고서로 제출합니다.

제1세부과제: 한우집단 조성, 개량 평가 및 산업 시스템 구축
제2세부과제: 한우 육량 육질 형질에 대한 분자유전학적 특성 분석
제1협동과제: 한우유전체에서 통계유전학적 분석을 이용한 DNA 마커 발굴
제2협동과제: 대규모 SNP genotyping을 통한 형질 관련 SNP contents 발굴

2012 년 10 월 10 일

주관연구기관명 : 충북대학교
주관연구책임자 : 김 내 수
세부연구책임자 : 김 내 수
세부연구책임자 : 김 관 석
협동연구기관명 : 영남대학교
협동연구책임자 : 김 종 주
협동연구기관명 : SNP Genetics
협동연구책임자 : 박 병 래

요 약 문

Ⅰ. 제 목: 한우 육량·육질 조기 선발용 DNA Kit 산업화 기술 개발

Ⅱ. 연구개발의 목적 및 필요성

최종 목표: 농가현장에서 이용 가능한 우수한 육량 및 육질의 비육밑소와 번식밑소 조기 선발용 DNA Kit 산업화 기술개발.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

1단계: 한우 분자육종을 위한 집단 조성 및 분자표지 마커의 대량 발굴 및 분석
- 혈통정보, DNA, 육량·육질 형질 관측치를 가진 600두 규모의 한우시험 축군조성
- 시험축군에서 한우 유용 대량 SNP 발굴 및 SNP를 이용한 정밀지도 작성
- 형질 관련 QTL 탐색 위한 전 게놈 검색 및 후보유전자 기능연구

2단계: 시험 축군에서 발굴된 DNA 마커들을 대규모 한우 실용집단에서 검증
- 약 4,000두 규모의 실용집단을 대상으로 발굴된 DNA 마커 효과의 평가 및 검증
- 마커 유전자형과 마커보정 육종가를 조합한 분자육종선발 (MAS) 프로그램 개발
- MAS에 의한 육량·육질 조기 평가 정보제공

3단계: DNA Kit 개발 및 산업화
- 농가현장에서 비육 및 번식 밑소에 대한 조기선발용 DNA Kit 개발 및 산업화

Ⅳ. 연구개발결과

1) 한우 육량·육질 관련 SNP 마커발굴 및 유전체 선발을 위한 집단을 구축하였고 마커도움선발/유전체정보를 이용한 유전능력평가 프로그램을 개발하였음.
2) 한우유전체 서열을 해독/활용하여 육량과 육질에 대한 후보유전자를 규명하였음
3) 한우전장연관분석을 수행하여 육량과 육질에 영향을 주는 SNP 마커를 개발하여, 고급육과 관련된 우수한 종축과 비육밑소를 조기에 선발할 수 있는 마커도움선발(MAS) 체계를 확립하였고, 마커도움선발반응을 평가하였음.
4) 한우전장연관분석을 위하여 Illumina 50K SNP chip을 서산 후대검정우 600두에 분석하였고, 추가적으로 후대검정우 1,200여두, 상용집단 1,600여두에 대하여 192개 SNP마커조합 및 SNP 96 마커 조합분석을 통하여 육량육질 마커 55개 SNP를 최종 발굴하여, 최종적으로 한우 육량육질 조기선발용 DNA(SNP) kit를 제작하였음.

Ⅴ. 연구성과 및 성과활용 계획

1) 한우 유전체서열 해독 및 기능분석 결과는 한우의 모든 분자유전·육종 및 산업적 활용에 근간이 되는 유전원천정보이므로, 추후 한우유전체 연구 사업을 수행하는데 기반정보로 DB화 하여 공유할 예정임.
2) 한우 종모우와 우량 암소 조기 선발에 활용될 수 있는 육량육질 DNA(SNP) kit를 제작하여 국가 한우 개량 및 검정사업에 활용할 계획임.
3) 종축개량협회와 지역한우협회가 참여하고 있는 국가 암소검정사업 프로그램에 본 연구결과 개발된 육량육질 DNA(SNP) kit를 보급하여 우량암소의 정확한 선발에 보조도구로 활용할 수 있도록 할 예정임.
4) 개발된 유전체선발 프로그램을 활용하여 농협중앙회 한우개량사업의 종모우선발을 위한 후대검정에 있어서 유전체 육종가를 추정할 수 있도록 하여서, 한우개량의 정확성을 높일 수 있도록 할 예정임.

SUMMARY
(영문요약문)

I. Title: Development of a DNA Kit for selection on growth and meat quality at early stages in Hanwoo

II. Introduction and Goal of Study

Goal of study: Development of technology of DNA kit for carcass and meat quality for pre-selection of genetically superior steers and cows that is applied in efficient Hanwoo production.

III. Contents of Study

Phase I: Construction of Hanwoo reference population for molecular breeding and development and analysis of high-throughput molecular markers

- Construction of Hanwoo reference population (N=600) with information of pedigree, DNA and phenotypes of carcass and meat quality.
- Development of lots of available SNPs and construction of high density SNP maps in the Hanwoo reference population.
- Genome-wise association (GWAS) analysis for QTL detection and functional study of the candidate genes that are related to carcass and meat quality.

Phase II : Cross-validation of the SNP markers for carcass and meat quality in Hanwoo commercial population

- Evaluation and cross-validation of the SNP markers for carcass and meat quality in large commercial Hanwoo population (N=4,000).
- Development of marker-assisted selection (MAS) program that combined marker genotypes and marker-adjusted breeding values.
- Evaluation of MAS analysis when applied in pre-selection stage.

IV. Research and Development Outcomes

1) Constructed Hanwoo reference population for SNP detection and genomic selection of carcass and meat quality in Hanwoo, and developed genetic evaluation programs that were combined with marker-assisted selection and genomic information.
2) Characterized candidate genes for carcass and meat quality through Hanwoo genome analysis.
3) Developed SNP markers for carcass and meat quality through GWAS analyses and

established MAS system for pre-selection of genetically superior sires and steers, and evaluated MAS response.

4) The Illumina 50K SNP chips were applied in the Seosan elite candidate sires and steers (N=600) for WGAS analysis for carcass and meat quality, and additional samples from the Seoson population (N=1,200) and Hanwoo commercial populations (N=1,600) were used to genotype the 192 and 96 SNP sets to finalize a set of 55 SNP markers that are used for construction of the DNA (SNP) kit for the pre-selection of Hanwoos with high quality in carcass and meat quality.

V. Proposals on Practical Application

1) The results from Hanwoo genome analysis, which is genetic resource for molecular breeding and application in Hanwoo industry, will be shared with other Hanwoo genome research programs.
2) The SNP kit for carcass and meat quality will be constructed to select superior Hanwoo sires at an early stage through the application of Hanwoo sires testing program.
3) The SNP kit for carcass and meat quality will be also applied to select superior Hanwoo cows at an early stage through National Hanwoo cow testing program.
4) The Genomic Selection (GS) program will be applied in Hanwoo elite sires through Hanwoo Improvement Program in Nonghyup to get more reliable accuracy of genomic EBV in the progeny testing.

CONTENTS
(영 문 목 차)

Chapter I. Introduction

Part 1. Rationale ····· 11
1. Economic aspect ····· 11
2. Industry aspect ····· 11
3. Technology aspect ····· 12

Part 2. Research Objectives ····· 13
1. Goal of research and main research contents ····· 13

Part 3. specific contents of project ····· 14
1. Prediction of genomic breeding value for carcass traits of Hanwoo using SNP information ····· 14
2. Molecular Genetic Characterization of Growth and Beef quality in Hanwoo ····· 15
3. Discovery of DNA Markers in Hanwoo Genome by Statistical Genetics Analysis ····· 16
4. Discovery of SNP Contents for Carcass and Meat Quality through High throughput SNP Genotyping ····· 17

Chapter 2. Current trend in the technology development of Research

Part 1. Current Trend Within Korea and Across the World ····· 18
1. Research trend in genomic selection ····· 18
2. Research trend in molecular genetics ····· 21

Chapter 3. Result

Part 1. Construction of Hanwoo Population, Evaluation and Establishment of Industry System ····· 23
1. Reference population for Hanwoo improvement evaluation ····· 23
2. Data collection for genomic selection ····· 28
3. Genomic selection ····· 33

Part 2. Molecular Genetic Characterization of Growth and Beef quality in Hanwoo ····· 47
1. Association study between carcass traits and functional candidate genes ····· 47
2. Gene study on unsaturated fatty acid in Hanwoo meat ····· 53
3. Association study of FASN gene with unsaturated fatty acid in candiate sires and cows ····· 58

4. Test on the effect of SNP of ACACA gene on carcass and meat quality in Hanwoo progeny test and commercial population ····· 65
5. Test on the interaction effect of SNPs of FASN and ACACA genes on carcass and meat quality in Hanwoo commercial population ····· 67
6. Discovery of DNA variants that are available for carcass and meat quality in bovine QTL regions ····· 70
7. Characterization of available SNPs in Hanwoo in comparative QTL regions in Japanese Wagyu cattle ····· 81
8. Candidate gene study on milk production in Hanwoo cows ····· 89
9. Discovery of large amount of SNPs by genome analysis in Hanwoo ····· 91
10. Development of high throughput SNP analysis system using 3M SNPs in Hanwoo ····· 94
11. Analysis of causal genes on the SNP region for carcass and meat quality by GWAS analysis ····· 97

Part 3. Discovery of DNA Markers in Hanwoo Genome by Statistical Genetics Analysis ····· 103
1. Discovery of available SNPs, LD analysis and Hapmaps construction ····· 103
2. Detection of SNPs for carcass and meat quality though high-throughput SNP chips in reference population ····· 108
3. Detection and validation of SNPs for carcass and meat quality in commercial populations ····· 121

Part 4. Discovery of SNP Contents for Carcass and Meat Quality through High-throughput SNP Genotyping ····· 144
1. Materials and methods ····· 144
2. Results ····· 155

Chapter 4. Achievement of goal and contribution to the research field ····· 201

Chapter 5. Research product and plan of practical application
Part 1. Genome Sequence Analysis and Discovery of Available SNPs in Hanwoo ····· 207

Part 2. Development & Application of SNP Kit for Carcass and Meat Quality in Hanwoo ·· 209
1. Establishment of new paradigm by combing breeding and feeding practices by providing pre-genetic information ····· 209
2. Application of the SNP Kit for carcass and meat quality in national sire progeny test program in Hanwoo ····· 209
3. Application of the SNP Kit for carcass and meat quality in national dam testing

program in Hanwoo ····· 210
4. Program of carcass and meat quality breeding plan that is customized to Hanwoo beef brand or farmer's need ····· 210
5. Difficulties of transferring SNP technology into Hanwoo industry ····· 210

Part 3. Economic Impact of the Application of the SNP Marker for Carcass and Meat Quality in Hanwoo Industry ····· 211
1. National cow testing program ····· 211
2. National sire progeny test program and application strategies of the SNP kit for carcass and meat quality ····· 212
3. Multiple usability of the SNP kit for carcass and meat quality ····· 212

Part 4. Application of Genomic Selection ····· 213

Chapter 6. Science and technology information in other countries ····· 214

Chapter 7. References ····· 215

목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요

제1절 연구개발의 필요성 ····· 11
1. 경제적 측면 ····· 11
2. 산업적 측면 ····· 11
3. 기술적 측면 ····· 12

제2절 연구의 목표 ····· 13
1. 연구개발의 최종목표 및 주요내용 ····· 13

제3절 세부과제별 연구 수행 내용 ····· 14
1. SNP 정보를 이용하여 도체 형질에 대한 한우의 유전체 육종가 추정 ····· 14
2. 한우 집단의 육량·육질 형질에 대한 분자유전학적 특성 분석 ····· 15
3. 한우 유전체에서 통계유전학적 분석을 이용한 DNA마커 발굴 ····· 16
4. 한우 경제 형질 연관 SNP contents 발굴을 위한 대규모 SNP scanning 및 validation study ····· 17

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제1절 국내외 현황 ····· 18
1. 유전체 선발에 대한 연구 현황 ····· 18
2. 분자유전을 활용한 연구 현황 ····· 21

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제1절 한우집단 조성, 개량 평가 및 산업 시스템 구축 ····· 23
1. 한우 개량 평가를 위한 시험 집단 ····· 23
2. 유전체 선발을 위한 자료 구축 ····· 28
3. 유전체 선발 ····· 33

제2절 한우집단의 육량 및 육질에 대한 분자유전학적 특성 분석 ····· 47
1. 기능성 후보유전자와 도체형질과의 연관성 분석 ····· 47
2. 한우 고기 내 불포화지방산 함량관련 유전자 연구 ····· 53
3. 불포화지방산 강화 FASN 유전자 변이의 후보종모우와 암소 선발 효과 검증 ····· 58
4. 한우 후대검정우 및 상업집단에서 Acetyl-CoA Carboxylase-α (ACACA) 유전자의 단일염기 변이가 육량 및 육질에 미치는 영향 검증 ····· 65
5. FASN 과 ACACA 유전자들 내의 단일염기변이간의 상호작용효과를 통해 상업집단의 육량 및 육질에 미치는 영향을 검증 ····· 67

6. 보고된 소 QTL부위의 육량 및 육질 유용 DNA 변이 개발 및 이용 ····· 70
7. 일본화우의 QTL 영역 데이터를 비교 이용하여 한우의 중요한 SNP 들의 규명 ····· 81
8. 한우암소의 산유량 생산 관련 후보후전자 연구 ····· 89
9. 한우 유전체 분석을 이용한 대량 SNP 발굴 ····· 91
10. 한우 유전체에서 확보된 3M SNP를 이용한 대용량 SNP 분석시스템 개발 ····· 94
11. GWAS 분석에서 발굴된 육량육질 SNP좌위 원인 유전자 분석 ····· 97
제3절 한우유전체에서 통계유전학적 분석을 이용한 DNA 마커 발굴 ····· 103
1. 한우집단에서 유용 SNP발굴, 연관불균형 조사 및 Hapmap 구성 ····· 103
2. 시험집단에서 대용량 SNP chip을 이용하여 육량육질과 관련된 SNP 대량 발굴 ····· 108
3. 상용집단에서 육량육질과 관련된 SNP 검정 및 최종 육량육질 SNP 마커 발굴 ····· 121
4. 발굴된 육량·육질 SNP 마커를 보정한 분자육종가 추정 및 선발반응 평가 ····· 139

제4절 대규모 SNP genotyping을 통한 형질 관련 SNP contents 발굴 ····· 144
1. 연구개발 내용 및 방법 ····· 144
2. 연구개발 결과 ····· 155

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 ····· 201

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

제1절 한우 유전체 서열 해독 및 한우 유용 SNP 대량 발굴 ····· 207

제2절 한우 육량육질 SNP kit 개발 및 적용 ····· 209
1. 선 유전정보에 따른 적절한 사양정보를 제공하는 육종·사양을 조합한 새로운 패러다임 구축 ····· 209
2. 육량육질 SNP 마커를 국가 한우 종모우 검정사업에 활용 ····· 209
3. 육량육질 SNP 마커를 국가 암소 검정사업에 활용 ····· 210
4. 브랜드, 생산 농가 맞춤형 최적 육량육질 프로그램 제공 ····· 210
5. 한우 육량육질 SNP kit의 사업화 어려움 ····· 210

제3절 육량육질 SNP마커를 한우 산업에 적용할 경우 경제적 파급효과 ····· 211
1. 국가 암소 검정사업 ····· 211
2. 국가 후보종모우 선발에 적용 및 육량육질 SNP kit 적용전략 ····· 212
3. 육량육질 SNP kit의 다용도성 ····· 212

제4절 유전체 선발(Genomic selection) 적용 ····· 213

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 ····· 214

제 7 장 참고문헌 ····· 215

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 필요성

1. 경제적 측면

- ㅇ 한우 산업은 우리나라 전체 축산물 생산액의 30% 이상으로 경제적 부가가치가 높은 산업으로 농가 소득 및 농촌 경제에 주요 기간 산업임.
- ㅇ 최근 식문화의 서구화와 국민소득의 증가에 따라 동물성 식품의 비율이 우리들의 식단에서 더욱 높아지고 있는 추세이며 1990년대 1인당 육류 소비량을 살펴보면 1990년에 19.9kg이었던 것이 2000년에는 30.5kg으로 꾸준한 증가를 보이고 있으며 이 중 또한 쇠고기 소비량도 1990년에 4.1kg이던 것이, 2000년에는 8.4kg으로 증가되고 있음.
- ㅇ FTA, 미국산 쇠고기 및 외국 밑소 수입, 소비자들의 식품 안정성 및 고급육의 선호도 증가에 따른 한우의 국제 경쟁력 제고가 절실함.
- ㅇ 축산 선진국과 비교시 취약한 한우 산업의 구조 및 한우 개량 위한 후대검정 사업은 많은 시간, 인력 및 비용으로 인한 계량 효과의 한계가 나타남.
- ㅇ 한우의 효율적이고 지속적인 개량 및 농가소득 증대를 위해서는 유전체 기술 (DNA 마커)의 활용과 전통 개량 방법을 조합한 분자육종 기술 방법의 개발 및 적용이 필요함.

2. 산업적 측면

- ㅇ 기존의 한우 개량체계 및 전통적인 육종방법만으로는 고급육 관련 형질에 대한 유전적 개량효과가 매우 미흡하기 때문에 새로운 첨단기술을 이용한 비육밑소 및 번식밑소 선발이 절실히 요구됨.
- ㅇ 2004년도 한우 사육농가 설문조사 결과 조속해결 요구사안 과제로 “고급육 생산용 종축개량”을 지적 (농협).
- ㅇ 2005년 한우 농가 설문조사에서 한우 육종 개량 분야 현장 애로 사항중 하나로 육질 예측 DNA 검사를 요구하였음.
- ㅇ 최근의 시대적 변화속에서 한우의 개량으로 우수한 품종의 확보와 이를 통해 우수한 육우를 확보함으로써 축우의 경제적 부가가치를 높이는 것이 절실한 상황임.
- ㅇ 한우 개량효과를 분석한 결과 2000년 기준으로 육량 증대효과가 220억원, 한우 품질고급화에 따른 양축농가의 소득증대 효과가 810억원으로 연간 1,030억원 정도의 효과가 있는 것으로 조사됨. 그러나, 아직까지 1등급 이상의 고급육(지육 300kg 기준으로 고급육과 저급육의 가격 차이는 두당 150만원~ 200만원 수준) 출현율은 약 40% 수준에 머물러 있음.
- ㅇ FTA/DDA 협상 진행에 따른 한우사육농가의 불만을 해소시키기 위해 유용유전자 발굴에 의한 쇠고기품질 차별화 기술 조기 개발 및 한우 개량 육종 계획의 성과 강화.

3. 기술적 측면

○ 세계적으로 생명공학기술의 급속한 발전으로 인간게놈프로젝트 및 가축생산에 관련된 유전체학 분야의 급속한 발전으로 가축의 주요 경제형질에 관련된 유전자 기능을 구명하여 해당 유전자를 산업에 적용하는 사례가 축산 분야에 주요 관심사임.

○ 더욱이 2003년 소의 genome project가 시작된 이래 최근 99%이상의 완성도를 가진 유전정보를 이용할 수 있으며, International Bovine Hapmap Project가 진행중에 있어 이 결과를 바탕으로 우수한 한우 육량 및 육질을 판별할 수 있는 바이오 마커 개발 연구는 가속화될 것임.

○ 축산 선진국의 경우 육량·육질 관련 유전자를 발굴하기 위하여 지난 십수년간 막대한 예산을 투입하여 실용화 할 수 있는 DNA 마커들을 지속적으로 발굴해왔으며 이들에 대한 산업 재산권을 확보하여 후진국에 관련 시장의 독점화가 예측됨.

○ 이러한 국제적 연구 성과들을 바탕으로 농업선진국들은 단기간 내 유전적 개량효과를 얻기가 어려운 축우집단에서 경제형질과 관련된 표지유전자의 산업재산권을 확보하는 등 상업적 활용에 관한 경쟁이 치열하고 가까운 장래에 소 경제형질 분자유전학적 선발기술을 선진국들이 독점할 것으로 예측됨.

○ 그렇지만 비한우집단에서 검증된 DNA 마커가 유전적 배경이 다른 한우집단에서도 효과가 항상 나타나는 것은 아니며, 따라서 한우 집단을 직접 이용하여 한우 경제형질 관련 대량 마커들를 발굴하여 DNA Kit화 한 후, 한우산업에 적용할 경우 개량 효과를 기대 할 수 있음.

○ 국내 한우의 경우 분자육종에 의한 한우개량에 필수 조건인 육량·육질 관련 유전자 연구는 매우 미비하여 한우 농가에 실용화 할 제반 여건이 형성되지 못함.

○ 현재까지 한우개량에 대량마커 발굴 및 적용은 다음 조건들로 인하여 제약을 받아왔음: 1) 마커 발굴 및 적용에 적합한 축군의 부재, 2) 높은 마커 개발비 및 분석비용, 3) 낮은 밀도의 마커지도, 4) 소에 있어 전게놈상의 염기 서열화 및 기능이 밝혀진 유전자들 수의 미비, 5) 많은 유전자들과 환경변이들에 의해 조절되는 육량·육질 표현형 관련 QTL 유전적 구성의 복잡성.

○ 따라서 본 과제의 주요 연구사항은 형질 관련 DNA 마커 발굴을 위한 **1) 최적의 축군 조성**, **2) 대량 마커 발굴 및 정밀 마커지도 작성**, 및 **3) 적절한 통계 유전학적 기법**의 적용임. 하지만 제한된 연구기간 및 비용으로 형질 관련 다수의 유전자 마커들을 발굴하기는 불가능하며, 따라서 개량의 극대화를 위하여 기존 개량방법과 DNA 마커 효과를 조합한 **4) 분자 육종 기술** 개발이 요구됨.

제 2 절 연구의 목표

1. 연구개발의 최종목표 및 주요내용

최종 목표: 농가현장에서 이용 가능한 우수한 육량 및 육질의 비육밑소와 번식밑소 조기선발용 DNA Kit 산업화 기술개발

단계별 목표:

○ 1단계 (2007-2008): 한우 분자육종을 위한 집단 조성 및 분자표지 마커의 대량 발굴 및 분석
- 혈통정보, DNA, 육량·육질 형질 관측치를 가진 600두 규모의 한우 시험 축군 조성
- 시험축군에서 한우 유용 대량 SNP 발굴 및 SNP를 이용한 정밀지도 작성
- 형질 관련 QTL 탐색위한 전 게놈 검색 및 후보유전자 기능연구를 통한 형질 관련 SNP 대량 발굴

○ 2단계 (2008-2010): 시험 축군에서 발굴된 형질 관련 DNA 마커들을 대규모 한우 실용집단에서 검증
- 약 4,000두 규모의 실용집단을 대상으로 발굴된 DNA 마커 효과의 평가 및 검증
- DNA 마커 유전자형과 마커보정 육종가를 조합한 분자육종선발 (MAS) 프로그램 개발 및 적용
- MAS에 의한 육량·육질 조기 평가 및 맞춤형 사양 정보 제공

○ 3단계 (2010-2011): DNA Kit 개발 및 산업화
- 농가현장에서 비육 및 번식 밑소에 대한 조기 선발에 활용할 수 있는 DNA Kit 개발 및 산업화

○ 한우 경제형질 관련 DNA 마커 대량 발굴
- 경제형질 관련 유전자 발굴 위한 한우 시험 축군 조성, 혈액 채취, 성장, 초음파 및 도체성적 (지방산 조성 포함) 자료 수집 및 DB 구축
- 한우 유용 대량 SNP 마커 발굴 및 전 게놈상의 고밀도 지도 작성 (60kb 간격 haplotype map)
- 시험 집단에서 작성된 정밀지도를 바탕으로 연관 및 연관불균형 정보를 이용하여 전 게놈상에서 QTL 탐색 및 후보유전자 SNP 발굴
- 시험 집단에서 형질과 연관된 DNA 마커들의 효과를 대규모 실용 집단을 대상으로 평가 및 검증
- 기존에 다른 육우집단에서 발굴된 형질 관련 DNA 마커를 실용집단에 적용하여 마커 효용성 평가

○ DNA 마커를 조합한 분자육종선발 (MAS) 프로그램 개발, 적용, 평가 및 농가 적용 시스템 구축
- DNA 마커를 보정한 육종가 모델 개발, 적용 및 평가
- 집단간, 세대간, 형질변이가 큰 그룹간에 DNA 마커의 유전자 빈도 및 특성을 분석하여 마커를 보정한 MAS 개량효과 평가 및 효율적인 육종계획 수립
- 혈통과 표현형 정보에 근거한 고전 육종방법과 비교하여 MAS에 의한 개량효과 평가
- 한우 개체별 마커와 마커 보정 육종가 정보를 제공하고 고급육 생산 위한 맞춤형 사양 정보를 조기에 제공하기 위한 DB 구축

○ 비육 및 번식 밑소 조기선발에 활용할 수 있는 DNA Kit 개발 및 산업화
- 육량·육질에 관여하는 SNP contents중에서 DNA Kit 개발에 적합한 SNP 마커 선별
- 선별된 SNP 마커를 이용한 DNA Kit 개발 및 실용화 검증

제 3 절 세부과제별 연구수행 내용

1. SNP 정보를 이용하여 도체 형질에 대한 한우의 유전체 육종가 추정

○ 최종 목표 : 기존의 혈통과 도체 성적만을 이용하여 한우에 대한 유전 능력을 평가하는 전통적인 방법과 50k SNP chip을 이용한 유전체 선발(Genomic Selection)이라는 새로운 방법을 통하여 유전 능력을 추정하여 기존의 전통적인 방법과 비교함으로써 정확도 및 효율성을 알아보며, 개량 평가 시스템에 활용적인 측면을 알아보고자 함.

○ SNP 마커 효과를 추정을 통한 유전체 육종가

- 50k SNP chip 분석이 완료된 서산의 후대 검정우와 보증 종모우에 대하여 RR-BLUP(Ridge Regression BLUP) 방법을 이용하여 각각의 SNP 마커에 대한 효과를 추정함.

- 추정된 SNP 마커 효과를 이용하여 유전체 육종가(Genomic Breeding Value)를 추정하고, 두가지 cross validation 방법을 이용하여 정확도를 추정함. 10-Fold Cross Validation

가. 10 Fold Cross Validation

후대 검정우 489두 중에서 랜덤하게 440두(90%)를 reference set으로 선발하고, RR-BLUP 방법을 이용하여 35,944 SNP 마커와 고정효과를 동시에 추정한 후 validation set(49두)의 개체들의 표현형과 추정된 GEBV간의 상관으로 정확도를 추정함.

나. KPN Cross Validation

Reference set의 크기를 최대한으로 사용하기 위해서 도체 성적이 있는 후대 검정우 489두에 대하여 RR-BLUP 방법을 이용하여 각각의 SNP 마커의 효과를 추정하고, validation set으로는 SNP 유전자형 분석이 되어있는 보증 종모우 59두를 설정하고, 이에 대한 기존의 육종가(PBV)를 참 육종가(TBV)로 설정하여 정확도를 추정함.

○ 유전체 혈연 행렬을 이용한 유전체 육종가

- 기존의 전통적인 BLUP 방법의 혼합모형 정규 방정식에서 개체들의 혈연 행렬을 기존의 가계를 이용한 혈연 행렬에서 유전체 혈연 행렬로 대치하여 개체들의 유전체 육종가 및 정확도를 추정함.

- 정확도(r_{TI})는 참 육종가와 예측된 육종가간의 상관으로 정의되며, 추정하는 방법으로는 예측오차 분산(Prediction Error Variance)을 이용하여 추정함.

2. 한우 집단의 육량·육질 형질에 대한 분자유전학적 특성 분석

(1) 선행연구에서 발굴된 유전자의 검증

이미 선행된 연구에서 1)발굴된 육량 관련 다양한 후보유전자들에 대한 검증을 실시하고 2) 정확하고 산업적 가치가 있는 새로운 후보유전자와 유전좌위를 발굴하기 위해서 human과 mouse genome 으로부터 얻어진 근육발달과 에너지대사에 관연하는 유전자에 대한 정보를 활용하여 한우에서의 동일한 유전자에 대한 변이와 표현형과의 연관성을 분석하였고, 또한 다른 소품종에서의 대립유전자 빈도차이를 분석하였음

○ Angus와 Japanese Black cattle 에 대한 육량과 육질에 대한 연구결과를 활용하여 한우품종에서 동일한 유전자가 한우에서 육량과 육질에 대한 영향을 연구하였고, 한우품종에서의 대립유전자 빈도 및 새로운 유전자 변이에 대한 연구를 수행하였음

○ FASN 유전자는 한우, Angus, 일본화우 품종에서 불포화지방산가운데 올레인산의 함량을 증가시키는 DNA 변이를 가지고 있는데, 이러한 변이가 육량과 마블링에 미치는 영향을 분석하여, 한우품종의 개량수단으로 선발에 활용될 수 있는 평가를 수행하였음

○ ACACA 유전자는 일본화우에서 마블링에 영향을 주는 유전자로 보고되어, 동일한 지방산 대사기작에 있는 FASN 유전자와의 유전적 상호작용에 대한 연구를 수행하여, FASN과 ACACA 유전자의 변이들을 동시에 한우품종에서 DNA 도움선발의 효과를 분석하였음

(2) 소 품종간 비교유전체 정보를 통한 한우 경제형질 유전자 발굴

○ Illumina bovine 50K chip 유전자형 분석결과를 한우와 외국소 품종과의 비교를 통해 한우 특이적인 염색체 영역을 발굴하였고, 이러한 염색체 영역에서 한우의 산유량과 육량에서의 차이를 설명하는 유전좌위를 발굴하는데 활용하였음

○ 한우유전체에 대한 resequencing을 수행하여 기존 NCBI 데이터베이스에 보고되지 않았던 3백만개의 새로운 SNP들을 한우품종에서 발굴하였고, 이를 새로운 대용량 유전자형 분석기법개발에 활용하고, 또한 한우에서 발굴된 QTL 영역에서 원인유전자 및 변이를 발굴하였음

○ 한우염색체 14번에서 발굴된 도체중 QTL영역에 대한 한우염기서열과 후보유전자 탐색을 수행하여 원인유전자로써 PLAG1 유전자를 육량관련 원인유전자로 규명함

3. 한우 유전체에서 통계유전학적 분석을 이용한 DNA마커 발굴

(1) 한우집단에서 대용량 SNP들에 대한 연관불균형 조사 및 Hapmap 구성

○ 한우 유용 SNP 대량 발굴 및 연관지도 작성

- 임의 개체 45두에 대하여 Illumina bovine SNP chip (50k)을 이용하여 한우 유용 SNP를 대량 발굴하였음
- SNP의 효용성 기준에 (minor allele frequncy, genotype completeness (call rate, genotype-group)에 적절한 SNP 선택하여, SNP들간의 물리적/유전적 거리를 결정하였음

○ SNP들간의 연관불균형 조사 및 Hapmap 결정

- 임의 개체들의 유전자형을 근거로 haplotype 결정 및 연관불균형(LD) 측정방법을 이용한 LD 조사하였음
- fastPHASE program을 이용하여 45 개체들 전염색체에 대하여 haplotype을 결정하였고, SNP LD 측정에 적절한 r-square 방법으로 LD 측정하였음

○ 한우와 수입육 주요 품종간의 품종판별 위한 SNP 발굴

- 한우와 수입육 주요품종 시료 수집, DNA와 Illumina 50k chip을 이용한 대량 마커 genotyping 및 한우와 수입육간에 대립인자 빈도차이가 현저한 SNP 발굴하였음
- 미주리 주립대 Jerry Taylor 교수와 국제공동연구 수행으로 한우 및 수입육 주요품종(앵거스, 헤어포드, 샤롤레, 리무진, 시멘탈, 홀스타인)에 대하여 50K chip genotyping을 수행하였고 한우와 대립인자 빈도차이가 현저한 SNP를 대량 발굴하였음

(2) 시험축군에서 대용량 SNP chip을 이용하여 육량·육질과 관련된 SNP 대량 발굴

○ 연관/연관불균형 정보를 이용한 전 염색체상에서 육량·육질과 관련된 SNP(QTL) 탐색

- 시험축군에 이용할 반형매집단 선정, DNA, 육량육질 형질측정, Illumina 50k chip으로 genotyping 및 형질과 SNP들 간에 연관분석을 수행하였음
- 서산한우개량사업소 후대검정우집단에서 반형매 가계 구조를 가진 거세우 497두를 선별하여 DNA와 육량·육질 7개형질 및 체형·체측 10개형질의 기록치를 이용하여 Chip genotyping을 실시하였고 형질과 5.4만개 SNP들 간의 연관분석을 수행하였음

(3) 시험축군에서 발굴되어진 육량·육질 SNP들의 상용집단에서 연관분석을 통한 효과 검증

○ 시험축군에서 발굴한 육량육질 관련 192여개 SNP를 1차 상용축군에 적용하였음

○ 1차 실용축군에서 검증된 SNP들과 추가로 선별한 96 SNP set를 2차 상용축군에 적용하였음

○ 시험 및 상용집단에서 검증된 최종 육량육질 48 SNP set 발굴하였음

(4) 육량·육질 SNP 마커를 보정한 분자 육종가 추정 및 선발반응 평가

○ 실용축군에서 DNA 마커를 보정한 EPD 추정 방법 (MAS) 개발 및 적용하였음

○ 세대당 DNA 마커효과에 대한 선발 반응 평가를 수행하였음

4. 한우 경제 형질 연관 SNP contents 발굴을 위한 대규모 SNP scanning 및 validation study

(1) ISAG marker를 활용한 친자감별 및 혈통확인

○ ISAG 9개 marker를 활용하여 정읍한우, 경북대 클러스터 사업에서 확보한 한우집단을 포함 종모우 39두와 거세우 1741 두 등 총 1780두에 대한 친자감별 및 혈통확인을 수행하였음. 일반농가에서 수집한 한우 집단에서 친자감별 실패 비율은 40%로 예상보다 매우 높은 비율로 친자관계가 아닌 한우를 사육하는 것으로 확인되었음

(2) 육량 육질 관련 candidate gene-association study

○ Whole-genome SNP typing과 병행하여 수행한 candidate gene approach 연구를 통해 micromolar calcium-activated neutral protease gene (micro-calpain, CAPN1) 유전자의 한우 경제형질과의 연관성이 확인하였음

(3) 육량 육질 관련 Genome-wide SNP scanning

○ 1~2차 년도에 수행된 정읍한우 및 경북클러스터 한우 등 총 132두 및 서산 가축개량소에서 제공한 556두의 종모우 및 거세우 등 총 688두의 한우에 대한 whole-genome SNP genotyping을 수행하여 총 37,152,688 genotype data를 확보하였음

(4) GWAS를 통해 선별된 후보 contents의 genotyping

○ 제 1 협동과제에서 QTL 분석 및 stepwise analysis 등을 통해 경제형질 판별에 가장 적합하다고 판단되는 조합을 broad 하게 선별하여 총 192개를 선별하여 SNP scanning을 수행한 결과, 173개의 SNP가 genotyping에 성공하여 90.1%의 SNP success rate을 나타내었음. 총 1,920 두의 한우 가운데 1,888두에서 실험에 성공하여 98.33%의 실험 성공률을 나타내었음. 확보된 자료는 통계분석을 위해 제 1 협동과제로 전달되었음

(5) 1차 validation assay를 통해 선별된 2차 contents의 genotyping assay

○ 제 1 협동연구기관에서 1차 validation assay를 통해 확인된 173개의 SNP 들로부터 다양한 통계분석을 통해 총 96개의 SNP를 선별하였으며, 사용시료로는 서산 가축개량소에서 수령한 종모우 및 후대검정우 381두, 지역 농협 420 두 및 한능평 159두 등 총 960두의 한우 시료를 신규 수령하여 사용하였음

(6) 암소에 대한 Genome-wide SNP scanning

○ 죽암암소 96두에서 수행된 chip scanning 결과 평균 call rate은 99.987%로 매우 우수한 양질의 genotype data를 확보하였으며, 추출된 죽암 암소의 genome-wide scanning data는 제1협동 연구기관으로 전달되어 경제형질 연관 분석을 수행하였음

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1 절 국내외 현황

1. 유전체 선발에 대한 연구 현황

○ 유전체 선발에 관련되어 선형과 비선형 방법으로 나뉘어 많은 발전을 이루었으며, 전통적인 육종 방법보다 더욱 높은 정확도로 육종가를 추정할 수 있다는 가능성을 최근 외국의 연구 동향을 통하여 알 수 있다. 아래의 <표 2-1-1>에서는 실제 표현형 자료를 가지고, 다양한 축종과 참조 집단(reference population)의 크기와 분석 방법 별로 여러 형질들에 대하여 추정된 유전체 육종가 정확도를 나타내었다.

<표 2-1-1>. Ranges of accuracies(reliabilities) for GEBV across traits for various sizes of the reference population

Author	Breed	Size Reference Population	Method	Range of Accuracy (Reliability)
Harris et. al. (2008)	Holstein	4,500	GBLUP Bayes A,B	50%~67%
Hayes et. al. (2009a)	Holstein	332~637	GBLUP Bayes A	14%~55%
De Roos (2009)	Netherland dairy cattle	1,583	Gibbs Sampling	52%~82%
Hayes et. al. (2009b)	Holstein Jersey	781 287	GBLUP Bayes A Bayes SSVS	42%~82%
VanRaden et. al. (2009)	Holstein	5,335	GBLUP Non-linearA,B	44%~79%
Verbyla et. al. (2009)	Australian Holstein - Friesian	1,098	BayesBLUP Bayes A Bayes SSVS	54%~74%
Rolf et. al. (2010)	Angus	2,405	GBLUP (using GRM)	23%~44%
Forni et. al. (2011)	Porcine	1,989	GBLUP (using GRM)	28%~66%

○ Harris 등(2008)은 IlluminaSNP50 bovine chip을 이용하여(44,146 SNP 마커) 총 4,500두의 후대 검정한 수소의 집단에 대하여 유전체 육종가를 추정하고 유전체 육종가의 신뢰도를 혼합 정규 방정식의 역행렬을 이용하여 추정하였다. 표현형 자료가 없는 후보 종모우의 산유량에 대한 유전체 육종가의 신뢰도는 50~67%정도로 추정하였으며, 수태율과 체세포수와 장수성 등에 대한 신뢰도는 전통적인 BLUP을 이용하여 추정된 것보다 평균 34%정도 상승된 것으로 보고하였다.

○ Hayes 등(2009a)이 IlluminaSNP50 bovine chip을 이용하여 1998년부터 2003년 사이에 태어난 Holstein 수소 798두와 그의 자손들에 대한 유전체 분석 결과를 가지고 선형과 비선형 방법을 모두 이용하여 유전체 육종가를 추정하고 기존의 전통 BLUP 방법으로 추정된 육종가와 비교 분석 하였다. 1998년부터 2002년 사이에 태어난 개체들을 참조 집단(Reference Population)으로 설정하고 마지막 2003년에 태어난 개체들을 검정 집단(Validation Population)으로 설정하여 유전체 육종가 및 신뢰도를 추정하였다. 신뢰도는 참 육종가(TBV, True Breeding Value)를 알지 못하는 관계로 기존의 전통 BLUP 방법을 이용하여 추정한 육종가(EBV)와 유전체 정보를 이용하여 추정된 유전체 육종가(GEBV)간의 상관계수를 기존의 육종가 정확도로 나누어서 추정하는 방법을 이용하였다. 우선 선형 방법을 이용하여 추정된 유전체 육종가는 측정된 모든 형질(호주 선발 지수, 순위, 유단백량, 단백질 함량(%) 및 수태율)에 대하여 전통적인 방법으로 추정된 육종가의 신뢰도보다 2~17% 정도 상승된 것으로 보고하였으며, 비선형 방법(Bayes A)으로 추정된 유전체 육종가의 신뢰도는 선형 방법을 이용하여 추정된 유전체 육종가의 신뢰도보다 수태율의 경우를 제외하고 나머지 형질들에 대하여 2~13% 정도 상승된 결과를 나타낸다고 보고하였다.

○ Hayes 등(2009a)의 리뷰 논문에서 네덜란드의 유전체 선발에 대한 연구를 수행하는 CRV 기관의 De Roos(2009)가 보고한 결과를 살펴보면, 자체 제작된 60K SNP Beadchip을 이용하여 참조 집단으로 총 1,583두에 대한 유전체 분석 결과를 가지고 깁스 샘플링 방법을 이용하여 SNP 마커의 효과를 추정하였다. 정확도를 추정을 위하여 1999년부터 2003년 사이에 태어난 429두 중에서 5%를 임의로 참조 집단에서 추출하여 검정 집단으로 설정하여 정확도를 추정하였다. 비선형 방법을 이용하여 추정된 유전체 육종가 정확도가 부모의 평균을 통하여 추정된 육종가 정확도보다 유지율, 유단백량, 지제, 유방 깊이와 체세포 점수 그리고 수태율의 형질에서 각각 33%, 19%, 15%, 13% 그리고 9% 높은 것으로 보고하였다.

○ Hayes 등(2009b)은 Holstein과 Jersey 두 집단에 대하여 각각 참조 집단을 781두와 287두로

설정하고 검정 집단을 400두와 77두로 설정하여 IlluminaSNP50 bovine chip을 이용하여 설정된 집단 내의 개체들에 대한 유전체 분석 결과를 가지고 선형과 비선형 방법을 모두 이용하여 유전체 육종가를 추정하였다. 유전체 혈연 행렬을 이용하여 혼합모형방정식으로부터 추정된 유전체 육종가의 경우는 예측오차분산(PEV)을 이용한 역행렬로 정확도를 추정하는 방법(expected accuracy)을 이용하였다. Hayes 등(2009a)에서 이용된 정확도 추정 방법(realized accuracy)과 비교할 경우 Holstein과 Jersey 두 종에 대하여 각각 측정된 모든 형질(유단백량, 유지방량, 유단백 함량(%), 유지방 함량(%) 그리고 유량)에 대하여 평균적으로 8%와 1%의 상승을 나타내었다. 또한 비선형 방법(Bayes A, Bayes_SSVS)과 선형 방법 간에 추정된 유전체 육종가 정확도를 비교하였을 때 Holstein의 경우는 지방 함량에 대한 형질만이 비선형 방법으로 추정된 유전체 육종가 정확도가 높았으며 다른 형질은 비슷한 수준을 나타내었다. Jersey의 경우는 측정된 모든 형질에 대하여 평균 7% 정도 선형 방법으로 추정된 유전체 육종가 정확도가 높은 것으로 보고하였다.

○ VanRaden 등(2009)은 IlluminaSNP50 bovine chip을 이용하여 참조 집단으로 1952년부터 1998년 사이에 태어난 Holestein 수소 3,576두를 검정 집단으로는 1999년부터 2002년 사이에 태어난 홀스타인 수소 1,759두를 이용하여 총 5,335두에 대한 유전체 분석 결과 가지고 유전체 혈연 행렬을 이용한 선형 방법과 비선형 방법을 이용하여 추정된 육종가를 비교하였다. 모든 27개의 형질에 대하여 기존의 전통적인 BLUP에 의한 육종가의 신뢰도는 27% 수준으로 추정되었으며, 선형과 비선형 방법으로 추정된 유전체 육종가의 신뢰도는 각각 49%와 50%로 추정되어 26~27% 정도의 신뢰도 차이를 나타낸다고 보고하였다.

○ Verbyla 등(2009)은 IlluminaSNP50 bovine chip을 이용하여 참조 집단으로 1,940년부터 2,000년 사이에 태어난 Australian Holstein-Friesian 수소 1,098두 검정 집단으로는 2005년부터 2007년 사이에 태어난 수소 400두를 이용하였다. 비선형 방법(Bayes_SSVS)으로 추정된 유전체 육종가 정확도가 선형 방법으로 추정된 유전체 육종가 정확도보다 유단백량은 1.9% 낮았으며, 유단백 함량(%), 유지방 함량(%) 그리고 수태율의 경우는 각각 1.3%, 9.4%와 0.2% 높게 추정하였으며, 이러한 결과와 마찬가지로 전체 분산에서 큰 비중을 차지하는 양적형질 좌위가 존재하지 않을 경우에는 선형 예측 방법이 비선형 예측 방법과 비슷하거나 약간 높게 추정된다고 보고하였다.

○ Rolf 등(2010)은 Angus 수소 2,405두로부터 평균 하루 사료 섭취량(Average daily feed intake)과 사료 섭취 후 잔량(Residual feed intake)에 대한 자료를 측정하여 표현형 자료로 이

용하였으며, 유전체 혈연 행렬을 추정하여 유전체 육종가를 추정하는 방법을 이용하여 기존의 가계 기반의 혈연 행렬(NRM)을 이용하여 추정된 육종가간의 정확도를 비교하였다. 사료 섭취 후 잔량에 대하여 추정된 유전체 육종가의 정확도 평균이 기존의 전통 BLUP 방법을 이용하여 추정된 육종가 정확도 평균에 비하여 아비 집단에서는 1%, 아비의 자식들의 집단에서는 3%정도 하락한다고 보고하였으며, 평균 하루 사료 섭취량에 대해서는 아비와 자식들의 집단에서 모두 추정된 육종가 정확도 평균이 3%정도 상승한다고 보고하였다.

○ Forni 등(2011)은 Illumina PorcineSNP50 BaedChip을 이용하여 돼지 1,989두의 유전체 혈연 행렬을 추정하였으며, 복당 산자 수 형질에 대한 유전체 육종가를 추정하였다. 전통 BLUP 방법을 이용하여 추정된 육종가 정확도와 비교하여 암컷 1,919두의 경우는 유전체 육종가 정확도가 6%~27% 정도 상승 되었으며, 수컷 70두의 경우는 1%~4% 정도 상승 되었다고 보고하였다.

2. 분자유전을 활용한 연구 현황

○ 한우의 표지 유전자 발굴을 위한 연구가 단편적으로 추진되어 오다가 바이오그린21 사업을 통해 본격적인 경제형질 관련 마커의 개발이 5년 전부터 시작되었으나 경험 부족과 연구비 부족 및 bovine genome project가 최근에 마무리됨에 따른 제한된 연구 환경 여건 등으로 경제형질 관련 DNA마커들은 극히 일부만 보고되는 등 산업적 활용을 위한 마커 개발이 미비한 실정임.

○ 한우가 가진 양적 경제 형질들에 대한 분자유전학적 연구를 위해서는 표현형의 수집과 혈통관계가 명확한 집단이 조성되어야 하는데, 지금까지 농림기술개발과제와 바이오그린 21 사업들은 1) 정확한 혈통정보의 부재, 2) 선행 연구결과의 제약성, 즉 1차적으로 탐색된 QTL 정보 부재, 3)사업비 제한으로 인한 정밀지도 작성 미비 및 대량 후보유전자 정보 부족으로 산업적으로 활용하는 육량 육질 관련 DNA마커 발굴은 미비한 실정임.

○ International Bovine HapMap Project: 농업선진국(미국, 영국, 호주 등)들의 주도아래 경제형질관련 대량 DNA 마커 발굴을 위한 선행조건으로 정밀지도작성을 위한 1) 대량의 SNP 마커 발굴, 2) 주요 품종별 유용한 SNP 발굴 (품종당 최소 2만개 이상), 3) common haplotype 특성 구명, 4) 마커간의 연관불균형(LD) 측정에 관한 연구를 2004년부터 시행하고 있음. 특히 본 과제와 연구 진행이 유사하게 되고 있는 미국 미조리 대학 Jerry Taylor 교수팀의 주

요 과제인 ‘Characterization of 50,000 SNPs and development of high-throughut assays for linkage and linkage disequilibrium mapping in cattle’에서 육우품종에 유용한 대량의 SNP마커 발굴되었음.

○ - 미국 미조리 대학 Jerry Taylor 교수팀에서 대규모 상용축군 앵거스 집단 (N>3,500)을 이용하여 염색체별로 마블링을 포함한 도체 형질관련 원인유전자 양적형질 염기치환 (quantitative trait nucleotide: QTN) 구명을 위한 연구를 수행하였음.

○ - 미국 네브라스카주 소재 USDA MARC(육우연구센터), NCBA (미국육우생산자협회) 및 주요 7개 주립대가 공동으로 수행하고 있는 DNA 마커발굴위한 도체형질과제를 1998년부터 수행하여 주요 14개 육우 품종에 대하여 도체형질관련 마커발굴 및 MAS 프로그램 개발에 관한 과제를 수행하고 있음.

○ - 호주에서는 CSIRO, UNE 및 NSW 농업 및 Queensland DPI 공동으로 육우산업을 위한 연구협력센터(CRC)를 구성하여 1999년부터 7년간 육질을 증진시키기 위한 양적 및 분자유전학적 기술을 개발하여 다양한 목적에 부합한 축군을 조성하여 형질관련 대량의 SNP 발굴 및 산업화를 위한 연구를 수행하고 있음.

○ 육우산업에서 현재 상업적으로 이용하는 DNA마커로서 GeneSTAR marbling (Genetic Solutions/Bovigen회사)과 연관된 thyroglobulin 유전자 마커, IgenityTM-L (Merial/Quantum Genetics회사)의 마블링 및 식육증진과 관련된 leptin 유전자 마커, TenderGENETM (Frontier Beef Systems/GeneSeek회사) 또는 GeneSTAR Tenderness (Genetic Solutions/Bovigen회사) 등의 쇠고기 연도와 관련성이 입증된 calpain과 calpastatin 유전자 마커 등이 상업적으로 활용하고 있음. 또한 GeneSTAR 브랜드에서는 사료효율에 관한 유전자 마커를 활용하는 등 지속적으로 유전마커들이 발굴되어 상품화되고 특허등록으로 인한 산업재산권을 확보해가는 추세임.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 한우집단 조성, 개량 평가 및 산업 시스템 구축

1. 한우 개량 평가를 위한 시험 집단

가. 서산 시험 집단에 대한 SNP chip genotyping 분석 현황

(1) SNP chip genotyping 분석 현황

○ 서산 한우개량사업소 후대검정우 40차 80두, 41차 69두, 42차 125두, 43차 110두, 45차 113두 총 497두와 종모우 61두의 SNP chip genotyping 분석이 되었다.

(2) 도체 형질, 성장(체중) 형질 및 체척 형질에 대한 기초 통계량

○ 서산 시험 집단에 대하여 SNP chip genotyping이 분석이 이루어진 497두에 대한 도체 형질, 성장 형질 및 체척 형질에 대한 기초 통계량을 <표 3-1-1~3>에 제시하였다.

<표 3-1-1>. Simple statistics of age at slaughter and four carcass traits for 497 Progeny-Test Bulls

	MEAN	S.D.[5]	Min.[6]	Max.[7]
Age at slaughter (month)	23.93	0.82	13.70	25.90
CW[1] (㎏)	356.78	40.19	158.00	481.00
BF[2] (㎜)	10.08	4.13	3.00	35.00
EMA[3] (㎠)	78.84	9.51	22.00	109.00
MS[4] (Score)	3.37	1.76	1.00	9.00

CW[1] : Carcass weight; BF[2] : Back fat; EMA[3] : Eye-muscle; MS[4] : area Marbling score
S.D.[5] : Standard deviation; Min.[6] : Minimum value; Max.[7] : Maximum value

<표 3-1-2>. Simple statistics of five growth traits for 497 Progeny-Test Bulls

	MEAN	S.D	Min.	Max.
BW[1)]6 month (kg)	170.42	30.79	84.50	271.00
BW 12 month (kg)	311.47	34.67	210.00	414.50
BW 23 month (kg)	620.73	59.51	455.00	820.50
DG[2)]6~12 month (g)	776.99	116.08	213.20	1210.23
DG 12~23 month (g)	895.43	111.06	590.40	1221.13

BW[1)] : Body weight; DG[2)] : Daily gain

<표 3-1-3>. Simple statistics of five body measurement for 497 Progeny-Test Bulls

Body measurement (㎝)	12 month (n=426)	24 month (n=415)
WL	119.80±4.27	136.77±3.94
HH	122.00±4.13	137.88±4.01
BL	129.71±5.85	157.93±6.33
CD	61.85±2.62	76.58±4.34
CW	36.15±3.37	51.54±3.40
RL	43.95±2.96	53.16±3.09
HW	36.53±2.64	49.73±2.54
TW	38.37±2.62	48.17±3.17
PBW	20.58±1.70	26.59±1.96
CG	162.74±6.64	214.88±8.24

WL : Wither height; HH : Hip height; BL : Body length; CD : Chest depth; CW : Chest width;
RL : Rump length; HW : Hipbone width; TW : Thurl width; PBW : Pin bone width; CG : Chest girth

(3) 후대 검정우에 대한 종모우(KPN) 현황

○ 서산 후대 검정우 497두에 대한 아비(보증 종모우) 63두의 분포 현황을 <표 3-1-4>에 제시하였다.

<표 3-1-4>. The number of KPN for 497 Progeny-Test Bulls

KPN	Number of progeny	KPN	Number of progeny	KPN	Number of progeny	
KPN546	7	KPN620	8	KPN653	13	
KPN574	4	KPN621	5	KPN656	10	
KPN582	6	KPN622	7	KPN658	6	
KPN583	3	KPN624	8	KPN662	13	
KPN584	5	KPN625	5	KPN663	13	
KPN590	5	KPN626	9	KPN664	13	
KPN591	7	KPN627	10	KPN665	12	
KPN593	5	KPN628	6	KPN666	9	
KPN594	8	KPN629	6	KPN667	13	
KPN596	13	KPN631	6	KPN678	9	
KPN601	10	KPN632	18	KPN687	8	
KPN603	4	KPN633	7	KPN690	13	
KPN604	2	KPN634	1	KPN692	7	
KPN606	3	KPN635	8	KPN694	10	
KPN609	3	KPN637	6	KPN696	6	
KPN610	5	KPN640	10	KPN697	9	
KPN613	5	KPN641	18	KPN698	7	
KPN615	9	KPN642	6	KPN700	15	
KPN616	4	KPN645	13	KPN705	8	
KPN618	5	KPN646	6	KPN706	9	
KPN619	3	KPN648	3	KPN707	12	497

나. 경북 시험 집단에 대한 SNP chip genotyping 분석 현황

(1) SNP chip genotyping 분석 현황

○ 경북클러스터사업 시험 집단에 대하여 SNP chip genotyping 분석이 이루어진 103두와 이에 대한 종모우 11두가 SNP chip genotyping 분석이 되었다.

(2) 도체 형질, 성장(체중) 형질 및 체척 형질에 대한 기초 통계량

○ 경북클러스터사업 시험 집단에 대하여 SNP chip genotyping 분석이 이루어진 103두의 도체 형질에 대한 기초 통계량을 <표 3-1-5>에 제시하였다.

<표 3-1-5>. Simple statistics of age at slaughter and four carcass traits for 103 Gyeongbuk Cluster bulls

	MEAN	S.D.	Min.	Max.
Age at slaughter (month)	31.35	2.54	25	37.43
CW (㎏)	421.55	37.32	314.00	501.00
BF (㎜)	13.39	5.24	3.00	30.00
EMA (㎠)	87.99	8.95	66.00	111.00
MS (Score)	5.07	1.77	2.00	9.00

(3) 경북 시험 집단에 대한 종모우(KPN) 현황

○ 경북클러스터사업 시험 집단에 대하여 SNP chip genotyping 분석이 이루어진 103두와 분석된 개체의 종모우 11두에 대하여 <표 3-1-6>에 제시하였다.

<표 3-1-6>. The number of KPN for 103 Gyeongbuk Cluster bulls

KPN	Number of progeny	KPN	Number of progeny
KPN289	11	KPN354	6
KPN369	11	KPN374	9
KPN387	6	KPN388	23
KPN450	20	KPN460	6
KPN472	6	KPN485	4
KPN487	1		103

다. 정읍 시험 집단에 대한 SNP chip genotyping 분석 현황

(1) SNP chip genotyping 분석 현황

○ 정읍 10농가의 시험 집단을 대상으로 혈액을 채취한 개체는 총 1,752두였으나, 귀표번호의 분실로 인한 농가의 임시 바코드 번호 및 바코드 기록의 누락으로 인한 개체를 제외하고 총 1,458두에 대한 개체 정보를 조사하였다.

○ 혈액을 채취한 개체가 출하되어 도축된 것에 대하여 축산물 등급 판정소와 단풍미인 한우 브랜드의 도체성적 자료를 바탕으로 분석해 본 결과 거세우 107두, 암소 138두로서 총 245두에 대한 도체 성적이 조사 되었고 이 245두 중에 16두와 16두에 대한 종모우 3두의 SNP chip genotyping분석이 되었다.

(2) 도체 형질, 성장(체중) 형질 및 체척 형질에 대한 기초 통계량

○ 정읍 시험 집단에 대하여 SNP chip genotyping 분석이 이루어진 16두의 기초 통계량을 <표 3-1-7>에 제시하였다.

<표 3-1-7>. Simple statistics of age at slaughter and four carcass traits for 16 Jeongeup bulls

	MEAN	S.D.	Min.	Max.
Age at slaughter (month)	30.60	1.46	27.63	32.53
CW (㎏)	446.56	47.02	335.00	536.00
BF (㎜)	19.88	7.81	5.00	35.00
EMA (㎠)	92.25	11.66	74.00	113.00
MS (Score)	7.5	1.59	4.00	9.00

(3) 정읍 시험 집단에 대한 종모우(KPN) 현황

○ 정읍 시험 집단에 대하여 SNP chip genotyping 분석이 이루어진 16두의 종모우 3두에 대해서 <표 3-1-8>에 제시하였다.

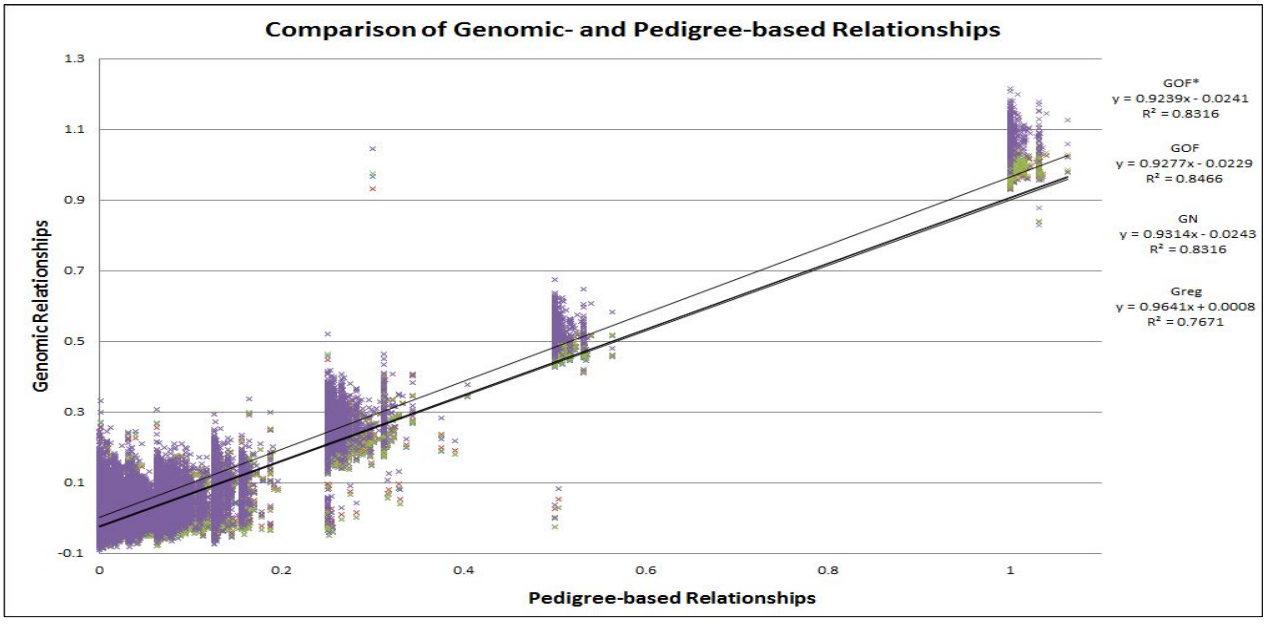
<표 3-1-8>. The number of KPN for 6 Jeongeup bulls

KPN	Number of progeny	KPN	Number of progeny
KPN369	2	KPN388	4
KPN487	10		16

2. 유전체 선발(Genomic Selection)을 위한 자료 구축

○ 유전체 선발을 위한 자료 구축은 시험 축군 조성에 이용된 자료 중에서 서산 시험 축군인 후대 검정우와 보증 종모우를 이용하였다. 유전체 혈연 행렬(Genomic Relationship Matrix)과 혈통 기반의 혈연 행렬의 비교 및 SNP chip genotyping 결과를 아비의 결과와 비교함으로써 혈통 기록에 대한 오류를 찾아내는 작업을 실시하였으며, 그 결과 정읍과 경북 집단의 자료는 혈통 기록의 오류가 상당수 존재하기 때문에 유전체 선발에서 제외하였다.

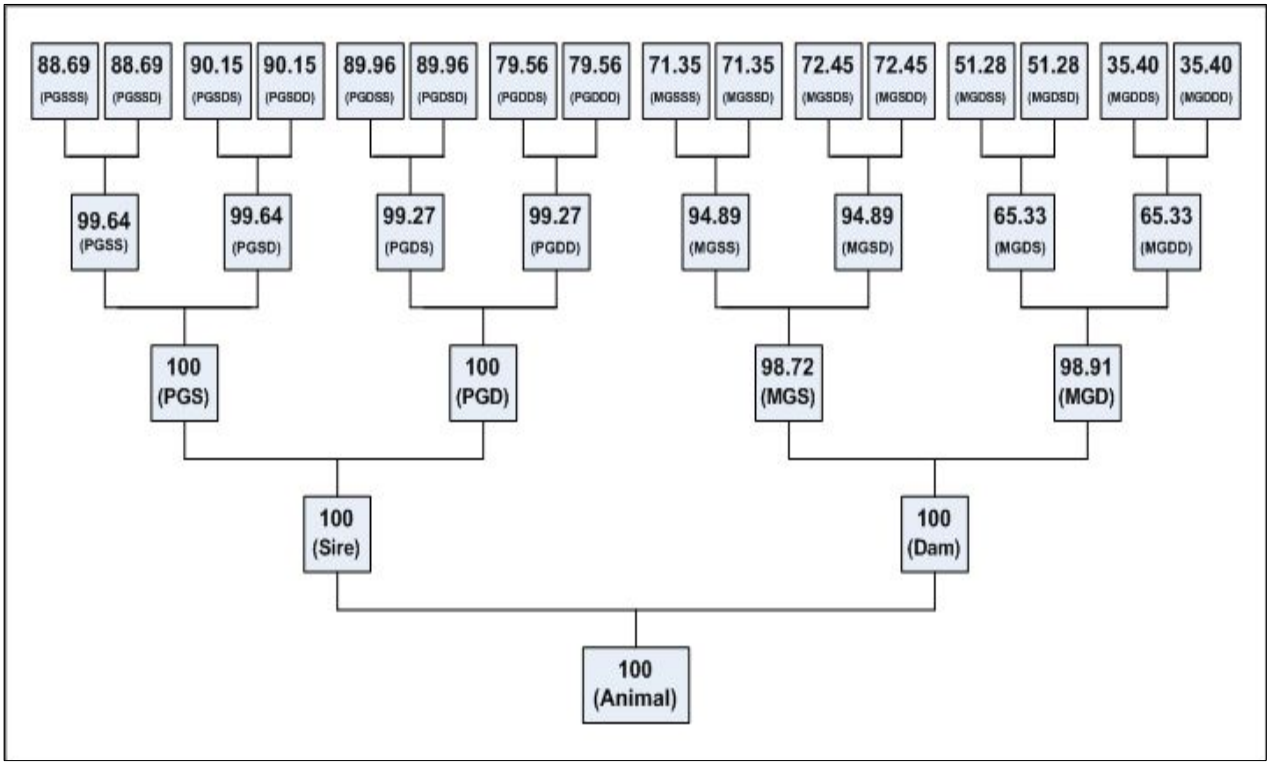
○ 서산 시험축군의 후대 검정우 497두 중에서 SNP chip genotyping 결과가 똑같이 일치하는 쌍둥이 2두와 도체중에 대한 이상치 2두 및 혈통 기록의 오류 4두를 제외한 최종 후대 검정우 489두와 아비(KPN) 59두를 유전체 선발에 이용하였다. 혈통 기록에 대한 오류는 반형매와 전형매 기준으로 유전체 혈연 행렬과 상이한 결과를 나타내는 것을 제외한 것으로 아래의 <그림 3-1-1>에 나타내었다.



<그림 3-1-1>. Comparison of genomic (marker-based) and pedigree-based relationship.

가. 가계 정보(pedigree) 자료

○ 가계 정보 자료는 한국종축개량협회의 협조아래 후대 검정우 489두와 보증 종모우 59두를 포함한 548두에 대하여 위로 4세대까지 알고 있는 모든 혈통을 추적하여 최종적으로 2,901두의 혈통 정보를 생성하였다. 분석 대상우인 548두를 0세대 기준으로 설정하고 위로 4세대까지 부, 모를 아는 비율을 추적하여 아래의 <그림 3-1-2>에 나타내었으며, 혈통을 알 수 있는 비율을 모두 %값으로 표시하였다. 혈통 추적 결과에 나타난 바와 같이 세대가 올라갈수록 아비를 알 수 있는 비율에 비하여 어미를 알 수 있는 비율이 현저하게 떨어지는 것으로 추정되었으며, 마지막 4세대에서 35% 수준으로 어미에 대한 혈통 추적이 현실 적으로 어려운 것을 알 수 있었다.



<그림 3-1-2>. Percentage of known ancestors out of the entire pedigree traced back up to 4 generation.

나. 도체 성적 자료

○ 후대 검정우 489두에 대한 월령별, 검정 차수별 분포를 <표 3-1-9>에 나타내었으며, 검정 차수별로는 고르게 도체 성적 자료가 분포되어 있으며, 월령별로는 23, 24개월령의 후대 검정우가 22, 25개월령의 후대 검정우보다 많이 분포하는 것으로 나타났다.

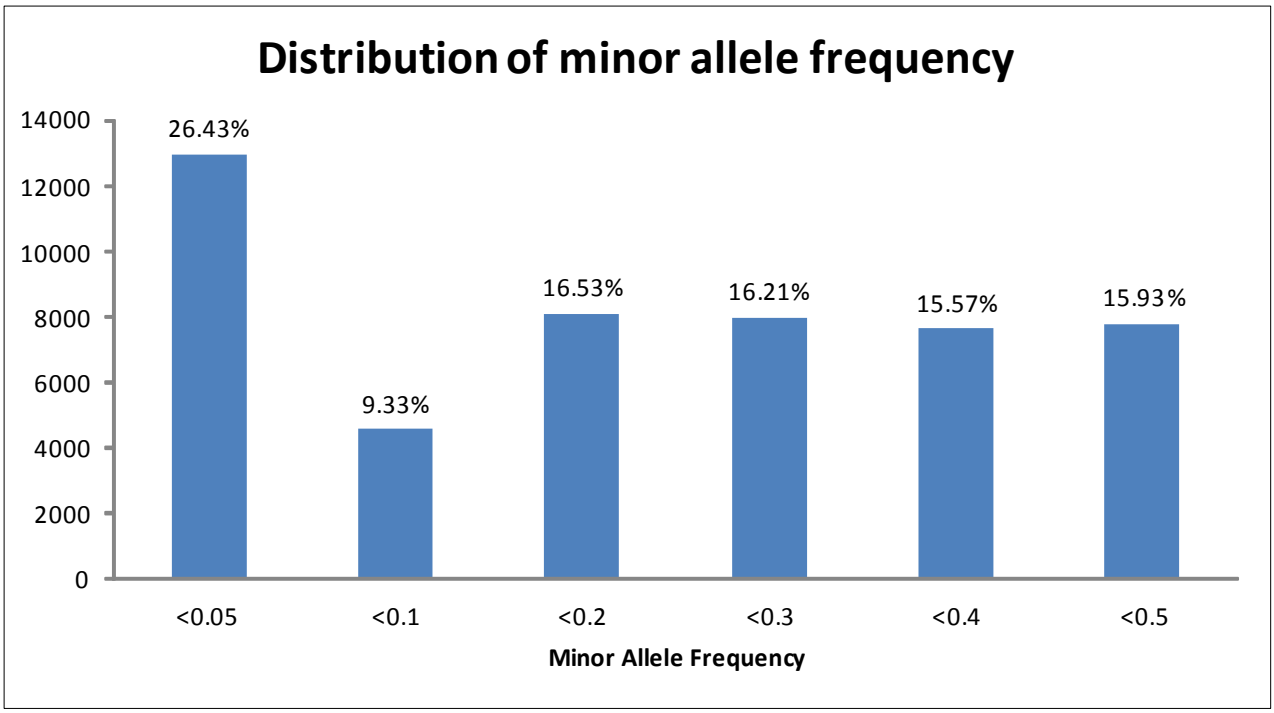
<표 3-1-9>. Number of records of batch-number and age of month at slaughter in progeny-test bulls

Progeny-Test Bulls			
Batch-Number	N	Age (month)	N
40	77	22	48
41	66	23	208
42	125	24	202
43	110	25	31
45	111		
Total		489	

다. SNP chip genotying 자료

○ 후대 검정우와 보증 종모우 548두에 대하여 IlluminaSNP50 bovine chip을 이용하여 유전자형 분석을 실시하였다. 548두에 대한 48,893개의 SNP 마커에 대한 유전자형 분포는 총 3가지 유형으로 분석되었다. 첫 번째로는 Major와 Minor Homozygote와 Heterozygote가 모두 존재하는 SNP 마커는 42,901개로 분석되었으며, 두 번째로 Heteozygote만 존재하는 SNP 마커는 2개로 분석되었으며, 세 번째로 Major Homozygote만이 존재하는 경우가 5,990개로 분석되었다. 위의 분석 결과에 나타난 두 번째와 세 번째 유형으로 분석된 SNP 5,992개는 SNP 정보의 다형성 확보를 위하여 제거하고 첫 번째 유형으로 분석된 SNP 마커만을 이용하였다.

○ Minor allele frequency는 두 대립 인자 중에서 상대적으로 빈도가 낮은 대립인자의 빈도를 계산하는 것으로서 기본적으로 0 ~ 0.5의 빈도로 나타날 수 있으며 분석 결과는 Figure 3에 나타내었다. Minor allele frequency가 0.05이하인 경우는 총 12,922 SNP 마커가 존재하였으며 <그림 3-1-3>에 나타난바와 같이 전체 SNP 마커 중에서 26.43% 정도를 차지하였다. 이 역시 다형성이 확보되지 못하기 때문에 분석에서 제외하였다. 최종적으로 다형성 확보를 위하여 위 SNP 마커를 제외한 총 35,944개의 SNP마커를 유전체 선발 즉 유전체 육종가를 추정하는데 이용하였다.



<그림 3-1-3>. Frequencies of markers by the MAF on 48,893 SNP markers

○ DNA chip은 얇은 판위에 마커의 유전자형을 검사할 수 있는 probes가 고밀도로 집약되어 있기 때문에 일부 마커에서 유전자형의 분석에 오류가 생기거나 누락이 될 수 있다. 누락된 마커들로 인하여 다시 유전자형 분석을 수행하는 것은 비용적인 측면에서 비생산적이며, 누락된 마커에 대한 유전자형 자료를 사용하지 못하는 것 역시 비효율적이게 된다. 그러므로 유전자형 분석이 누락된 마커들에 대하여 대치(Imputation)를 할 필요가 있으며, Gengler 등(2007)이 제안한 가계 정보를 이용하여 누락된 마커의 유전자형을 추정하는 방법을 이용하였으며 다음과 같이 혼합모형 정규방정식을 이용하여 수행하였다.

$$\begin{pmatrix} 1'1 & 1'M \\ M'1 & M'M + A^{-1}\alpha \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \hat{u} \\ \hat{d}_y \\ \hat{d}_x \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1'q_y \\ M'q_y \end{pmatrix}$$

$\hat{d}_y$: gene content deviation vector of genotyped animals

$\hat{d}_x$: gene content deviation vector of un-genotyped animals

q_y : known gene content vector of genotyped animals(0,1,2)

M : design matrix of linking q_y to $\hat{d}_y$ and $\hat{d}_x$ (0,1)

이고, 위의 혼합모형 정규방정식에서 A는 혈연 계수 행렬이며 다음과 같은 구조를 갖게 된다.

$$A = \begin{pmatrix} A_{yy} & A_{yx} \\ A_{xy} & A_{xx} \end{pmatrix}, \alpha = \sigma_e^2 / \sigma_d^2$$

A_{yy} : sub-matrix of covariances with known genotypes

A_{xx} : sub-matrix of covariances with unknown genotypes

A_{yx} and A_{xy} : covariances between known and unknown genotypes

위의 모형 식은 전통 BLUP과 같은 가정을 적용하고 있으며, α 값을 0.01 이하의 아주 작은 값으로 설정하고 BLUP과 동일한 방법으로 추정하였다. 이는 유전자형 분석의 오류 발생률을 0.1% 정도로 가정 하에 σ_e^2의 값을 0.001 정도의 수준으로 설정한 것이다. 548두에 대한 SNP 마커는 총 19,697,312개였으며, 이중에서 20,601개의 SNP 마커의 유전자형 분석이 결측되었다. 이에 대한 대치 결과에 대한 예를 다음 <표 3-1-10>에 나타내었다.

<표 3-1-10>. Example of imputation output using pedigree from prediction file(BLUPresult.out)

23th SMP Marker(8)		292th SNP Marker(6)		697th SNP Marker(7)	
Reg.No	Solution	Reg.No	Solution	Reg.No	Solution
221737804	0.7249	221667954	0.1463	223036926	1.3906
223119918	0.6207	223036647	0.0606	223113200	0.2112
223288741	0.6377	223701315	0.1458	223119717	0.8816
223372474	0.5031	223743306	0.1461	223226071	0.1931
223410910	1.3967	223822248	0.6315	223743306	0.6136
223411464	1.5739	223827407	0.1574	223822247	0.6230
223481026	1.1994			223822248	0.7146
223481027	1.3910				

3. 유전체 선발(Genomic Selection)

○ 주요 유전자들이 존재하지 않는 형질에 대해서는 SNP 마커를 이용하여 유전체 육종가를 추정되는 대부분의 방법들이 비슷한 정확도로 추정된다고 보고되어왔다(Hayes et al., 2009b). 현재까지 한우에 대한 경제 형질에 대하여 주요 유전자들이 보고된 바가 없었으므로 본 연구과제에서는 선형 예측 방법을 이용한 유전체 선발에 대한 연구를 수행하였다.

○ 선형 예측 방법은 특별한 주요 유전자가 없고 모든 마커가 유전적 분산에 동일하게 기여한다는 가정 즉 무한소 모형(Infinitesimal Model)하에 추정하는 방법이며, 2가지로 나누어 유전체 육종가를 추정되어질 수 있다. 첫 번째 모형은 우선 각각의 마커 인자의 효과를 추정한 후에 그들에 대한 모든 합으로 개체의 유전체 육종가를 추정하는 방법(Meuwissen et al., 2001)이며, 또 다른 두 번째 모형은 기존의 가계 기록을 기반으로 계산되어진 혈연 행렬 대신에 유전체 정보를 이용하여 계산되어진 유전체 혈연 행렬(VanRaden, 2008)을 모형에 포함시키는 방법이다(Garrick, 2007; VanRaden, 2007; Zhang et al., 2007).

○ 유전체 육종가를 추정하는 두 가지 방법 모두에 적용된 통계분석모형은 각 도체 형질에 영향을 미치는 도축 시 월령과 후대 검정우의 검정 차수 효과를 고정효과로 처리하였으며, 이에 대한 통계모형 식은 다음과 같다.

$$y_{ijk} = \mu + A_i + BN_j + a_{ijk} + \epsilon_{ijk}$$

y_{ijk} : The observation for ith age of month at slaughter and jth bacth-number
μ : Overall mean
A_i : Fixed effect common to the ith age of month at slaughter (1-4)
BN_j : Fixed effect common to the jth bacth-number (1-5)
a_{ijk} : Random effect associated with the kth bull
ϵ_{ijk} : Random residual error NID~$(0,\delta^2)$

가. 각각의 SNP 마커 효과 추정을 통한 유전체 육종가

○ 다형성 확보를 위하여 수행된 QC를 통하여 남겨진 35,944 SNP 마커에 대하여 Ridge Regression Best Linear Unbiased Predictor (RR-BLUP) 방법으로 각각의 SNP 마커 효과를 동

시에 추정하였다. 또한 35,944개의 SNP 마커 효과와 고정효과를 동시에 추정함으로써 고정효과에 대한 사전 보정도 수행하였다. SNP 마커 효과의 합을 통하여 GEBV를 추정하였으며, 선형 혼합 모형식은 다음과 같다.

$$y = X\beta + Zm + \epsilon$$

y : pre-adjusted phenotypic value (deregressed additive genetic value)

β : vector of fixed effect

m : random SNP marker effect

X and Z : the incidence matrix for β and m

ϵ : vector of random error effect

○ 계수 행렬인 Z는 동형접합체(11)에 대하여 0, 이형접합체(12)에 대하여 1과 또 다른 동형접합체(22)에 대하여 2의 값을 갖도록 설정되었다. 그리고 잔차 에러는 독립적이고, 정규 분포를 따른다, $e \sim N(0, I\sigma_e^2)$. 모든 SNP 마커 효과 m 역시 정규분포를 따른다, $m \sim N(0, \sigma_{g_i}^2)$. 위 설정에 대한 혼합모형방정식은 다음과 같다.

$$\begin{bmatrix} X'X & X'Z \\ Z'X & Z'Z + I\lambda \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \hat{b} \\ \hat{g} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X'y \\ Z'y \end{bmatrix}$$

여기서, 스칼라 λ 는 σ_e^2/σ_u^2의 정의되며, 이는 모든 SNP 마커 좌위의 합($2[\sum p_i(1-p_i)]$)과 σ_e^2/σ_a^2 비율의 곱으로 계산되어진다(VanRaden, 2008). 여기서 σ_a^2는 전체 유전 분산을 의미하며, restricted maximum likelihood(REML)로 추정하였다.

○ SNP 마커에 대한 효과 및 고정효과가 모두 동시에 추정된 후에는 유전자형 분석이 완료되어 있으며, 표현형 자료를 갖고 있는 개체 489두에 대하여 이미 앞에서 설정된 계수 행렬 Z와 추정된 SNP 마커의 효과의 곱으로 개체별 유전체 육종가를 추정할 수 있으며 다음과 같은 식을 따른다.

$$GEBV = Z\hat{g}$$

각 SNP 마커의 효과는 수렴(convergence)의 속도가 비교적 빠른 가우스-자이델 반복법(Gauss-Seidel iteration)을 이용하여 추정하였으며, 반복 횟수를 최대 1,000번, 수렴 수준은 1.0E-8로 설정하였다.

나. Cross-validation 방법을 이용한 정확도 추정

○ RR-BLUP 방법을 이용하여 추정된 유전체 육종가의 정확도를 추정하기 위해서 SNP 마커의 효과 및 고정 효과를 추정하기 위한 집단(Reference Set)으로부터 추정된 효과를 검정 집단(Validation Set)에 적용한 후 검정 집단의 표현형 자료와 유전체 육종가간의 상관을 정확도로 추정하는 Cross-validation 방법을 이용하였다.

(1) 10-Fold Cross Validation

○ 본 연구과제와 같이 SNP 마커의 효과를 추정하는 집단의 크기가 상대적으로 작을 경우에 이용되는 정확도를 추정하는 방법으로 random subsampling replication을 이용한 10-fold cross validation 방법으로 각 도체 형질별로 정확도를 추정하였다.

○ 10-fold cross validation 방법은 도체성적이 있는 후대검정우 489두 중에서 랜덤하게 440두(90%)를 reference set으로 선별하고, RR-BLUP 방법을 이용하여 35,944 SNP 마커의 효과 및 사전보정을 위하여 고정효과를 동시에 추정하였다. 그리고, 나머지 49두(10%)를 validation set으로 설정하여 reference set으로부터 추정된 35,944 SNP 마커의 효과 및 고정 효과를 통하여 49두의 개체들에 대한 GEBV를 추정하며, 이와 같은 작업을 10반복 수행하였다. validation set의 개체들의 표현형가와 추정된 GEBV간의 상관을 통하여 정확도를 추정하였며, 아래의 <표 3-1-11>에 각 도체형질별로 추정된 정확도를 나타내었다. 결과를 살펴보면, 보증 종모우들간의 혈연 관계(relatedness)가 상당히 높으며 이에 대한 자식들로 추정 집단과 검정 집단으로 이루어져 있으므로 두 집단간의 혈연 관계는 상당히 높게 설정이 되었다(유전체 기반의 최대 혈연 계수 : 0.6129, 가계 기반의 최대 혈연 계수 : 0.5625). 그리하여 유전체 육종가의 정확도가 형질별로 0.927 ~ 0.976으로 상당히 높게 추정되었다.

<표 3-1-11>. Mean Accuracy of estimated breeding values in the validation sets of the 10-fold cross-validation for carcass traits

Traits	10-fold cross validation	
	Mean accuracy	SD
CW	0.927	0.029
EMA	0.951	0.013
BF	0.951	0.016
MS	0.976	0.010

(2). KPN Cross Validation

○ 유전체 육종가를 추정하는 reference set의 크기를 최대한으로 사용하기 위해서 도체 성적이 있는 후대 검정우 489두에 대하여 RR-BLUP 방법을 이용하여 각각의 SNP 마커의 효과를 추정하고, validation set으로는 SNP 유전자형 분석이 되어있는 보증 종모우 59두를 설정하여 정확도를 추정하였다.

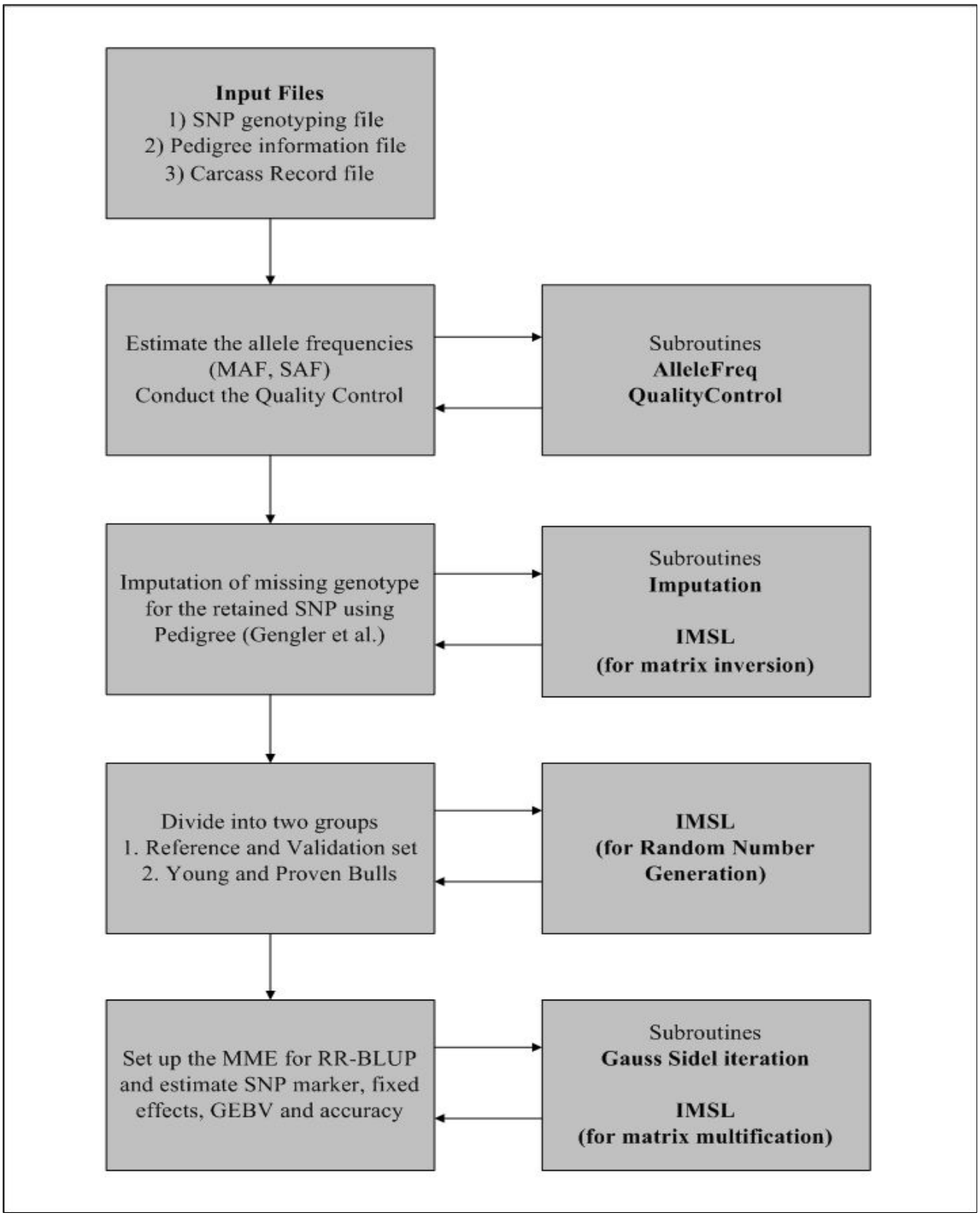
○ 도체 성적이 없는 보증 종모우에 대해서는 후대 검정우들의 도체성적을 이용하여 추정된 육종가(PBV)를 참 육종가(TBV)로 설정하고, 후대검정우 491두에 대하여 RR-BLUP 방법으로 추정된 SNP 마커의 효과를 가지고 보증종모우의 GEBV를 추정한다. 추정된 GEBV와 PBV 간의 상관을 통하여 정확도를 추정하였으며, 아래의 <표 3-1-12>에 각 도체형질별로 추정된 정확도를 나타내었다.

○ 위 결과와 마찬가지로 보증 종모우와 후대 검정우간에 높은 혈연 관계로 형질 별로 0.710 ~ 0.799로 상당히 높은 정확도로 추정되었다.

<표 3-1-12>. Accuracy of estimated genomic breeding values in the validation sets of the validation using KPN for carcass traits

Traits	KPN cross validation
	Accuracy
CW	0.735
EMA	0.764
BF	0.710
MS	0.799

○ SNP 마커에 대한 효과 추정과 각 개체별 유전체 육종가 추정 및 정확도를 추정하는 일련의 과정은 모두 Intel Visual Fortran Compiler (Window Ver. 11.1)를 이용하여 포트란 코드로 작성하였으며, 역행렬 계산 및 빠른 행렬의 곱을 위하여 IMSL MATH & STAT LIBRARY (Version 6.0)를 이용하여 윈도우 버전에서 컴파일 하였다. 다음 <그림 3-1-4>에 프로그래밍의 수행 과정에 대한 흐름도를 나타내었다.



<그림 3-1-4>. Flow chart of Fortran programs to estimate genomic breeding values.

다. 유전체 혈연 행렬 (Genomic Relationship Matrix)

(1) 대립인자의 빈도를 이용한 유전체 혈연 행렬

○ 대립인자의 평균 효과를 0으로 할당하는 방법(VanRaden, 2008)으로 개체 수를 n으로, 이용된 SNP 마커 수를 m으로 설정하고, 이를 M 행렬로 표기한다. M 행렬의 크기는 n×m 으로 설정되며 유전체 혈연 행렬 추정 식은 다음과 같다.

$$G = \frac{(M-P)(M-P)'}{2\sum_{j=1}^{m} P_j(1-P_j)}$$

여기서, M 행렬의 원소를 첫 번째 대립인자에 의한 동형접합체(11)의 경우는 0, 이형접합체(12)의 경우는 1 그리고 두 번째 대립인자에 의한 동형접합체(22)의 경우는 2로 정의한다. MM' 행렬은 n×n의 크기로 설정되고 대각의 원소들은 해당 개체의 동형접합체의 수를 나타내며 비대각의 원소들은 두 개체들 간에 공통으로 갖는 대립 인자의 수가 되며, P는 두 번째 대립인자 빈도(혹은 Minor Allele Frequency)를 포함하며 $2p_j$로 표현되어진다.

○ 유전체 혈연 행렬의 역행렬이 존재 하지 못하는 잠재적인 문제점을 방지하기 위하여 가계 정보를 이용하여 추정된 혈연 행렬과 가중치를 주어 새로운 혈연 행렬을 다음과 같이 계산한다.

$$G = Gr + (1\text{-}w)A_{22}$$

여기서, w=0.95의 값을 사용하였으며, Gr은 가중치가 부여되기 전의 유전체 혈연 행렬이고, A_{22}는 혈연관계에 있는 모든 개체들을 가계 정보를 이용하여 추정된 혈연 행렬 중에서 유전자형 분석이 완료된 개체들 간의 혈연 행렬이다. 그러나 Aguilar 등(2010)은 가중치(w)의 경우 0.95에서 0.98사이의 값을 사용하였을 경우 유전체 육종가를 추정하였을 경우 유의적이지 않은 차이를 나타낸다고 보고하였다.

(2) 유전체와 가계 정보가 통합된 혈연 행렬

○ Misztal 등(2009)이 처음으로 혈통 기록을 기반으로 추정된 혈연 행렬과 유전체 혈연 행렬과 혈통 기록을 기반으로 추정된 혈연 행렬간의 차이를 포함한 행렬(*H*)을 추정하는 방법을 제안하였다. 추정 방법은 다음과 같은 식을 기반으로 사용하였다.

$$H = \begin{bmatrix} A_{11} & A_{12} \\ A_{21} & G \end{bmatrix} = A + \begin{bmatrix} 0 & 0 \\ 0 & G - A_{22} \end{bmatrix}$$

여기서, 첨자 1과 2는 각각 SNP 마커에 대한 유전자형 분석이 완료된 개체와 분석이 되지 않은 개체를 나타내며, G는 위에서 설명되었던 유전자형 빈도를 이용하여 추정된 유전체 혈연 행렬을 의미한다. Legarra 등(2009)은 유전자형 분석이 완료된 개체들에 대하여 예측된 육종가(u_2)와 유전자형 분석이 되지 않은 개체들에 대하여 예측된 육종가(u_1)에 대한 결합 밀도(joint density)는 $p(u_1,u_2) = p(u_1|u_2)p(u_2)$ 의 식을 통하여 유도되어진다고 제안하였다. 조건부 분포, $p(u_1|u_2)$는 선발 지수식이나 다변량 정규 분포를 통한 혈통 기록을 기반으로 하고, $p(u_2)$는 오직 유전체 혈연 행렬을 통한 유전체 정보만을 기반으로 한다. u_1과 u_2의 결합 분포에 대한 공분산행렬(*H*)은 다음과 같다.

$$H = A + \begin{bmatrix} A_{12}A_{22}^{-1} & 0 \\ 0 & I \end{bmatrix} \begin{bmatrix} I \\ I \end{bmatrix} (G - A_{22}) \begin{bmatrix} I & I \end{bmatrix} \begin{bmatrix} A_{22}^{-1}A_{21} & 0 \\ 0 & I \end{bmatrix}$$

위의 결합 혈연 행렬(*H*)은 유전체 정보를 확보한 개체와 확보하지 못한 개체들에 대한 결합된 혈연 행렬을 추정하는 방법이며, 실질적인 프로그램을 작성하기 위하여 위의 식을 전개한 아래의 식을 적용하였다.

$$H = A + \begin{bmatrix} A_{12}A_{22}^{-1}(G - A_{22})A_{22}^{-1}A_{21} & A_{12}A_{22}^{-1}(G - A_{22}) \\ (G - A_{22})A_{22}^{-1}A_{21} & G - A_{22} \end{bmatrix}$$

결합된 혈연 행렬에 대한 역행렬은 MME를 계산되는데 필요하며, 아래와 같은 식으로 간단하게 계산되어진다.

$$H^{-1} = A^{-1} + \begin{bmatrix} 0 & 0 \\ 0 & G^{-1} - A_{22}^{-1} \end{bmatrix}$$

여기서, A_{22}^{-1}는 SNP 마커에 대한 오직 유전자형 분석이 완료된 개체들의 혈통 기록 기반의 혈연 행렬의 역행렬을 의미한다.

라. 유전체 혈연 행렬을 이용한 유전체 육종가 추정

○ 유전체 혈연 행렬을 이용하여 각 형질에 대한 개체들의 유전체 육종가를 추정하기 위하여 기존의 전통 BLUP방법의 혼합모형 정규방정식에서 개체들의 혈연 행렬을 기존의 가계를 이용한 혈연 행렬에서 유전체 혈연 행렬로 바꾼 통계 모형식은 기존과 동일하며 다음과 같다.

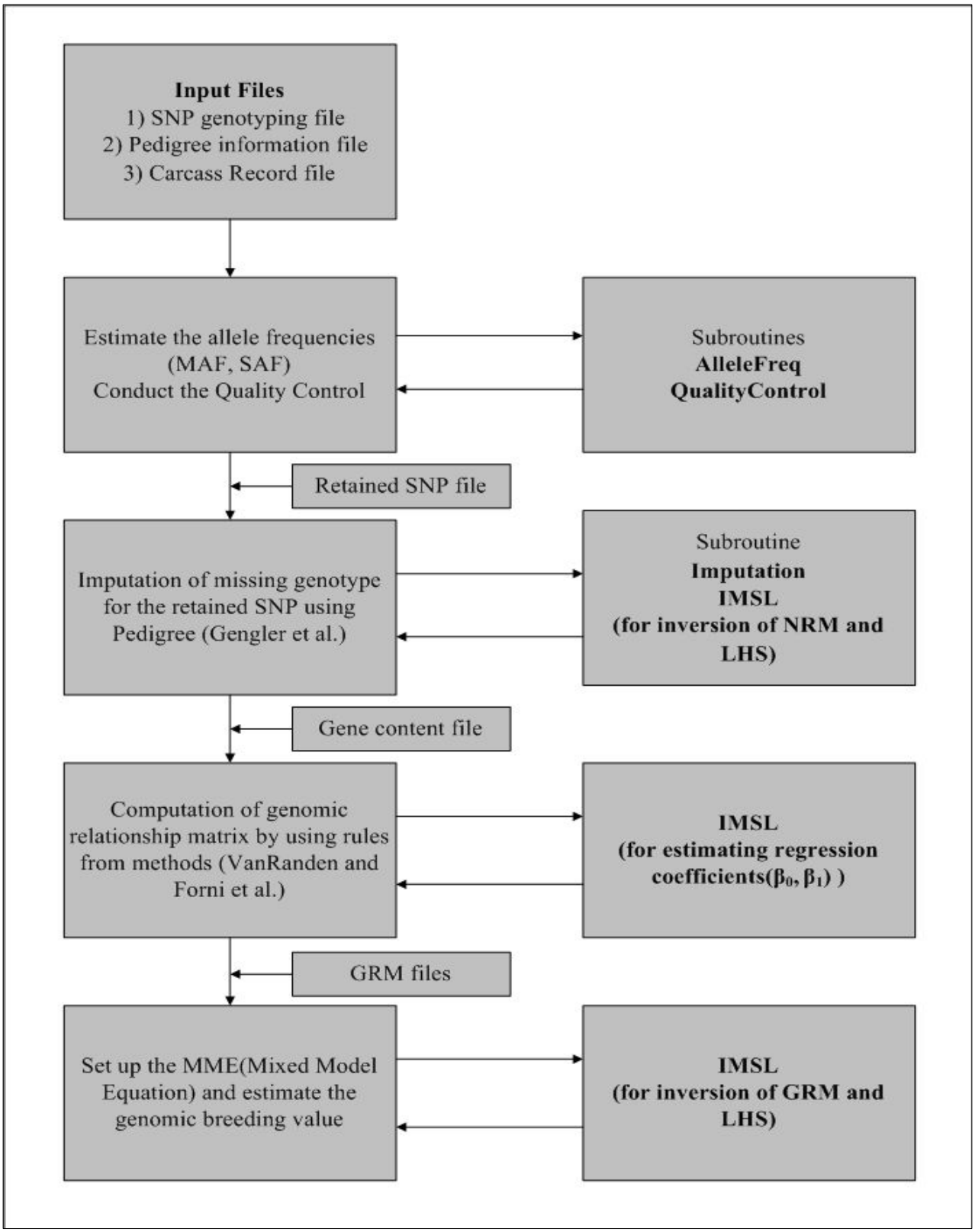
$$y = Xb + Zg + e$$

y는 표현형 자료로 이루어진 벡터
b와 g는 각각 고정효과와 임의효과에 대한 추정치 벡터
X와 Z는 각각 b와 g에 대한 계수 행렬
e는 잔차 에러에 대한 벡터

이에 기초하여 유전자형 분석이 완료된 개체들에 대하여 표현형 자료가 있는 개체와 표현형 자료가 없는 개체 모두에 대하여 유전체 육종가(Genomic-Breeding Value)를 다음과 같은 혼합 모형식을 이용하여 추정하였다.

$$\begin{bmatrix} X'X & X'Z \\ Z'X & Z'Z + G^{-1}\lambda \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \hat{\beta} \\ \hat{\mu} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X'y \\ Z'y \end{bmatrix}$$

○ 혼합 모형 정규방정식으로부터 고정효과 및 개체들의 유전체 육종가에 대한 해(solution)와 정확도를 추정하기 위하여 단형질 개체 모형(Animal Model)으로 설정하였으며, 유전체 혈연 행렬을 이용하여 유전체 육종가를 추정하는 모든 일련의 과정 역시 포트란 코드로 작성하였다. 작성된 포트란 코드는 Intel Visual Fortran Compiler (Window Ver. 11.1)를 이용하였으며 역행렬 계산과 회귀 계수의 추정을 위하여 IMSL MATH & STAT LIBRARY (Version 6.0)를 이용하여 윈도우 버전에서 컴파일 하였다. 자체 개발된 프로그램의 흐름도는 <그림 3-1-5>에 나타내었다.



<그림 3-1-5>. Flow chart of fortran programs for Genomic-BLUP.

마. Genomic BLUP의 정확도 추정 및 비교

○ 전통적인 가축 개량 방법을 통하여 추정된 육종가와 유전체 혈연 행렬을 이용하여 추정된 유전체 육종가에 대한 정확도는 모두 동일한 방법으로 예측 오차 분산(Prediction Error Variance)을 이용하여 추정하였다. 직접적인 역행렬 계산을 통하여 정확한 예측 오차 분산(PEV_{exact})을 이용하였으며, 정확도(r_{TI})는 참 육종가와 예측된 육종가간의 상관으로 정의되며, 계산식은 다음과 같다 : $Acc_i = (1-\sigma^2_{e_i}/\sigma^2_A)^{1/2}$ (Van Vleck, 1988).

○ <표 3-1-13>에서는 표현형 자료가 없고 SNP 마커의 유전자형 분석 자료만 확보된 59두(보증 종모우)와 도축이 되어 표현형 자료를 갖고 있으며 SNP 마커의 유전자형 분석이 완료된 개체 489두(후대 검정우)에 대하여 유전체 혈연 행렬들을 이용하여 추정하는 G-BLUP 방법과 가계 정보를 기반으로 계산된 혈연 행렬을 이용하여 추정하는 전통적인 BLUP 방법 간에 육종가의 정확도 평균의 차이와 개체별로 육종가의 정확도 차이가 가장 크게 나타낸 값을 표시하였다. 각각의 추정된 육종가 정확도 평균 차이와 개체별 최대 차이 값은 퍼센트로 변환하여 표시하였다.

<표 3-1-13>. Average accuracies of breeding value for population using traditional BLUP and Genomic BLUP

Population	Analysis	CW	EMA	BF	MS
Sires of Steers (59)	A	0.5946	0.6474	0.6474	0.6878
	G	0.6207	0.6729	0.6729	0.7129
Steers (489)	A	0.5767	0.6497	0.6497	0.7132
	G	0.5963	0.6681	0.6681	0.7302
Total (548)	A	0.5786	0.6495	0.6495	0.7105
	G	0.5990	0.6686	0.6686	0.7283

○ 혈통 기록을 기반으로 추정된 혈연 행렬과 유전체 혈연 행렬을 통합하여 추정된 혈연 행렬(H)을 이용하여 SNP 분석이 완료된 개체 548두 뿐만 아니라 모든 선조들의 기록을 포함한 2,901두에 대한 육종가 및 정확도를 추정하고 기존의 전통 BLUP 방법을 이용하여 추정

된 육종가 및 정확도와 유전체 육종가 및 정확도를 비교하였다. 위 방법을 이용할 경우 SNP 마커 분석이 완료된 개체뿐만 아니라 혈통 기록상 혈연관계를 갖고 있는 모든 개체들에 대하여 유전체 육종가를 추정할 수가 있게 된다.

○ <표 3-1-14>에는 SNP 마커 분석이 완료된 개체 548두와 SNP 마커의 유전자형 분석이 되어 있지 않은 2,353두 및 전체 2,901두에 대하여 각각 분리하여 추정된 육종가 정확도 평균을 나타내었으며, 기존의 혈통 기록 기반의 혈연 행렬을 이용하여 추정된 육종가의 정확도 평균과 비교하여 나타내었다.

○ <표 3-1-15>에서는 추정된 육종가의 정확도 평균의 차이와 개체별로 육종가의 정확도 차이가 가장 크게 나타낸 값을 표시하였다. 각각의 추정된 육종가 정확도 평균 차이와 개체별 최대 차이 값은 퍼센트로 변환하여 표시하였다.

○ SNP 마커의 유전자형 분석이 완료된 개체에 대해서는 도체중, 배최장근단면적, 등지방두께 및 근내지방도 순으로 각각 2.03%, 1.92%, 1.92% 및 1.78%정도의 평균 정확도의 상승을 보였으며, SNP 마커의 유전자형 분석이 되어있지 않은 개체에 대해서는 위와 같은 형질 순으로 각각 2.31%, 1.81%, 1.81% 및 1.42%정도의 평균 정확도의 상승을 보여 유전자형 분석이 되어 있는 개체들과 되어 있지 않은 개체들 간의 추정된 육종가 정확도 상승은 비슷한 수준으로 나타났다.

○ SNP 마커의 유전자형 분석이 완료된 개체 548두 및 선조 기록을 모두 포함한 2,901두에 대하여 추정된 상관 및 순위 상관 계수의 결과를 도체중, 배최장근 단면적, 등지방두께 및 근내지방도 순으로 <표 3-1-16>에 나타내었다.

<표 3-1-14>. Average accuracies of breeding value for population using traditional BLUP and Genomic BLUP from combined genomic relationship matrix

Population	Relationship Matrix	CW	EMA	BF	MS
Genotyped (548)	A[1)]	0.5786	0.6495	0.6495	0.7105
	H[2)]	0.5990	0.6686	0.6686	0.7283
Un-genotyped (2,353)	A	0.1916	0.2165	0.2165	0.2379
	H	0.2150	0.2347	0.2347	0.2523
Total (2,901)	A	0.2648	0.2983	0.2983	0.3272
	H	0.2876	0.3167	0.3167	0.3423

A[1)] : Numerator relationship matrix using pedigree information
H[2)] : Combined relationship matrix using pedigree and genomic information

<표 3-1-15>. Comparison with mean difference and maximum difference of accuracies between traditional BLUP and genomic BLUP from combined relationship matrix for carcass traits

		CW	EMA	BF	MS
Genotyped	Mean Diff.	2.03	1.92	1.92	1.78
	Max[1)]	7.96	5.82	5.82	5.08
Un-genotyped	Mean Diff.	2.31	1.81	1.81	1.42
	Max	24.35	26.13	26.13	17.61

Max[1)] : Maximun difference of accuracy in each animal

<표 3-1-16>. Pearson and Spearman rank correlation coefficients of breeding values for carcass traits using Genomic BLUP from combined relationship matrix

	CW	EMA	BF	MS
Correlation coefficients	0.9468	0.9595	0.9592	0.9473
Rank correlation coefficients	0.9295	0.9527	0.9494	0.9340

제 2 절 한우 집단의 육량·육질 형질에 대한 분자유전학적 특성 분석

연구수행내용은 한우품종의 육량과 육질에 영향을 주는 기능성 후보유전자 변이를 발굴하는 것으로 1) 발굴된 QTL좌위의 후보유전자 탐색, 2) 외국소 품종에서의 발굴된 QTL좌위와 한우 QTL 영역의 비교유전체학/생물정보학적 분석을 통해서 한우품종에서 발굴된 유전자마커의 산업적 검증에 이용하는 것임

1. 기능성 후보유전자와 도체형질과의 연관성 분석

○ 본 연구과제 수행 1차년도에 문헌조사를 통해서 한우 육량 및 육질의 유전적 마커 발굴하였고, 이들 유전자를 기초로 QTL영역과 비교를 수행하였음

<표 3-2-1>

유전자	염색체	기능
Thyroglobulin	BTA14	Thyroglobulin is the glycoprotein precursor to the thyroid hormones.
Ghrelin	BTA22	Ghrelin is an endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor
Somatostain	BTA1	Somatostain
GHR	BTA20	Biologically active growth hormone binds its transmembrane receptor (GHR), which dimerizes to activate an intracellular signal transduction pathway leading to synthesis and secretion of insulin-like growth factor I.
Uncoupling proteins 2	BTA15	Mitochondrial uncoupling proteins (UCP) are members of the larger family of mitochondrial anion carrier proteins (MACP).
Uncoupling proteins 3		Mitochondrial uncoupling proteins (UCP) are members of the larger family of mitochondrial anion carrier proteins (MACP).
POMC	BTA11	This gene encodes a polypeptide hormone precursor that undergoes extensive, tissue-specific, post-translational processing via cleavage by subtilisin-like enzymes known as prohormone convertases.
ADSF	BTA7	This gene belongs to the family defined by the mouse resistin-like genes. The characteristic feature of this family is the C-terminal stretch of 10 cys residues with identical spacing.
CSRP	BTA29	This gene encodes a member of the CSRP family of LIM domain proteins, which may be involved in regulatory processes important for development and cellular differentiation.
Caveolin 1	BTA4	The scaffolding protein encoded by this gene is the main component of the caveolae plasma membranes found in most cell types.
Caveolin 2	BTA4	This gene is involved in essential cellular functions, including signal transduction, lipid metabolism, cellular growth control and apoptosis.
Caveolin 3	BTA22	This gene encodes a caveolin family member, which functions as a component of the caveolae plasma membranes found in most cell types.
MYF5	BTA5	Constitutes a different protein that is nevertheless capable of inducing the myogenic phenotype in embryonic C3H mouse fibroblasts.
MYF6	BTA6	involved in differentiation of myotubes
MYF4	BTA16	Muscle-specific transcription factor that can induce myogenesis in a variety of cell types in tissue culture.

○ 위의 탐색된 소 육량 및 육질 관련 기능성 후보유전자의 변이가운데, 한우집단에서의 유전자형 분석을 위하여 육량관련 4개의 MYOD gene family, 3개의 CAV gene family와 CSRP3 유전자의 변이 및 지방산 및 육질관련 후보유전자인 FASN, SREBF1, APOBEC2 유전자들의 변이를 한우에서 선발하여 확인하였다. 특히 caveolin gene family (CAV1, CAV2 and CAV3), CSRP3와 APOBEC2 유전자들은 한우를 포함한 8개의 소 품종에서 유전자형의 빈도를 함께 추정하였다.

<표 3-2-2>. Polymorphisms identified in MYOD family, SREBF1 and FASN genes in Hanwoo.

Gene	Accession no.	SNP[a]	Location	Amino acid change	Restriction enzyme
MYF5	NC_007303	g.1293C>T	Intron 1	Not applicable	None
		g.1911A>G	Intron 2	Not applicable	*TaqI*
		g.2434C>T	Exon 3	Silent	*HaeIII/NlaIV*
		g.2630G>A	Exon 3	Silent	None
MYF6	NC_007303	g.183T>C	Exon 1	Silent	*Nla*III
		g.1030T>G	Intron 2	Not applicable	None
		g.1313C>G	Exon 3	Silent	*HpyCH4IV*
Myogenin	NW_001501985	g.1111C>G	Intron 1	Not applicable	*Hin*fI
		g.1693C>A	Intron 2	Not applicable	*Sau*96I
		g.2417C>T	Exon 3	Silent	None
MYOD1	NC_007313	g.248G>A	Exon 1	Missense	None
		g.691C>A	Exon 1	Silent	*Sbf*I
		g.783G>A	Exon 1	Missense	*Bgl*I
		g.1274G>A	Intron 1	Not applicable	*Hin*fI
		g.2271C>G	Exon 3	Silent	*Eci*I
SREBF1	NC_007317	g.2892-g.2975 (84-bp indel)	Intron 5	Not applicable	-
FASN	AF285607	g.17924A>G	Exon 39	Missense	*Msc*I
		g.18663T>C	Exon 42	Silent	None

[a]Nucleotide positions are numbered according to the first base of each gene as it appears in GenBank

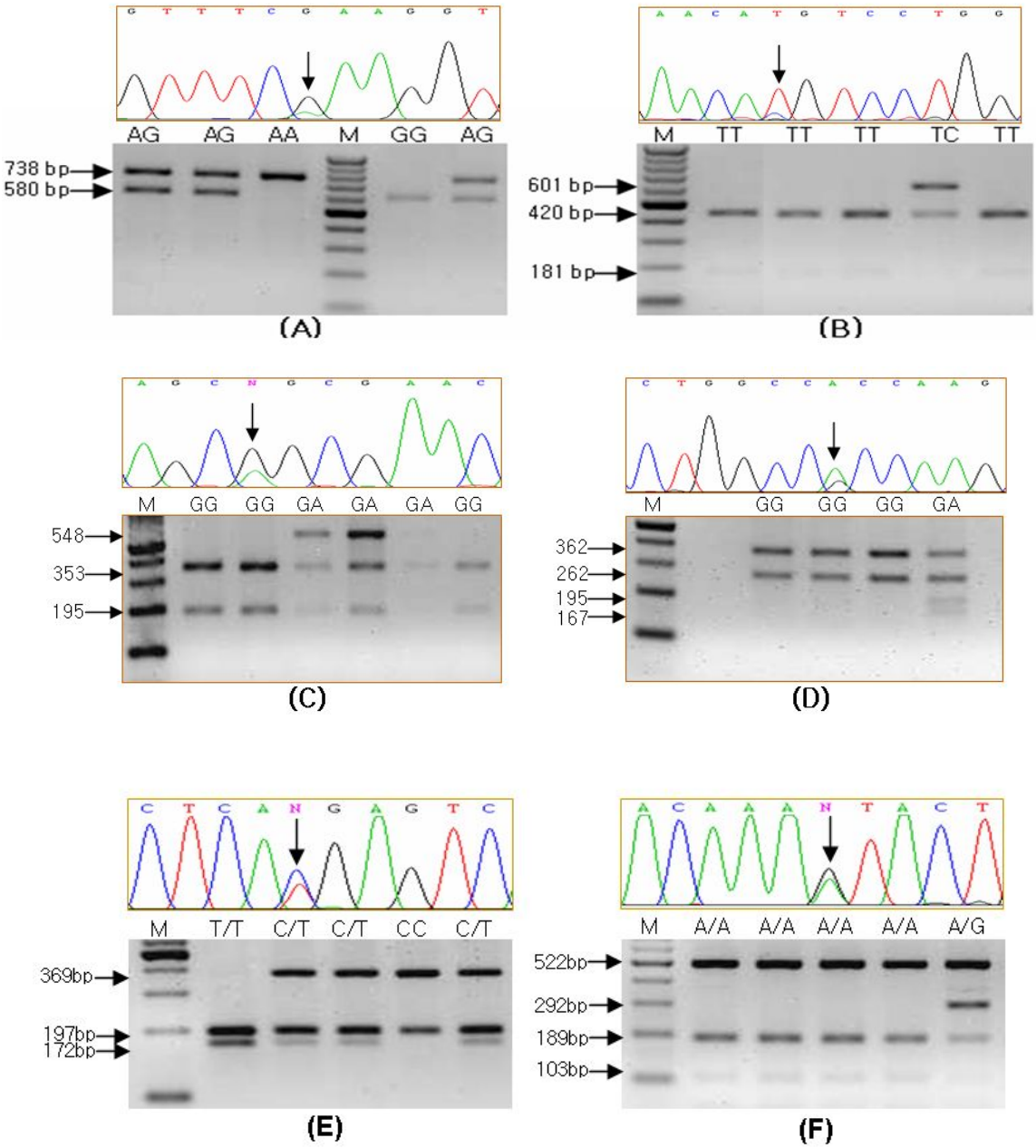
<豆 3-2-3>. Polymorphisms identified in bovine caveolin gene family (CAV1, CAV2 and CAV3), CSRP3 and APOBEC2 genes among eight different cattle breeds.

Gene	Accession no.	SNP[a]	Location	Predicted amino acid change	Restriction enzyme
CAV1	NC_007302	g.33503A>G	Exon 3	Silent	*Rsa*I
		g.33782G>A	Exon 3	Silent	*Hin*fI
		g.34233G>A	Exon 3	Silent	*Ale*I/*Sfc*I
		g.34365G>A	Exon 3	Silent	None
CAV2	NC_007302	g.259C>T	Intron 1	Not applicable	None
		g.397A>G	Intron 1	Not applicable	None
		g.409C>T	Intron 1	Not applicable	*Rsa*I
		g.561A>C	Exon 2	Silent	None
		g.623G>T	Exon 2	Silent	*Fau*I
CAV3	NC_007320	g.86C>T	Exon 1	Silent	*Msp*I/*Hpa*II
		g.238A>G	Exon 1	Silent	*Nla*III
		g.29884C>T	Intron 1	Not applicable	*BsrB*I/*Acl*I
		g.29921A>G	Intron 1	Not applicable	*Bcc*I
		g.30122C>T	Exon 2	Silent	None
CSRP3	NC_007330	g.14859C>T	Exon 3	Silent	*Nla*III
		g.15000A>G	Intron 3	Not applicable	*Acl*I
		g.18555G>A	Intron 4	Not applicable	*Nla*III
		g.18582C>T	Intron 4	Not applicable	None
		g.18952A>G	Intron 4	Not applicable	None
APOBEC2	NW_001494158	g.1538417A>C	Exon 1	Silent	*Bfa*1
		g.1538747A>G	Exon 1	Silent	*Nci*I
		g.1547690C>T	Exon 2	Silent	*Hpy*CH4V

[a]Nucleotide positions are numbered according to the first base of each gene as it appears in GenBank

<豆 3-2-4>. SNP genotype and allele frequencies for MYF5, MYF6, MYOD1 and SREBF genes in Hanwoo.

Gene	SNP	Location	*N*	Genotype frequency			Allele frequency	
MYF5	g. 1911A>G	Intron 2	242	GG	GA	AA	G	A
				0.49	0.43	0.08	0.70	0.30
				(118)	(105)	(19)		
MYF6	g. 183T>C	Exon 1	180	TT	TC	CC	T	C
	(Silent)			0.61	0.32	0.07	0.77	0.23
				(110)	(57)	(13)		
MYOD1	g.783G>A	Exon 1	96	GG	GA	AA	G	A
	(Missense)			0.32	0.52	0.16	0.58	0.42
				(31)	(50)	(15)		
	g.1274A>G	Intron 1	65	AA	AG	GG	A	G
				0.52	0.36	0.12	0.70	0.30
				(34)	(23)	(08)		
SREBF1	84-bp indel	Intron 5	137	LL	LS	SS	L	S
				0.58	0.36	0.05	0.77	0.23
				(80)	(50)	`(07)		



<그림 3-2-1>. PCR-RFLP patterns of four SNPs among the different candidate genes. The gel image A represents g.1911A>G mutation (digestion with *Taq*I) in *MYF5* gene; g.183T>C mutation (with *Nla*III) in *MYF6* gene (B); g.783G>A mutation (with *Bgl*I) *in MYOD1* gene (C) and g.17924A>G mutation (with *Msc*I) in *FASN* gene (D); g.14859C>T mutation (with *Nla*III) in *CSRP3* gene (E) and g.33503A>G mutation (with *Rsa*I) in *CAV1* gene (F) of Hanwoo. Arrows in the chromatograms indicate the polymorphic sites. M: 100 bp molecular size marker.

<표 3-2-5>. SNP allele frequencies for caveolin gene family (*CAV1, CAV2* and *CAV3*), *CSRP3* and *APOBEC2* genes among eight different cattle breeds.

Breed	*CAV1*	*CAV2*	*CAV3*		*CSRP3*		*APOBEC2*	
	A33503G	C409T	C86T	A29921G	C14859T	A15000G	A1538417C	A1538747G
Hanwoo	A0.89/G0.11[a] (48)[b]	C0.60/T0.40 (39)	C0.95/T0.05 (28)	A0.36/G0.64 (35)	C0.35/T0.65 (42)	A0.91/G0.09 (23)	A0.34/C0.66 (50)	A0.43/G0.57 (50)
Limousine	A0.94/G0.06 (17)	C0.77/T0.23 (16)	C1.00/T0.00 (18)	A0.88/G0.12 (21)	C0.83/T0.17 (24)	A0.58/G0.42 (24)	A0.57/C0.43 (40)	A0.77/G0.23 (40)
Simmental	A0.84/G0.16 (19)	C1.00/T0.00 (20)	C0.82/T0.18 (17)	A0.88/G0.12 (21)	C0.78/T0.22 (20)	A0.57/G0.43 (20)	A0.56/C0.44 (25)	A0.58/G0.42 (25)
Hereford	A1.00/G0.00 (9)	C0.92/T0.08 (12)	C1.00/T0.00 (12)	A1.00/G0.00 (12)	C0.54/T0.46 (12)	A0.79/G0.21 (12)	A0.60/C0.40 (20)	A0.70/G0.30 (20)
Angus	A0.88/G0.12 (8)	C1.00/T0.00 (12)	C0.80/T0.20 (10)	A0.67/G0.33 (12)	C0.79/T0.21 (12)	A0.83/G0.17 (12)	A0.82/C0.18 (14)	A0.93/G0.07 (14)
Brahman	A0.87/G0.13 (12)	C0.16/T0.84 (16)	C0.83/T0.17 (12)	A0.50/G0.50 (12)	C0.88/T0.12 (16)	A1.00/G0.00 (16)	A0.05/C0.95 (19)	A0.13/G0.87 (19)
Charolais	A0.93/G0.07 (7)	C0.79/T0.21 (12)	C0.85/T0.15 (10)	A0.81/G0.19 (8)	C0.75/T0.25 (12)	A0.62/G0.38 (12)	A0.88/C0.12 (12)	A0.83/G0.17 (12)
Brown Swiss	-	C0.75/T0.25 (16)	C0.92/T0.08 (13)	A0.90/G0.10 (21)	C0.83/T0.17 (24)	A0.65/G0.35 (24)	A0.50/C0.50 (26)	A0.77/G0.23 (26)
Total	120	143	120	142	162	143	206	206
χ^2 test (P value)	0.986	0.000	0.909	0.000	0.003	0.054	0.000	0.000

[a]Allele frequencies indicated by number of adjacent base.
[b]The values in the parentheses indicate number of animals investigation

○ 소의 도체형질 및 육질관련 기능성 후보유전자인 CSRP3, CAV2와 CAV3유전자 내의의 변이를 탐색하고 하였고 총 15종의 단일염기 변이를 확인하고, 8개의 소 품종집단에서의 유전자형 변이와 빈도를 추정하였다. (Bhuiyan. et. al. 2007).

<표 3-2-6>. Genotypes and minor allele frequencies of 3 polymorphisms in CSRP3, CAV2 and CAV3 genotyped in Korean native cattle (n=229)

Gene	SNP name	Position	AA change	Genotype (N. of cattle)			Total N. of cattle	Minor allele frequency	Heterozygosity	HWE P-value
CSRP	14859Y	Exon3	Silent	CC(95)	CT(110)	TT(19)	229	0.334	0.414	0.334
CAV2	409Y	Intron1	-	CC(118)	CT(91)	TT(21)	230	0.437	0.395	0.047
CAV3	2384R	Exon1	Silent	AA(87)	AG(110)	GG(33)	230	0.382	0.378	0.851

○ <표 3-2-7>은 한우의 도체형질과 각각의 유전자형의 연관성 분석을 실행한 도표이다. 조사된 경제형질 측정치에 대한 유전자형의 효과를 추정하기 위해 SAS 9.1 Package/PC를 이용하여 일반선형모형(GLM)분석을 하였으며, 유전자형의 효과가 유의한 형질들에 대해 최소유의차검정으로 평균간 차이에 대한 유의성을 조사하였다.

<표 3-2-7>. Association analyses of *CSRP3* polymorphism with carcass traits among Korean cattle

Gene	Phenotypic trait	Genotypic least squares means (SE)			P-value
		11	12	22	
CSRP-14859 (C/T) (n = 229)	**Backfat thickness (mm)**	**CC : 5.408 (0.221) [a]**	**CT : 4.654 (0.201) [b]**	**TT : 5.188 (0.494) [a]**	**0.0407**
	EMA (%)	CC : 79.389 (1.177)	CT : 77.630 (1.092)	TT : 78.031 (1.991)	0.3167
	Carcass Weight (kg)	CC : 358.475 (5.264)	CT : 352.088 (4.876)	TT : 364.278 (8.886)	0.2774
	Quantity Grade	CC : 68.664 (0.445)	CT : 68.728 (0.413)	TT : 68.011 (0.752)	0.6576
	Marbling score	**CC : 2.839 (0.119) [e]**	**CT : 3.031 (0.111) [e]**	**TT : 2.351 (0.202) [f]**	**0.0046**
	Meat color	CC : 4.843 (0.079)	CT : 4.943 (0.073)	TT : 5.016 (0.134)	0.3077
	Fat color	CC: 2.982 (0.029)	CT : 2.950 (0.026)	TT : 2,897 (0.049)	0.2177
	Texture	CC: 2.030 (0.076)	CT : 2.108 (0.071)	TT : 2.180 (0.129)	0.4247

Significance level: [a, b] 0.05; [c, d] 0.01; [e, f] 0.005

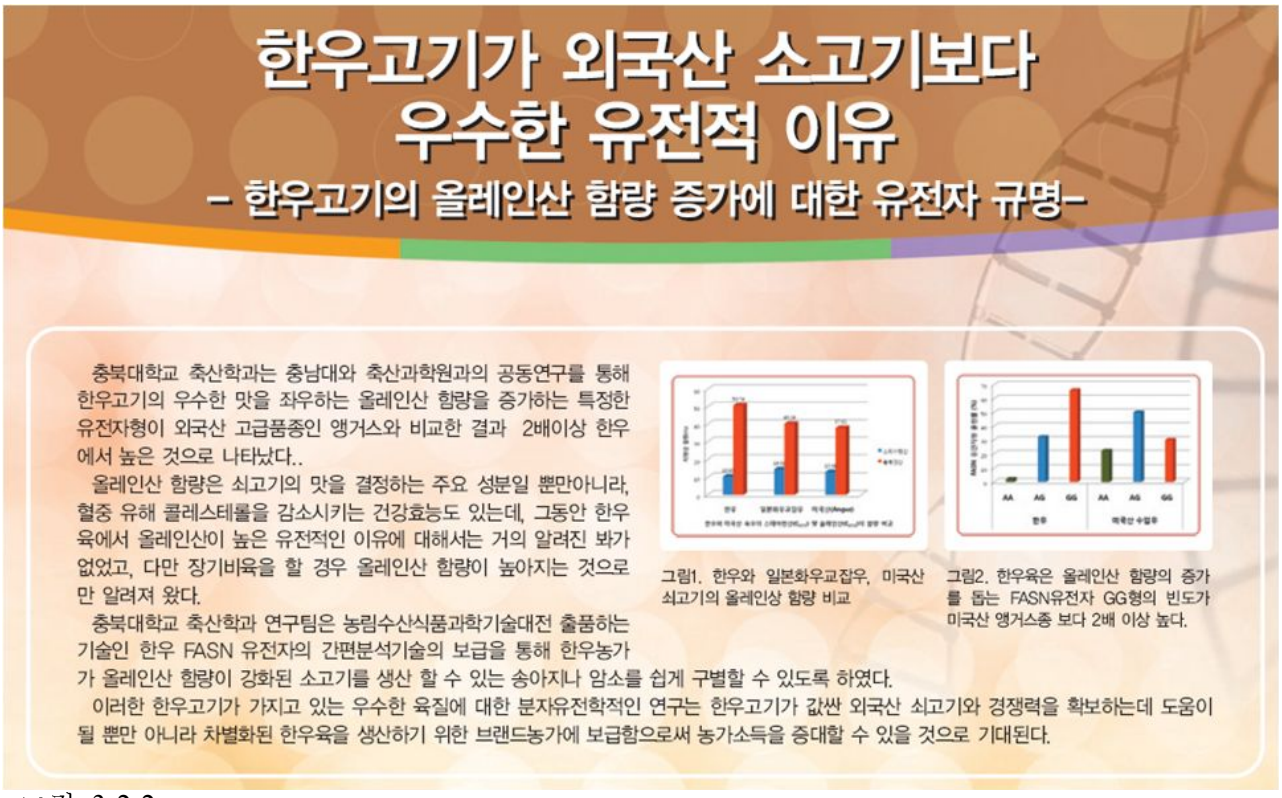
○ CSRP3 유전자내에 존재하는 (16859Y)단일염기 변이는 근내지방점수와 등지방두께에 고도의 유의성이 있는 것으로 나타났다. 빈도가 높은 CC형을 가진 개체와 CT형을 가진 개체를 비교하였을 때, CC형이 등지방두께가 두껍지만 근내지방점수에는 유의적인 차이가 없었다. TT형을 가진 개체의 수가 적지만 낮은 근내지방점수를 보였다.

○ 이미 많은 후보유전자 연구가 1) 염기서열분석을 통해 이루어진 후보 유전자들의 단일염기 변이를 발굴하고, 2) 생물정보학적 데이터 분석들을 이용하여 유전자변이의 위치를 파악하고, 3) 통계적인 방법으로 품종내 하디-와인버그평형 (Hardy-Weinberg Equilibrium)의 성립과 연관 비평형의 정도 (r-square value) 및 배수체 (haplotype)들의 연관성 분석을 대상 표현형자료를 이용하여 이루어지게 된다.

○ 기능성 후보유전자연구는 품종간 비교자료와 염색체내의 QTL 정보등을 이용한 추가적인 자료를 활용하여 영향력을 평가하였을 때 효율적임.

2. 한우 고기 내 불포화지방산 함량관련 유전자 연구

○ Zhang (2008) 등이 보고한 불포화지방산함량과 관련이 있다고 밝혀진 소 FASN 유전자내에 17924A>G 변이에 대해서 본 과제에서는 한우품종에서의 지방산 함량에 영향을 미치는지 유무 확인 하고, 한우품종과 외래우 품종 간에 FASN 유전자의 변이 차이가 한우가 외래우 품종들보다 우수한 유전적 이유를 밝히기 위해서 실행하였다.



<그림 3-2-2>

○ 쇠고기의 지방산 및 육질관련 기능성 후보유전자인 FASN의 변이를 탐색하고 한우집단에서의 유전자형 변이와 빈도를 추정하였는데, Zhang (2008) 등의 보고에 따르면 FASN 유전자내 Exon 39 번 위치한 17924A>G 변이는 Oleic acid(C18:1) 함량과 유의적인 연관성이 있으며, 유전자형 GG형을 가진 소고기는 Oleic acid(불포화 지방산)는 높고, Palmitic acid (포화지방산) 낮은 반면에, AA 형은 Oleic acid(불포화 지방산)는 낮고, Palmitic acid (포화지방산)은 높은 것으로 보고되어 졌다.

○ 또한 Oleic acid(C18:1) 증가는 근내지방의 증가와 밀접한 관계가 있으며, 올레인산 함량과 풍미는 양의 상관관계에 있다고 이미 많이 보고되어 진 봐 있어. FASN 유전자의 GG형은 소고기 섭취시에 몸에 이로운 불포화지방산의 증가뿐만 아니라 근내지방도와 풍미의 증가

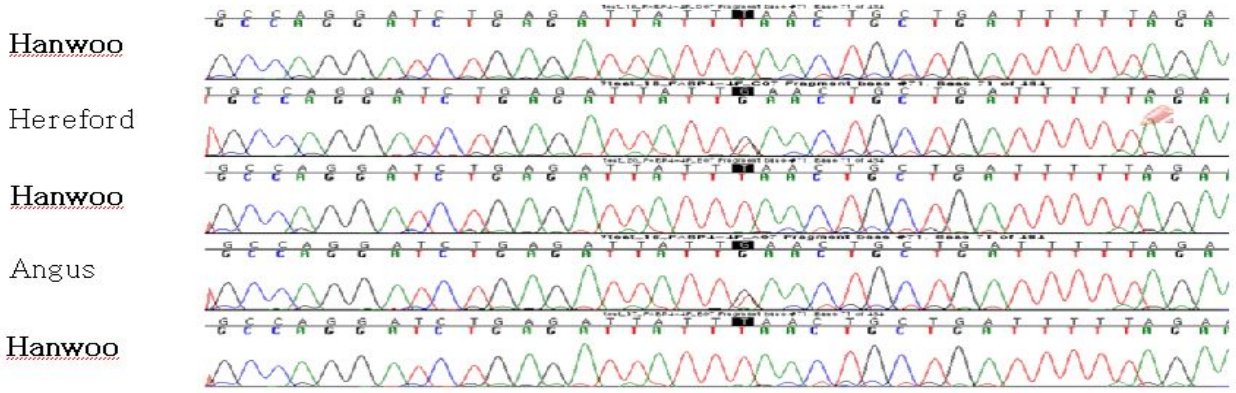
에도 간접적으로 영향을 줄수 있다는 것이 밝혀짐.

○ <표 3-2-8>에서 처럼 FASN 유전자내에 17924A>G변이의 G allele 은 외래품종에 비해 한우에서는 매우 높게 나타나는 것을 관찰할 수 있었다.

<표 3-2-8>. Genotype and allele frequencies of FASN(17924A>G) gene in among nine different cattle breeds.

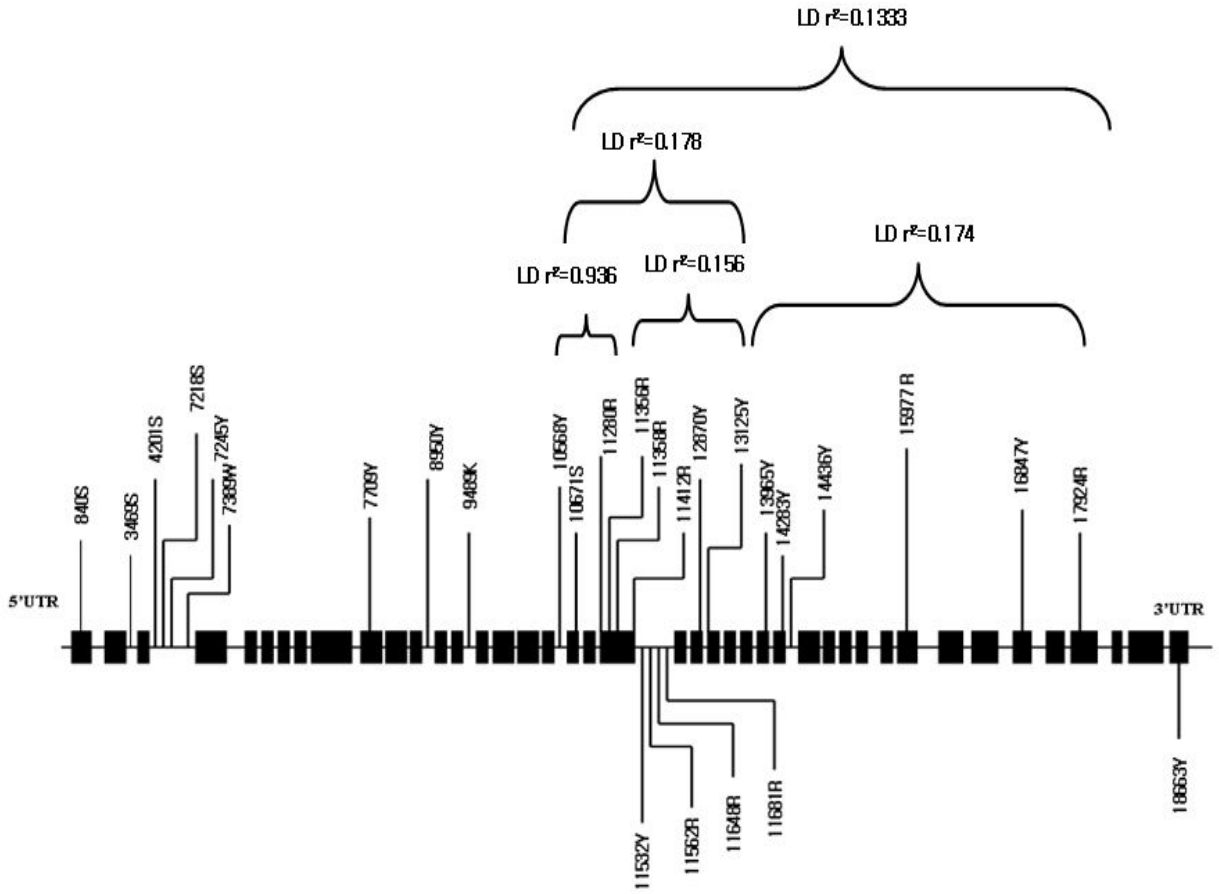
Breed	GG (N)	GA (N)	AA (N)	GG frequency	GA frequency	AA frequency
Angus	6	8	3	0.35	0.47	0.18
Hereford	3	9	5	0.18	0.53	0.29
Maine Anjoy	1	4	3	0.12	0.50	0.37
MARC II	7	1	0	0.87	0.12	0
Salers	2	3	0	0.40	0.60	0
Shorthorn	2	8	2	0.17	0.67	0.17
Simmental	8	6	3	0.47	0.35	0.18
Tarentaise	3	4	0	0.43	0.57	0
Hanwoo	**17**	**7**	**0**	**0.71**	**0.29**	**0**
Breed	Total GG (N)	Total GA (N)	Total AA (N)	GG frequency	GA frequency	AA frequency
Hanwoo	**17**	**7**	**0**	**0.71**	**0.29**	**0**
Total other breed	32	43	16	0.35	0.47	0.18

○ 추가적으로 한우 FASN 의 유전자의 전체염기서열을 다름 품종과 비교하기 위해서 Oligo6 program (MBI) 에 의해 총 36쌍의 Primer 를 제작하였고, Intron8 번부터 Exon42 번에 이르는 모든 부분을 염기서열 분석을 실시하였다.



<그림 3-2-3>. Sequencing result of FASN in 3 cattle breeds.

- 5'UTR 부분에서 Exon 8번 부분의 염기서열은 염기서열 분석이 잘되지 않아 NCBI 의 Gene Bank 에 등재되어 있는 품종간의 염기서열을 sequencher 4.6 program 을 이용하여 sequence blast 를 실시하여 12종의 단일 염기변이 들을 확인하고 변이들간의 연관성을 분석하였다.



<그림 3-2-4>. Physical map and SNP detection of FASN on chromosome 19. (Exons are marked as black block)

총 15개의 단일 염기변이들이 한우에서 발굴되었는데, 그 가운데 9개의 SNP들은 기존에 외국소 품종에서 보고된 것을 재발견하였으며, 또한 새로운 6개의 SNP 들은 한우에서 처음으로 보고되는 단일 염기변이들 이다.

○ <표 3-2-9>은 발굴된 SNP들의 유전자형을 한우품종집단에서 분석한 결과, 유전자형과 대립유전자형의 빈도를 조사한 것이다.

<표 3-2-9>. Genotypes and minor allele frequencies of 4 polymorphisms in FASN genotyped in Korean native cattle (n=100)

Gene	SNP name	Position	AA change	Genotype (N. of cattle)			Total N. of cattle	Minor allele frequency	Heterozygosity	HWE P-value
FASN	10558Y	Intron18	-	CC(27)	CT(55)	TT(17)	99	0.449	0.555	0.222
	11280R	Exon21	Silent	GG(27)	GA(55)	AA(17)	99	0.449	0.555	0.222
	13125Y	Exon24	His-Tyr	CC(16)	CT(45)	TT(39)	100	0.385	0.450	0.385
	17924R	Exon39	Silent	GG(62)	GA(29)	AA(7)	98	0.219	0.295	0.178

○ <표 3-2-10>은 한우 소고기내의 불포화지방산 함량과 각각의 유전자형의 연관성 분석을 실행한 결과인데. 17924A>G 변이는 한우 품종 내 지방산 조성에도 영향을 미치는 것을 관찰할 수 있었다. GG 형을 가지진 개체는 불포화 지방산인 Oleic acid (C18:1) 는 높고, 포화지방산인 Palmitic acid (C16:0) 는 낮았다.

<표 3-2-10>. Effect of 17924A>G mutation of FASN gene on beef fatty acid composition in Hanwoo. (in press)

Trait	17924A>G			P-value
	GG (n=65)	GA (n=19)	AA (n=4)	
Myristic acid (C14:0)	3.02 (0.09)	2,83 (0.18)	3.05 (0.38)	0.63
Palmitic acid (C16:0)	27.99 (0.22)b	29.16 (0.41)a	29.10 (0.89)a	0.03
Stearic acid (C18:0)	10.58 (0.14)	10.86 (0.25)	48.31 (1.12)	0.62
Oleic acid (C18:1)	49.90 (0.28)a	48.51(0.52)b	48.31 (1.12)b	0.04
Linoleic acid (C18:2)	2.23 (0.06)	2.16 (0.11)	2.08(0.24)	0.73
y'-linoleic acid (C18:3)	0.08 (0.01)	0.12 (0.03)	0.16 (0.05)	0.21
SFA2	41.60 (0.28)	42.85 (0.52)	42.86 (1.14)	0.08
UFA3	58.40 (0.28)	57.14 (0.52)	57.14 (1.14)	0.08
MUFA4	55.72 (0.28)	54.55 (0.51)	54.698 (1.11)	0.11
PUFA5	2.68 (0.07)	2.59 (0.12)	2.45 (0.27)	0.62

[1] Values are expressed as LSM ± SE, Fatty acid contents are expressed as g/100g of total fatty acids.
[a,b] Least square means within a row without a common superscript differ significantly (P<0.05).
[2] Total saturated fatty acids, 3Total unsaturated fatty acids, 4Total monounsaturated fatty acids and 5Total polyunsaturated fatty acids.

○ 이상의 결과는 본 과제수행을 통해 발굴된 FASN 유전자변이가 한우육의 불포화지방산 함량에 영향을 주는 원인유전자임을 밝힌 것이며, 2012년 6월 국내특허로 등록되었음.

<그림 3-2-5> 특허증

특 허 증

CERTIFICATE OF PATENT

특 허 제 10-1158475 호
(PATENT NUMBER)

출원번호 (APPLICATION NUMBER) 제 2009-0044862 호

출 원 일 (FILING DATE:YY/MM/DD) 2009년 05월 22일

등 록 일 (REGISTRATION DATE:YY/MM/DD) 2012년 06월 14일

발명의명칭 (TITLE OF THE INVENTION)

FASN 유전자내의 한우육 품질 판별용 단일염기다형성 마커 및 이를 이용한 한우육 품질 판별방법

특허권자 (PATENTEE)

충북대학교 산학협력단(150171-0******)

충청북도 청주시 흥덕구 내수동로 52 (개신동)

발명자 (INVENTOR)

등록사항란에 기재

위의 발명은 「특허법」에 의하여 특허등록원부에 등록되었음을 증명합니다.

(THIS IS TO CERTIFY THAT THE PATENT IS REGISTERED ON THE REGISTER OF THE KOREAN INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE.)

2012년 06월 14일

특 허 청 장
COMMISSIONER, THE KOREAN INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE

연차등록료 납부일은 설정등록일 이후 4년차부터 매년 06월 14일까지이며 등록원부로 권리관계를 확인바랍니다.

3. 불포화지방산 강화 FASN 유전자 변이의 후보종모우와 암소 선발 효과 검증

○ Fatty Acid Synthase (FASN) 유전자의 단일염시 변이 (g.17924G>A -Exon39-Thr2158Ala)는 한우집단 내에서도 불포화 지방산에 연관성이 있음을 확인하였다. 추가적으로 FASN 유전자의 단일염기변이g.11280G>A (Exon21-Silent), g.13125T>C (Exon24-His1390Tyr)와 g.17924G>A (Exon39-Thr2158Ala)는 소고기내 지방산함량 뿐만 아니라 육량에도 연관성이 있는 것으로 보여짐에 따라 FASN 유전자의 단일염기변이가 후대검정사업에 후보종모우 조기선발용 DNA마커표지로써 유용 가능한 가치가 있는지를 검증하기 위하여 후대검정우 925두를 대상으로 연구하였다.

- 한우개량사업소에서 2006년도 11월부터 2009년 5월 사이에 출하된 한우 후대검정우중 도축된 925두의 등급판정결과를 이용하였는데, FASN 유전자형과 한우 등급판정결과의 도체형질인 도체중, 등지방두께, 배장근단면적, 육량지수와 근내지방도 등 5개 항목에 대하여 연관성 분석을 실시하였다 .

<표 3-2-11>. Means and standard deviations for carcass traits measured on Hanwoo populations

Phenotypes Korean native cattle data	N	Mean	Std Dev	Median
Carcass weight (CW) kg	925	362.71	39.16	360.00
Longissimus muscle area (LMA) cm2	921	79.58	8.97	79.00
Backfat thickness (BF) cm.	921	1.04	0.39	1.00
Marbling score (MAR) 1-8	924	3.42	1.72	3.00
Beef quantity index (BQI)	924	66.52	2.95	66.96

- 한우 후대검정우 925의 유전자형을 결정하기 위해서 RFLP 방법을 이용하여 분석하였다.

<표 3-2-12>. Genotype and minor allele frequency of three major polymorphisms in FASN gene genotyped in Hanwoo progeny test steers

Gene	Position	AA change	Genotype (N. of number)			Total N.of cattle	Minor allele frequency	Heterozygosity	HWE P-value
g.11280G>A	Exon21	Silent	AA (132) 16%	AG (428) 50%	GG (293) 34%	853	0.395	0.478	0.958
g.13125T>C	Exon24	His->Tyr	CC (98) 19%	CT (269) 52%	TT (149) 29%	516	0.457	0.496	0.368
g.17924G>A	Exon39	Thr->Ala	AA (37) 5%	AG (226) 30%	GG (489) 65%	752	0.225	0.349	0.160

<표 3-2-13>. Association of 3 polymorphisms (g.11280G>A, g.13125T>C and g.17924G>A) genotypes and phenotypic traits

FASN Gene	Trait	Genotypic least squares means* (SE)			P-value
		11	12	22	
g.11280G>A (n=852)	Carcass weight (CW) kg	AA: 364.71 (0.92)	AG: 363.54 (0.52)e	GG: 361.52 (0.63)a	0.0049
	Longissimus muscle area (LMA) cm2	AA: 79.66 (0.72)	AG: 79.72 (0.51)	GG: 79.76 (0.58)	0.9926
	Backfat thickness (BF) cm.	AA: 1.05 (0.03)	AG: 1.04 (0.03)	GG: 0.97 (0.03)b	0.0413
	Marbling score (MAR) 1-8	AA: 3.62 (0.15)	AG: 3.45 (0.08)	GG: 3.51 (0.10)	0.5595
	Beef quantity index (BQI)	AA: 66.33 (0.22)	AG: 66.43 (0.13)	GG: 66.88 (0.16)b	0.0457
g.13125T>C (n=516)	Carcass weight (CW) kg	CC: 355.91 (3.07)	CT: 355.22 (3.00)	TT: 356.32 (3.04)	0.5731
	Longissimus muscle area (LMA) cm2	CC: 79.34 (4.92)	CT: 79.38 (5.00)	TT: 79.08 (5.00)	0.9300
	Backfat thickness (BF) cm.	CC: 1.28 (0.35)	CT: 1.35 (0.35)	TT: 1.36 (0.35)	0.2121
	Marbling score (MAR) 1-8	CC: 2.74 (0.49)	CT: 2.82 (0.48)	TT: 2.60 (0.49)	0.4732
	Beef quantity index (BQI)	CC: 65.87 (0.82)	CT: 65.39 (0.80)	TT: 65.27 (0.81)	0.2310
g.17924G>A (n=752)	Carcass weight (CW) kg	AA: 360.03 (1.65)	AG: 361.92 (0.68)a	GG: 363.36 (0.46)b	0.0499
	Longissimus muscle area (LMA) cm2	AA: 77.84 (1.23)	AG: 79.43 (0.53)	GG: 79.70 (0.39)	0.3379
	Backfat thickness (BF) cm.	AA: 1.12 (0.06)	AG: 1.03 (0.02)	GG: 1.04 (0.02)	0.4412
	Marbling score (MAR) 1-8	AA: 3.25 (0.27)	AG: 3.46 (0.11)	GG: 3.48 (0.07)	0.7299
	Beef quantity index (BQI)	AA: 65.83 (0.44)	AG: 66.52 (0.18)	GG: 66.44 (0.12)	0.3447

* Significance levels: a, b=0.05; c, d=0.01; e, f=0.005.

○ **불포화지방산의 함량에 유의적인 영향을 주는 것으로 알려진 Exon39번 g.17924G>A 변이의 유전자형 빈도는 총 752두의 한우집단에서 GG형은 489두 (65%)로 가장 빈도가 높았으며, 유의적으로 도체중이 높은 것으로 나타나 육질과 육량을 동시에 개량할 수 있는 DNA 마커로서 활용될 수 있음이 밝혀짐 (표 3-2-12)**

○ 또한 후대검정우 집단에서 FASN 유전자변이의 연관불균형 및 반수체형 빈도조사를 수행하였다.

<표 3-2-14>. Linkage disequilibrium and Haplotype structure in the FASN gene

a) LDs among FASN major three polymorphisms

		[D']		
		g.11280G>A	g.13125T>C	g.17924G>A
r-square	g.11280G>A	−	0.568	0.920
	g.13125T>C	0.177	−	0.607
	g.17924G>A	0.101	0.207	−

b) Haplotype structure and frequency in FASN major three polymorphisms

Haplotype	FASN 21	FASN 24	FASN 39	Frequency
ht1	G	C	G	0.378
ht2	A	T	G	0.301
ht3	G	T	A	0.191
ht4	A	C	G	0.063

* Others contain rare haplotype: GTG (0.033), ATA (0.018) and ACA (0.012).

c) Probability of phenotypic difference between the haplotypes

Haplotype	CW, kg	LMA, cm2	BF, inch	MAR, 1~8	BQI, score
ht1 vs ht2 (estimate)	0.09 (-3.15)	0.52 (1.00)	0.15 (-0.10)	0.96 (0.02)	0.07 (0.92)
ht1 vs ht3 (estimate)	0.33 (2.47)	0.25 (2.46)	0.15 (-0.13)	0.36 (0.40)	0.10 (1.14)
ht2 vs ht3 (estimate)	>0.05 (5.61)	0.55 (1.46)	0.73 (0.04)	0.44 (0.38)	0.77 (0.23)

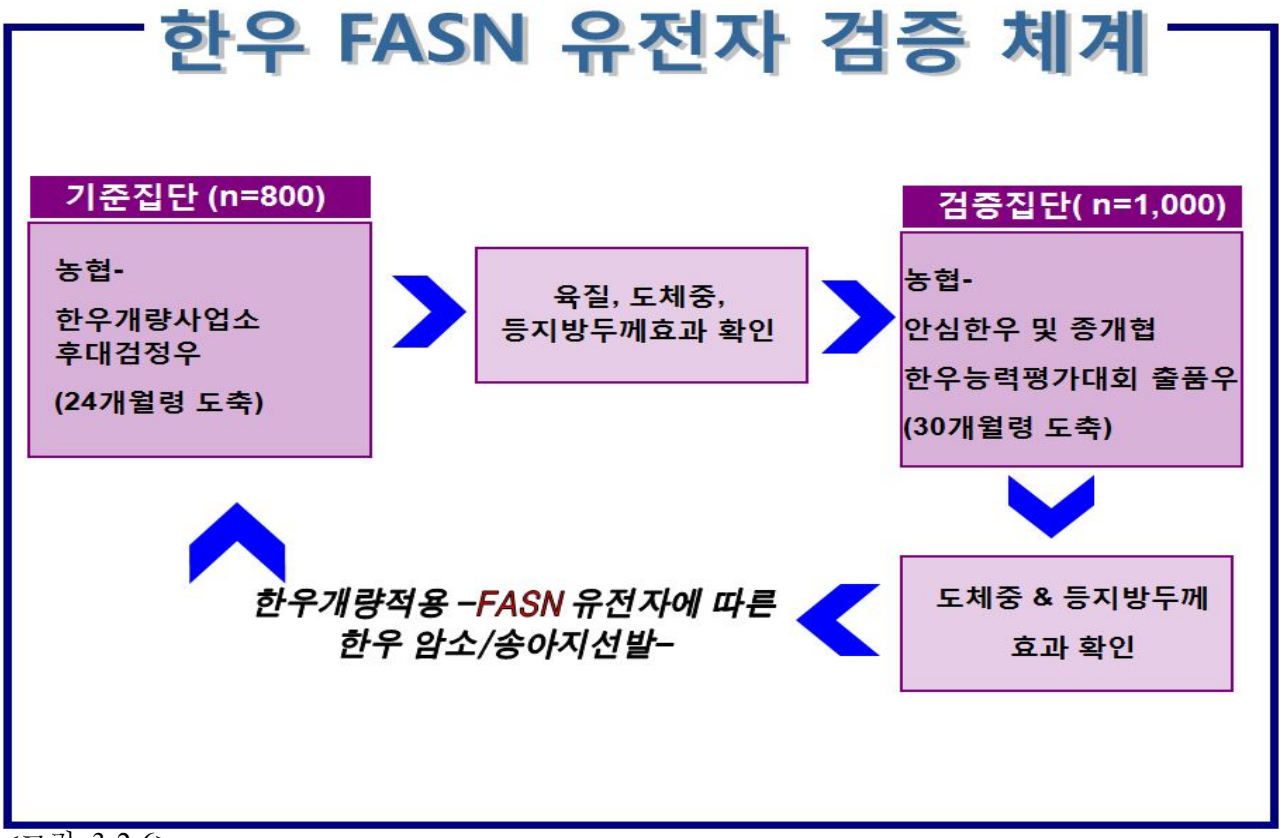
Size of the phenotypic difference estimated was in parenthesis.

○ FASN 반수체형 2번 (-ATG-)은 반수체형 1번 (-GCG-)과 반수체형 3번 (-GTA-) 보다는 도체중이 유의적으로 높은 것으로 나타났고 (Table 5-c), 한우집단에서 FASN g.11280G>A와 g.17924G>A의 변이들간의 연관불균형 정도는 높지 않은 것으로 나타나, F**ASN 유전자 내의 g.11280G>A와 g.17924G>A 변이 두 가지를 동시에 분석하여서 후보종모우 개체를 조기선발하는데 이용하여야 한다고 판단하였으며, 반수체형 3번 (-GTA-)-구조를 가지지 않은 동형접합체 (0-copies)인 개체들을 선발하는 것이 육량증대에 효과가 있는 것으로 제시**하였다.

○ 반수체형 2번을 가진 개체들의 경우 등지방두체도 유의수준에 근접한 차이를 나타내어서 사료효율의 증대에도 부가적으로 효과가 있을 것으로 예측되었다.

○ 이상의 본 연구에서 검증된 결과는 FASN 유전자형을 한우개량 사업에서 당대검정우를 선발하는데 보조수단으로 반수체 2번을 활용하고, 한우농가에서는 암소도태에 있어서는 반수체 3번을 가진 개체를 선발하는 것을 제시하였다.

○ **한우 FASN 유전자를 이용한 선발체계의 산업적 검증**



<그림 3-2-6>

○ 불포화지방산 함량을 높이는 효과를 가진 FASN 유전자변이를 한우개량사업의 후보종모우 조기선발에 활용하기위해서 24개월령에 도축하는 후대검정우 집단 (n=925) 에서의 Fatty Acid Synthase (FASN) 유전자내의 단일염기 변이가 육량 및 육질에 미치는 영향을 검증 하였으며, 그 결과 g.17924A>G변이가 도체중과 등지방두께에서 유의적인 효과가 있음을 밝혀냈으며, 그 효과가 30개월령에 도축하는 상업한우에서도 나타나는지를 조사하여, 후보종모우 선발뿐만아니라 우량암소나 도태암소의 선발에 활용이 가능한지를 조사하였다.

○ 이를 위해서 한우 능력평가 2008년도 10월부터 2010년 11월 사이에 출하된 상업집단중 도축된 425 두와 농협축산연구원 2008년도 1월부터 2009년 1월 사이에 출하된 상업집단중 도축된 635두를 이용하였으며, 한우 상업집단 총 1059두의 FASN 유전자 내의 총 4개의 단일염기변이의 유전자형을 결정하기 위해서 RFLP 방법을 이용하여 분석하였다.

○ 특히 FASN 유전자내에서 g.16924A>G와 g.16039T>C 변이는 일본화우집단내에서 불포화지방산함량에 매우 영향을 주는 변이로 밝혀져 (Abe et al., 2009), 이에 대한 한우집단에서의 분포를 아울러 조사하였는데, 한우 상업집단 총 1059두의 FASN 유전자 내의 총 4개의 단일염기변이의 유전자형을 결정하기 위해서 RFLP 방법을 이용하여 분석하였다.

<표 3-2-15>. Means and standard deviations for carcass traits measured on Hanwoo commercial populations.

Phenotypes of Hanwoo commercial population	N	Mean	Std Dev	Median
Carcass weight (CW) kg	1059	419.70	42.73	418.70
Longissimus muscle area (LMA) cm2	1059	88.08	9.61	87.00
Backfat thickness (BF) cm.	1059	12.00	4.67	12.00
Marbling score (MAR) 1-27	1059	18.18	5.90	19.00
Beef quantity index (BQI)	425	64.71	3.77	65.20

<표 3-2-16>. PCR primers and restriction enzymes used for SNP genotyping

Gene	SNPs name	Primer sequences (5' ->3')	Fragment size (bp)	T_A(° C)	Restriction Enzyme (° C)	Size(bp) of the allelic polymorphism
FASN	*g.11280A>G*	CCACAGTGGCCGACGTG AACTTCTCCAGGATGGGCACC	133	58	*TaqI (65)*	133, 67
FASN	*g.16024 A>G*	CTACCAAGCCAGGCAGGTC GCCATTGTACTTGGGCTTGT	336	61	*HhaI (37)*	336, 262
FASN	*g.16039T>C*	CTACCAAGCCAGGCAGGTC GCCATTGTACTTGGGCTTGT	336	61	*NciI (37)*	336, 247
FASN	*g.17924A>G*	ACCTTGACACGGCTCAACTC GTAGCCATAGGTGGGGATG	127	58	*MscI (37)*	127, 93

<표 3-2-17>. Genotype and minor allele frequency of three major polymorphisms in FASN gene genotyped in Hanwoo commercial population

SNPs name	Position	AA change	Genotype (N. of number)			Total N.of cattle	Minor allele frequency	Heterozygosity	HWE P-value
g.11280 A>G	Exon21	Silent	AA: 72 (20%)	AG: 120 (34%)	GG: 167 (46%)	359	0.368	0.465	0.002
g.16024 A>G	Exon34	Thr> Ala	AA: 82 (20%)	AG: 173 (42%)	GG: 165 (38%)	420	0.408	0.483	0.004
g.16039 T>C	Exon34	Trp> Arg	TT: 76 (18%)	TC: 167 (42%)	CC: 158 (40%)	401	0.403	0.481	0.032
g.17924 A>G	Exon39	Thr>Ala	AA: 26 (3%)	AG: 265 (26)	GG: 720 (71)	1011	0.147	0.251	0.423

○ 한우 상업집단에서 exon 21번에 위치하는 g.11280A>G 단일염기변이의 유전자형 빈도는 AA 유전자형을 가지고 있는 개체는 72두 (20%) 나타났으며, AG 유전자형을 가지고 있는 개체는 120두 (34%), GG 유전자형을 가지고 있는 개체는 167두 (46%)로 관찰되었다. 이는 3차년도의 후대검정우 집단에서는 AG 유전자형을 가진 개체가 50% 높은 반면 상업돈 집단에서는 GG 유전자형을 가진 개채가 많은 것으로 관찰되었지만 대립유전자의 최종빈도는 유사한 것으로 나타났음.

○ Exon 39번에 위치하는 g.17924A>G 단일염기변이는 AA 유전자형이 11두 (3%), AG 유전자형이 95두 (24%), GG 유전자형이 292두 (73%) 로 관찰되었다. 이는 3차년도의 후대검정우 집단에서의 빈도와 거의 흡사한 것으로 나타났으며, 후대검정우 집단에서는 GG 유전자형을 가진 개체가 AG 와 AA 유전자형을 가진 개체보다 도체중이 뛰어난 것으로 나타났다.

○ 한우 FASN의 exon 34번에서 새로운 두 개의 단일염기변이 g.16024A>G 와 g.16039T>C 는 높은 연관불균형구조를 가지고 있었으며, FASN유전자의 아미노산조성을 바꾸는 돌연변이로써 한우상업집단에서의 다형성 또한 높았으며, FASN 유전자내에 존재하는 여러개의 SNP간에 대한 LD는 다음과 같음.

<표 3-2-18>. Linkage disequilibrium and Haplotype structure in the FASN gene

a) LDs among FASN major four polymorphisms

		[D']			
		g.11280G>A	*g.16024A>G*	*g.16039T>C*	*g.17924G>A*
r-square	*g.11280A>G*	–	0.728	0.709	0.745
	g.16024A>G	0.478	-	0.813	0.825
	g.16039T>C	0.464	0.630	-	0.928
	g.17924A>G	0.055	0.083	0.103	-

b) Haplotype structure and frequency in FASN major four polymorphisms

Haplotype	*g.11280G>A*	*g.16024A>G*	*g.16039T>C*	*g.17924G>A*	Frequency
ht1	G	G	C	G	0.372
ht2	**A**	**A**	**T**	**G**	**0.300**
ht3	G	G	C	A	0.128
ht4	G	A	T	G	0.057

* Others contain rare haplotype: AGCG (0.034), GACG (0.030), GGTG (0.026), AACG (0.017) and AGTG (0.016).

○ FASN 유전자형효과는 고기내 불포화지방산인 올레인산의 함량을 증가시키는 g17924 G대립유전자를 보유한 후대 검정우 집단에서 낮은 등지방두께와 높은 도체중에 나타냈고, 이러한 효과는 30개월령 상업집단에서도 유의적으로 동일하게 나타났음. 이러한 결과를 바탕으로 FASN유전자의 g17924 SNP를 한우 후보종모우의 조기선발과 우량 송아지 생산을 위한 번식용 암소를 선발하는 개량수단으로 활용할 수 있도록 검증하였음.

<표 3-2-19>. Association of the g.17924G>A genotypes and phenotypic traits

Gene	**FASN Gene**	**Trait**	**Genotypic least squares means* (SE)**			
			11	**12**	**22**	**P-value**
FASN	*g.17924 A>G* (n=1011)	CW, kg	AA: 440.25 (8.56)	AG: 413.22 (3.38)	GG: 409.73 (2.71)	**0.0010**
		LMA, cm^2	AA: 89.78 (1.89)	AG: 86.48 (0.75)	GG: 86.60 (0.60)	0.3308
		BF, cm.	AA: 15.01 (0.96)e	AG: 13.01 (0.38)e, f	GG: 12.48 (0.30)f	**0.0113**

○ 이상의 FASN 유전자외에 한우 육질과 육량을 향상시키는데 중요한 유전자를 발굴하기 위해서 추가적인 연구를 수행하였는데, 이를 위해 동일한 염색체 19번에 위치한 ACACA 유전자의 변이와 연관성과 표현형에 미치는 효과에 대해서 먼저 분석한후, FASN 유전자와 ACACA 유전자간의 상호작용에 대해서 통합분석을 수행하였다.

4. 한우 후대검정우 및 상업집단에서 Acetyl-CoA Carboxylase-α (ACACA) 유전자의 단일염기 변이가 육량 및 육질에 미치는 영향 검증

○ FASN 유전자와 같은 지방합성 및 지방산 조성에 영향을 미치는 것으로 알려진 Acetyl-CoA Carboxylase-α (ACACA) 유전자내의 단일염기변이가 후대검정우집단 (n=188)과 상업집단 (n=380)에서 육량 및 육질에 미치는 영향을 분석하였다.

○ Shin et al. (2011)은 한우 ACACA유전자 SNP (GenBank no. AJ430417) Intron 1의 g.2344T>C와 g.2447C>A에서 g.2344C 대립유전자가 도체중을 유의적으로 증가시키는 효과를 보고하였다. Zhang 등(2009)은 ACACA 유전자의 Promoter I 영역에서 8개의 단일염기변이들을 발견 하였으며 특히 g.2274G>A 단일염기변이는 등지방 두께에 유의적인 연관성이 있으며, g.2350T>C 단일염기변이는 지방산 조성에 유의적인 연관성이 있음을 보고 하였다. 본 연구과제에서는 ACACA g.2274G>A 유전자형 효과를 검정하기 위해서 한우개량사업소의 2006년도 11월부터 2009년 5월 사이에 출하된 한우 후대검정우중 도축된 188두의 등급판정 결과를 이용하였으며, 한우 능력평가 2008년도 10월부터 2010년 11월 사이에 출하된 상업집단중 도축된 425 두와 농협축산연구원 2008년도 1월부터 2009년1월 사이에 출하된 상업집단중 도축된 635두를 이용하였다.

<표 3-2-20>. Means and standard deviations for carcass traits measured on Hanwoo breeding stock and Hanwoo commercial populations

Hanwoo population	Breeding stock		Commercial populations	
	N	Mean (S.D)	N	Mean (S.D)
Carcass weight (CW) kg	188	349.43 (31.59)	425	433.38 (43.25)
Longissimus muscle area (LMA) cm^2	188	80.98 (8.12)	425	91.78 (9.67)
Backfat thickness (BF) cm.	188	8.47 (2.88)	425	13.16 (5.07)
Marbling score (MAR) 1-7 and 1-27	188	3.08 (1.56)	425	18.18 (5.90)
Beef quantity index (BQI)	188	68.26 (68.26)	425	64.71 (3.77)

○ ACACA 유전자내의 Promotor 영역의 단일염기변이를 확인하기 위해 Oligo 6 (Molecular Biology Insights, Cascade, Co, USA)을 이용하여 Primer를 제작하였고 (F:5-AACTGAACTGAGGCAACTTAG-3, R:5-TCCTATCTATAATTGGCAGTC-3), 한우집단내의 ACACA 유전자내의 Promotor 영역의 염기서열 분석을 위하여 한우 4두를 이용하였다.

○ 한우 ACACA 유전자 (GenBank AJ276233) 내에 존재하는 g.2064T>A, g.2155C>T, g.2268T>C, g.2274G>A, g.2340A>G 와 g.2370T>C 총 5개의 단일염기 변이들은 완전한 연관불균형 구조를 가지고 있었으므로, 제한효가 존재하는 g.2203G>T 와 g.2274G>A 두 단일염기변이의 유전자형을 결정하기 위해서 RFLP 방법을 이용하여 분석하였다.

<표 3-2-21>. Genotype and minor allele frequency of three major polymorphisms in ACACA gene genotyped in Hanwoo breeding stock and Hanwoo commercial populations

Population	Gene	SNPs name	Position	Genotype (N. of number)			Total N.of cattle	Minor allele frequency	Heterozygosity	HWE *P-value*
HBC	*ACACA*	*g.2203A>G*	Promotor	AA: 0 (0%)	AG: 0 (0%)	GG: 118 (100%)	118	0	0	0.000
HBC	*ACACA*	*g.2274A>G*	Promotor	AA: 3 (1%)	AG: 53 (28%)	GG: 131 (69%)	187	0.135	0.283	0.101
HC	*ACACA*	*g.2274T>C*	Promotor	AA: 20 (5%)	AG: 129 (34%)	GG: 231 (61%)	380	0.192	0.339	0.143

HBC: Hanwoo breeding stock
HC: Hanwoo commercial populations

○ 한우 후대검정우 집단 118두에서는 ACACA 유전자내의 g.2203A>G 단일염기변이가 모두 GG 유전자형으로 관찰되었다. Zhang et al., (2010) 에 따르면 g.2203GG유전자형은 미국비육우집단에서 높은 근내지방함량과 연관성이 보고되었고, g.2350T 대립유전자는 지방산조성에 연향을 주는 것으로 보고하였다.

○ ACACA g.2274A>G 단일염기변이는 후대검정우 집단에서 AA 유전자형은 3두 (1%)로 나타났으며 AG 유전자형은 53두 (28%), GG 유전자형은 131두 (69%) 관찰되었는데, Zang et al. (20010)에 따르면 등지방두께에 유의적인 연관성을 보고하였다. 24개월령 후대 검정우 집단에서는 g.2274A>G 단일염기변이가 도체중, 등지방두께, 배장근단면적, 근내지방도 와 육량지수의 5종의 도체형질과의 연관성은 관찰 할 수 없었지만, 30개월령 이상 상업집단에서는

배장근단면적과 근내지방도에서 유의적인 연관성이 관찰되었다 ($p<0.05$). GG 유전자형을 가진 개체는 배장근단면적과 근내지방도가 유의적으로 높은 것으로 나타났다.

<표 3-2-22>. Association of polyphism (g.2274G>A) genotypes and phenotypic traits

Population	ACACA Gene	Trait	Genotypic least squares means* (SE)			
			11	12	22	P-value
Hanwoo Progeny Test Bull	*g.2274 A>G* (n=187)	Carcass weight (CW) kg	AA: 375.51 (6.12)	AG: 347.75 (5.75)	GG: 355.03 (4.22)	0.2148
		Longissimus muscle area (LMA) cm^2	AA: 81.99 (5.94)	AG: 81.48 (1.74)	GG: 82.41 (1.28)	0.8698
		Backfat thickness (BF) cm.	AA: 9.03 (2.31)	AG: 8.05 (0.68)	GG: 8.10 (0.50)	0.9133
		Marbling score (MAR) 1-9	AA: 3.41 (1.30)	AG: 3.03 (034)	GG: 2.91 (0.25)	0.8767
		Beef quantity index (BQI)	AA: 67.41 (1.69)	AG: 68.63 (0.49)	GG: 68.58 (0.36)	0.7715
Commercial Steers	*g.2274 A>G* (n=380)	Carcass weight (CW) kg	AA: 410.95 (10.91)	AG: 426.54 (5.87)	GG: 429.18 (5.27)	0.1904
		Longissimus muscle area (LMA) cm^2	AA: 88.37 (2.38)a	AG: 90.54 (1.28)a, b	GG: 92.76 (1.15)b	**0.0267**
		Backfat thickness (BF) cm.	AA: 12.29 (1.30)	AG: 12.35 (0.70)	GG: 12.20 (0.63)	0.9606
		Marbling score (MAR) 1-27	AA: 18,49 (1.30)a	AG: 21.23 (0.70)b	GG: 21.41 (0.63)b	**0.0408**
		Beef quantity index (BQI)	AA: 65.35 (0.97)	AG: 65.22 (0.52)	GG: 65.55 (0.47)	0.7425

*Significance levels: a, b=0.05; c, d=0.01; e, f=0.005.

5. FASN 과 ACACA 유전자들 내의 단일염기변이간의 상호작용효과를 통해 상업집단의 육량 및 육질에 미치는 영향을 검증.

○ 위의 결과를 바탕으로 도체형질에 영향을 미치는 FASN (g.17924A>G) 와 ACACA (g.2274A>G) 유전자간의 상호작용효과를 알아보기 위해 한우 상업집단 (n=425)을 이용하여 검증을 수행.

- 한우 능력평가 2008년도 10월부터 2010년 11월 사이에 출하된 상업집단중 도축된 425 두를 이용하였으며, 냉도체 판정 후 등심조직에서 시료를 채취하여 QIAamp® DNA Micro Kit (QIAGEN, USA)를 이용하여 DNA를 추출하였다. 조사된 형질은 농림부 고시(축산물 등급판정

세부기준, 제 2004-66호)의 측정방법을 이용하여 등급한정결과의 도체형질인 도체중, 등지방두께, 배장근단면적, 육량지수 와 근내지방도 등 5개의 항목에 대하여 실시하였다.

- 한우 상업집단 총 425두에 대한 FASN (g.17924A>G) 과 ACACA (g.2274A>G) 유전자내의 의 2개의 단일염기변이의 유전자형 빈도는 아래와 같다.

<표 3-2-23>. Combined frequencies of the FASN and ACACA polymorphisms in commercial Hanwoo population (n=359)

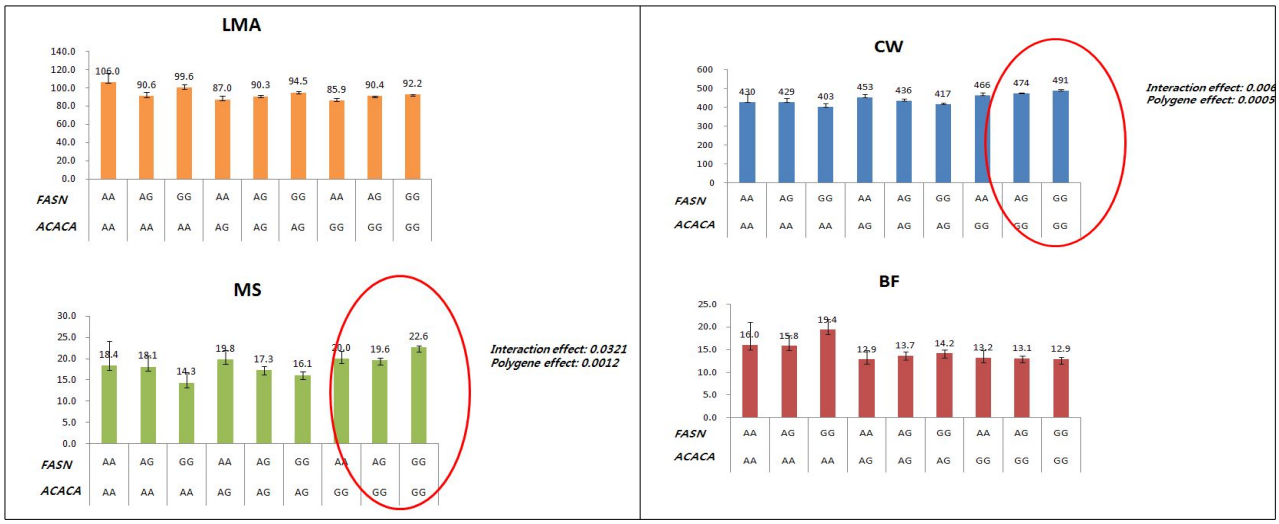
	ACACA *g.2274A>G* Genotype		
FASN *g.17924G>A* Genotype	**AA**	**AG**	**GG**
AA	0	0.01	0.01
AG	0.02	0.09	0.13
GG	0.03	0.24	0.46

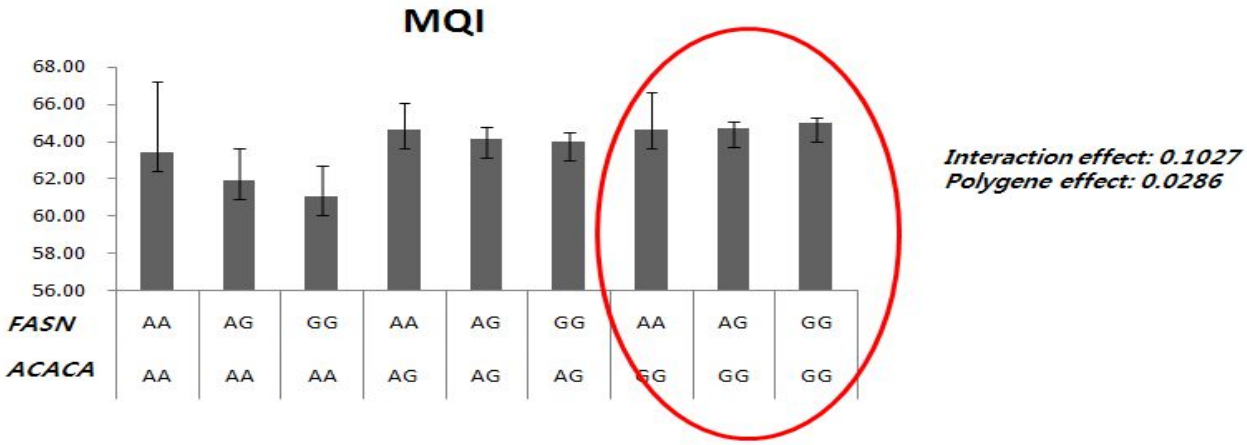
- 경제형질 측정치에 대한 FASN (g.17924A>G) 과 ACACA (g.2274A>G) 단일염기변이의 유전자형 효과를 추정하기 위해 SAS 9.1 Package/PC를 이용하여 혼합효과모형 (MIXED) 분석을 하였으며, 유전자형의 효과는 polygene (g.17924A>G + g.2274A>G) 효과를 추정하기 위해 slice option 을 이용하여 유의한 형질들에 대해 최소유의차 검정으로 평균간 차이에 대한 유의성을 조사하였다. 통계분석에 이용한 모형들은 다음과 같다.

$$y_{ijklm} = \mu + S_i + G_j + D_k + b1L_l + e_{ijklm}$$

여기서 y_{ijklm}: 도체형질 관측치, μ: 전체의 평균, S_i: 아비에 대한 임의효과, G_j: Polygene 효과, D_k: 도축차수, L_l: 생체중에 대한 공변량, $b1$: 생체중에 대한 회귀계수, e_{ijklm}: 임의오차를 나타낸다.

- 한우 상업 집단에서의 FASN 과 ACACA 유전자의 상호작용 및 polygene 효과는 아래의 <그림 3-2-7> 에 나타내었다. FASN 과 ACACA 유전자는 도체중, 근내지방도 및 육량지수에 상가적작용을 하는 것으로 나타났으며, Polygene (FASN +ACACA) 효과는 도체중 과 근내지방도에 유의적인효과를 나타내었다. GG (FASN) +GG (ACACA) 유전자형의 결합체 집단은 도체중이 무거우며, 근내지방도가 높고 육량지수 역시 높은 것으로 관찰되었다.





이상의 결과는 FASN 유전자와 ACACA 유전자는 30개월령 한우 거세우 집단에서 근내지방도와 육량지수를 향상시킬수 있음과 동시에, 고기내 불포화지방산 함량을 향상시킬수 있는 매우 유용한 DNA 마커로 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

일본 화우와 미국 Angus 두개 품종에서 공통적으로 효과를 가진 유용한 후보유전자는 한우품종에서도 효과를 가질 수 있어 한우품종에서 유용한 유전자 마커를 탐색하고 검증하는데 매우 효율적인 방법이라는 것을 제시함

<그림 3-2-7>. Interactive effect the FASN and ACACA genotypes for carcass traits

6. 보고된 소 QTL부위의 육량 및 육질 유용 DNA 변이 개발 및 이용.

○ 소 1번과 5번 염색체의 QTL부위 내에서 탐색된 SNP들에 대한 형질연관성 분석

- Kim (2003) 등 의 논문을 통해 발굴된 소 BTA 1번과 BTA 5번의 QTL 영역은 도 육량형질에 유의적인 연관성이 있다고 보고하였는데, 소 1번과 5번 염색체상 QTL영역의 안에 있는 32 종의 SNP 를 탐색하였고, 그 가운데 한우집단에서 연관성분석에 활용 가능한 빈도를 가진 16 종의 SNP를 선정하여 도체형질이 있는 상용한우집단에 연관성 테스트를 통해, 상용한우집단에서 QTL 영역에 대한 검증과 QTL 영역을 한우산업에 적용하기 위한 모델을 수립하는 체계적인 연구를 수행하였다.

<표 3-2-24>. Search of quantitative trait loci (QTL) region for carcass traits in BTA1 and BTA5.

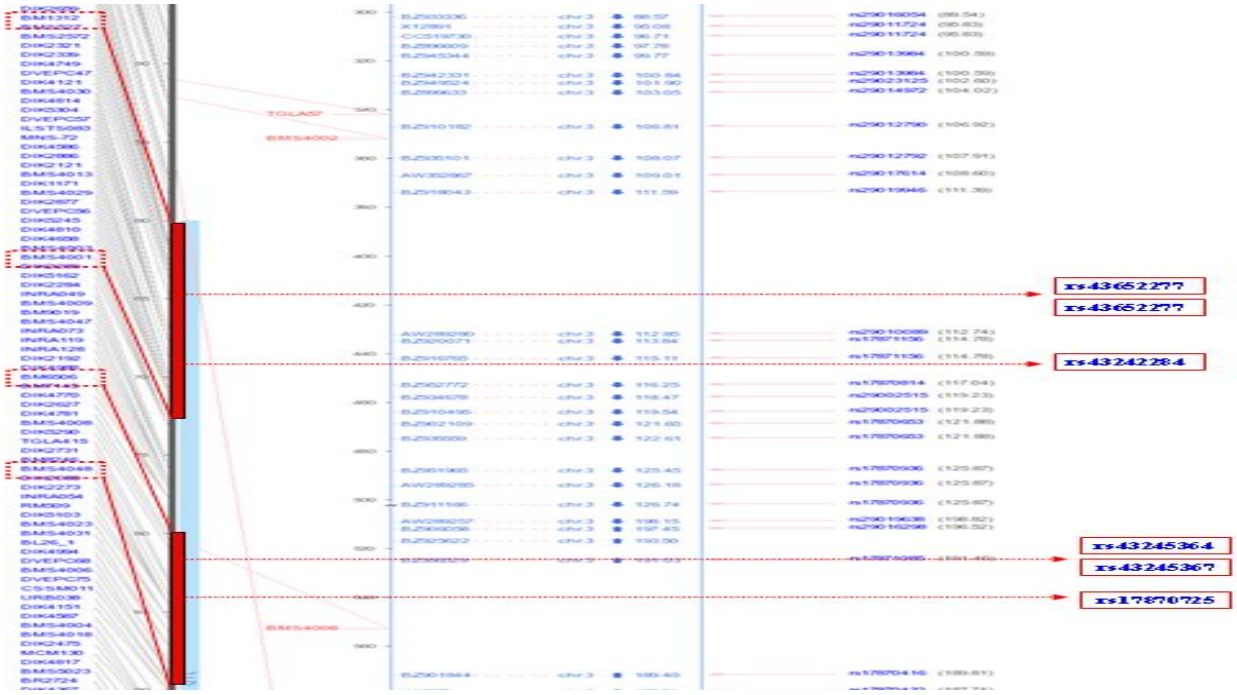
Trait	BTA	Reference MS markers (cM)	Chungbuk National University MS markera (cM)
YWT. kg	1	BM1312(56)-BM6506(71)-SST(72) ***(Kim. et. al)***	BM1312(54)-BMS4001(67)-BM6506(72)-BMS4048(82)
SWT, kg	1	BM1312(56)-BM6506(71)-SST(72) ***(Kim. et. al)***	BM1312(54)-BMS4001(67)-BM6506(72)-BMS4048(82)
BWT, kg	5	CSSM34(38)-RM500(49)-ETH10(56) ***(Kim. et. al)***	BL4(43)-BR2936(64)-ETH10(70)-BMS1248(88)
YWT, kg	5	CSSM34(38)-RM500(49)-ETH10(56) BM1819(72)-BM315(94) ***(Kim. et. al)***	BL4(43)-BR2936(64)-ETH10(70)-BMS1248(88)

BWT = birth weight; YWT = yearling weight; SWT = slaughter weight.

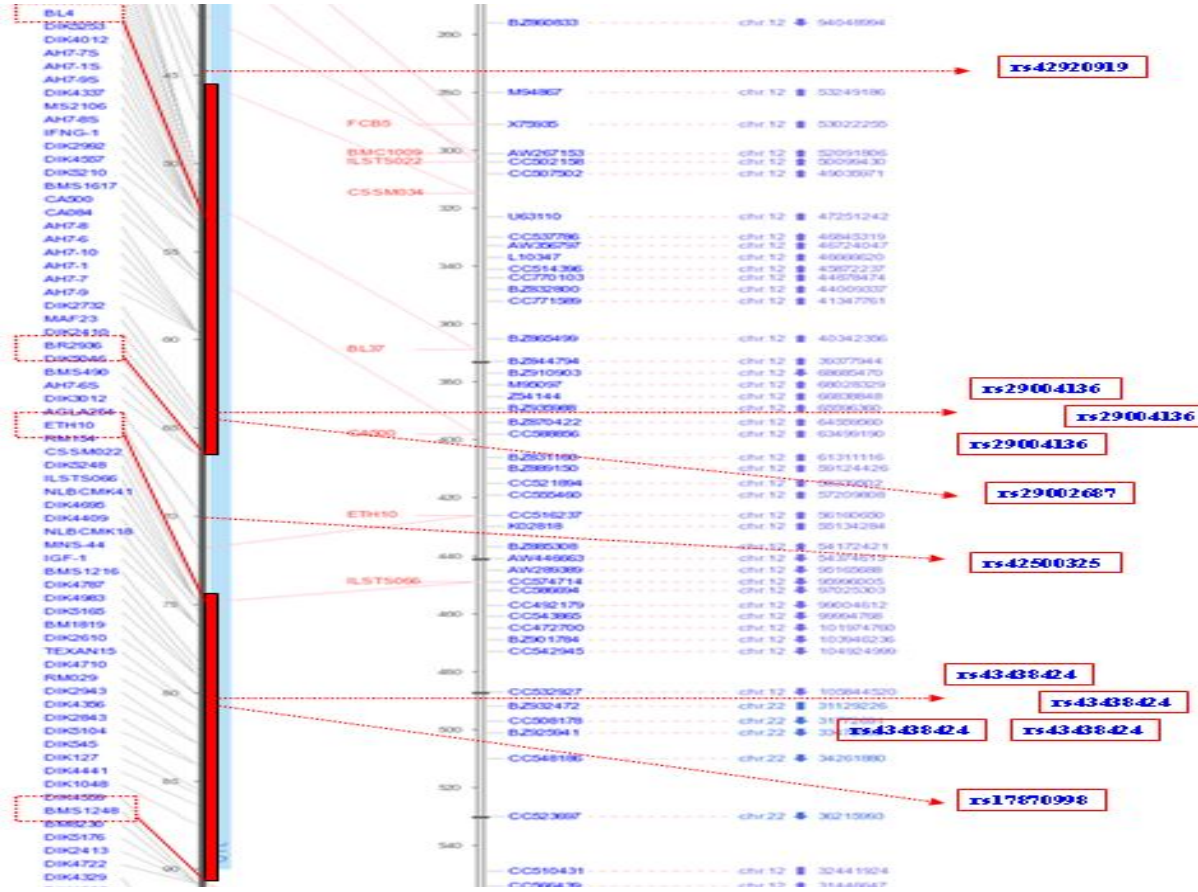
- 보고된 QTL영역에 대한 정밀유전자지도를 작성을 위한 마커개발을 위해 NCBI데이타 베이스를 활용하여 기존 QTL 부위의 기능성 후보유전자 발굴 및 한우 내 DNA 변이를 탐색하였다 (Table 22). 이러한 SNP 마커들을 한우집단 에 적용하기 위한 전략수립을 위한 체계적인 연구를 수행하였는데, 상용한우집단에서 확보된 DNA샘플, 및 개체별 형질자료, 분석된 SNP 마커의 유전자형 등의 자료를 효율적으로 관리하는 할 수 있도록 하였으며, 또한 상용집단의 샘플들에 대한 유전자형 효과 분석모델을 개발하여 정확하게 형질에 미치는 영향을 검증할 수 있도록 하였다. 또한 QTL 영역내의 SNP 마커 간에 LD 분석을 통해 반수체를 구축하고, 반수체 유전자형에 따른 형질과의 연관성을 분석을 수행하였으며, 이러한 결과에 따라 QTL 영역에서의 원인유전자 규명 및 QTL과 강력한 연관성을 가진 선발마커를 개발하여 최종적으로 DNA kit를 제작하는데 필요한 효율적인 방법을 고안하였다.

<豆 3-2-25>. Identification of 16 SNPs in quantitative trait loci (QTL) region for carcass traits in BTA1 and BTA5

BTA	Genetic markers	Marker type	Markers location	Unigene
1	BM1312	Microsatellite	61274372-61274483bp	
1	rs43652277	SNP	64971300bp	UPK1B
1	rs43652277	SNP	64971300bp	UPK1B
1	rs43242284	SNP	68121200bp	LOC540789
1	BMS4001	Microsatellite	74946884-74946988bp	
1	BM6506	Microsatellite	80852895-80855097bp	
1	rs43245364	SNP	82413000bp	HRG-1
1	rs43245367	SNP	82415000bp	HRG-2
1	rs17870725	SNP	84370400bp	MAGEF1
1	BMS4048	Microsatellite	87338274-87338397bp	
5	rs42920919	SNP	44930400bp	LOCC526436
5	BL4	Microsatellite	46178414-46178574bp	
5	rs29004136	SNP	64740850bp	LOC615240
5	rs29004136	SNP	64740850bp	LOC615240
5	rs29004136	SNP	64740850bp	LOC615240
5	rs29002687	SNP	64790550bp	LOC29002687
5	BR2936	Microsatellite	MARC MAP Position 64.3 (cM)	
5	ETH10	Microsatellite	60836475-60836696bp	
5	rs42500325	SNP	70660400bp	DRAM
5	rs43438424	SNP	81250900bp	MGC148634
5	rs43438424	SNP	81250900bp	MGC148634
5	rs43438424	SNP	81250900bp	MGC148634
5	rs43438424	SNP	81250900bp	MGC148634
5	rs17870998	SNP	81420900bp	LOCC507778
5	BMS1248		MARC MAP Position 88.4 (cM)	



<그림 3-2-8>. Description of QTL Region and *In silico* SNP MAP in BTA1.



<그림 3-2-9>. Description of QTL Region and *In silico* SNP map in BTA5.

- 도체형질을 수집하기 위해 조성된 한우시험 축군 인 정읍 DNA 시료 323두를 이용하여 유전자형을 결정하였으며, <표 3-2-26>에서 보는 봐와 같이 rs43438424 변이를 제외한 나머지 16 종은 DNA 변이를 확인 할 수 있었다.

<표 3-2-26>. Genotypes and minor allele frequencies of 17 polymorphisms in BTA1 and BTA5 genotyped in Korean cattle breed (n=323)

BTA Chr.	rfSNP	AA change	Genotype (N. of cattle)			Total N. of cattle	Minor allele frequency	Heterozygosity	HWE P-value
BTA1	rs43245367-R	Asn-Asp	AA(256)	AG(62)	GG(5)	323	0.111	0.192	0.579
BTA1	rs43245364-M	Try-Asp	CC(231)	CA(84)	AA(8)	323	0.154	0.260	0.911
BTA1	rs17870725-S	Arg-Pro	GG(199)	GC(111)	CC(13)	323	0.212	0.343	0.611
BTA1	rs43652277-R	Ser-Gly	AA(161)	AG(126)	GG(29)	316	0.291	0.398	0.291
BTA1	rs43652277-S	-	GG(50)	CG(109)	CC(157)	316	0.330	0.344	0.990
BTA1	rs43242284-R	Ser-Gly	GG(60)	GA(160)	AA(102)	322	0.434	0.496	0.843
BTA5	rs29004136-S	-	CC(302)	CG(18)	GG(3)	323	0.037	0.055	0.999
BTA5	rs29004136-M	-	CC(298)	CA(23)	AA(2)	323	0.418	0.071	0.046
BTA5	rs29004136-M	-	CC(72)	CA(170)	AA(81)	323	0.486	0.526	0.336
BTA5	rs29002687-R	Ser-Asn	GG(272)	GA(50)	AA(1)	323	0.080	0.154	0.411
BTA5	rs42500325-R	-	GG(223)	GA(85)	AA(8)	316	0.159	0.269	0.976
BTA5	rs42920919-M	Asp-Glu	AA(176)	CA(118)	CC(28)	322	0.270	0.366	0.204
BTA5	rs43438424-R	His-Arg	AA(95)	GA(167)	GG(60)	322	0.445	0.518	0.372
BTA5	rs43438424-W	-	AA(322)	AT(0)	TT(0)	322	0	0	-
BTA5	rs43438424-Y	-	CC(96)	CT(160)	TT(66)	322	0.453	0.496	0.964
BTA5	rs17870998-R	-	GG(158)	GA(139)	AA(25)	322	0.293	0.431	0.426
BTA5	rs43438424-Y	-	CC(207)	CT(106)	TT(9)	322	0.192	0.329	0.292

- 각 소 염색체 1번과 5번 QTL 영역에 존재하는 유용한 SNP 들을 선발하여 유전자형 결정 후 염색체 1번과 5번의 각 염색체 QTL 영역에 존재하는 대립인자를 결정하기 위하여 (haplotype block) SNPAlyzeTM(version 7.0) 프로그램을 구동하였다.

- SNPAlyzeTM(version 7.0) 프로그램을 구동한 후 결정되어진 각 haplotype 별로 (각 염색체 1번과 5번) 임이 의 두 마커 간 연관 불균형(Linkage Disequilibrium)을 아래와 같은 .r-square 방법을 이용하였다

$$r^2 = \sum h_{ij} \frac{(h_{ij} - p_i q_i)^2}{p_i(1-p_i)q_i(1-q_i)}$$

(pi: 첫 번째 마커 대립인자 i의 빈도를 말하며 qj는 두 번째 마커 대립인자 j의 빈도를 가리킨다. 따라서 마커 한 쌍 당 총 4개의 haplotype이 존재한다. hij는 두 마커에 있는 ij haplotype 의 빈도를 가리킨다.)

- 각 염색체 별로 두 마커간의 거리를 0에서 각각 10kbp 씩 구분하였으며, 각 염색체에 따라 거리 간격별 평균 r-square 값은 다음과 같이 지정하여 LD의 유의수준 (r2=0.1)을 근거로 하였다.

- rs43245367-R 와 rs43245364-M 0.7kbp 로 가장 가까우므로 0.202 로 매우 유의적으로 높게 나타났다. 하지만 rs43652277-R 와 rs43652277-S 두 마커간의 거리가 약 1kbp 로 가까운데도 불구하고 0.011 으로 유의적으로 낮게 나타났다. 두 마커 간간의 거리가 점점 멀어질수록 r-square 값은 점점 낮아졌다.

- 여기서 구해진 반수체 구역(haplotype block) 은 LD에서 r-square (0.1) 유의수준에서 볼 수 있었듯이 hap block1 과 hap block2로 나누어 졌으며, hap block1의 haplotype 1의 빈도는 0.7414로 높은 빈도를 차지함을 관찰 할 수 있었나, 반면 hap block2 의 반수체형 haplotype 1, 2, 3들의 빈도는 골고루 분포함을 관찰 할 수 있었다. Hap block1의 haplotype 형들과 hap block2의 haplotyoe 형들의 조합의 빈도를 구 할 수 있었다.

- 여기서 구해진 반수체 구역(haplotype block) 은 hap block1 과 hap block2로 나누어 졌으며,

hap block1의 haplotype 1의 빈도는 0.5217로 haplotype 2보다 조금 더 높은 빈도를 차지함을 관찰 할 수 있었다. 또한 hap block2 의 반수체형 haplotype 1, 2들 역시 haplotype 1의 빈도가 0.5543로 haplotype 2보다 조금 더 높은 빈도를 차지함을 관찰 할 수 있었다. Hap block1의 haplotype 형들과 hap block2의 haplotyoe 형들의 조합의 빈도를 구할 수 있었다.

<표 3-2-27>. A-1 LDs among 6 polymorphisms in BTA1.

		[Makers]					
	Polymorphisms	rs43245367-R	rs43245364-M	rs17870725-S	rs43652277-R	rs43652277-S	rs43242284-R
r-square	rs43245367-R	-					
	rs43245364-M	0.202	-				
	rs17870725-S	0.039		-			
	rs43652277-R				-		
	rs43652277-S		0.023		0.011	-	
	rs43242284-R			0.010			-

B-1 Haplotypes in BTA1

Hap Block 1				
	rs43245367-R	rs43245364-M	Freq	
ht1	A	C	0.7414	ht1
ht2	A	A	0.1495	ht2
ht3	G	A	0.1090	ht3
Hap Block 2				
	rs43652277-R	rs43652277-S	Freq	
ht1	A	C	0.3782	ht1
ht2	A	G	0.3307	ht2
ht3	G	C	0.2911	ht3

A-2 LDs among 11 polymorphisms in BTA5

		[Makers]										
	Polymorphisms	rs29004136-S	rs29004136-M	rs29004136-M	rs29002687-R	rs42500325-R	rs42920919-M	rs43438424-R	rs43438424-W	rs43438424-Y	rs17870998-R	rs43438424-Y
r-square	rs29004136-S	-										
	rs29004136-M		-									
	rs29004136-M	0.036	0.041	-								
	rs290002687-R			0.010	-							
	rs42500325-R			0.020	0.021	-						
	rs42920919-M	0.037		0.031			-					
	rs43438424-R				0.032	0.027		-				
	rs43438424-W						0	0	-			
	rs43438424-Y				0.016				0.0467	-		
	rs17870998-R					0.023	0.0314		0		-	
	rs43438424-Y				0.012	0.014		0.296	0	0.187		-

B-2 Haplotypes in BTA5

Hap Block 1					
	rs29004136-S	rs29004136-M	rs29004136-M	Freq	
ht1	C	C	C	0.5217	ht1
ht2	C	C	A	0.4783	ht2

Hap Block 2				
	rs43438424-R	rs43438424-W	Freq	
ht1	A	A	0.5543	ht1
ht2	G	A	0.4457	ht2

Block 1	Freq	**Block 2**
ht1	0.2959	*ht1*
ht2	0.2621	*ht1*
ht1	0.2258	*ht2*
ht2	0.2162	*ht2*

- <표 3-2-28>는 한우의 도체형질과 각각의 유전자형의 연관성 분석을 실행한 도표이다. 조사된 경제형질 측정치에 대한 유전자형의 효과를 추정하기 위해 SAS 9.1 Package/PC를 이용하여 일반선형모형(GLM) 분석을 하였으며, 유전자형의 효과가 유의한 형질들에 대해 최소 유의차검정으로 평균간 차이에 대한 유의성을 조사하였다. 통계분석에 이용한 모형은 다음과 같습니다.

$$y_{ijk} = \mu + S_i + G_j + e_{ijk}$$

여기서, y_{ijk}, μ, S_i, G_j, e_{ijk}는 각각 형질의 측정치, 전체평균, 성별효과, 개체의 유전자형 효과, 임의오차를 나타내고 있다.

<표 3-2-28>. Association analyses of 17 polymorphisms in BTA1 and BTA5 genotyped with carcass traits in Koran cattle (n=323)

Gene	Phenotypic trait	Genotypic least squares means (SE) 11	12	22	P-value
BTA1 rs43245364 (C/A)	Carcass weight	330.65 (14.35)a	348.22 (5.34) a	360.14 (4.28) b	0.0175
	Meat color	5.118 (0.218) a	4.740 (0.081) b	4.963 (0.065) a	0.0127
BTA1 rs17870725-K (A/G)	Backfat thickness	5.263 (0.183) a	4.590 (0.234) b	6.017 (0.589) a	0.0357
	Weight index	68.275 (0.362) a	69.008 (0.426)a	70.690 (1.115) b	0.0366
	Marbling score	2.613 (0.107) a	2.717 (0.126) a	3.483 (0.331) e	0.0308
	Texture	1.668 (0.027) a	1.627 (0.029) a	1.503 (0.076) b	0.0500
	Meat index	2.363 (0.093) a	2.206 (0.108) a	1.816 (0.276) b	0.0532
BTA5 rs29004136-M(A/C)	Meat color	6.054 (0.397) a	4.983 (0.160) a	4.903 (0.060) b	0.0142
BTA5 rs29004136-M(A/C)	Marbling score	2.543 (0.138)	2.782 (0.107)	2.946 (0.156)	0.0612
	Fat color	2.902 (0.032)	2.970 (0.025)	2.982 (0.037)	0.0809
BTA5 rs290002687-R(A/G)	Fat color	2.001 (0.205) e	2.942 (0.037) f	2.961 (0.023) f	<0.0001
BTA5 rs42920919-M(A/C)	Marbling score	2.899 (0.106) c	2.587 (0.127) c,d	2.307 (0.217) d	0.0045
	Texture	1.605 (0.024) c	1.644 (0.029) c	1.770 (0.050) d	0.0049
BTA5 rs43438424-R(A/G)	Texture	1.637 (0.030)	1.652 (0.025)	1.563 (0.036)	0.0517
BTA5 rs43438424-Y(C/T)	Carcass weight	5.396 (0.242)	4.723 (0.206)	5.194 (0.315)	0.0946
	Meat attain	2.007 (0.074)	2.088 (0.068)	2.227 (0.092)	0.0881

Significance level: [a, b] 0.05; [c, d] 0.01; [e, f] 0.005

- 위 <표 3-2-28>에서 보듯이 rs43245364 (C/A) SNP는 22(CC) type이 11(AA), 12(A/C) 타입보다 15~30 kg 이상 더 많이 나가는 것으로 유의적인 결과를 관찰 할 수 있었다. rs43245364 (C/A) DNA 변이는 HRG 유전자내에 존재하는 변이로 BTA 1번에 도 체중에 관련된 QTL 영역을 조절하는 강력한 후보 유전자로 고려된다.

- Kim. et al (2003)의 보고에 따르면 BTA 1번 80~90cM 에 등 지방 두께와 관련된 동일한 QTL 영역이 존재한다는 것을 시사 하였다. rs17870725-K (A/G) SNP는 22(GG) type 이 11(AA), 12(A/G) 타입보다 등 지방 두께가 1cm 이상 더 많이 축척이 되는 것으로 유의적인 결과를 관찰 할 수 있었다. rs17870725-K (A/G) DNA 변이는 Melanoma antigen family F 유전자내에 존재하는 변이로 BTA 1번의 등지방과 관련된 QTL 영역을 조절하는 강력한 후보 유전자로 추정된다.

- BTA 5번에 도 체중에 관련된 QTL 영역을 조절하는 후보유전자의 변이는 관찰할 수 없었다. 그러나 이러한 영역에 존재하는 DNA 변이들은 근 내 지방이나 육색과 지방색, 조직 감 등에서 고도의 유의성이 관찰되었다. 이는 한우에서는 성장률에 관련된 BTA5번 QTL 영역에 또 다른 QTL 이 존재 할 수도 있다는 근거를 제시해 준다.

- 이러한 분석의 결과로 우리는 BTA1 (54.6~81.9cM) 과 BTA5(43.1~88.4cM) 한우에서도 같은 QTL 이 존재 할 수 있는 가능성과 QTL 영역을 조절하는 DNA 변이들을 관찰하였으며, BTA5(43.1~88.4cM) 성장형질에 관련된 QTL 이외에도 또 다른 육질관련 형질들에 관련된 QTL 이 존재 할 수 있는 가설 등을 제시해주었다.

- 따라서 추가연구로써 2009년 한우능력평가에서 제공받은 한우 총 219두에서 BTA1번에 위치한 HRG1 (rs43245364), PARP14 (rs43242284)와 UPK1B (신규 SNP) 변이들을 분석하였다.

<표 3-2-29>. Means and standard deviations for carcass traits measured on Hanwoo populations

Phenotypes Korean native cattle data	N	Mean	Std Dev	Median
Backfat thickness (BF) mm	212	13.479	5.328	13.000
Longissimus muscle area (LMA) cm2	212	93.735	10.225	93.000
Carcass weight (CW) kg	212	438.146	42.270	436.000
Meat quantity index (MQI) score	212	64.655	3.918	65.140
Marbling (MAR) score	212	20.763	4.750	21.000

<표 3-2-30>. Genotype and minor allele frequency of three polymorphisms in HRG1, PARP14 and UPK1B candidate genes genotyped in Hanwoo.

Gene	Position	AA change	Genotype (N. of number)	Total N.of cattle	Minor allele frequency	Heterozygosity	HWE P-value
HRG1	251C>A	unknown	AA: 8 AC: 61 CC: 140	209	0.184	0.292	0.801
PARP14	251A>G	unknown	TT: 70 TC: 99 CC: 50	219	0.454	0.496	0.228
UPK1B	209A>G	unknown	AA: 68 AG: 125 GG: 26	219	0.404	0.571	0.010

<표 3-2-31>. Association analyses of 3 polymorphisms in 3 candidate genes genotyped with growth and beef quality in Koran native cattle breed.

HRG1-251C>A (n=209)	AA (n=8)	AC (n=61)	CC (n=140)	P value
BF	13.302 (1.844)	14.718 (0.670)	12.998 (0.441)	0.1037
LM	92.225(3.235)	94.472(1.175)	93.581(0.774)	0.7252
CW	443.780(4.640)	441.110(1.685)	437.640(1.110)	0.1328
MQI	64.435(1.330)	63.905(0.483)	64.948(0.318)	0.2001
MS	18.888(1.680)	20.776(0.610)	20.782(0.402)	0.5445
PARP14-251A>G (n=219)	TT (n=70)	TC (n=99)	CC (n=50)	P value
BF	13.069(0.628)	14.253(0.530)	12.521(0.745)	0.127
LM	94.330(1.086)	94.597(0.917)	91.193(1.290)	0.0826
CW	440.571 (1.565)a	438.880 (1.321)a,b	433.312 (1.858)b	0.0096
MQI	64.930 (0.457)	64.265 (0.385)	65.040 (0.542)	0.3951
MS	20.831 (0.565)	20.913 (0.477)	20.366 (0.671)	0.7946
UPK1B-209A>G (n=214)	AA (n=67)	AG (n=125)	GG (n=26)	P value
BF	13.796 (0.637)	13.691 (0.470)	11.631 (1.034)	0.1649
LM	94.590 (1.111)	93.608 (0.820)	92.106 (1.802)	0.4896
CW	441.082 (1.581)a	438.040 (1.167)b	431.001 (2.566)b	0.0042
MQI	64.497 (0.463)	64.508 (0.341)	65.770 (0.751)	0.2883
MS	21.404 (0.570)	20.676 (0.420)	19.499 (0.925)	0.2064

- HRG1-251C>A 단일염기다형은 한우능력평가원에서 제공받은 한우집단 219두에서는 유의적인 연관성 형질이 발견되지 않았다.

- PARP14-251A>G 단일염기다형은 도체중에 고도의 유의성이 관찰되었으며 TT유전자형을 가진 개체가 TC와 CC 유전자형을 가진 개체보다 도체중이 많이 나가는 것으로 관찰되었다 (P=0.0096).

- 또한 UPK1B-209A>G 단일염기다형 역시 도체중에 높은 유의적인 효과가 관찰되었다 (P=0.0042). AA 유전자형을 가진 개체는 AG와 GG유전자형을 가진 개체보다 도체중 이 많이 나가는 것을 관찰 할 수 있었다.

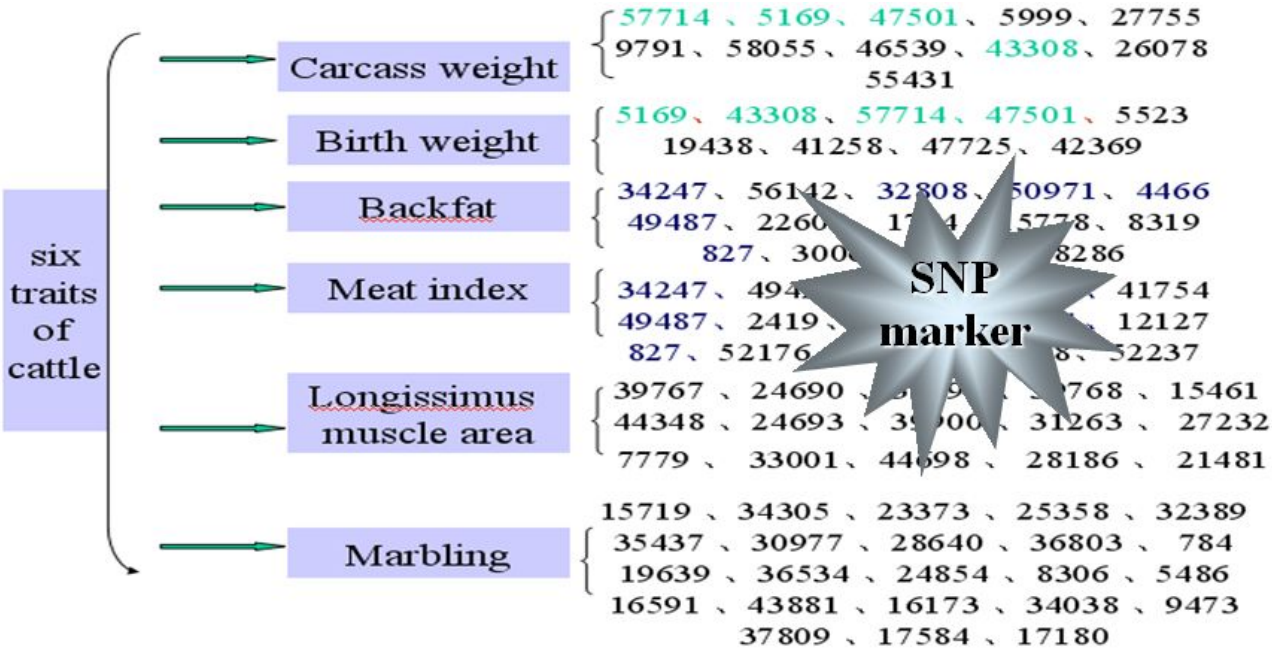
Angus 품종과 Brahman 품종간의 F2 교배 집단에서 발굴된 QTL영역이 한우품종내에서도 QTL로 작용하는 지에 대한 분석을 수행하였는데, BTA1번과 5번 보두 한우품종에서 성장과 관련한 QTL 효과를 발굴하였고, 이를 이용하여 한우품종에서 유용한 유전자 마커를 탐색하고 검증하였음.

특히 BTA1번에서 발굴된 QTL영역에 대해서는 한우능력평가 집단을 이용하여 추가적을 검증을 실시하여 그 QTL 좌위에 대한 효과를 검증하였음

Illumina 50K chip을 적용한 한우 QTL 좌위를 분석하는 모델로써 활용됨

7. 일본화우의 QTL 영역 데이터를 비교 이용하여 한우의 중요한 SNP 들의 규명.

○ Illumina 50k chip genotyping을 수행하였으며 주요 육량, 육질 여섯 형질 [생시체중(LiveWt, kg), 도체중(HCWT, kg), 등지방두께(Backfat, cm), 육량지수(Wt Index), 배최장근단면적(LEA, cm2), 근내지방도(0~100)] 과 관된 SNP 발굴을 위한 전장(whole-genome) 분석결과 유의수준이 P<0.001 (-log10P=3 이상)이하인 QTL이 29개 발굴되었고 형질별로는 도체중량 5개 QTL, 생시체중 4개 QTL, 등지방두께 6개 QTL, 육량지수 7개 QTL, 배장근단면적 2개 QTL, 근내지방도 5개 QTL이 발굴되었다 (2차년도 연구결과).



<그림 3-2-10>. 한우 GWAS 분석에 대한 SNP 마커정보 분류

- 일본화우는 다른 소품종보다 근내지방함량이 높은 품종이며 한우와 화우는 계통분류학적으로 매우 흡사하다는 연구 보고가 이루어졌다. 또한 Takasuga et al, 2007 등의 연구는 일본의 화우와 리무진를 교배하여 총 염색체상의 QTL 영역을 보고 하였다.

Table 3. Summary of QTL location, genome-wide probability, and additive and dominance effects

Trait	Genome-wide probability* 5%	1%	Location BTA	cM	F			Variance Explained
Growth								
Withers height, cm	9.06	11.82	5					0.06
Carcass grade								
Carcass grade (1 to 5)	9.41	12.08	2	4.7				0.16
M. longissimus area, cm²	9.29	11.71	2	1.0				0.23
Beef marbling score (1 to 12)	9.31	11.22	2	4.7	23.65‡	0.61	0.19	0.21
Luster (1 to 5)	9.47	11.00	2	4.7				0.16
Firmness (1to5)	9.47	11.87	2	4.7				0.15
Meat quality								
Moisture	9.16	10.79	2	5.7				0.21
Crude fat content	9.12	11.29	2	5.7				0.23
Crude protein content	9.18	10.98	2					0.27
CIA								
M. longissimus area, cm²	9.46	11.78	2					0.18
M. longissimus lean area, cm²	9.13	11.25	2					0.33
RFA to M. longissimus area, %	9.47	12.00	2	4.7				0.25
RFA to M. semispinalis capitus area, %	9.22	11.59	2	4.7				0.12
M. semispinalis lean area, cm²	8.97	11.07	2	4.7				0.15
RFA to M. semispinalis area, %	9.49	11.06	2	4.7	14.45‡	2.56	2.26	0.14
M. trapezius lean area, cm²	9.21	10.9	2	2.0	28.37‡	-2.73	-0.58	0.22
RFA to M. trapezius area, %	9.17	11.27	2	4.7	11.69‡	3.27	1.35	0.12
Fatty acid composition								
Back fat								
C14:0 content, %	9.38	11.71	19	62.3	9.65*	-0.22	-0.06	0.11
Intramuscular fat								
C14:0 content, %	9.49	12.06	19	62.3				0.18
C14:1 content, %	9.44	11.40	19					0.15
Intramuscular fat								
C14:0 content, %	9.19	11.01	19					0.28
C14:1 content, %	9.19	11.18	19					0.14
C16:0 content, %	9.14	11.73	19	62.3				0.11
C16:1 content, %	9.17	11.14	2	0.0				0.09
C18:1 content, %	9.28	10.78	19	62.3	21.12‡	1.56	0.42	0.20
C18:2 content, %	9.36	12.20	2	2.0	19.22‡	-0.27	-0.23	0.07
US/S	8.96	10.66	19	62.3	9.65*	0.06	0.03	0.09

growth trait

carcass

meat

CIA

fat acid

2007, A. Takasuga *et al.*, *Mamm Genome*

it is negative, the Japanese Black allele decreases it (conversely, the Limousin allele increases the phenotypic value). Dominance effects are relative to the mean of the 2 homozygous genotypes.

Table 1 Location of QTL affecting growth and carcass traits in a Wagyu × Limousin cattle population.

BTA	Trait[1]	Position (cM)	95% CI[2]	Start CI	End CI	*F*-statistic	Significance Nominal	Genome-wide	Additive effect ± SE[3]	Flanking markers[4]
12	180-day weight	8	69	0.0	42.4	8.36	0.004	0.09	5.15 ± 1.78	*BMS410*, 0; *DIK2916*, 7.9; *BM6108*, 20.9
16	180-day weight	79	25	66.4	end	9.02	0.003	0.084	−8.47 ± 2.82	*CSSM028*, 56.5; *BM719*, 79.4
9	ADG_f	60	15	52.4	67.7	16.3	6.94E-05	0.002	0.076 ± 0.019	*ILSTS013*, 53.8; *BMS1724*, 78.1
17	ADG_f	30	26	17.2	42.8	11.63	0.001	0.024	−0.059 ± 0.017	*BMS1825*, 0.9; *BMS1101*, 24.4
4	ADG_g	93	29	78.4	end	10.51	0.001	0.043	0.044 ± 0.013	*IDVGA-51*, 84.1; *CA088*, 93.7
7	ADG_g	2	60	0.0	31.9	7.68	0.006	0.122[5]	0.031 ± 0.011	*BM7160*, 0; *DIK2870*, 3; *BL1067*, 18.3
12	ADG_p	8	73	0.0	44.3	7.9	0.005	0.113[5]	0.027 ± 0.010	*BMS410*, 0; *DIK2916*, 7.9; *BM6108*, 20.9
16	ADG_p	79	24	66.9	end	9.43	0.002	0.068	−0.046 ± 0.015	*CSSM028*, 56.5; *BM719*, 79.4
12	BWT	125	24	112.8	end	11.92	0.001	0.014	−2.08 ± 0.60	*BMS1316*, 111; *BMS2724*, 125.3
29	BWT	11	49	0.0	35.6	11.1	0.001	0.037	1.56 ± 0.47	*BMS1857*, 3.8; *ILSTS057*, 10.6; *DIK5269*, 12.2; *BMS764*, 15.3
7	HCW	0	39	0.0	19.6	9.73	0.002	0.043	9.48 ± 3.04	*BM7160*, 0; *DIK2870*, 3
16	HCW	65	21	54.6	75.5	10.09	0.002	0.037	−14.10 ± 4.51	*CSSM028*, 56.5; *BM719*, 79.4
29	HCW	1	33	0.0	17.6	14.17	0.0002	0.008	11.62 ± 3.13	*TGLA86*, 0; *BMS1857*, 3.8
2	LMA	4	12	0.0	9.8	45.39	8.55E-11	1.91E-09	−6.19 ± 0.92	*ILSTS026*, 9.7; *TGLA431*, 12.6
12	LMA	11	57	0.0	39.6	9.06	0.003	0.063	2.79 ± 0.92	*BMS410*, 0; *DIK2916*, 7.9; *BM6108*, 20.9

2007,L. J. Alexander *et al.*, *Anim Genet*

[1]ADG_f … simus muscle

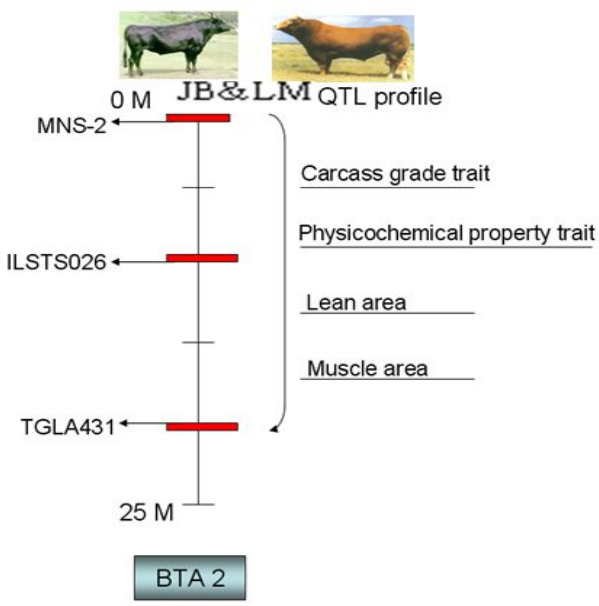
[2]CI, co

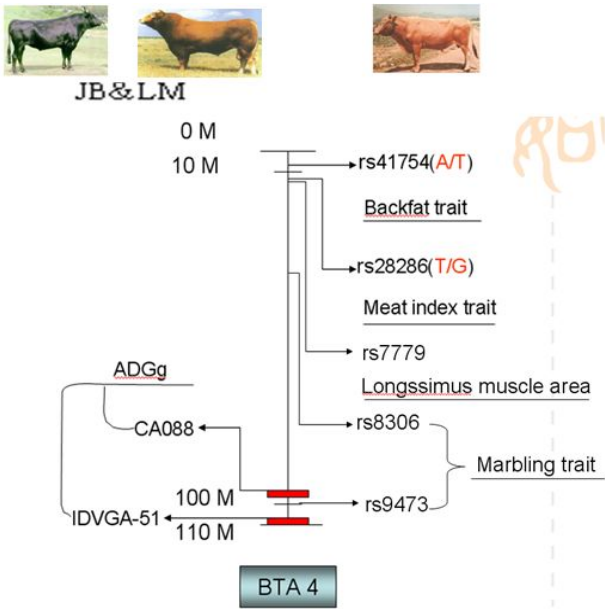
[3]Units are kg except for LMA (cm^2). Effect resulting from a Wagyu allele replacing a Limousin allele.

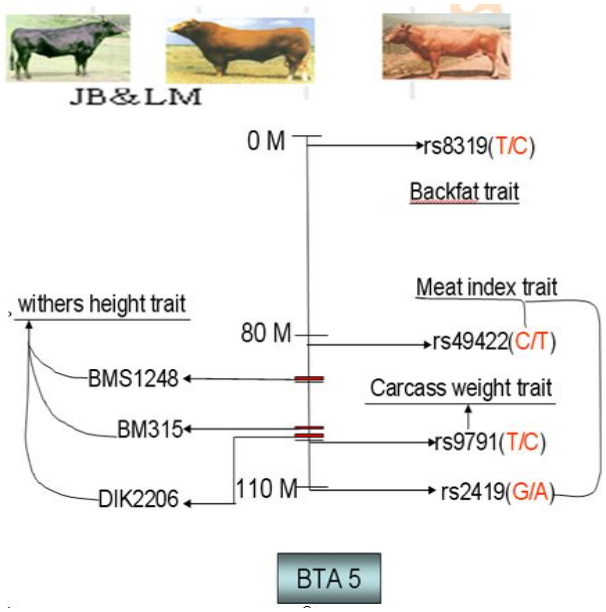
[4]Flanking marker, position (cM). In cases where the flanking marker is 1 cM or less from the QTL peak, the next flanking marker is shown.

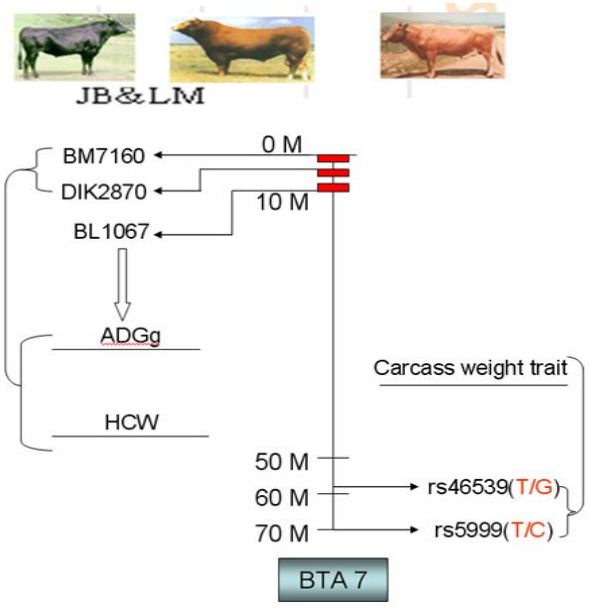
[5]Approaching suggestive value.

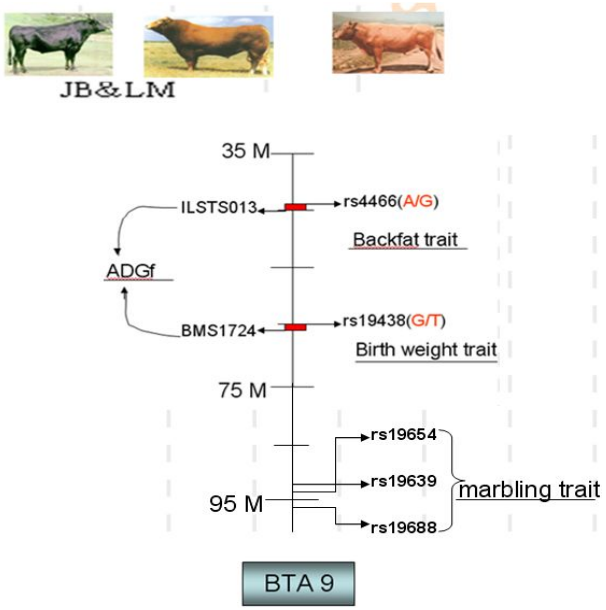
- 그러므로 일본화우와 리무진 품종의 QTL 영역과 한우에서 Illumina 50k chip genotyping 분석을 이용하여 밝혀진 QTL 영역을 비교 분석함으로써 중요한 후보 유전자의 접근 및 선발을 수행하였다.



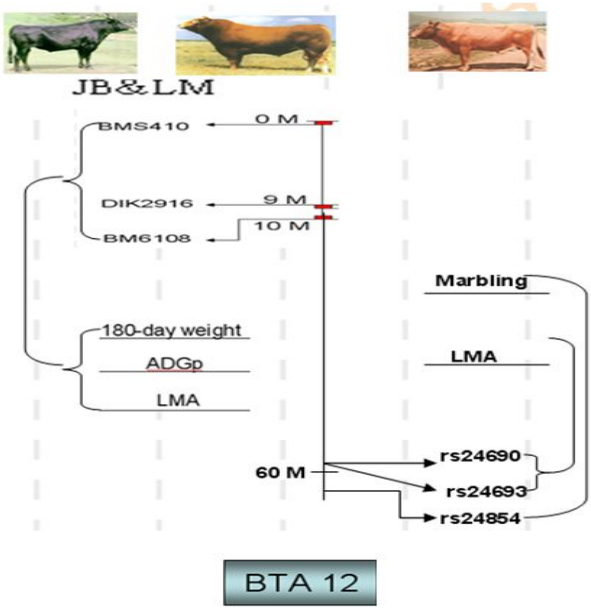




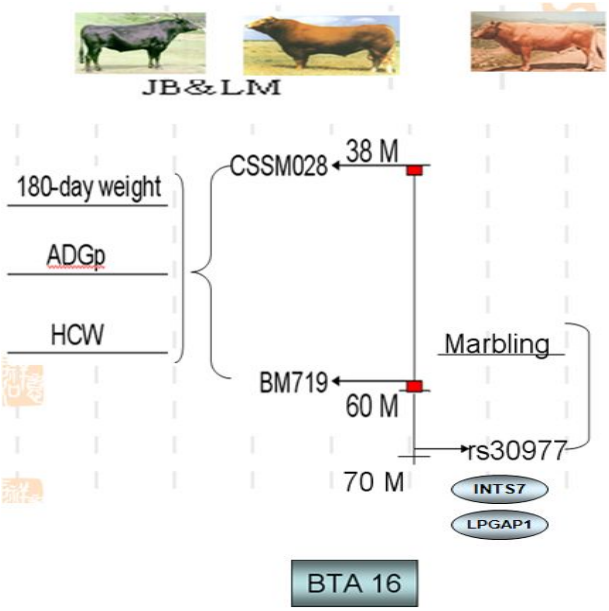




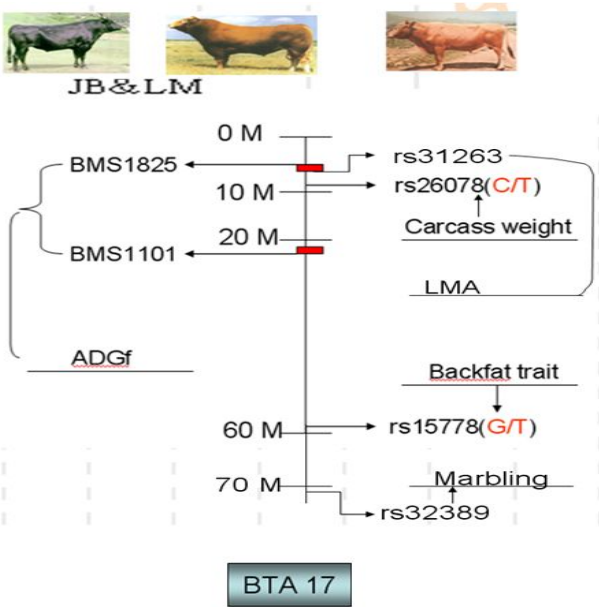
BTA 9



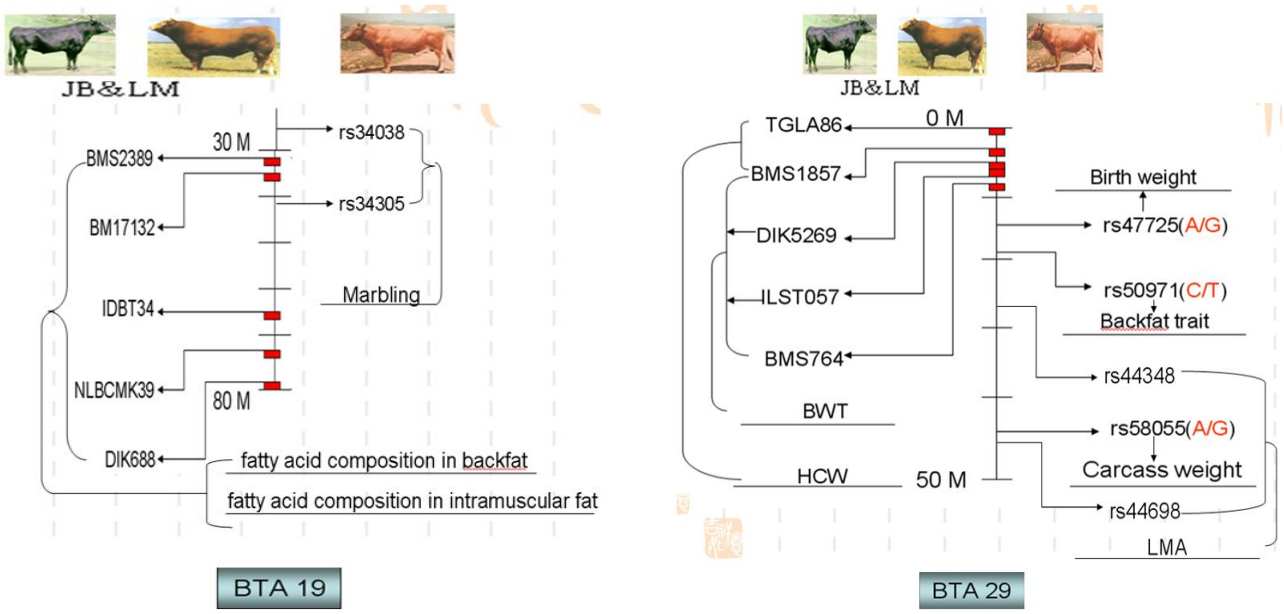
BTA 12



BTA 16



BTA 17



<그림 3-2-11>. **한우와 일본화위의 염색체별 QTL 영역 비교**

<표 3-2-32>. Summary of the Hanwoo SNPs associated with Economic traits in Commercial populations

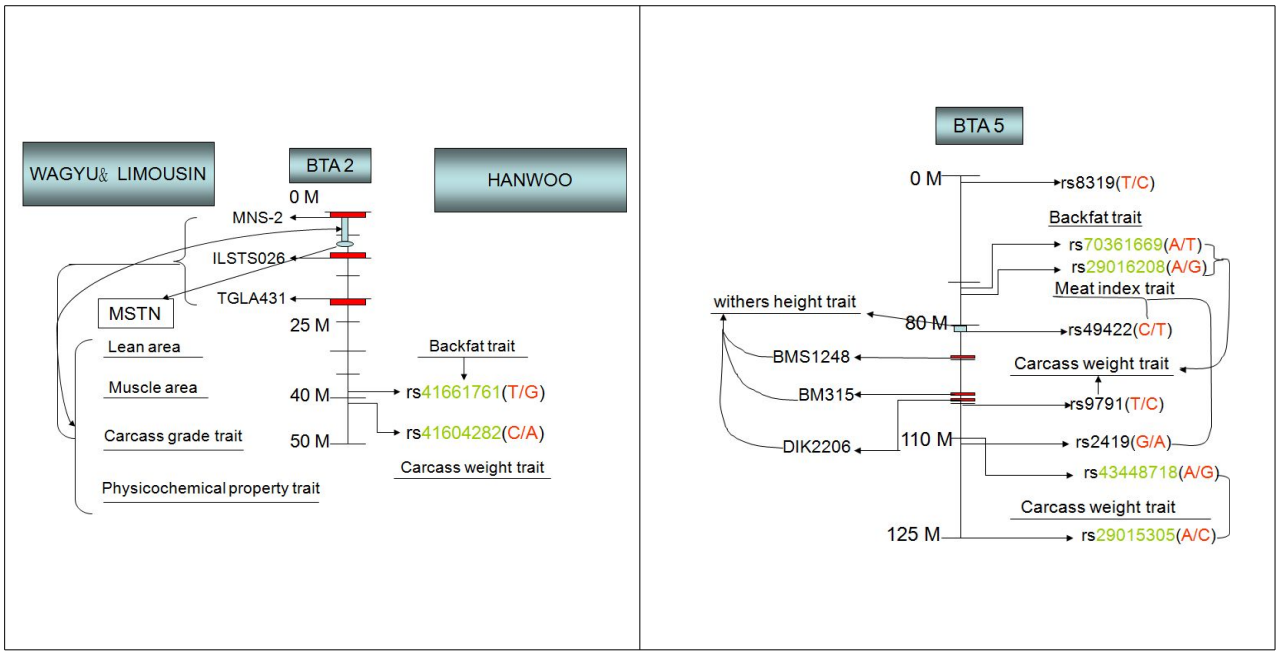
BTA	Hanwoo SNP	JB x LM SSR
4	rs28286, rs41754	
5	rs9791, rs8319	BMS1248
	rs49422, rs2400	BM315, DIK2206
7	rs5999, rs46539	
9	rs19432, rs4466	ILSTS013
		BMS1825
17	rs15778, rs26078	BMS1101
		TGLA86
29	rs47725, rs50971	BMS1857
	rs58055	DIK5269
		ILST057
		BMS764

- 최종적으로 일본화우의 QTL 데이터베이스를 비교 분석하여 총 8개 (MSTN, TTN, BCAT1, NTF3, EDRA, DCLK2, FASN, ODZ4) 의 후보유전자를 선발하였고, 염기서열 분석을 통해서 한우품종에서의 변이를 확인한 후에 표현형과의 연관성 분석에 활용하였다.

- 일본화우내에서 발굴된 QTL 영역과 일본화우와 외국소품종간의 교배를 통해 만들어진 축군에서 발굴된 QTL 영역을 동시에 한우품종과 비교함으로써 한우품종의 개량에 효과적으로 활

용될 수 있는 유전부위에 대한 탐색을 수행할 수 있었다.

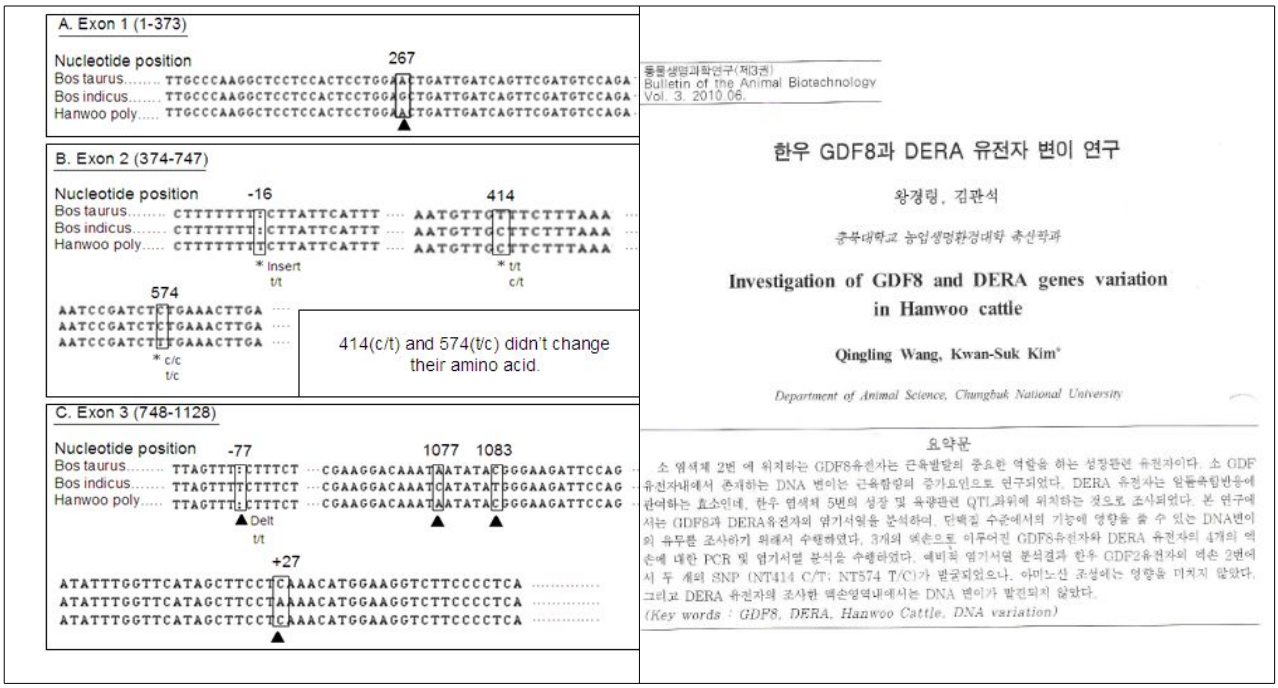
- 그 결과 BTA2번 MSTN (GDF8) 유전자 위치에서 일본화우와 리무진에서 육량에 영향을 주는 매우 유의적인 효과가 있는 것으로 보고되었으며, 또한 BTA5번에서 한우의 등지방두께에 영향을 주는 매우 유의적인 SNP좌위가 발굴되었으며, 동일한 좌위가 외국 소품종에서도 육량에 영향을 주는 부위로 알려져 이에 대한 후보유전자로 DERA유전자를 연구하였음



<그림 3-2-12>

- 한우에서는 MSTN (GDF8) 유전자 위치에서 QTL이 발견되지 않았고, 25-40M 떨어진 위치에서 등지방두께에 영향을 주는 SNP좌위가 중요한 좌위로 계속적으로 나타나고 있음에따라, 한우 MSTN유전자의 대립유전자는 한우집단내에서 고정된 것으로 추정하고, 이러한 고정된 한우 MSTN 대립유전자는 육량이 우수한 외국 소품종과 매우 다를 것이며, 한우의 특이적인 근육발달에 영향을 유전요인으로 사료되어 염기서열 비교를 수행하였음

- 한우 MSTN 유전자의 genomic sequence를 다른 소 품종과 비교하였을 때 다양한 염기변이가 확인되었으며, 이러한 염기의 변이가 외국품종과 비교하였을 때 한우품종내에서는 고정되어 있어 한우의 특이적인 근육발달에 영향을 줄 수 있는 것으로 판단되어 기능적인 측면에서 추가적인 연구를 수행하고 있음

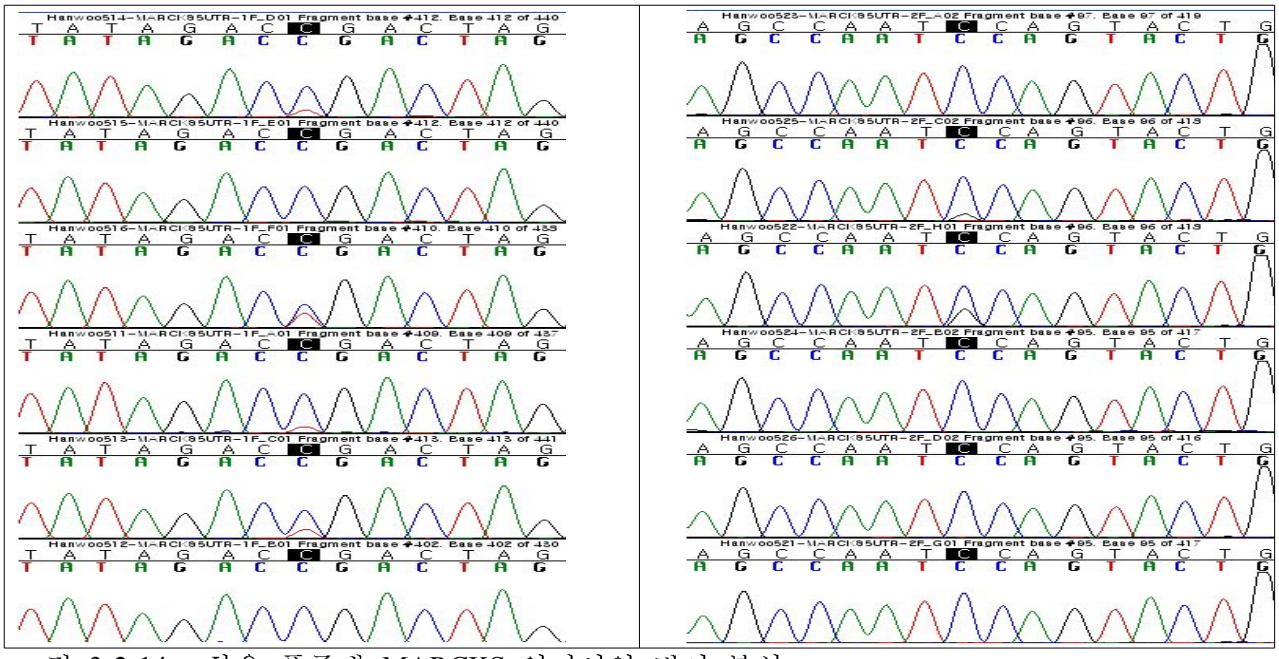


<그림 3-2-13>

- 한우염색체 9번에서 도체중, 배장근단면적, 마블링에 관한 QTL좌위가 탐색되었으며, 이에 대한 생화학적/생리학적 후보유전자를 탐색하여, Myristolylated alanine-rich protein kinase C substrate (MARCKS) 유전자를 선별하였고, MARCKS 유전자는 성장촉진호르몬인 IGF1 신호전달기작에서 중요한 조절유전자인데 발견된 유전자변이에 대한 형질연관성분석을 추가 수행할 예정이다.

증폭된 Amplicon에 대한 염기서열분석에서 한우품종내 새로운 SNP 변이 발굴하여 한우 MARCKS 유전자 증폭을 위한 프라이머 제작 및 성공적인 증폭조건 확립

MARCKS	Oligonucleotide(F/R)	Sequence (5'-3')	Length (bp)	Annealing Temp
5UTR	1F 1R	GGGGGTGGTGGTAATCACTA TTAACTTGACTCGCTTTGGC	459	62.7
5UTR	2F 2R	GGAAGGAGACAGACACGGT CAGATTTGTAGCCGCACTG	445	62.7
5UTR	3F 3R	CCCGCATCTTATTAGCAACCA TTTACCTGCCCATTCGCTTTA	492	62.7
EXON1	4F 4R	CTTTGTTCCCTCCTTGGATCT TATCACTTCTTTCCTCCCGTCT	402	62.7
EXON2	5F 5R	AACCCCGCCTCCCCATAAG TCTTGAAGGAGAAGCCGCTCAG	552	62.7
EXON2	6F 6R	CCTCTGCCGCCTCCTTGAC TTGCTGGGCTCCTCGACGG	418	61
EXON2	7F 7R	GAGGCCAAGCCCGAGGA CAGTACCTGGCACCACTCCAA	365	61



<그림 3-2-14>. 한우 품종내 MARCKS 염기서열 변이 분석

8. 한우암소의 산유량 생산 관련 후보후전자 연구

○ 한우품종의 심각한 유전적 결점중에 하나는 낮은 산유능력이며, 이로인한 송아지의 성장발육 저해는 한우농가에서 고품질 한우육생산에 심각한 애로상항으로 판단되었고, 한우품종의 낮은 산유량에 영향을 주는 유전적인 요인에 대한 기초연구가 부재한 상태에서 홀스타인품종 젖소의 산유능력에 주는 유전좌위탐색과 관련 유전자에 대한 발굴에 연구가 활발해 지면서, 한우와 홀스타인 품종간의 유전체정보의 비교를 통해 한우품종 산유량의 유전적 개선에 활용할만한 정보가 확보하여 우수한 산유능력을 가진 한우개체를 선발하는데 활용될 수 있을 것으로 판단하였음.

○ 본 연구의 목적은 젖소의 23번 염색체에는 유량에 관련된 유전좌위가 보고되었는데, 이 좌위는 소 락토젠 유전자의 변이가 산유능력에 영향을 주는 것으로 보고되어 있어, 한우품종에서 락토젠 유전변이의 존재와 특성을 분석하였음.

<표 3-2-33>. Genotypic frequencies of NT7409(T-C) in Hanwoo Population

NT7409 (T<C)				
Genotype			Allele	
TT	TC	CC	T	C
0.38 (n=80)	0.48 (n=105)	0.14 (n=31)	0.65	0.62

○ 한우bPL 유전자내의 NT.7409C>T 는 총 216두가운데 TT 형을 가진 개체는 80두, TC 형을 가진 개체는 105두 와 CC형을 가진 개체는 31두로 T 대립유전자의 빈도가 홀스타인 품종집단에 비해 매우 높은 출현 빈도를 나타내었다. 이는 홀스타인 품종에서 TT 유전자형이 10% 미만으로 출현하는 것과 비교하였을 때 매우 높은 TT 유전자형의 빈도를 한우에서 나타내고 있으며, CC 유전자형은 홀스타인 품종에서 높은 산유량을 가진 것으로 보고되어 있다.

○ 일루미나 50K칩 비교결과를 이용하여 한우-홀스타인 품종간의 차이를 확인코자 한우와 젖소의 대립유전자형 빈도가 큰 SNP 마커를 염색체별로 2개씩 총 60개의 SNP 마커를 선발하였고, 최종적으로 산유능력에 영향을 주는 유전자영역에 속하는 7개를 선발하였는데 (Table 30), 선발된 SNP마커를 한우품종에 적용하기 위한 기초작업으로 염기서열분석을 수행하여 한우품종과 홀스타인 품종에서의 차이를 확인하였고, 이러한 유전적인 차이가 산유능력에 영향을 주는 요인인지에 대한 추가적인 연구를 수행할 예정임.

<표 3-2-34>. Identification of SNP within Candidate gene on Milk Production QTL

SNP NAME	Chr	Position	emsembl Blast	Enterz gene/ Uni protKB/	Loaction
BFGL-NGS-116590	4	79701137	79,699,837~79,702,437	Q24K01	79,665,909~79,735,389
UA-IFASA-2781	5	32829967	32,828,667~32,881,267	ACCN2	32,822,040~32,844,545
BTB-01332940	10	75246969	75,245,669~75,248,269	SLC38A6	75,210,144~75,280,096
BTB-019975127	13	47231587	47,230,287~47,232,887	PRI0	47,214,647~47,234,369
ARS-BFGL-NGS-103597	22	52670501	52,669,502~52,671,801	SHSA5	52,668,400~52,671,531
Hapmap38196-BTA-114696	26	23604859	23,603,559~23,606,159	A5D7G2	23,559,654~23,660,760
ARS-BFGL-NGS-39846	27	36421058	36,419,758~36,422,358	HTRA4	36,412,773~36,428,531

한우와 홀스타인 품종의 SNP빈도 비교에서 매우 유의적으로 큰 차이를 나타내는 SNP마커들에 대한 주변 염기서열분석과 이를 검증하였음. 한우와 홀스타인품종에서 SNP빈도의 큰 차이를 보이는 유전자들이 존재하는 진화적인 측면에서의 원인에 대한 규명을 통해 한우품종의 유전적인 특징과 앞으로의 개량방향을 연구할 예정임 - 추가적으로 발굴된 염기서열변이에 대한 NCBI등록을 추진하고 있음

<표 3-2-35>. Hanwoo and Holstein Sequencing and Genotyping results

cattle Breed	Q2301		ACCN2		SLC38A6		PRI0		SHSA5		A5D7G2		HTRA4	
	T	C	A	C	G	A	T	C	A	G	A	G	A	C
Allele1	1		1		0.95		1		1		0.3		1	
Allele2	0		0		0		0		0		0.2		0	
Hanwoo1	TG		GG		AA		TT		GG		TT		AA	
Hanwoo2	TT		GG		AG		TT		GG		TT		AA	
Hanwoo3	TG		GG		AA		TT		GG		TT		AA	
Hanwoo4	TT		GG		AA		TT		GG		TT		AA	
Hanwoo5	TT		GG		AA		TT		GG		TT		AA	
Allele1	0.1		0		0		0.3		0.2		0.1		0	
Allele2	0.9		0		0		0.3		0.2		0.1		0	
Holstein1	GG		AA		GG		TC		AA		GT		CC	
Holstein2	GG		AA		GG		TC		AA		GG		CC	
Holstein3	GG		AA		GG		CC		AG		GG		CC	
Holstein4	GG		AA		GG		CC		AG		GG		CC	
Holstein5	GG		AA		GG		CC		AG		GG		CC	

9. 한우 유전체 분석을 이용한 대량 SNP 발굴

○ 차세대 염기서열 분석방법은 유전체 전체 서열을 무작위로 280bp 크기의 작은 조각으로 자른 후, 조각들을 임의로 선별해 시퀀싱(sequencing) 함으로써 대량의 데이터를 얻는 방법

○ 2009년 5월부터 농림수산식품부의 지원을 받아 한우 10개체에 대한 유전체 서열 해독 및 소 유전체 전체 크기(3x109bp)의 17배에 해당되는 한우 유전체를 확보하였음

○ 빠르고 정확한 SIMD 기술을 적용하여 NCBI에 등록된 소의 표준 서열에 정렬시켜 (reference assembly) 한우 유전체 서열의 정확성을 확인한 결과 92% 이상 완전 해독한 것을 확인함.

Chromosome information		Mapping information			coverage				Mapped paired information	
chr No.	RefTotLen	# of reads	# of nucleotides	Fold	1+ CoverSite	ratio	3+CoverSite	ratio	Pairs-read	ratio
1	160,281,243	25,403,814	1,935,291,665	**12.1**	146,791,625	(91.6)	134,153,049	(83.7)	5,959,915	(46.9)
2	140,210,416	22,275,539	1,696,746,049	**12.1**	130,136,931	(92.8)	119,030,561	(84.9)	4,968,551	(44.6)
3	127,393,604	22,166,050	1,687,095,340	**13.2**	116,874,286	(91.7)	107,503,258	(84.4)	5,157,126	(46.5)
4	123,869,208	20,321,693	1,547,941,648	**12.5**	115,293,415	(93.1)	105,378,675	(85.1)	5,362,593	(52.8)
5	125,272,759	22,092,148	1,681,851,428	**13.4**	115,027,776	(91.8)	105,033,211	(83.8)	4,680,889	(42.4)
6	121,961,022	21,190,931	1,613,966,173	**13.2**	110,450,576	(90.6)	100,655,424	(82.5)	5,403,657	(51.0)
7	111,483,216	19,385,284	1,475,926,376	**13.2**	102,950,240	(92.3)	93,993,077	(84.3)	5,284,999	(54.5)
8	116,442,821	19,290,231	1,468,324,519	**12.6**	106,430,600	(91.4)	98,414,478	(84.5)	4,386,778	(45.5)
9	107,595,351	19,873,651	1,512,208,156	**14.1**	99,329,982	(92.3)	90,722,530	(84.3)	4,115,757	(41.4)
10	105,883,598	21,799,291	1,657,820,498	**15.7**	98,615,492	(93.1)	90,687,976	(85.6)	4,427,309	(40.6)
11	109,786,769	23,466,704	1,785,081,750	**16.3**	101,231,455	(92.2)	92,443,718	(84.2)	6,946,490	(59.2)
12	84,983,539	18,305,396	1,390,713,604	**16.4**	78,716,098	(92.6)	71,370,783	(84.0)	5,091,783	(55.6)
13	84,164,198	21,072,915	1,600,659,875	**19.0**	78,181,633	(92.9)	72,511,607	(86.2)	6,046,459	(57.4)
14	81,055,643	18,365,304	1,396,185,377	**17.2**	75,521,517	(93.2)	69,306,331	(85.5)	5,367,699	(58.5)
15	84,178,453	17,225,187	1,308,315,214	**15.5**	77,196,838	(91.7)	70,689,296	(84.0)	4,719,100	(54.8)
16	77,586,053	14,410,654	1,094,631,794	**14.1**	70,820,548	(91.3)	64,903,408	(83.7)	4,110,527	(57.0)
17	76,236,943	16,310,025	1,238,707,381	**16.2**	69,137,044	(90.7)	62,670,197	(82.2)	3,530,632	(43.3)
18	65,876,439	15,673,756	1,189,370,026	**18.1**	59,308,119	(90.0)	53,904,141	(81.8)	3,169,404	(40.4)
19	65,117,493	15,921,905	1,207,909,010	**18.5**	59,064,613	(90.7)	53,307,608	(81.9)	3,320,497	(41.7)
20	75,486,353	13,912,008	1,057,569,355	**14.0**	69,223,281	(91.7)	63,323,731	(83.9)	3,501,045	(50.3)
21	68,868,390	15,170,185	1,152,445,620	**16.7**	63,473,722	(92.2)	58,028,556	(84.3)	3,519,237	(46.4)
22	61,688,140	13,093,625	994,856,171	**16.1**	57,341,440	(93.0)	52,874,912	(85.7)	2,955,206	(45.1)
23	53,206,148	11,630,031	882,682,472	**16.6**	48,836,089	(91.8)	44,491,492	(83.6)	2,677,646	(46.0)
24	64,720,233	14,215,860	1,079,257,047	**16.7**	59,989,267	(92.7)	55,091,745	(85.1)	3,403,106	(47.9)
25	43,815,403	13,099,568	994,616,046	**22.7**	39,836,435	(90.9)	35,916,926	(82.0)	3,469,702	(53.0)
26	51,545,746	12,464,234	945,556,375	**18.3**	47,132,088	(91.4)	43,263,528	(83.9)	3,490,896	(56.0)
27	48,564,334	13,191,371	1,001,117,168	**20.6**	44,356,056	(91.3)	40,676,282	(83.8)	3,747,329	(56.8)
28	45,924,206	11,390,504	864,074,255	**18.8**	42,310,417	(92.1)	38,941,263	(84.8)	3,056,298	(53.7)
29	51,723,940	13,794,685	1,046,613,561	**20.2**	46,419,725	(89.7)	42,089,280	(81.4)	3,789,745	(54.9)
X	87,986,663	15,264,987	1,158,176,913	**13.2**	78,662,672	(89.4)	62,685,128	(71.2)	3,239,629	(42.4)
Un	283,532,663	29,567,995	2,256,277,160	**8.0**	253,083,551	(89.3)	220,660,545	(77.8)	7,416,799	(50.2)
contig	**2,906,440,987**	**551,345,531**	**41,921,988,025**	**14.4**	**2,661,743,531**	**(91.6)**	**2,414,722,716**	**(83.1)**	**136,316,803**	**(49.4)**
Chromosome	**2,622,908,324**	**521,777,536**	**39,665,710,865**	**15.1**	**2,408,659,980**	**(91.8)**	**2,194,062,171**	**(83.6)**	**128,900,004**	**(49.4)**

<그림 3-2-15>. Reference assembly 정보

<표 3-2-36>. NCBI reference서열과 비교를 통한 assembly 결과 및 시퀀싱 결과

Sequencing			Assembly					
No. of reads	No. of bases (G bp)	Depth	Mapped reads(%)	Mapped bases (G bp)	Mapped depth	Mapped coverage over 1x	Mapped coverage over 3x	
628,863,867	49.33	16.97	551,345,531	41.92	14.42	91.58	83.08	Contigs
			521,777,536	39.66	15.12	91.83	83.60	Chromosomes

○ 연구 결과 한우 유전체 서열 내에서 310만개 이상의 잠재적인 SNP와 6만개 이상의 유전체 구조 변이(Indel)를 발굴하였고, 미국 국립생물정보센터(NCBI)에 등록된 소의 단일염기변이 데이터베이스(dbSNP)와 비교할 때, 28%의 SNP는 동일한 것으로 이는 소의 dbSNP 데이터 전체의 약 54%에 해당하고, 나머지 72%는 새롭게 밝혀진 것으로 분석됨.

<표 3-2-37>. 30쌍의 염색체에 분포된 한우 SNP 현황

Chr. No.	Total Length of Chr. (bp)	Variation Counts				Average Interval Length of Variation (bp)
		SNP	Deletion	Insert	Total	
1	160,281,243	177,118	1,974	1,453	180,545	888
2	140,210,416	141,383	1,703	1,345	144,431	971
3	127,393,604	137,938	1,638	1,207	140,783	905
4	123,869,208	139,782	1,491	1,073	142,346	870
5	125,272,759	120,616	1,427	1,179	123,222	1,017
6	121,961,022	139,272	1,551	1,186	142,009	859
7	111,483,216	122,302	1,370	1,010	124,682	894
8	116,442,821	132,643	1,476	1,088	135,207	861
9	107,595,351	110,784	1,289	1,010	113,083	951
10	105,883,598	117,578	1,369	970	119,917	883
11	109,786,769	114,829	1,313	1,025	117,167	937
12	84,983,539	97,176	1,082	787	99,045	858
13	84,164,198	101,770	1,107	774	103,651	812
14	81,055,643	91,387	1,081	739	93,207	870
15	84,178,453	108,413	1,103	782	110,298	763
16	77,586,053	92,015	999	714	93,728	828
17	76,236,943	81,656	989	739	83,384	914
18	65,876,439	72,821	837	629	74,287	887
19	65,117,493	64,886	776	572	66,234	983
20	75,486,353	89,521	973	745	91,239	827
21	68,868,390	76,741	860	665	78,266	880
22	61,688,140	69,069	836	557	70,462	875
23	53,206,148	61,008	672	593	62,273	854
24	64,720,233	69,743	764	625	71,132	910
25	43,815,403	54,523	593	400	55,516	789
26	51,545,746	69,006	692	474	70,172	735
27	48,564,334	63,339	692	486	64,517	753
28	45,924,206	64,495	612	489	65,596	700
29	51,723,940	76,668	723	496	77,887	664
X	87,986,663	48,237	479	343	49,059	1,793
Un	283,532,663	211,054	3,547	3,013	217,614	1,303
Contigs	2,906,440,987	3,117,773	36,018	27,168	3,180,959	914
Chromosomes	2,622,908,324	2,906,719	32,471	24,155	2,963,345	885

<표 3-2-38>. 한우 SNP와 NCBI에 등록된 외국소 SNP의 비교

Chr. No	Total HW SNP	Only hwSNP	(ratio)	Common SNP	(ratio)	Only dbSNP	(ratio)	Total dbSNP
1	180,545	113,675	(63.0)	66,870	(37.0)	71,590	(51.7)	138,460
2	144,431	108,014	(74.8)	36,417	(25.2)	43,430	(54.4)	79,847
3	140,783	101,557	(72.1)	39,226	(27.9)	43,977	(52.9)	83,203
4	142,346	94,148	(66.1)	48,198	(33.9)	54,385	(53.0)	102,583
5	123,222	102,512	(83.2)	20,710	(16.8)	30,834	(59.8)	51,544
6	142,009	94,736	(66.7)	47,273	(33.3)	53,767	(53.2)	101,040
7	124,682	82,116	(65.9)	42,566	(34.1)	45,041	(51.4)	87,607
8	135,207	86,467	(64.0)	48,740	(36.0)	50,945	(51.1)	99,685
9	113,083	84,540	(74.8)	28,543	(25.2)	34,784	(54.9)	63,327
10	119,917	84,907	(70.8)	35,010	(29.2)	38,330	(52.3)	73,340
11	117,167	88,622	(75.6)	28,545	(24.4)	32,566	(53.3)	61,111
12	99,045	75,359	(76.1)	23,686	(23.9)	28,865	(54.9)	52,551
13	103,651	68,668	(66.2)	34,983	(33.8)	30,834	(46.8)	65,817
14	93,207	66,801	(71.7)	26,406	(28.3)	29,483	(52.8)	55,889
15	110,298	66,850	(60.6)	43,448	(39.4)	44,566	(50.6)	88,014
16	93,728	62,420	(66.6)	31,308	(33.4)	33,264	(51.5)	64,572
17	83,384	64,235	(77.0)	19,149	(23.0)	33,911	(63.9)	53,060
18	74,287	52,338	(70.5)	21,949	(29.5)	39,141	(64.1)	61,090
19	66,234	52,288	(78.9)	13,946	(21.1)	25,170	(64.3)	39,116
20	91,239	62,743	(68.8)	28,496	(31.2)	44,431	(60.9)	72,927
21	78,266	59,741	(76.3)	18,525	(23.7)	31,999	(63.3)	50,524
22	70,462	51,798	(73.5)	18,664	(26.5)	29,214	(61.0)	47,878
23	62,273	55,162	(88.6)	7,111	(11.4)	15,089	(68.0)	22,200
24	71,132	59,856	(84.1)	11,276	(15.9)	18,395	(62.0)	29,671
25	55,516	41,485	(74.7)	14,031	(25.3)	13,670	(49.3)	27,701
26	70,172	42,807	(61.0)	27,365	(39.0)	24,956	(47.7)	52,321
27	64,517	44,912	(69.6)	19,605	(30.4)	19,179	(49.5)	38,784
28	65,596	45,332	(69.1)	20,264	(30.9)	18,889	(48.2)	39,153
29	77,887	46,761	(60.0)	31,126	(40.0)	29,521	(48.7)	60,647
X	49,059	45,864	(93.5)	3,195	(6.5)	10,523	(76.7)	13,718
Un	217,614	189,061	(86.9)	28,553	(13.1)	215,683	(88.3)	244,236
contig	3,180,959	2,295,775	(72.2)	885,184	(27.8)	1,236,432	(58.3)	2,121,616
chromosome	2,963,345	2,106,714	(71.1)	856,631	(28.9)	1,020,749	(54.4)	1,877,380

10. 한우 유전체에서 확보된 3M SNP를 이용한 대용량 SNP 분석시스템 개발

○ 차세대 염기서열분석 방법을 이용하여 한우개체 10마리에 대한 유전체해독을 통해 310만개의 잠재적인 SNP를 발굴하였는데, 이에 대한 추가적인 분석을 International Affymatrix Consortium에 참여하여 한우개체 11두에 대한 2.7M SNP 분석을 수행하였음

#Affymetrix Confidential
#Do Not Distribute
#Alleles: A/B
#Calls: -1=NN, 0=AA, 1=AB, 2=BB

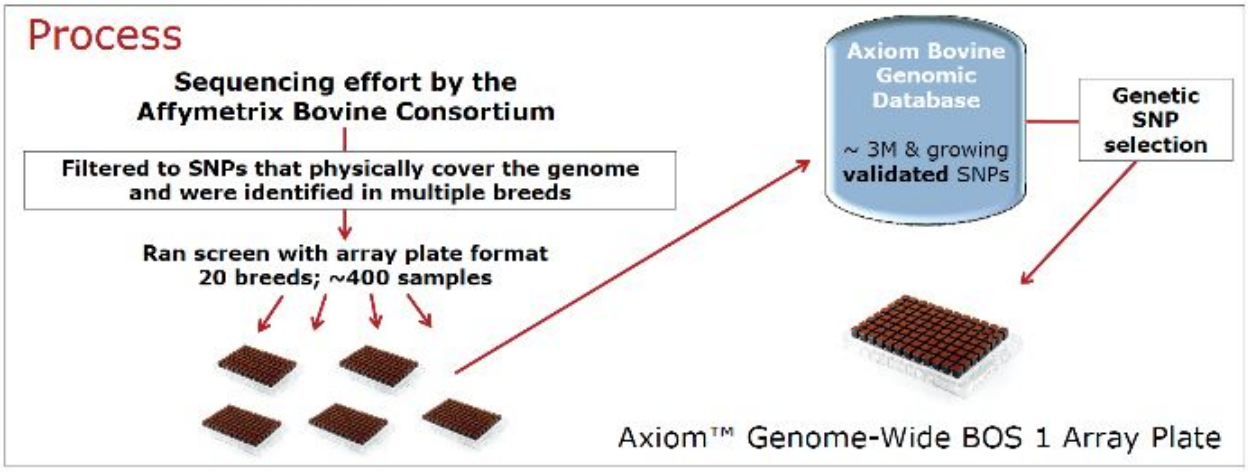
snp_id	alleles_fwd	chr	snp_pos	HANUMC69317		HANUMC69318		HANUMC69319		HANUMC69320		HANUMC69321		HANUMC69322
Affx-38000019	C/T	1	12224	2	2	2	2	2	2	2	2	2	-1	2
Affx-38000040	A/C	1	16947	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Affx-38000044	C/T	1	18291	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Affx-38000080	G/T	1	28290	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	-1
Affx-38000098	A/G	1	33579	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Affx-38000101	C/T	1	33872	-1	2	2	1	2	1	2	2	2	2	2
Affx-38000102	A/G	1	34377	1	0	0	2	1	2	1	1	2	2	2
Affx-38000107	A/G	1	36440	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1
Affx-38000108	A/C	1	36685	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Affx-38000126	A/C	1	44423	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Affx-38000238	A/G	1	78655	1	2	2	1	2	1	1	2	1	2	1
Affx-38000254	C/T	1	83618	0	0	0	0	0	0	0	0	-1	0	0
Affx-38000258	A/G	1	84360	1	0	0	-1	0	1	0	0	0	0	0
Affx-38000266	G/T	1	86000	1	0	0	1	0	1	0	0	-1	0	0
Affx-38000269	A/G	1	86688	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Affx-38000280	A/G	1	89197	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Affx-38000281	A/G	1	89564	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2

<그림 3-2-16>

○ 연구결과

Affymatrix Consortium은 전 세계 소유전체분야 선도적인 연구자그룹이 참여하여 10개 소품종의 염기서열분석결과를 deposit하여 45M SNP를 확보하였고 이를 바탕으로 선별된 3M SNP를 가지고 20개 품종 400개체에 대한 유전자형을 분석하였고, 그 결과 Affymatrix사에서 Axiom Genome-Wide BOS Array (600K SNP) 개발에 활용하였음. 지금 한우유전체분석에 사용되는 일루미나사의 SNP Chip은 54K SNP를 포함하고 있지만 주로 앵거스와 홀스타인품종의 유전자변이를 중심으로 개발되어, 한우품종에 적용하였을 때 33K SNP만을 분석할 수 있어 한우유전체의 체계적인 분석에 활용하기 어려운 단점이 있음. 또한 한우유전체정보를 기준서열로 하여 다른 품종을 비교하는데 있어서 대용량의 SNP contents 개발에 활용할 수 있는 매우 조건을 확보하였음.

Figure 1A: SNP development process.



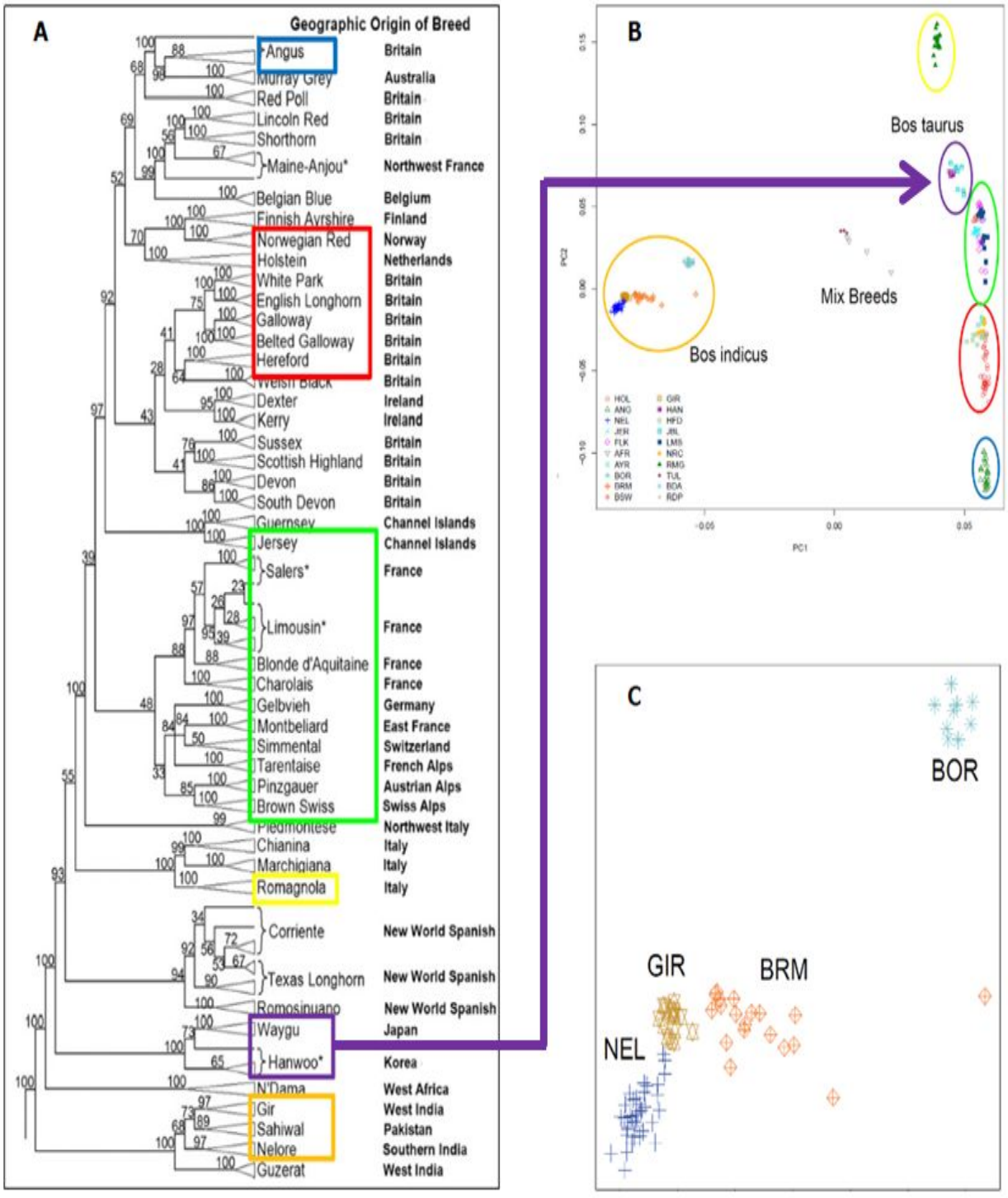
○ Affymatrix Bovine Consortium에 주도적인 역할을 수행하며 한우품종 개량에 유용한 1.3M SNP content를 확보하였음

Table 1: Polymorphic SNPS per breed in the 3 million validated list. Average minor allele frequency for unrelated samples.

Breed	Polymorphic SNPs	Avg. MAF*	Samples genotyped	Unrelated samples	Avg. call rate (%)
Afrikander	1.4M	0.27	5	4	99.5
Angus	1.4M	0.21	50	25	99.5
Ayrshire	0.96M	0.29	6	3	99.6
Blonde d'Aquitaine	0.99M	0.27	5	4	99.5
Boran	2.2M	0.26	10	9	99.5
Brahman	2.4M	0.23	23	19	99.1
Brown Swiss	0.99M	0.28	10	5	99.2
Simmental	1.4M	0.21	16	16	99.5
Gir	2.1M	0.24	20	15	99.3
Hanwoo	1.3M	0.25	11	5	99.4
Hereford	1.2M	0.22	21	15	99.5
Holstein	1.6M	0.21	56	34	99.5
Japanese Black	1.1M	0.24	10	8	99.6
Jersey	1.2M	0.23	29	13	99.5
Limousin	1.4M	0.21	20	17	99.5
Nelore	2.3M	0.22	50	38	99.4
Norwegian Red	1.0M	0.39	7	6	99.5
Rouge des Prés	0.7M	0.33	5	2	99.6
Romagnola	1.6M	0.20	26	18	99.6
Tuli	1.4M	0.29	4	3	99.5

*Average minor allele frequency for unrelated samples.

○ 추가적으로 한우품종의 계통학적 분류위치를 확인하며, 일본화우가 한우품종에서 유래되었다는 과학적인 근거를 확보함

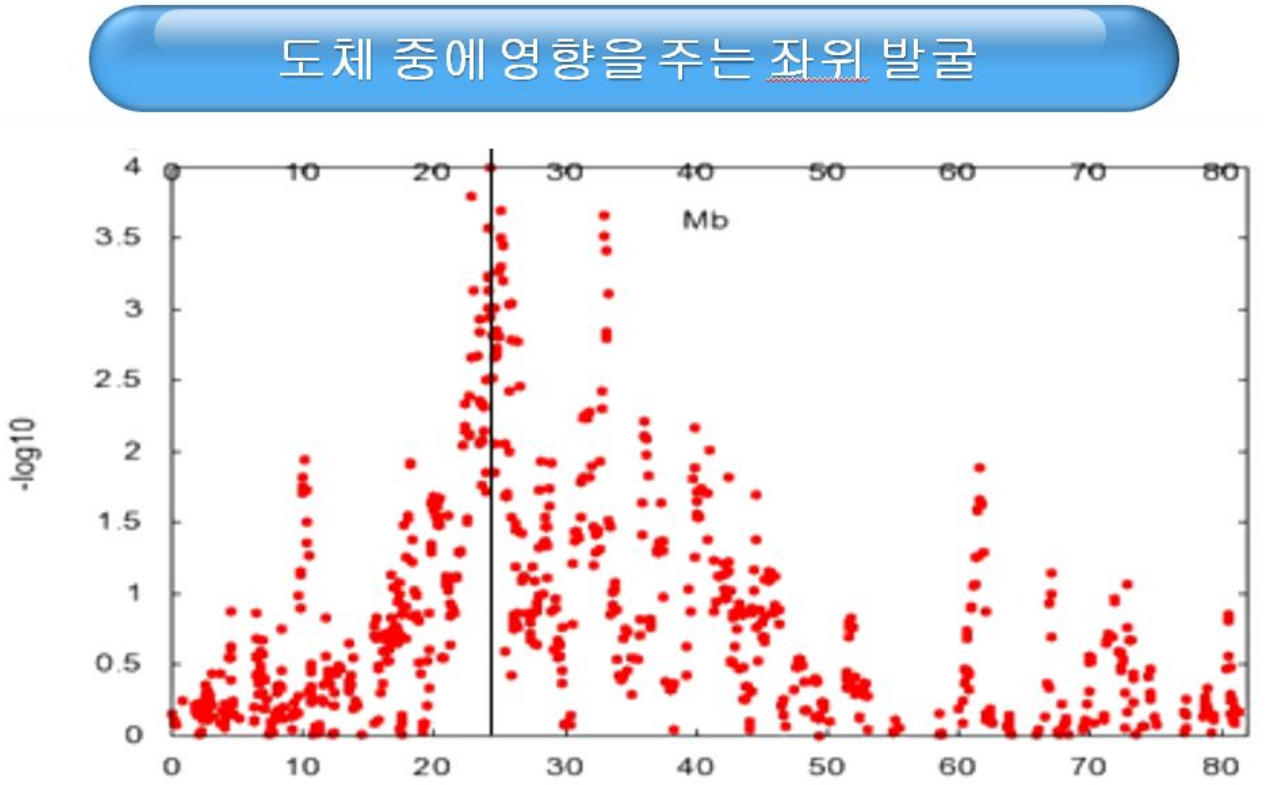


<그림 3-2-17>. Affymatrix Bos-1 Array를 이용한 소 품종 분류

11. GWAS 분석에서 발굴된 육량·육질 SNP 좌위 원인유전자 분석

○ 차세대 염기서열분석 방법을 이용하여 발굴된 대량의 SNP 정보와 GWAS 분석을 통해 발굴된 한우의 육량과 육질에 영향을 주는 좌위에 대한 정보를 생물정보학적 분석을 통해 원인유전자탐색과 상용축군에서 검증에 대한 연구를 수행하였음.

가. 한우 14번염색체 염기서열을 이용한 원인유전자 검증



<그림 3-2-18>. **한우 염색체 14번의 도체중 QTL 영역**

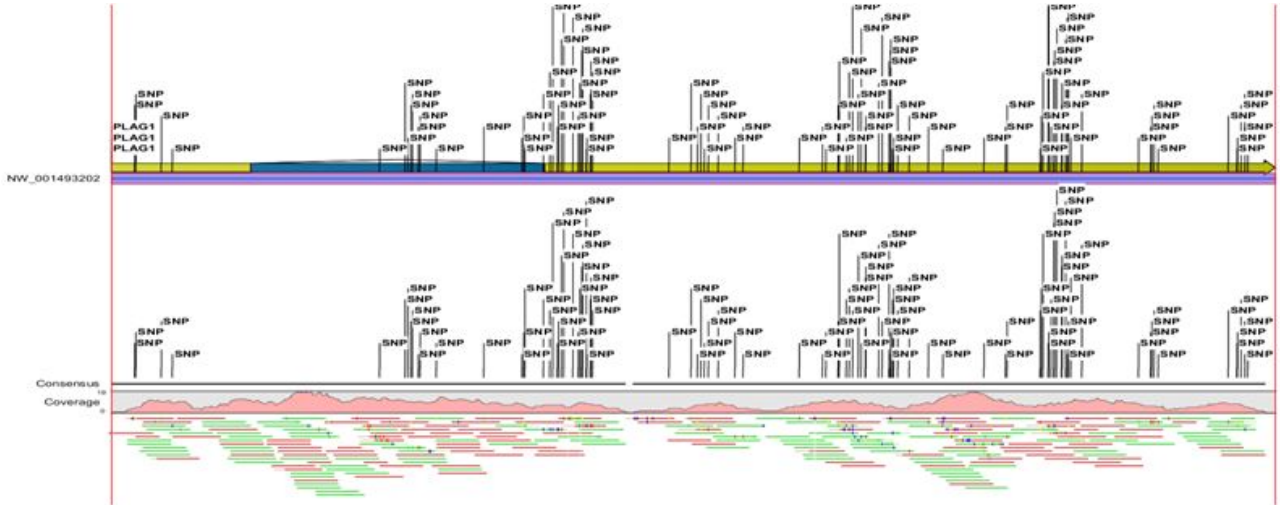
○ 한우염색체14번에서 GWAS분석을 수행한 결과 25M 부위에서 도체중에 유의적인 영향을 주는 좌위가 발굴되었고 (제1협동과제 참고), 전년도에 한우유전체 염기서열 해독에서 발굴된 SNP 변이들을 활용하여 25M부위 한우 도체중 QTL 좌위에 대한 원인유전자 탐색을 다음과 같은 과정으로 수행하였다.

- 한우 GWAS 분석결과 도체중 QTL 좌위의 외국 소품종에서의 빈도 분석
- Target 염색체 영역에 대한 한우유전체서열 (한우 NGS data 이용) reference assembly
- Target 염색체 영역에 대한 한우품종내 변이와 후보유전자 동정
- Target 염색체 영역의 염기서열변이와 Illumina Chip SNP 비교
- Target 염색체 영역의 최적마커발굴 및 검증 (MAS에 이용될 QTL 검증)

○ 한우염색체14번 염기서열에 reference assembly를 수행한 결과는 한우염색체 14번 25M 부위에서 도체중에 유의적인 영향을 주는 좌위에 원인유전자로 PLAG1 유전자가 발굴되었음

<그림 3-2-19>. **Split view for BTA14 read mapping a) All contig view; b) PLAG1 gene location**

○ BTA 14번 QTL 영역 원인유전자 (PLAG1) 내에서 발굴된 후보 염기서열변이를 3차년도에 수행한 한우유전체 염기서열로부터 추출하였음



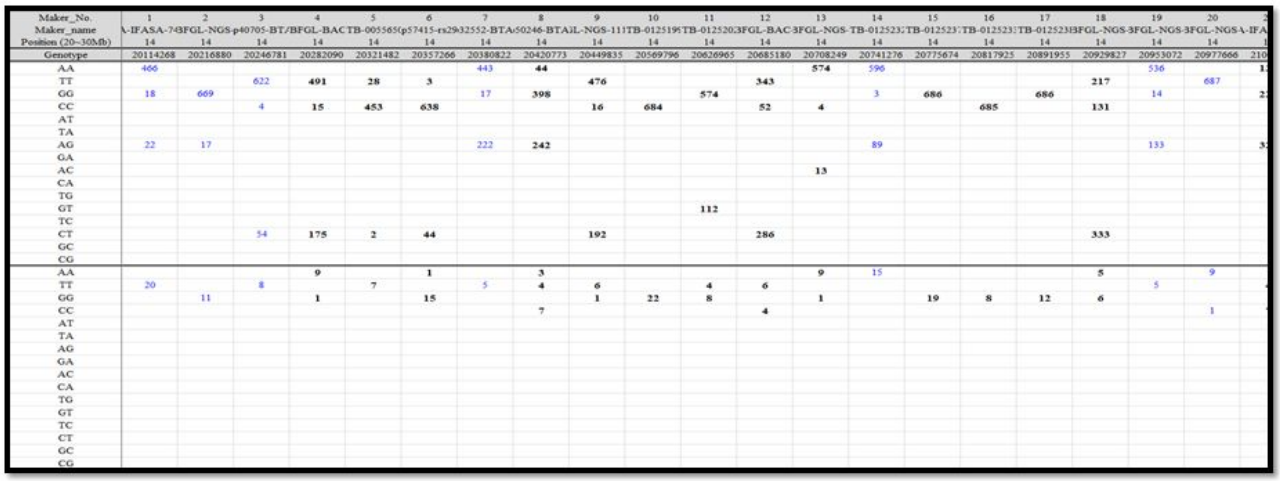
<그림 3-2-20>. **Discovery of all candidate SNPs from Hanwoo PLAG1 gene**

○ 대량염기서열분석자료를 활용하여 한우 PLAG1 유전자 변이의 특성을 규명하였을 때 PLAG1 단백질 아미노산의 종류를 변화시키는 변이가 발굴되었으며, 이러한 변이가운데 한우의 도체중에 영향을 줄 수 있는 변이를 선발하였다.,

Ref. Pos.	Con. Pos.	Allele Variations	Frequencies	Counts	Overlapping Annotations	AA Change
Promoter	-	A/G	85.0/15.0	7/1	Promoter: PLAG1, Gene	-
806	803	G/T	75.0/25.0	6/2	CDS: PLAG1, Gene: PLAG1, mRNA	Met100Ile
1275	1262	A/C	72.7/27.3	8/3	CDS: PLAG1, Gene: PLAG1, mRNA	Asn257His
1939	1926	C/G	75.0/25.0	6/2	CDS: PLAG1, Gene: PLAG1, mRNA	Ser478Cys
5'UTR	-	C/G	85.0/15.0	18/2	3'UTR: PLAG1, Gene	-

<그림 3-2-21>. **Characterization of Hanwoo PLAG1 gene polymorphisms**

○ 대량 염기서열분석자료를통해 발굴된 PLAG1 유전자 변이가 실재로 한우집단에서 존재하는 유무를 검증하기 위해서 PLAG1 유전자가 존재하는 contig 영역 내에 50k chip에 69개의 SNP를 한우 NGS 데이타와 비교분석하였다.



<그림 3-2-22>. **발굴된 SNP의 정확도 검증을 위한 한우 Bovine 50K array 결과와의 비교**

○ 총 69개의 SNP 중 50K chip과 NGS 데이터에 동시에 polymorphic한 SNP는 53개로 나타났으며, 두 데이터가 틀리게 나타난 SNPsms 16개로 관찰되었다.

- SNPs match percentage -> 77%
- SNP unmatched percentage -> 23%

○ 한우 PLAG1 염기서열을 이용하여 발굴된 SNP에 대해서 한우상업축군에서 표현형과의 연관성을 분석하였다.

<표 3-2-39>

PLAG1 Gene	Position	AA change	Genotype (No. of pigs)	Total N.of cattle	A_Freq	B_Freq	Heterozygosity	HWE (*P*-value)
ss250608718 A>G	Promoter	—	AA: 10 AG: 47 GG: 248	305	A_Freq: 0.11	G_Freq: 0.89	0.196	0.0022
rs109231213 C>G	3'UTR	—	CC: 0 CG: 49 GG: 319	368	C_Freq: 0.07	G_Freq: 0.93	0.123	0.5066

Model Mixed: Sdate and Sex fixed effect, Sage coverience effect, Area Random effect

		Genotypic least squares means ± (SE)				
PLAG1 Gene	Trait	AA	AG	GG	Overall *P*-value	*a* ± sd (*P*-value)
ss250608718	CWT	335.73 ± 18.08 a	377.42 ± 7.46 b	371.24 ± 4.86 b	**<0.01***	**43.66 ± 18.67 (<0.01)***
A>G	BFT	11.87 ± 2.57	12.77 ± 1.06	13.40 ± 0.69	>0.69	0.89 ± 2.66 (>0.73)
	LMA	73.93 ± 4.82	84.30 ± 1.98	83.26 ± 1.29	>0.11	**10.375 ± 4.97 (<0.05)**
	MAR	5.33 ± 0.74 a	3.33 ± 0.30 b	3.90 ± 0.20 b	**<0.05**	**1.99 ± 0.77 (<0.05)**
PLAG1 Gene	Trait	CC	CG	GG	Overall *P*-value	*a* ± sd (*P*-value)
rs109231213	CWT	—	382.40 ± 8.09 a	368.80 ± 4.75 b	**<0.01***	**13.59 ± 7.24 (<0.01)****
C>G	BFT	—	11.87 ± 1.14	13.46 ± 0.67	>0.12	1.59 ± 1.02 (>0.11)
	LMA	—	86.98 ± 2.07 a	82.71 ± 1.21 b	**<0.01***	**4.27 ± 1.85 (<0.05)**
	MAR	—	4.29 ± 0.33	3.79 ± 0.19	>0.09	0.50 ± 0.30 (>0.09)

○ 한우 PLAG1 유전자변이는 상업축군한우시료에서 매우 유의적인 연관성을 나타냈으며, 이러한 결과는 Nature Genetics에서 Karim 등 (2011) 에 의해서 발표된 PLAG1 유전자가 소의 체격을 결정하는 원인유전자라는 결과와 일치하였다.

○ 한우 PLAG1 유전자의 Promoter 영역내의 ss250608718 A →G 변이는 A 대립유전자의 빈도가 0.11 으로 적은 것으로 관찰되었으며 AA 유전자형을 가진 개체는 우성적 효과(Dominant Effect)로 나타났으며 AA 유전자형은 AG 와 GG 유전자형을 가진 개체보다 도체중이 43.66 ± 18.67 kg 이 적게 나가는 것으로 확인되었다.

○ 또한 3'UTR 영역의 rs109231213 C→G 변이의 유전자형 효과는 C 대립유전자가 0.07로 매우 적은 빈도로 관찰되었지만 C 대립유전자를 가지고 있는 CG 유전자형의 경우 GG 유전자형을 가진 개체보다 13.59 ± 7.24 kg 이 더 나가는 382,40 ± 8.09 개체로 나타났으며 이 44두는 본 집단의 평균값보다 높은 도체중 및 육량의 상위그룹에 속하는 개체로 나타났다. 이러한 결과는 Nature Genetics의 결과와 동일한 결과를 보였다.

○ 한우 PLAG1 유전자의 Promoter 영역과 3'UTR 영역의 SNP간의 연관불균형을 보기 위해서 LD 분석을 수행하였으며 ss250608718 A →G 변이와 rs109231213 C→G 변이간의 연관불균형의 정도는 매우 낮은 것으로 관찰되었다.

○ 그래서 Q (G+C allele) 을 동시에 포함한 효과를 추정하기 위해서 Haplotype 을 구축해 그 효과를 추정하였다.

<표 3-2-40>

		[D']	
		ss250608718 A>G	*rs109231213 C>G*
r-square	*ss250608718 A>G*	—	0.81
	rs109231213 C>G	0.01	—

Haplotype	*ss250608718 A>G*	*rs109231213 C>G*	Frequency
Ht1	G	G	0.826
Ht2	A	G	0.109
Ht3	G	C	0.064

Model Mixed: Sdate and Sex fixed effect, Sage covariance effect, Area Random effect

Haplotype	CW, kg	BF, cm	LMA, cm^2	MAR, 1~9
Ht1 vs. Ht2 (estimate)	>0.44 (-5.36)	>0.61 (0.50)	>0.88 (0.27)	>0.20 (0.36)
Ht1 vs. Ht3 (estimate)	**<0.01 (-23.40)**	>0.34 (1.20)	**<0.05 (-4.41)**	>0.22 (-0.45)
Ht2 vs. Ht3 (estimate)	>0.08 (-18.04)	>0.64 (0.70)	>0.09 (-4.69)	>0.06 (-0.82)

○ 이상의 결과에서 PLAG1 유전자변이는 한우 BTA14번에 도체중에 영향을 주는 원인유전자이며, 한우집단의 염기서열분석자료를 통해 QTN에 대한 발굴 및 검증을 수행하여, 우량 한우암소 선발에 적용할 수 있다.

나. 한우3번염색체 마블링 QTL에 대한 원인유전자 발굴 및 검증

○ 마블링에 관한 QTL이 한우염색체 3번에서 발굴되었으며, 발굴에 이용된 SNP 마커는 EDG1 유전자내에 존재하는 Hapmap39048-BTA-99764이다. 발굴된 SNP가 위치한 EDG1 유전자는 일본화우집단에서 마블링에 유의적인 영향을 주는 것으로 최근 보고되었다 (Sukegawa et al. 2010; Yamada et al. 2009; Yamada et al. 2010)

SNP	Chr	Position(bp)	Allele	MAF
Hapmap39048-BTA-99764	3	44,502,770	T/G	T (0.3)

○ 한우 염색체 3번 마블링 QTL이 일본화우 마블링에 영향을 주는 동일한 유전자 위치에서 발견됨에 따라 한우 EDG1 유전자에 대한 염기서열 분석을 수행하여, 발굴된 SNP 변이를 이용하여 상업축군에서 그 효과를 검증하였다.

<표 3-2-41>. Effect of genotypes on meat quality traits in Hanwoo cattle

Genotype (no. animals)	***Trait*(LSM±SE)**			
	CW	**BF**	**LMA**	**MAR**
GG (21)	403.80±8.71[a]	10.90±0.90[a]	85.97[a]±1.88[a]	4.09±0.33[ab]
GA (227)	424.28±2.92[a]	12.56±0.30[a]	87.73[a]±0.63[a]	4.46±0.11[b]
AA (295)	422.58±2.64[a]	12.71±0.27[a]	89.19[a]±0.57[a]	5.03±0.10[c]

[a], [b], [c] Estimates at different genotypes without a common letter in their superscripts significantly differ (P < 0.05).

○ 한우 염색체 3번 마블링에 영향을 주는 원인유전자로써 EDG1 변이가 매우 중요한 유전자라는 것을 확인 하였고, 추가적으로 한우염색체 13번에서 발굴된 PRPF6 유전자 변이와 통합적 분석을 통해서 두 염색체 좌위가 상가적 효과를 발휘하는 것을 확인하여 육질개량을 위한 선발에 BTA3번과 13번이 동시에 활용될 수 있다는 것을 확인하였다.

제 3 절 한우유전체에서 통계유전학적 분석을 이용한 DNA마커 발굴

1. 한우집단에서 유용 SNP발굴, 연관불균형 조사 및 Hapmap 구성

가. 한우집단에서 유용한 SNP 대량발굴 및 연관지도 작성

○ 정읍의 임의 개체 수소 45두를 선별하여 제 2 세부과제 및 미조리 대학 Jerry Taylor교수연구팀과 (International bovine hapmap project) 공동 수행으로 DNA를 추출한 후 Illumia 50k SNP chip을 이용하여 genotyping을 하였음

○ Illumina chip에 심어져 있는 총 55074 SNP들 중에서 한우 유용한 SNP를 다음과 같은 조건을 만족시키는 SNP만을 선별하였음:

1) minor allele frequnecy > 0.05
2) call rate (≠ missing genotype) > 90%
3) Genotype_group >1

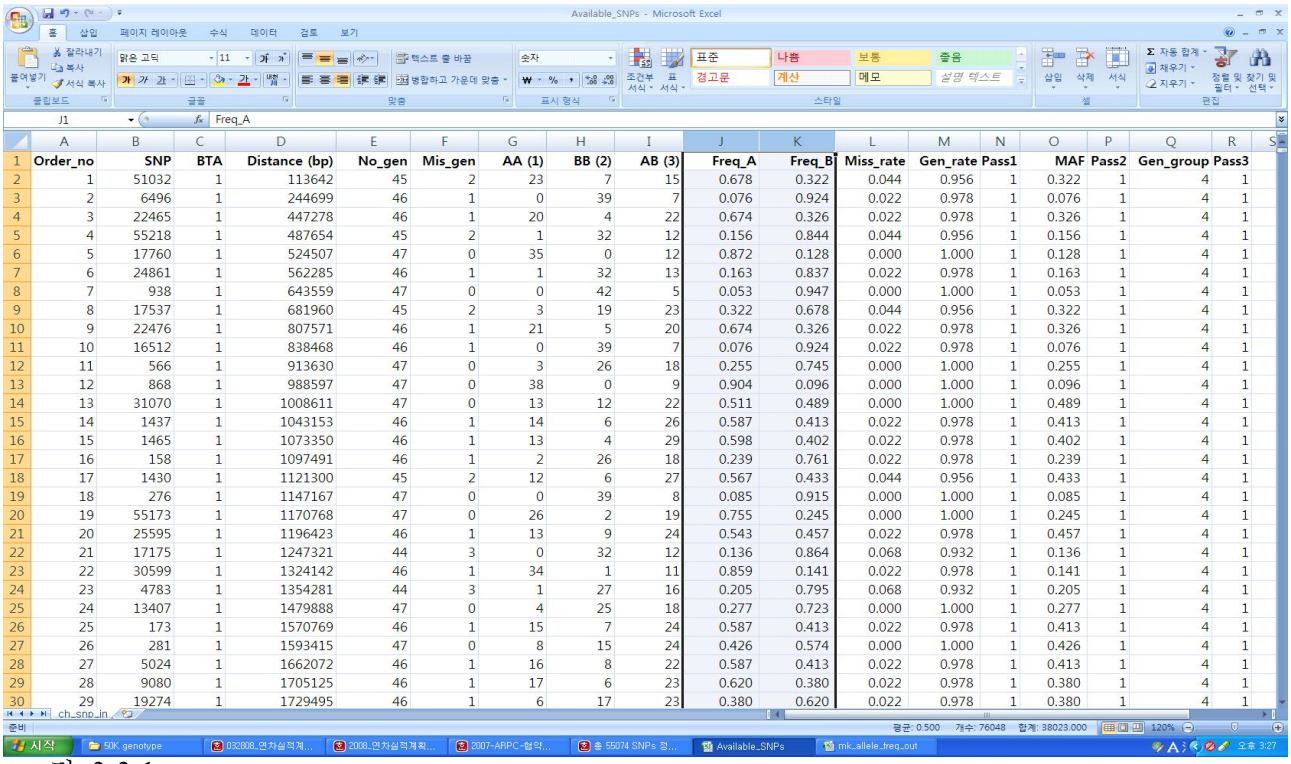
○ 위 세가지 조건을 만족 시킨 SNP 마커들은 총 38,023 SNP개였으며 (69%), 각 염색체별 수는 다음과 같다. 이는 평균 마커간 거리가 1cM (1000kbp) 이내임을 나타냄.

<표 3-3-1>

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
2372	1938	1856	1779	1503	1820	1624	1657	1452	1520	1580	1145	1269	1234	1192

16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	X
1126	1107	939	1000	1107	997	907	798	903	714	747	708	659	744	487

○ 아래 파일은 한우에서 유용한 38023 SNP 마커의 정보 및 마커의 physical map (distance bp)를 담고 있는 한 단면임.



Order_no	SNP	BTA	Distance (bp)	No_gen	Mis_gen	AA (1)	BB (2)	AB (3)	Freq_A	Freq_B	Miss_rate	Gen_rate	Pass1	MAF	Pass2	Gen_group	Pass3
1	51032	1	113642	45	2	23	7	15	0.678	0.322	0.044	0.956	1	0.322	1	4	1
2	6496	1	244699	46	1	0	39	7	0.076	0.924	0.022	0.978	1	0.076	1	4	1
3	22465	1	447278	46	1	20	4	22	0.674	0.326	0.022	0.978	1	0.326	1	4	1
4	55218	1	487654	45	2	1	32	12	0.156	0.844	0.044	0.956	1	0.156	1	4	1
5	17760	1	524507	47	0	35	0	12	0.872	0.128	0.000	1.000	1	0.128	1	4	1
6	24861	1	562285	46	1	1	32	13	0.163	0.837	0.022	0.978	1	0.163	1	4	1
7	938	1	643559	47	0	0	42	5	0.053	0.947	0.000	1.000	1	0.053	1	4	1
8	17537	1	681960	45	2	3	19	23	0.322	0.678	0.044	0.956	1	0.322	1	4	1
9	22476	1	807571	46	1	21	5	20	0.674	0.326	0.022	0.978	1	0.326	1	4	1
10	16512	1	838468	46	1	0	39	7	0.076	0.924	0.022	0.978	1	0.076	1	4	1
11	566	1	913630	47	0	3	26	18	0.255	0.745	0.000	1.000	1	0.255	1	4	1
12	868	1	988597	47	0	38	0	9	0.904	0.096	0.000	1.000	1	0.096	1	4	1
13	31070	1	1008611	47	0	13	12	22	0.511	0.489	0.000	1.000	1	0.489	1	4	1
14	1437	1	1043153	46	1	14	6	26	0.587	0.413	0.022	0.978	1	0.413	1	4	1
15	1465	1	1073350	46	1	13	4	29	0.598	0.402	0.022	0.978	1	0.402	1	4	1
16	158	1	1097491	46	1	2	26	18	0.239	0.761	0.022	0.978	1	0.239	1	4	1
17	1430	1	1121300	45	2	12	6	27	0.567	0.433	0.044	0.956	1	0.433	1	4	1
18	276	1	1147167	47	0	0	39	8	0.085	0.915	0.000	1.000	1	0.085	1	4	1
19	55173	1	1170768	47	0	26	2	19	0.755	0.245	0.000	1.000	1	0.245	1	4	1
20	25595	1	1196423	46	1	13	9	24	0.543	0.457	0.022	0.978	1	0.457	1	4	1
21	17175	1	1247321	44	3	0	32	12	0.136	0.864	0.068	0.932	1	0.136	1	4	1
22	30599	1	1324142	46	1	34	1	11	0.859	0.141	0.022	0.978	1	0.141	1	4	1
23	4783	1	1354281	44	3	1	27	16	0.205	0.795	0.068	0.932	1	0.205	1	4	1
24	13407	1	1479888	47	0	4	25	18	0.277	0.723	0.000	1.000	1	0.277	1	4	1
25	173	1	1570769	46	1	15	7	24	0.587	0.413	0.022	0.978	1	0.413	1	4	1
26	281	1	1593415	47	0	8	15	24	0.426	0.574	0.000	1.000	1	0.426	1	4	1
27	5024	1	1662072	46	1	16	8	22	0.587	0.413	0.022	0.978	1	0.413	1	4	1
28	9080	1	1705125	46	1	17	6	23	0.620	0.380	0.022	0.978	1	0.380	1	4	1
29	19274	1	1729495	46	1	6	17	23	0.380	0.620	0.022	0.978	1	0.380	1	4	1

<그림 3-3-1>

나. 발굴되어진 SNP들간 연관불균형 조사 및 Hapmap 결정

○ 각 염색체 별로 유용한 SNP들을 선별한 후 45개 임의 수소 개체들의 각 염색체에 위치하는 대립인자를 결정하기 위하여 (haploypte) fastPHASE(version 1.2.3) 프로그램을 구동하였다.

○ 구동한 후 결정되어진 각 haplotype 별로 (각 염색별) 임의의 두 마커간 연관비평형(LD)를 아래와 같은 r-square 방법을 이용하여 구하였다.

$$r^2 = \sum_{ij} h_{ij} \frac{(h_{ij} - p_i q_j)^2}{p_i(1-p_i)q_j(1-q_j)}$$

○ 여기서 p_i 는 첫 번째 마커 대립인자 *i* (예: 1st SNP allele '1')의 빈도를 말하며 qj는 두 번째 마커 대립인자 *j*의 (예: 2nd SNP allele '1') 빈도를 가리킨다. 따라서 마커 한 쌍당 총 4개의 haplotype이 (11, 12, 21, 22) 존재한다. hij는 두 마커에 있는 *ij* hapltoype의 빈도를 가리킨다.

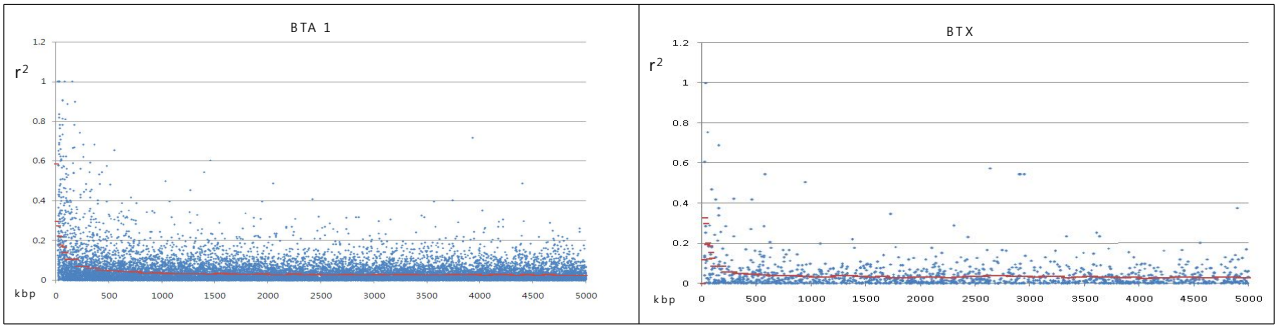
○ 각 염색체별로 해당되는 두 마커간의 거리가 5000kbp (또는 5cM) 이하되는 두 마커쌍을 선별하였고 두 마커간의 거리를 0~10kbp, 10~20kbp, 20~30kbp, 30~40kbp, 40~50kbp, 50~60kbp, 60~70kbp, 70~80kbp, 80~90kbp, 90~100kbp, 100~200kbp, 200~300kbp, -------, 4900~5000kbp 로 구분하였다.

○ 두 마커간 거리가 10 kbp 이내인 경우 상동염색체는 0.52로 매우 높게 나타 났으며 10~20kbp, 20~30kbp, 30~40kbp 에서도 0.2 이상으로 매우 유의적으로 높게 나타 났다.

○ 하지만 두 마커간의 거리가 점점 멀어질 수록 r-square 값은 점점 낮아졌으며 200kbp 이사 떨어진 경우 0.1 이하로 낮게 나타 났다. 유의적인 r-square값은 0.1로 설정하였을 경우 본 한우 축군에서 LD의 유의수준 (r^2=0.1)을 근거로 하였을때 평균적으로 마커와 마커간 또는 마커와 형질과 연관된 QTL간의 거리가 200kbp 또는 0.2 cM 이내일 경우 QTL과 근접한 마커와 형질간의 연관성이 탐색되어질 걸로 기대 된다. 하지만 마커간 간격이 200kbp 이상인 경우는 QTL의 탐색율이 떨어지게 될 걸로 기대되며, 이러할 경우 한 마커에 의한 연관 비평형 (LD) 정보 보다는 QTL 주변의 여러 마커들의 LD 정보를 동시에 이용하는 haplotype LD mapping 방법을 수행하는 것이 형질과 관련된 QTL을 탐색하는데 더 유리한 정보를 제공해 줄 것으로 기대 된다. 두 마커간의 거리가 5000 kbp (5cM) 이상일 경우는 상동 염색체에서는 0.025와 성 X 염색체에서는 0.03 값으로 평형을 이루었다.

○ 성 X 염색체에 존재하는 두 마커간의 LD 는 약간의 변이가 있었지만 대체적으로 상동염색체에서 동일한 두 마커간의 거리에 존재하는 LD 값 보다는 비교적 높게 나타났다. 그 이유는 세대마다 상동 염색체보다 성염색체에서는 한 성 (남성)에서 교차가 일어나지 않기 때문이며 따라서 선조때부터 이루어진 연관 불균형이 덜 감소되는 것으로 보인다.

○ 첨부된 그림은 염색체 1번 및 성염색체 X에서 마커간 LD r^2 값을 나타내고 있다

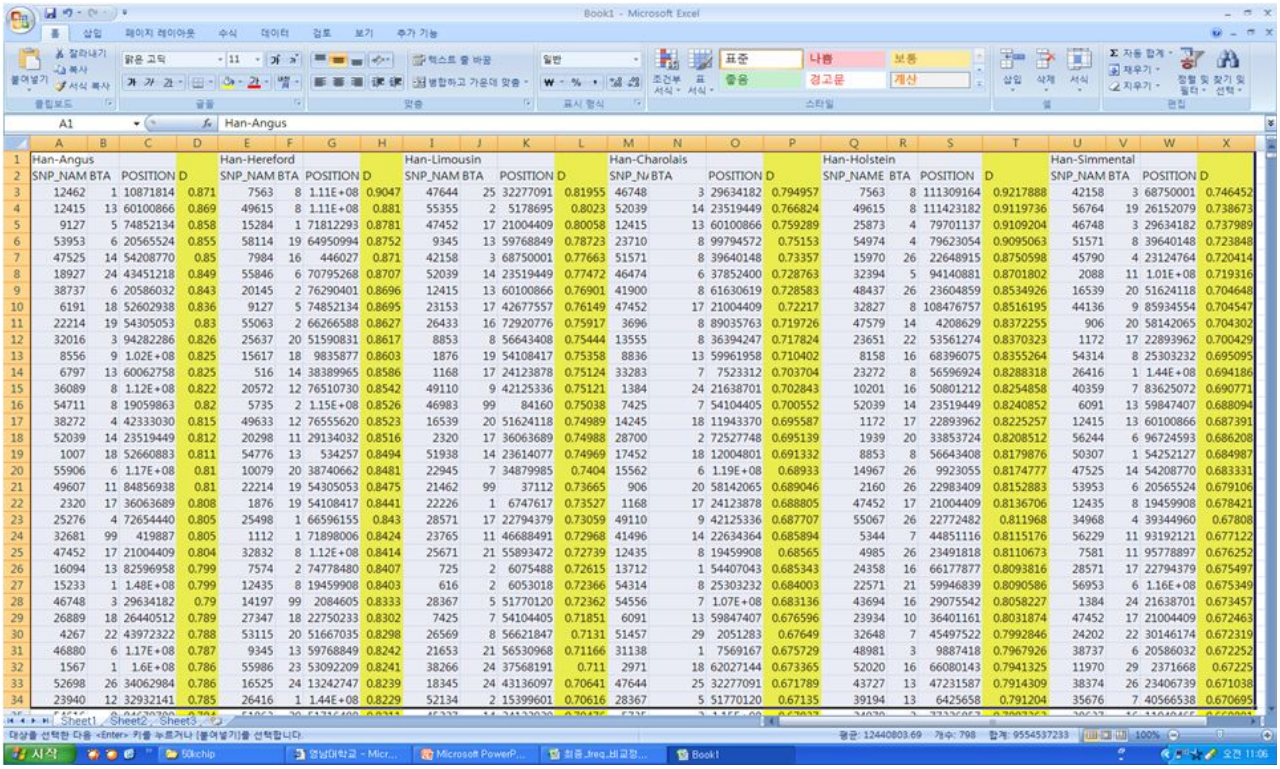


<그림 3-3-2>.

다. 한우와 미국에서 수입되는 수입쇠고기의 주요 품종들간 판별할 수 있는 SNP 대량발굴

○ 한우-앵거스, 한우-헤어포드, 한우-리무진, 한우-샤로레, 한우-시멘탈, 한우-홀스타인 간 대립인자 빈도 차이가 0.5이상 차이나는 SNP를 대량 발굴하였음 (아래 표 참조). 이러한 결과는 향후 한우와 수입육을 판별하는 대량 마커 정보를 제공하여 줌.

<표 3-3-3>



Han-Angus				Han-Hereford				Han-Limousin				Han-Charolais				Han-Holstein				Han-Simmental			
SNP_NAM	BTA	POSITION	D	SNP_NAM	BTA	POSITION	D	SNP_NAM	BTA	POSITION	D	SNP_NA	BTA	POSITION	D	SNP_NAME	BTA	POSITION	D	SNP_NAM	BTA	POSITION	D
12462	1	10871814	0.871	7563	8	1.11E+08	0.9047	47644	25	32277091	0.81955	46748	3	29634182	0.794957	7563	8	111309164	0.9217888	42158	3	68750001	0.746452
12415	13	60100866	0.869	49615	8	1.11E+08	0.881	55355	2	5178695	0.8023	52039	14	23519449	0.766824	49615	8	111423182	0.9119736	56764	19	26152079	0.738673
9127	5	74852134	0.858	15284	1	71812293	0.8781	47452	17	21004409	0.80058	12415	13	60100866	0.759289	25873	4	79701137	0.9109204	46748	3	29634182	0.737989
53953	6	20565524	0.855	58114	19	64950994	0.8752	9345	13	59768849	0.78723	23710	8	99794572	0.75153	54974	4	79623054	0.9095063	51571	8	39640148	0.723848
47525	14	54208770	0.85	7984	16	446027	0.871	42158	3	68750001	0.77663	51571	8	39640148	0.73357	15970	26	22648915	0.8750598	45790	4	23124764	0.720414
18927	24	43451218	0.849	55846	6	70795268	0.8707	52039	14	23519449	0.77472	46474	6	37852400	0.728763	32394	5	94140881	0.8701802	2088	11	1.01E+08	0.719316
38737	6	20586032	0.843	20145	2	76290401	0.8696	12415	13	60100866	0.76901	41900	8	61630619	0.728583	48437	26	23604859	0.8534926	16539	20	51624118	0.704648
6191	18	52602938	0.836	9127	5	74852134	0.8695	23153	17	42677557	0.76149	47452	17	21004409	0.72217	32827	8	108476757	0.8516195	44136	9	85934554	0.704547
22214	19	54305053	0.83	55063	2	66266588	0.8627	26433	16	72920776	0.75917	3696	8	89035763	0.719726	47579	14	4208629	0.8372255	906	20	58142065	0.704302
32016	3	94282286	0.826	25637	20	51590831	0.8617	8853	8	56643408	0.75444	13555	8	36394247	0.717824	23651	22	53561274	0.8370323	1172	17	22893962	0.700429
8556	9	1.02E+08	0.825	15617	18	9835877	0.8603	1876	19	54108417	0.75358	8836	13	59961958	0.710402	8158	16	68396075	0.8355264	54314	8	25303232	0.695095
6797	13	60062758	0.825	516	14	38389965	0.8586	1168	17	24123878	0.75124	33283	7	7523312	0.703704	23272	8	56596924	0.8288318	26416	1	1.44E+08	0.694186
36089	8	1.12E+08	0.822	20572	12	76510730	0.8542	49110	9	42125336	0.75121	1384	24	21638701	0.702843	10201	16	50801212	0.8254858	40359	7	83625072	0.690771
54711	8	19059863	0.82	5735	2	1.15E+08	0.8526	46983	99	84160	0.75038	7425	7	54104405	0.700552	52039	14	23519449	0.8240852	6091	13	59847407	0.688094
38272	4	42333030	0.815	49633	12	76555620	0.8523	16539	20	51624118	0.74989	14245	18	11943370	0.695587	1172	17	22893962	0.8225257	12415	13	60100866	0.687391
52039	14	23519449	0.812	20298	11	29134032	0.8516	2320	17	36063689	0.74988	28700	2	72527748	0.695139	1939	20	33853724	0.8208512	56244	6	96724593	0.686208
1007	18	52660883	0.811	54776	13	534257	0.8494	51938	14	23614077	0.74969	17452	18	12004801	0.691332	8853	8	56643408	0.8179876	50307	1	54252127	0.684987
55906	6	1.17E+08	0.81	10079	20	38740662	0.8481	22945	7	34879985	0.7404	15562	6	1.19E+08	0.68933	14967	26	9923055	0.8174777	47525	14	54208770	0.683331
49607	11	84856938	0.81	22214	19	54305053	0.8475	21462	99	37112	0.73665	906	20	58142065	0.689046	2160	26	22983409	0.8152883	53953	6	20565524	0.679106
2320	17	36063689	0.808	1876	19	54108417	0.8441	22226	1	6747617	0.73527	1168	17	24123878	0.688805	47452	17	21004409	0.8136706	12435	8	19459908	0.678421
25276	4	72654440	0.805	25498	1	66596155	0.843	28571	17	22794379	0.73059	49110	9	42125336	0.687707	55067	26	22772482	0.811968	34968	4	39344960	0.67808
32681	99	419887	0.805	1112	1	71898006	0.8424	23765	11	46688491	0.72968	41496	14	22634364	0.685894	5344	7	44851116	0.8115176	56229	11	93192121	0.677122
47452	17	21004409	0.804	32832	8	1.12E+08	0.8414	25671	21	55893472	0.72739	12435	8	19459908	0.68565	4985	26	23491818	0.8110673	7581	11	95778897	0.676252
16094	13	82596958	0.799	7574	2	74778480	0.8407	725	2	6075488	0.72615	13712	1	54407043	0.685343	24358	16	66177877	0.8093816	28571	17	22794379	0.675497
15233	1	1.48E+08	0.799	12435	8	19459908	0.8403	616	2	6053018	0.72366	54314	8	25303232	0.684003	22571	21	59946839	0.8090586	56953	6	1.16E+08	0.675349
46748	3	29634182	0.79	14197	99	2084605	0.8333	28367	5	51770120	0.72362	54556	7	1.07E+08	0.683136	43694	16	29075542	0.8058227	1384	24	21638701	0.673457
26889	18	26440512	0.789	27347	18	22750233	0.8302	7425	7	54104405	0.71851	6091	13	59847407	0.676596	23934	10	36401161	0.8031874	47452	17	21004409	0.672463
4267	22	43972322	0.788	53115	20	51667035	0.8298	26569	8	56621847	0.7131	51457	29	2051283	0.67649	32648	7	45497522	0.7992846	24202	22	30146174	0.672319
46880	6	1.17E+08	0.787	9345	13	59768849	0.8242	21653	21	56530968	0.71166	31138	1	7569167	0.675729	48981	3	9887418	0.7967926	38737	6	20586032	0.672252
1567	1	1.6E+08	0.786	55986	23	53092209	0.8241	38266	24	37568191	0.711	2971	18	62027144	0.673365	52020	16	66080143	0.7941325	11970	29	2371668	0.67225
52698	26	34062984	0.786	16525	24	13242747	0.8239	18345	24	43136097	0.70641	47644	25	32277091	0.671789	43727	13	47231587	0.7914309	38374	26	23406739	0.671038
23940	12	32932141	0.785	26416	1	1.44E+08	0.8229	52134	2	15399601	0.70616	28367	5	51770120	0.67135	39194	13	6425658	0.791204	35676	7	40566538	0.670695

라. 한우와 다른 소품종들간 유전적 진화과정 분석

○ Illumina 50k chip을 이용하여 한우와 전 세계에 걸쳐 퍼져 있는 50종의 소품종들 간의 유전적 진화를 분석한 결과 한우는 일본 화우와 매우 가까우며 여타 미국의 주요 품종인 앵거스, 헤어포드와 기타 다른 종과는 확연한 유전적 거리가 있음을 보여줌. 따라서 이러한 결과는 한우와 수입육 품종과 분별이 가능한 마커를 발굴하는 근간을 제공하여 주며, 한우와 화우는 동아시아지역의 환경에 적합하게 진화되어 왔음을 보여준 한반도지역에 독특한 유전적 특성이 형성되도록 진화되어 왔으며, 일본화우와도 엄연히 다른 유전적 조성을 가진 것으로 나타남 (2009년 PNAS 학술지에 게재).

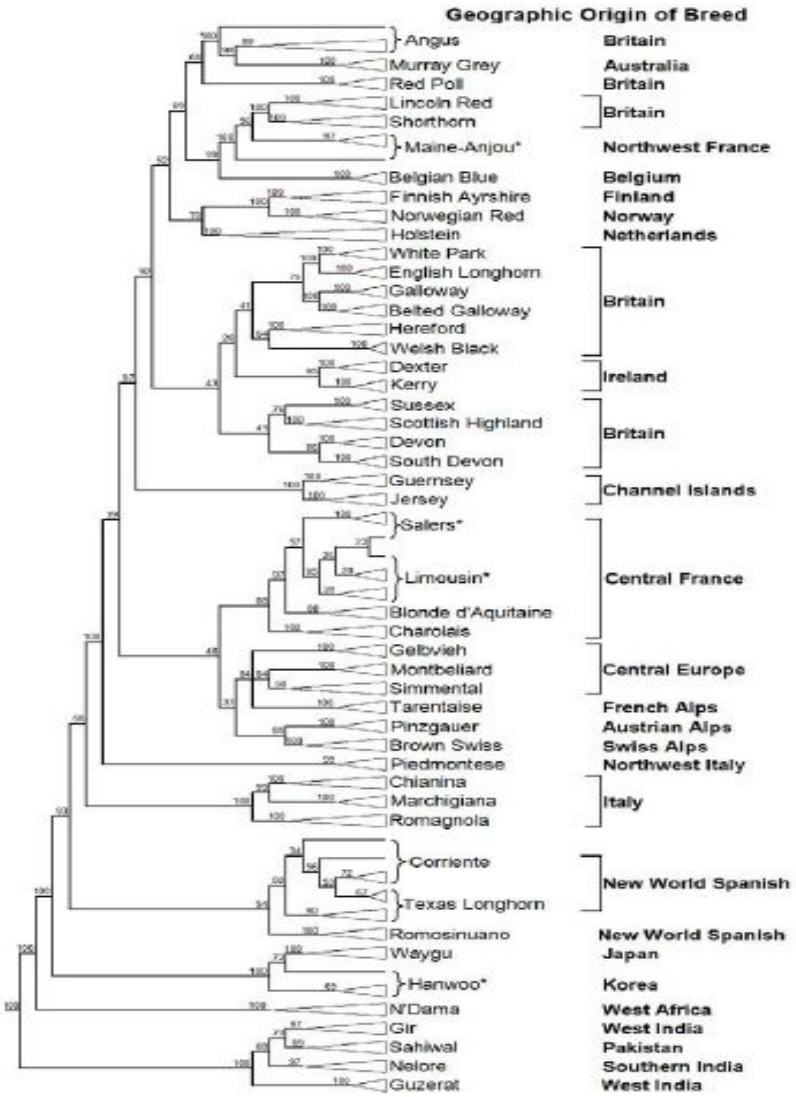


Fig. S1. Most parsimonious cladogram of 48 cattle breeds with heterozygotes coded as polymorphic. Values at nodes are percent bootstrap support from 1,000 pseudo-replicates. Geographic origins were retrieved from the literature (*S12*). *Denotes paraphyletic group.

2. 시험집단에서 대용량 SNP chip을 이용하여 육량육질과 관련된 SNP 대량발굴

가. 육량·육질과 관련된 SNP 발굴

(1) 1차 육량·육질 SNP 발굴

○ 서산 한우개량사업소에서 국가 보증종모우 육종 개량 프로그램에 참여하고 있는 40, 41, 42, 43, 및 45차 후대검정우의 거세우 집단에서 반형매 자손의 수가 6두 이상인 가계를 구성하고 있는 497두 개체들을 선별하였음. 육량·육질 주요 일곱 형질들의 검정차수별 평균, 표준편차(SD) 및 변이계수(CV, %)는 아래와 같음.

<표 3-3-4>

산차	일령	SD	CV	이유체중(kg)	SD	CV	일령	SD	CV	1년체중(kg)	SD	CV	도축일령	SD	CV
39	169.6	20.1	11.9	165.9	29.1	17.6	353.7	20.2	5.7	319.2	30.5	9.6	719.2	17.5	2.4
40	185.7	14.6	7.9	182.4	26.9	14.7	361.6	14.7	4.1	330.6	29.2	8.8	726.5	18.0	2.5
41	163.6	16.5	10.1	159.4	28.4	17.8	341.6	16.5	4.8	306.1	27.7	9.1	704.4	28.7	4.1
42	183.3	17.6	9.6	179.3	31.8	17.8	358.4	17.6	4.9	324.3	36.4	11.2	735.0	15.9	2.2
43	164.2	17.2	10.5	160.5	26.3	16.4	361.2	17.2	4.8	298.7	30.0	10.0	709.4	16.1	2.3
44	184.1	16.7	9.0	168.0	28.1	16.7	345.1	16.7	4.8	304.8	30.4	10.0	719.1	17.9	2.5

산차	도체중(kg)	SD	CV	등지방두께(cm)	SD	CV	배장근단면적(cm^2)	SD	CV	근내지방도	SD	CV	육질등급	SD	CV
39	350.5	32.8	9.4	1.07	0.41	37.9	78.3	7.2	9.2	3.0	1.5	48.7	1.75	0.73	41.6
40	371.0	40.8	11.0	1.07	0.56	52.7	79.1	10.1	12.7	3.4	1.6	47.2	1.62	0.74	45.9
41	350.4	37.3	10.6	1.11	0.60	54.6	74.1	8.9	12.0	2.9	1.6	55.6	1.89	0.75	39.7
42	376.4	35.4	9.4	1.16	0.39	33.6	78.0	8.0	10.3	3.8	1.8	47.6	1.42	0.75	52.7
43	341.7	28.8	8.4	0.95	0.32	33.6	82.1	7.7	9.4	3.0	1.6	51.9	1.80	0.72	39.8
44	376.2	39.3	10.4	1.03	0.34	33.0	83.3	9.0	10.8	4.0	1.8	44.9	1.35	0.71	52.6

○ SNP와 각 형질 간에 연관분석은 최소자승법을 이용하여 세 단계로 실행하였음

(가) 고정효과 및 공변이 효과의 보정

표현형에 영향하는 주요 고정 및 공변이 효과들을 일반 선형모델을 적용하여 표현형을 보정하였는데 해당 고정 및 공변이 효과는 다음과 같음

(이유체중): 종모우, 검정차수, 지역(검정차수), 이유시일령

(1년체중): 검정차수, 지역(검정차수), 12개월일령

(도체중, 등지방두께, 배장근단면적, 근내지방도, 육질등급): 종모우, 검정차수, 도축일령

위 모델을 SAS 9.0을 실시하여 수행하였고 여기서 얻은 잔차, 즉 주요 고정, 공변이 효과를 보정한 표현형 값을 각 SNP에 대하여 연관분석을 실시하였음

(나) SNP와 형질과의 연관분석

- 해당모델은 다중 회귀분석형태로 아래와 같다

$Y = \mu + \beta X + e$, X = 1, 0, -1 for 각 SNP의 AA, AB, BB 유전자형

- β은 해당표현형에 대하여 SNP의 상가적 효과를 나타냄

- 거세우 수가 가장 적은 유전자형에 대하여 개체수가 10 이하이면 해당 SNP를 분석에서 제외하였음. 그 결과, Illumian chip에 내재되 있는 상동염색체에서 5만여개 SNP 중에서 본 QTL 연관분석에 이용된 SNP는 33,568개 였음. 이 중 유의수준이 0.005이하인 SNP들을 선별하였음

(다) 형질과 관련하여 발굴되어진 SNP들에 대하여 최적합 SNP set 선택

- 위에서 발굴되어진 SNP들 중에는 서로 가까이 근접한 거리에 있는 것들이 연관불균형(linkage disequilibrium)을 이루고 있고 선발에 적용시 중복적인 정보를 제공하게 되므로 SNP 선별작업이 필요함. 따라서 stepwise regression 방법을 적용하여 가장 유의수준이 높은 SNP부터 모델에 보정한후 다음으로 유의수준이 높은 SNP를 모델에 보정한 후 적합결여검정(lack-of-fit test)를 0.01 유의수준에서 실시하여 최종 마커세트를 선별하였음.

- 그 결과 형질별로 발굴된 SNP수 (전체표현형분산중 발굴되어진 마커로 설명되어진 분산의 비율,%)는 이유체중 20개 (39%), 12개월체중 20개 (36%), 도체중 19개 (35%), 등지방두께 17개 (32%), 배장근단면적 18개 (34%), 마블링 16개 (34%), 육질등급 18개 (35%)로 총 128개 SNP를 발굴하였음.

- 발굴되어진 SNP에 대하여 형질별로 염색체(CHR), 위치(POS, bp), 효과 측정치(BETA) 및 표준오차(SE) 및 유의수준 ($-\log_{10}P$)은 아래표에 도식되어 있음.

등지방두께	CHR	POS	BETA	SE	-LogP
SNP_No					
1	12	35,903,917	0.568	0.16	4.82
2	29	28,417,196	0.486	0.173	3.46
3	1	80,963,023	0.521	0.156	3.94
4	1	82,490,785	0.188	0.079	2.87
5	20	66,423,918	-0.232	0.078	3.06
6	8	113,626,199	0.312	0.095	2.35
7	25	39,228,497	0.236	0.077	2.59
8	5	110,984,106	0.258	0.079	3.36
9	6	116,228,740	0.396	0.12	2.48
10	14	10,464,996	0.267	0.076	3.46
11	7	45,413,301	0.378	0.115	3.38
12	3	95,181,289	0.37	0.115	2.47
13	10	21,266,128	-0.589	0.146	2.37
14	12	61,065,245	0.27	0.084	2.93
15	7	1,189,303	0.589	0.161	3.77
16	27	32,759,635	-0.27	0.079	3.42
17	3	23,483,332	-0.455	0.161	2.31

<표 3-3-5>

도체중	CHR	POS	BETA	SE	-LogP
SNP_No					
1	14	25,170,557	12.698	3.583	4.73
2	14	36,095,273	4.652	1.815	3.38
3	16	33,037,337	-8.502	1.911	2.57
4	16	62,016,376	8.786	2.21	2.85
5	21	44,201,492	10.556	2.215	3.88
6	5	18,775,860	5.91	2.356	2.86
7	7	60,521,808	-12.992	3.973	3.41
8	23	46,324,820	6.065	1.886	2.37
9	28	40,462,756	-10.318	2.449	3.44
10	6	55,293,700	7.809	2.634	2.39
11	3	72,305,544	-4.563	1.804	2.83
12	16	53,663,332	-10.178	2.838	4.64
13	10	68,586,181	-6.713	2.272	2.73
14	14	51,494,004	-9.924	2.866	3.52
15	10	49,031,849	-9.765	3.582	2.65
16	6	55,506,267	5.524	1.996	2.48
17	7	57,508,231	5.834	2.061	2.31
18	9	66,107,036	-9.868	3.568	2.31
19	15	77,837,175	5.311	1.818	2.44

<표 3-3-6>. 도체중

이유체중	CHR	POS	BETA	SE	-LogP
SNP_No					
1	15	52,710,098	4.856	1.081	4.265
2	4	61,908,479	-5.213	1.211	4.987
3	7	64,536,896	-4.313	1.212	3.448
4	2	40,959,608	3.732	1.055	3.405
5	26	25,269,449	4.334	1.354	3.844
6	19	14,495,715	4.981	1.235	2.724
7	7	57,235,699	-5.914	1.84	3.651
8	7	40,404,421	8.379	2.372	4.268
9	3	28,449,958	-4.883	1.106	3.9
10	21	39,290,111	-4.685	1.258	3.118
11	13	26,287,157	2.724	1.019	2.663
12	9	39,772,316	-3.157	1.152	2.327
13	4	74,616,158	-6.007	1.907	2.818
14	17	56,371,100	-6.477	1.989	2.627
15	29	51,510,473	4.619	1.398	3.148
16	24	37,100,016	-3.023	1.064	2.427
17	6	22,801,626	-3.356	1.198	2.333
18	14	1,490,178	-3.198	1.042	2.55
19	1	49,267,473	7.93	2.347	3.017
20	8	72,585,460	-3.683	1.285	2.366

1년체중	CHR	POS	BETA	SE	-LogP
SNP_No					
1	7	62,525,451	-5.742	1.523	4.80
2	3	26,055,699	-3.727	1.479	2.97
3	6	26,378,568	-3.776	1.547	2.54
4	2	135,226,320	-4.558	1.401	2.38
5	13	37,444,033	6.799	1.889	2.45
6	16	72,920,776	-6.441	2.476	3.03
7	1	117,526,930	-3.652	1.728	2.79
8	4	86,175,679	-3.445	1.431	2.50
9	9	82,938,614	-5.549	1.653	2.41
10	7	59,389,495	-6.198	1.67	2.46
11	3	82,497,034	7.361	2.245	3.22
12	14	21,540,829	7.637	2.485	3.35
13	24	46,989,542	8.464	2.44	3.00
14	27	25,531,998	4.222	1.359	2.64
15	14	42,116,719	-5.31	1.795	2.41
16	8	72,487,663	4.421	1.499	3.01
17	1	4,667,657	-6.944	2.516	2.32
18	26	31,316,453	-7.33	1.692	4.08
19	3	97,362,755	-8.939	2.321	3.43
20	7	94,489,758	-5.078	1.706	2.52

배장근단면적	CHR	POS	BETA	SE	-LogP
SNP_No					
1	18	9,684,917	3.843	0.981	4.17
2	4	46,072,692	1.969	0.548	3.70
3	3	76,469,248	-1.767	0.477	4.49
4	6	55,293,700	2.324	0.635	3.00
5	26	18,231,319	-1.797	0.705	3.20
6	1	49,267,473	3.951	1.02	3.03
7	21	29,363,186	-1.372	0.449	3.07
8	11	100,481,883	-2.367	0.946	3.08
9	6	101,411,125	1.302	0.445	2.65
10	18	52,354,543	-3.096	0.927	2.94
11	12	27,907,563	-0.772	0.464	2.30
12	17	18,044,557	-3.151	0.959	2.41
13	20	57,693,263	-1.591	0.524	3.37
14	9	1,463,198	-2.166	0.777	2.59
15	2	26,529,985	1.692	0.471	2.36
16	8	21,215,935	-1.505	0.522	2.64
17	10	82,876,725	-1.444	0.465	2.56
18	2	31,016,869	1.576	0.46	3.18

마블링	CHR	POS	BETA	SE	-LogP
SNP_No					
1	7	65,652,720	-0.478	0.099	5.19
2	3	44,502,770	0.352	0.091	5.29
3	3	20,000,610	-0.343	0.118	3.99
4	29	31,816,218	0.426	0.125	3.02
5	2	3,903,007	-0.338	0.111	3.74
6	26	12,496,998	0.547	0.108	3.89
7	2	63,739,826	0.318	0.096	3.23
8	16	51,370,098	0.242	0.089	3.37
9	13	23,814,812	0.801	0.19	3.22
10	10	104,193,801	0.335	0.086	4.44
11	26	42,127,980	-0.363	0.123	2.53
12	5	8,543,656	0.439	0.132	2.76
13	18	7,075,230	-0.361	0.094	2.54
14	27	42,606,662	-0.357	0.137	2.36
15	18	55,488,400	-0.307	0.1	3.16
16	3	32,807,638	-0.375	0.117	2.82

<표 3-3-7>. 배장근단면적

육질등급	CHR	POS	BETA	SE	-LogP
SNP_No					
1	7	65,652,720	0.189	0.043	4.45
2	29	31,816,218	-0.167	0.055	4.00
3	3	44,502,770	-0.108	0.04	3.55
4	2	63,739,826	-0.124	0.042	3.03
5	13	10,185,777	0.224	0.05	2.75
6	26	12,496,998	-0.216	0.048	3.78
7	3	123,148,964	-0.16	0.053	2.93
8	3	20,000,610	0.148	0.051	2.77
9	12	73,441,493	-0.126	0.039	3.64
10	23	6,896,529	0.129	0.047	3.02
11	2	3,903,007	0.167	0.049	2.91
12	27	42,606,662	0.144	0.061	2.85
13	10	104,193,801	-0.127	0.038	3.40
14	7	88,679,092	-0.192	0.062	2.56
15	5	8,543,656	-0.172	0.058	2.69
16	3	122,951,391	-0.148	0.045	2.44
17	13	56,803,006	0.184	0.062	2.38
18	20	46,253,140	-0.129	0.04	2.85

○ 최소자승법을 이용한 전장연관분석(Whole-genome association study, WGAS) 뿐만 아니라, 베이지안 방법으로도 각 마커별로 형질과 유의적인 연관성 유무를 조사하였음.

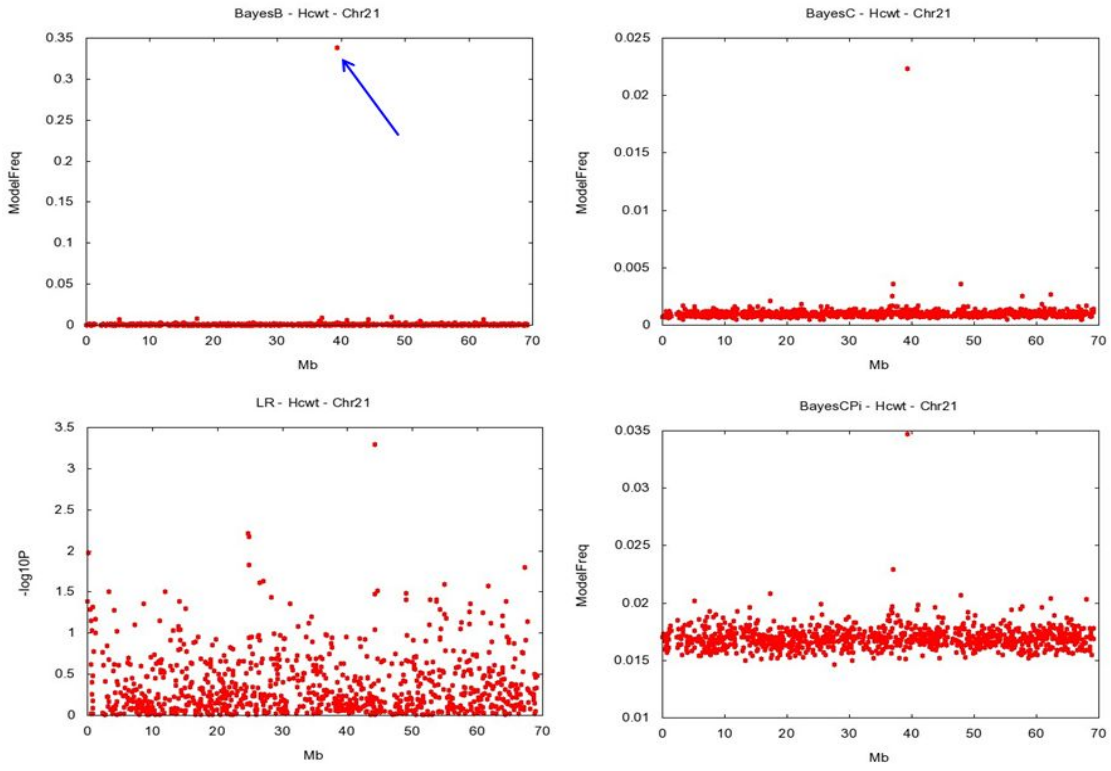
○ Iowa 주립대 web program인 GenSel program을 이용하여 시험축군을 대상으로 Bayes A, B, C, Cpi 방법으로 각 SNP별 model frequency, 마커효과 또는 t-like 값으로 효과가 높은 형질 관련 SNP를 발굴하였음 (Meuwissen 등, 2001 Genetics).

○ 그 결과 형질별로 유의적인 SNP들을 더 발굴하였는데 도체중에서 12개, 배장근단면적에서 14개를 추가적으로 발굴하였고 Bays B방법으로 발굴된 SNP에 대한 정보는 아래표에 설명되어짐

SNP_No	chr	position	Effect	EffectVar	ModelFrec	GeneFreq	GenVar	EffectDelta	SDDelta1	t-like	shrink
1	1	132,110,177	9.39E-01	5.69E+00	0.1226	0.131	2.00E-01	7.66E+00	7.96E+00	0.961	0.888
2	3	24,817,742	-6.55E-01	4.14E+00	0.1123	0.294	1.78E-01	-5.83E+00	6.05E+00	0.964	0.935
3	5	66,075,729	-1.23E+01	8.37E+01	0.8612	0.931	1.93E+01	-1.42E+01	8.05E+00	1.769	0.885
4	6	19,411,668	6.38E-01	4.42E+00	0.1172	0.642	1.87E-01	5.45E+00	5.64E+00	0.965	0.949
5	6	31,915,391	-8.14E-01	5.21E+00	0.1169	0.849	1.70E-01	-6.96E+00	7.24E+00	0.962	0.898
6	6	62,774,663	6.94E-01	4.41E+00	0.1147	0.722	1.93E-01	6.05E+00	6.28E+00	0.963	0.929
7	10	8,208,480	1.24E+00	7.65E+00	0.1981	0.306	6.52E-01	6.26E+00	6.38E+00	0.981	0.94
8	17	61,097,348	6.53E-01	4.38E+00	0.1056	0.293	1.77E-01	6.19E+00	6.43E+00	0.962	0.935
9	21	39,290,111	-2.32E+00	1.44E+01	0.338	0.234	1.92E+00	-6.86E+00	6.71E+00	1.021	0.925
10	25	36,159,444	-1.38E+00	8.46E+00	0.1469	0.927	2.59E-01	-9.40E+00	9.71E+00	0.967	0.839
11	26	33,620,683	2.03E+00	1.31E+01	0.3382	0.482	2.05E+00	6.00E+00	5.85E+00	1.025	0.955
12	29	33,632,380	-3.29E+00	2.17E+01	0.2635	0.949	1.05E+00	-1.25E+01	1.26E+01	0.988	0.83
13	1	108,181,537	-7.11E-01	4.48E+00	0.1094	0.783	1.72E-01	-6.50E+00	6.76E+00	0.962	0.92

SNP_No	chr	position	Effect	EffectVar	ModelFreq	GeneFreq	GenVar	ffectDelta1	SDDelta1	t-like	shrink
1	1	95,518,232	-1.21E-01	2.50E-01	0.0287	0.441	7.16E-03	-4.20E+00	4.61E+00	0.911	0.762
2	3	84,391,517	-7.49E-02	1.60E-01	0.0189	0.384	2.65E-03	-3.96E+00	4.42E+00	0.894	0.726
3	5	66,075,729	-7.57E-01	3.60E+00	0.0636	0.931	7.34E-02	-1.19E+01	1.28E+01	0.933	0.753
4	15	52,710,098	1.48E-01	3.16E-01	0.0331	0.392	1.04E-02	4.47E+00	4.88E+00	0.915	0.761
5	21	39,290,111	-2.02E-01	5.90E-01	0.0362	0.234	1.46E-02	-5.58E+00	6.07E+00	0.92	0.765
6	26	25,269,449	4.38E-02	9.43E-02	0.0107	0.838	5.21E-04	4.10E+00	4.73E+00	0.868	0.586
7	7	64,536,896	-5.02E-02	2.05E-01	0.0125	0.735	9.82E-04	-4.02E+00	4.53E+00	0.887	0.79
8	9	82,321,186	-3.51E-02	6.73E-02	0.0102	0.349	5.58E-04	-3.43E+00	3.96E+00	0.866	0.666
9	11	31,445,193	-3.29E-02	6.18E-02	0.0103	0.46	5.39E-04	-3.20E+00	3.61E+00	0.886	0.691
10	17	16,772,807	-6.87E-02	1.82E-01	0.0137	0.834	1.31E-03	-5.00E+00	5.70E+00	0.877	0.662
11	17	61,097,348	6.72E-02	1.32E-01	0.0162	0.293	1.87E-03	4.15E+00	4.64E+00	0.896	0.661
12	19	14,495,715	5.45E-02	1.17E-01	0.0129	0.236	1.07E-03	4.24E+00	4.85E+00	0.873	0.659
13	6	31,915,391	-4.27E-02	9.20E-02	0.0098	0.849	4.66E-04	-4.36E+00	5.04E+00	0.866	0.565
14	4	27,108,524	2.47E-02	5.34E-02	0.0084	0.473	3.04E-04	2.95E+00	3.38E+00	0.872	0.703

○ 각 형질에 대하여 최소자승법 및 베이지안 방법 결과를 비교하였는데 한 예로 아래표는 도체중 염색체21번 44Mb 위치에 있는 유의적인 SNP를 나타내고 있음.



<그림 3-3-3>

(2) 2차 육량·육질 SNP 발굴 (LDVCM방법)

○ 1차 육량·육질 SNP 발굴시에 사용되어진 시료인 서산 한우개량사업소에서 국가 보증종모우 육종 개량 프로그램에 참여하고 있는 40, 41, 42, 43, 및 45차 후대검정우의 거세우 집단에서 반형매 자손의 수가 6두 이상인 가계를 구성하고 있는 61후보종모우들과 그 자손인 거세우 497두 개체들을 선별하였으며 도체 경락가격에 크게 영향을 미치는 육량·육질 4형질을 선별하여 분석하였음 (표3-3-8)

<표 3-3-8>. 육량·육질 주요 형질들의 기초통계량 (평균, 표준편차, 최소값, 최대값, 변이계수 (CV, %)

Trait	Average	Std. Dev.[a]	Minimum	Maximum	CV[b]
Carcass weight (kg)	356	40	158	481	11.1
Backfat thickness (cm)	10.2	0.5	0.3	60	48.8
Longissimus dorsi muscle area (cm^2)	79.1	9.3	22	109	11.8
Marbling score (1-9)	3.4	1.8	1	9	52.2

○ Illumina사 bovine 54K chip에 있는 SNP중에서 한우집단에 유용한 SNP를 33,568개를 선별하였으며, 각 형질에 대하여 염색체별로 LDVCM 방법을 적용하여 유의적인 QTL(SNP)를 탐색하였는데 다음과 같은 3 단계로 분석을 수행하였음 (Blott 등, 2003, Genetics; Druet and Georges, 2010, Genetics)

(가) 한 coalescence model을 이용하여 후보종모우 염색체와 거세우들에서 염색에 있는 SNP들에 대한 haplotype을 DualPHASE 프로그램을 적용하여 결정한 후, 각 거세우들의 sire-유래와 dam-유래 haplotype을 결정한후 염색체 일정 위치에서 (매 두 SNP의 중간지점) haplotype간 IBD(Identity-by-descent) 확률(Φ_p)을 구함

(나) 유전적 거리(=1-Φ_p)를 이용하여 UPGMA(Unweighted Pair-Group Method by Arithmetic Averages) 방법으로 haplotype들간 유전적 tree를 그림.

(다) 유전전 tree에 근거하여 주요 branch 별로 clustering 한후 각 단계별 clustering 되어있는 haplotype group 효과를 다음과 같은 Animal Model식으로 분석하였음

- $\mathbf{Y} = \mathbf{Xb} + \mathbf{Z_h h} + \mathbf{Z_u u} + \mathbf{e}$,

  Y: 표현형 벡터, **b**: 고정효과 벡터, **h**: Haplotype (QTL) 효과 벡터, **u**: polygenic 효과 벡터

  X: 고정효과와 관련된 설계행렬, $\mathbf{Z_h}$: Haplotype (QTL) 관련 설계행렬, $\mathbf{Z_u}$: QTL 효과를 보정한 표현 형육종가(EPD) 관련 설계행렬, **e**: 잔차벡터.

(라) 고정효과 및 공변이 효과의 보정

표현형에 영향하는 주요 고정 및 공변이 효과들을 일반 선형모델을 적용하여 표현형을 보정하였는데 해당 고정 및 공변이 효과는 다음과 같음.

<표 3-3-9>

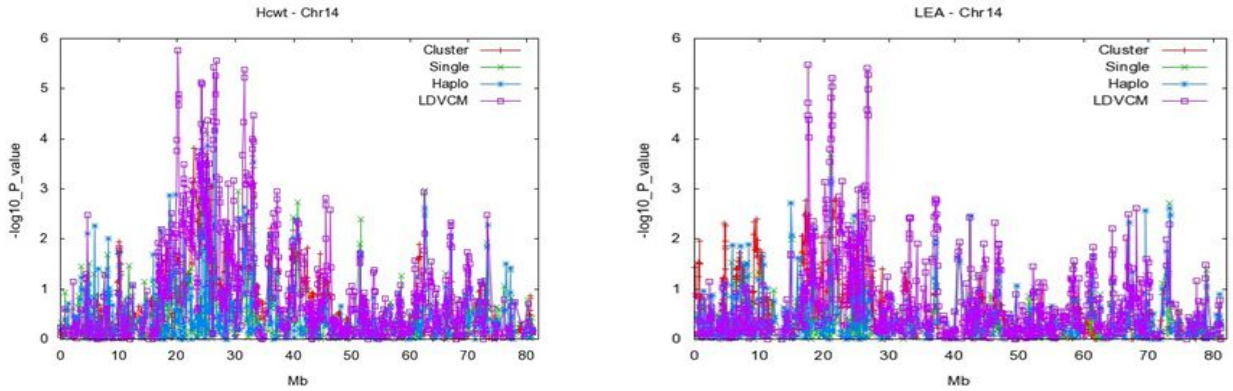
			도체 형질			
형질	요인	수준	도체중	배장근단면적	등지방두께	근내지방도
sire(산차수)	RC	130	O	O	O	O
산차수	FC	8	O	O	O	O
도체연령(월)	FV	1	O	O	O	O

※ FC: fixed cross-classified, FV: covariate, RC: random cross-classified

○ 위 모델을(Full model)을 haplotype 효과를 제거한 모델(Reduced model)과 자료를 분석한후 검정통계량인 likelihood ratio tests(LRT)값을 구하였고 chi-square (자유도 1) 분포를 이용하여 유의수준이 0.001이하인 SNP들을 선별하였음.

$$LRT = -2(LogLikehood_{reduced_model} - LogLikehood_{full_model})$$

○ 분석 결과, 도체중에서 110 SNPs, 배장근단면적에서 123 SNPs, 등지방 두께에서 135개 SNPs, 그리고 근내지방도에서 66개 SNP, 총 육량육질 관련 434 SNP를 발굴하였음. (예: 염색체14번에서 도체중(Hcwt) 및 배장근단면적(LEA) QTL 발굴 위한 LDVCM 분석결과 및 LRT profile 제시)



<그림 3-3-4>

(3) 시험집단에서 최종 육량·육질 SNP 마커 192 SNP set 결정

년차(2009~2010년) 연구에서 수행되어진 전장연관분석(WGA) 결과와 LDVCM 분석결과로 얻어진 육량·육질에 유의적으로 연관되어있는 SNP들 총 192개 마커를 선별하였음.

<표 3-3-10> 아래 참조

실험집단에서 얻어진 유의적인 육량육질 192 SNPs						서산 (N=981, fixed effect)				서산 (N=981, random effect)				상용집단 (N=1090, fixed effect)			
SNP annotation	분석모델	형질	CHR	pos(bp)	MAF	형질	효과값	표준오차	-log10P	형질	효과값	표준오차	-log10P	형질	효과값	표준오차	-log10P
Hapmap48855-BTA-69221	Random	BFT	1	33,799,177	0.37									EMA	1.120	0.407	2.23
Hapmap24136-BTA-124014	Random	BFT	1	55,673,837	0.14	BFT	0.088	0.022	4.33	BFT	0.070	0.020	3.45				
ARS-BFGL-NGS-24966	Fixed	BFT	1	80,963,023	0.10												
ARS-BFGL-NGS-96340	Fixed	BFT	1	82,490,785	0.40												
Hapmap39595-BTA-85742	Random	BFT	2	39,098,749	0.09	BFT	-0.092	0.029	2.87	BFT	-0.080	0.027	2.13				
ARS-BFGL-NGS-24326	Fixed	BFT	3	23,483,332	0.09												
BTB-00143051	Fixed	BFT	3	95,181,289	0.14												
BTA-104512-no-rs	Random	BFT	4	112,700,199	0.20	BFT	-0.053	0.019	2.27	BFT	-0.049	0.021	1.43	MS7	-0.250	0.084	2.53
ARS-BFGL-NGS-8401	Random	BFT	5	76,428,730	0.30									MS7	-0.205	0.073	2.27
BTA-78066-no-rs	Bayes_B	BFT	6	116,228,740	0.14												
BTB-00986847	Random	BFT	7	1,126,787	0.10									CW	-10.211	2.805	3.55
BTB-00987018	Fixed	BFT	7	1,189,303	0.05	BFT	0.105	0.036	2.44	BFT	0.095	0.033	1.65				
BTB-00310752	Fixed	BFT	7	45,413,301	.												
BTB-00431649	Bayes_B	BFT	8	113,626,199	0.26												
ARS-BFGL-NGS-67833	Fixed	BFT	10	21,266,128	0.10												
ARS-BFGL-NGS-71570	Random	BFT	10	41,340,063	.												
Hapmap44798-BTA-104292	Random	BFT	11	74,869,821	0.37	BFT	0.045	0.015	2.45								
Hapmap51188-BTA-21659	Fixed	BFT	12	35,903,917	0.07												
BFGL-NGS-111243	Fixed	BFT	12	61,065,245	0.26												
UA-IFASA-2080	Random	BFT	12	74,684,907	0.16					BFT	0.051	0.022	1.61				
Hapmap50934-BTA-32439	Random	BFT	13	40,149,293	0.35												
BTB-01186797	Random	BFT	13	48,891,690	0.17												
Hapmap25440-BTC-053771	Fixed	BFT	14	10,464,996	0.39					BFT	0.043	0.019	1.33	BFT	0.063	0.021	2.52
BFGL-NGS-112072	Random	BFT	15	31,500,839	.												
BTA-36920-no-rs	Random	BFT	15	42,474,074	0.13												
BTB-00635702	Random	BFT	16	31,495,633	0.34	BFT	0.042	0.016	2.03								
ARS-BFGL-NGS-13513	Random	BFT	16	40,624,954	0.44												
ARS-BFGL-NGS-19797	Random	BFT	19	26,213,497	0.22												
BTB-00772171	Random	BFT	20	10,063,422	0.35												
BTA-18321-no-rs	Fixed	BFT	20	66,423,918	0.43												
ARS-BFGL-BAC-31757	Random	BFT	20	70,705,603	0.18												
Hapmap38611-BTA-57967	Random	BFT	24	36,033,657	0.23												
ARS-BFGL-NGS-24167	Bayes_B	BFT	24	49,979,961	0.17												
ARS-BFGL-NGS-26452	Fixed	BFT	25	39,228,497	0.39												
BTA-100341-no-rs	Random	BFT	26	34,983,053	0.42	BFT	-0.047	0.015	2.61	BFT	-0.034	0.014	1.84				
Hapmap25551-BTA-139364	Random	BFT	27	28,158,398	0.05												
ARS-BFGL-NGS-39970	Fixed	BFT	27	32,759,635	0.35												
BTB-01008169	Random	BFT	29	14,357,597	0.27												
BTA-65196-no-rs	Random	BFT	29	28,186,926	0.47	BFT	-0.044	0.016	2.35								
BTA-111991-no-rs	Fixed	BFT	29	28,417,196	0.04												
ARS-BFGL-NGS-104120	Random	BFT	29	39,150,999	0.25												
ARS-BFGL-BAC-31500	Random	CW	1	79,937,590	0.18												
BFGL-NGS-112910	Random	MS7	24	47,866,817	.												
Hapmap46894-BTA-89312	Fixed	MS7	26	12,496,998	0.28					MS7	-0.295	0.085	2.89				
BTA-61647-no-rs	Fixed	MS7	26	42,127,980	0.14	MS7	-0.275	0.092	2.55	MS7	-0.235	0.084	1.78				
ARS-BFGL-NGS-72819	Fixed	MS7	27	42,606,662	.												
UA-IFASA-8888	Random	MS7	29	31,763,987	0.41												
BTA-65463-no-rs	Fixed	MS7	29	31,816,218	0.09	MS7	0.318	0.101	2.78	EMA	1.363	0.475	1.75	CW	-9.005	3.103	2.42
										MS7	0.267	0.092	1.96				
BTB-01651634	Random	QG	4	49,466,354	0.49												
BFGL-NGS-116673	Fixed	QG	7	88,679,092	0.08	CW	7.285	2.417	2.58	CW	5.499	2.191	1.76				
BTA-66275-no-rs	Random	QG	10	39,819,291	0.46												
BTB-01099836	Random	QG	12	8,917,626	0.18												
UA-IFASA-2256	Random	QG	12	73,401,994	0.44												
BFGL-NGS-112325	Fixed	QG	12	73,441,493	0.44												
ARS-BFGL-NGS-56654	Fixed	QG	13	10,185,777	0.25									MS7	-0.218	0.080	2.20
ARS-BFGL-NGS-14592	Fixed	QG	13	56,803,006	0.11												
ARS-BFGL-NGS-28898	Random	QG	14	19,576,550	0.20												
ARS-BFGL-BAC-33692	Fixed	QG	20	46,253,140	0.32												
ARS-BFGL-NGS-74728	Random	QG	22	8,296,322	0.08												
Hapmap36138-SCAFFOLD96069_11607	Fixed	QG	23	6,896,529	0.22												

ARS-BFGL-NGS-68645	Random	CW	22	58,959,545	0.09													
UA-IFASA-8948	Fixed	CW	23	46,324,820	0.45	CW	3.890	1.455	2.12									
ARS-BFGL-NGS-88403	Bayes_B	CW	25	36,159,444	0.07													
BTB-00939306	Bayes_B	CW	26	33,620,683	0.48													
ARS-BFGL-NGS-102382	Random	CW	27	27,098,146	0.22													
BFGL-NGS-114518	Fixed	CW	28	40,462,756	0.18	CW	-4.928	1.872	2.07									
Hapmap40017-BTA-65421	Bayes_B	CW	29	33,632,380	0.03													
ARS-BFGL-NGS-34353	Random	EMA	1	40,931,076	0.07													
BTB-00021776	Fixed	EMA	1	49,267,473	0.08	EMA	2.114	0.719	2.47	EMA	1.581	0.641	1.71		EMA	-2.121	0.730	2.43
Hapmap42952-BTA-48143	Bayes_B	EMA	1	95,518,232	0.47										BFT	0.062	0.020	2.61
BTA-121216-no-rs	Fixed	EMA	2	26,529,985	0.37													
ARS-BFGL-NGS-80431	Random	EMA	2	72,596,096	0.22	EMA	-1.000	0.367	2.18									
Hapmap27208-BTA-157501	Fixed	EMA	3	76,469,248	0.44	EMA	-0.870	0.326	2.11	EMA	-0.769	0.293	1.38		EMA	1.355	0.398	3.16
BTB-01168059	Bayes_B	EMA	3	84,391,517	0.37													
ARS-BFGL-NGS-11769	Random	EMA	3	92,297,184	0.14													
Hapmap36465-SCAFFOLD163794_561	Random	EMA	3	101,449,660	0.18													
Hapmap49426-BTA-107052	Bayes_B	EMA	4	27,108,524	0.45													
ARS-BFGL-NGS-97941	Bayes_B	EMA	4	45,991,114	0.19													
BTB-01721944	Fixed	EMA	4	46,072,692	.													
ARS-BFGL-NGS-43407	Random	EMA	5	110,911,478	0.45	BFT	0.042	0.016	2.05									
ARS-BFGL-NGS-105242	Random	EMA	6	100,874,084	0.17													
BTB-01096127	Bayes_B	EMA	6	101,411,125	.													
ARS-BFGL-NGS-69648	Random	EMA	6	110,492,191	0.30													
BTB-00302618	Random	EMA	7	28,327,690	0.21													
BTB-00317489	Bayes_B	EMA	7	64,536,896	0.31													
BTB-01269021	Random	EMA	7	75,830,004	0.14													
Hapmap53914-rs29021936	Fixed	EMA	8	21,215,935	0.24													
BTB-01837292	Fixed	EMA	9	1,463,198	0.15													
BTB-00384802	Bayes_B	EMA	9	35,216,259	0.23	EMA	-1.119	0.381	2.47	EMA	-0.942	0.349	1.68					
BTA-84365-no-rs	Bayes_B	EMA	9	82,321,186	0.31													
ARS-BFGL-NGS-66951	Random	EMA	9	101,872,443	0.09													
BTB-00426704	Random	EMA	10	50,112,936	0.09													
ARS-BFGL-NGS-32379	Fixed	EMA	10	82,876,725	0.44													
BTB-01468914	Bayes_B	EMA	11	31,445,193	0.49													
ARS-BFGL-NGS-21607	Bayes_B	EMA	11	100,481,883	0.07										CW	-11.032	3.198	3.24
ARS-BFGL-NGS-22794	Fixed	EMA	12	27,907,563	0.45													
Hapmap24385-BTA-163189	Random	EMA	12	50,289,293	0.22													
ARS-BFGL-NGS-26028	Random	EMA	14	21,080,793	0.34	EMA	-1.231	0.339	3.53									
Hapmap60878-rs29012474	Bayes_B	EMA	15	52,710,098	0.46													
BTB-01082458	Bayes_B	EMA	17	16,772,807	0.16													
ARS-BFGL-NGS-17494	Fixed	EMA	17	18,044,557	0.07													
ARS-BFGL-NGS-14442	Fixed	EMA	18	9,684,917	0.04													
BTA-42606-no-rs	Random	EMA	18	18,746,752	0.22										EMA	1.354	0.467	2.42
UA-IFASA-5783	Bayes_B	EMA	19	14,495,715	0.26													
Hapmap40434-BTA-45533	Random	EMA	19	46,157,261	0.38													
Hapmap53674-rs29025319	Random	EMA	20	8,676,696	0.12	EMA	1.777	0.520	3.19	BFT EMA	-0.064 1.217	0.023 0.469	1.75 2.37					
ARS-BFGL-NGS-38569	Fixed	EMA	20	57,693,263	0.22	EMA	-1.107	0.385	2.39	EMA	-0.867	0.346	1.63					
ARS-BFGL-NGS-55520	Random	EMA	21	29,076,315	0.37													
BTB-01107683	Fixed	EMA	21	29,363,186	0.34													
ARS-BFGL-NGS-23687	Random	EMA	23	8,099,369	0.26	EMA	1.190	0.346	3.22	EMA	1.081	0.321	2.30					
ARS-BFGL-BAC-42839	Random	EMA	24	3,761,377	0.36													
ARS-BFGL-NGS-35298	Random	EMA	24	13,445,705	0.30	EMA	-1.041	0.363	2.37	EMA	-0.702	0.319	1.62					
ARS-BFGL-NGS-106450	Random	EMA	24	22,028,142	0.40													
BTA-100770-no-rs	Random	EMA	24	40,446,177	.													
ARS-BFGL-NGS-16328	Fixed	EMA	26	18,231,319	.													
ARS-BFGL-NGS-38894	Bayes_B	EMA	26	25,269,449	0.13					EMA	-1.386	0.498	1.50					
BTB-00037084	Random	MS7	1	87,457,261	0.31													
BTA-43345-no-rs	Random	MS7	1	99,506,676	0.47													
ARS-BFGL-NGS-100540	Fixed	MS7	2	3,903,007	0.24													
ARS-BFGL-NGS-50482	Fixed	MS7	2	63,739,826	.													
BFGL-NGS-117383	Random	MS7	2	63,905,821	0.25	MS7	-0.226	0.076	2.49						MS7	-0.204	0.079	2.01
ARS-BFGL-NGS-102388	Fixed	MS7	3	20,000,610	0.12	MS7	-0.301	0.091	2.99	MS7	-0.219	0.083	2.19					
INRA-565	Random	MS7	3	23,933,162	0.24	MS7	0.204	0.075	2.19	MS7	0.074	0.058	1.44					
BTA-90312-no-rs	Fixed	MS7	3	32,807,638	.													
BTB-00160676	Bayes_B	MS7	3	122,951,391	0.22													
ARS-BFGL-NGS-41558	Bayes_B	MS7	3	123,148,964	0.11	MS7	0.316	0.097	2.92									
BTB-01420058	Random	MS7	4	30,314,124	0.29													
BTB-01507733	Fixed	MS7	5	8,543,656	.													
Hapmap28023-BTC-060518	Random	MS7	6	88,350,096	.													
ARS-BFGL-NGS-28660	Bayes_B	MS7	7	4,130,299	0.20	MS7	0.246	0.076	2.92	MS7	0.254	0.071	2.11					
BTB-00317097	Fixed	MS7	7	65,652,720	0.29	MS7	-0.235	0.072	2.98	MS7	-0.204	0.066	2.18					
Hapmap38787-BTA-84605	Random	MS7	9	89,179,019	0.50													
ARS-BFGL-NGS-10383	Random	MS7	10	47,283,343	0.23													
ARS-BFGL-NGS-31807	Random	MS7	10	63,139,835	0.28	MS7	0.182	0.071	2.00									
ARS-BFGL-NGS-35190	Bayes_B	MS7	10	104,193,801	0.45										MS7	-0.216	0.070	2.69
ARS-BFGL-NGS-21703	Random	MS7	11	7,628,440	.													
ARS-BFGL-NGS-36344	Random	MS7	11	95,264,159	.													
ARS-BFGL-NGS-80012	Bayes_B	MS7	12	19,931,659	0.13													
BFGL-NGS-116369	Bayes_B	MS7	12	83,382,732	.													
ARS-BFGL-BAC-869	Fixed	MS7	13	23,814,812	0.06	MS7	0.560	0.132	4.64	MS7	0.497	0.124	3.75					
ARS-BFGL-NGS-11198	Random	MS7	13	38,637,266	0.06					MS7	-0.337	0.135	1.78					
ARS-BFGL-NGS-24766	Random	MS7	13	46,302,085	0.25													
ARS-BFGL-NGS-73404	Random	MS7	13	54,520,958	0.09										BFT	-0.132	0.036	3.65
ARS-BFGL-NGS-17362	Random	MS7	15	74,403,614	0.23													
Hapmap26379-BTA-130999	Fixed	MS7	16	51,370,098	0.36	MS7	0.217	0.065	3.07	MS7	0.172	0.059	2.27					
ARS-BFGL-NGS-73708	Fixed	MS7	18	7,075,230	0.38													
Hapmap36420-SCAFFOLD190338_7279	Fixed	MS7	18	55,488,400	0.31										BFT	0.082	0.022	3.63

나. 체형·체측과 관련된 SNP 발굴

○ 앞서 육량·육질관련 SNP를 발굴하는데 사용되었던 서산 한우개량사업소 후대검정우의 거세우 집단에서 (40, 41, 42, 43, 및 45차, 후대검정우 및 거세우 497두) 체형과 체측에 관련된 SNP를 발굴하는 분석을 수행하였음. 주요 10개 형질에 대한 평균치, 표준편차, 최소값, 최대값 및 변이계수에 대한 통계량은 아래 표에 도식되어 있음.

<표 3-3-11>

Trait	Average	Std Dev[a]	Minimum	Maximum	C. V.[b]
Height at wither, cm	134.9	5.3	124	149	3.9
Rump height, cm	136.1	4.8	124	152	3.6
Body length, cm	155.6	8.0	132	178	5.1
Chest depth, cm	74.5	3.9	66	82	5.3
Chest width, cm	49.3	4.5	41	59	9.2
Rump length, cm	50.9	2.5	43	58	4.9
Hip width, cm	46.7	3.4	39	58	7.2
Thurl width,cm	44.5	3.4	37	58	7.6
Pinbone width, cm	25.3	3.1	19	32	12.1
Heart girth, cm	209.3	15.1	181	245	7.2

○ 앞서 육량·육질 SNP 분석에 수행되었던 최소자승법 및 stepwise regression method를 적용하여 0.001유의수준에서 발굴되어진 총 28개 SNP에 대한 정보는 다음표에 설명되어짐.

<표 3-3-12>

Trait/SNP Marker[a]	SNP[b]	BTA	Kbp[c]	MAF[d]	-LogP[e]	Estimate[f]	SE[g]	[h]
Height at withers								14.1
ARS-BFGL-NGS-42310	A/G	1	115,391	0.45	3.56	-0.793	0.327	2.6
BTB-01168059	A/G	3	84,391	0.41	3.203	0.747	0.353	2.1
BTA-67308-no-rs	A/G	3	36,543	0.25	4.053	1.439	0.451	7.0
Hapmap60747-rs29010034	A/C	22	5,778	0.47	3.219	0.742	0.328	2.4

Rump height								**11.8**
ARS-BFGL-NGS-42310	A/G	1	115,391	0.45	3.505	-0.604	0.322	1.6
Hapmap32159-BTA-46703	A/G	2	21,781	0.26	3.235	-1.106	0.444	4.8
BTA-111934-no-rs	C/T	9	55,075	0.29	3.043	1.154	0.337	5.4
Body length								**5.4**
BTB-01199261	A/T	15	18,323	0.38	3.358	1.677	0.455	5.4
Chest depth								**28.5**
ARS-BFGL-NGS-247	C/T	10	69,088	0.33	3.841	0.773	0.222	7.3
ARS-BFGL-NGS-35622	A/G	17	19,356	0.35	3.03	0.833	0.225	8.1
ARS-BFGL-NGS-3267	A/G	29	35,609	0.26	5.08	-1.148	0.28	13.1
Chest width								**34.8**
Hapmap47405-BTA-76965	C/T	6	84,782	0.26	4.039	0.717	0.321	3.1
BTB-00397464	A/G	9	63,436	0.30	4.477	1.619	0.324	15.3
ARS-BFGL-NGS-31785	A/G	15	40,744	0.42	3.63	-1.078	0.239	8.7
Hapmap57957-rs29017349	C/T	26	26,556	0.43	4.021	-1.015	0.228	7.7
Rump length								**10.8**
BTB-00490466	C/T	12	47,793	0.26	3.295	0.466	0.24	2.2
ARS-BFGL-NGS-17832	A/G	24	53,932	0.35	3.328	0.962	0.245	8.7
Hip width								**17.6**
BTB-00142063	G/T	3	97,816	0.28	3.331	-0.472	0.205	2.6
BTB-01493256	C/T	8	36,570	0.33	3.895	-0.549	0.193	3.8
ARS-BFGL-NGS-2106	C/T	19	4,625	0.34	3.331	-0.501	0.198	3.0
ARS-BFGL-NGS-23777	A/G	21	57,133	0.29	3.623	0.608	0.202	4.5
ARS-BFGL-NGS-89746	C/T	29	50,698	0.43	3.184	0.511	0.169	3.7
Thrul width								**15.0**
BTB-00048035	A/C	1	108,181	0.27	3.564	-0.988	0.348	6.3
ARS-BFGL-BAC-27287	A/G	2	127,263	0.48	3.177	0.656	0.243	3.7
BTB-02092741	C/T	6	114,021	0.47	3.428	-0.86	0.267	5.0
Pinbone width								**3.0**
ARS-BFGL-NGS-106237	C/T	2	80,059	0.48	3.004	-0.373	0.148	3.0
Heart girth								**11.1**
BTA-29450-no-rs	C/T	8	20,504	0.33	3.704	1.666	0.662	3.7

ARS-BFGL-NGS-82347	A/G	23	50,413	0.46	3.27	-2.314	0.594	7.4

[a,c]SNP marker annotations and their positions were based on the bovine reference genome (btau4.0).
[b]Nucleotides of substitution.; [d]Minor allele frequency.
[e]Negative logarithm of the comparison-wise P-value of the test statistic against the null hypothesis of no SNP effect at the SNP position.
[f]Estimate is for allele substitution effect replacing the latter with the former allele (nucleotide) in the SNP column.
[g]Standard error.
[h]Proportion of phenotypic variance explained by the SNP. The values on the rows of trait are the sum of the $\%\sigma^2_p$ values of all SNPs.

다. 초산일령과 관련된 SNP 발굴

○ 한우 암소에 대한 육량육질 SNP마커 효과 검정을 위하여 한 한우농장(죽암영농(주))에서 사육하고 있는 약 760여두 암소들 중에서 2산차 미만의 암소 96두를 선별하여 Illumina 50k SNP chip으로 유전자형 분석을 수행하였음

○ 이들 시료에 대하여 초산일령(생년월일에서 초산의 차이일)에 대하여 전장연관분석을 수행하였음.

- 초산일령기초통계량: 평균(736일), 표준편차(67.4일), 최소값(607일), 최대값(898일)
- 연관분석모델은 다음 단순 회귀분석형태로 아래와 같다.

  $Y = \mu + \beta X + e$, X = 1, 0, -1 for 각 SNP의 AA, AB, BB 유전자형
- β은 해당표현형에 대하여 SNP의 상가적 효과를 나타냄.
- 암소 수가 가장 적은 유전자형에 대하여 개체수가 10 이하이면 해당 SNP를 분석에서 제외하였으며, minor allele 빈도가 0.05이하, genotyping call rate가 90% 미만인 SNP는 연관분석에서 제외되었음. 그 결과, Illumian chip에 내재되 있는 상동염색체에서 5만여개 SNP 중에서 본 QTL 연관분석에 이용된 SNP는 38,483개 였음.

○ 전장연관분석결과 0.001($-\log_{10}P=3$)유의수준에서 총 42개 초산일령 SNP들이 발굴되었음. 이러한 결과는 향우 번식형질의 유전적(유전체,분자마커선발) 개량에 근간 정보를 제공할 것임.

<표 3-3-13>

2	초산일령관련SNPs	BTA	pos(bp)	Additive	Stderr	(-)log10p	MAF
3	BTA-110801-no-rs	1	16,094,228	47.2	12.9	3.41	0.24
4	BTA-39399-no-rs	1	19,641,727	-73.0	17.5	4.21	0.08
5	ARS-BFGL-NGS-97225	1	22,985,729	-34.4	10.0	3.08	0.47
6	BTA-30375-no-rs	2	29,240,531	47.0	13.1	3.30	0.22
7	BTB-01145846	2	56,895,186	68.2	16.2	4.27	0.09
8	ARS-BFGL-NGS-94819	3	9,722,400	-53.9	14.4	3.53	0.14
9	Hapmap51082-BTA-89468	3	72,122,900	32.1	9.5	3.03	0.44
10	ARS-BFGL-NGS-20299	3	88,033,447	66.2	19.0	3.14	0.07
11	BTA-69413-no-rs	3	108,401,517	-31.2	8.9	3.19	0.43
12	Hapmap44709-BTA-70915	4	15,575,489	63.8	17.2	3.49	0.08
13	ARS-BFGL-NGS-73435	4	28,572,239	-70.0	20.5	3.06	0.06
14	BTA-89424-no-rs	5	16,666,769	-31.6	8.9	3.26	0.42
15	BTB-00322386	7	81,863,002	35.5	10.1	3.19	0.33
16	ARS-BFGL-NGS-117570	8	97,288,061	35.3	10.1	3.18	0.50
17	BTB-01348232	9	22,755,204	46.1	13.6	3.03	0.18
18	BTB-00391944	9	49,805,232	-50.1	14.2	3.23	0.15
19	ARS-BFGL-NGS-14862	9	58,044,059	50.1	14.6	3.08	0.14
20	BTA-83844-no-rs	9	60,054,010	60.2	15.8	3.63	0.11
21	Hapmap43370-BTA-84209	9	73,749,461	-36.1	9.4	3.70	0.36
22	Hapmap49341-BTA-84329	9	77,442,550	60.4	13.6	4.66	0.15
23	BTB-02043786	9	88,342,363	-42.8	9.0	5.22	0.49
24	ARS-BFGL-NGS-26902	10	47,806,511	-59.7	16.2	3.44	0.10
25	BTB-00492056	12	47,203,365	36.7	9.5	3.72	0.38
26	BTB-01124458	13	6,683,656	33.5	9.3	3.34	0.39
27	Hapmap58303-ss46526468	19	37,552,530	-34.9	9.9	3.22	0.33
28	ARS-BFGL-NGS-1872	19	52,712,797	49.6	12.9	3.69	0.26
29	ARS-BFGL-NGS-29115	19	52,740,740	-54.8	12.7	4.42	0.27
30	Hapmap42236-BTA-50618	20	42,195,463	59.4	17.1	3.16	0.09
31	Hapmap38474-BTA-122598	22	33,983,201	-34.4	10.1	3.06	0.39
32	ARS-BFGL-NGS-119430	22	60,029,005	51.9	13.2	3.83	0.19
33	ARS-BFGL-NGS-118763	23	14,170,863	-43.9	12.9	3.03	0.28
34	ARS-BFGL-NGS-76846	23	16,021,555	48.5	13.2	3.45	0.24
35	ARS-BFGL-NGS-31694	23	40,901,750	52.5	13.0	3.98	0.18
36	ARS-BFGL-NGS-14917	24	2,752,863	46.4	13.5	3.08	0.18
37	ARS-BFGL-NGS-36624	25	41,497,446	-46.6	13.6	3.06	0.20
38	BTA-100861-no-rs	26	40,648,090	-41.0	9.6	4.39	0.38
39	ARS-BFGL-NGS-113256	28	26,404,210	58.6	15.3	3.66	0.11
40	Hapmap53898-rs29026969	29	630,087	36.7	10.0	3.43	0.35
41	UA-IFASA-9371	29	12,185,306	-48.3	14.2	3.05	0.15
42	Hapmap54951-rs29010185	29	14,788,465	-45.5	12.3	3.47	0.26
43	ARS-BFGL-NGS-36962	29	26,116,729	49.2	13.1	3.54	0.26
44	ARS-BFGL-NGS-110853	29	36,188,416	-54.9	15.7	3.16	0.11

3. 상용집단에서 육량육질과 관련된 SNP 검정 및 최종 육량육질 SNP 마커 발굴

가. 발굴된 육량육질 192개 SNP를 한우보증종모우 집단에서 검증

○ 서산 한우개량사업소에서 국가 보증종모우 육종 개량 프로그램에 참여하고 있는 40~47차의 149두의 후보종모우들과 981두 거세우들을 이용하였으며 주요 육량·육질 형질들의 검정차수별 평균, 표준편차(SD) 및 변이계수(CV, %)는 아래와 같음.

<표 3-3-14>. 도체중(CW), 배장근단면적(EMA), 등지방두께(BFT), 근내지방도(MS) 기초 통계량

trt_name	n	mean	sd	CV	최대값	Q3	Q2	Q1	최소값
CW	981	360.24	38.08	10.57	482	384	359	336	158
EMA	981	80.61	8.91	11.05	112	86	81	74	22
BFT	981	0.98	0.42	43.22	6	1.2	0.9	0.7	0.3
MS	981	3.34	1.65	49.50	9	4	3	2	1

<표 3-3-15>. 검정차수별 도체일령, 도체중(CW), 배장근단면적(EMA), 등지방두께(BFT), 근내지방도(MS) 기초 통계량

산차	n	일령_mean	sd	CV	CW_mean	sd	CV	EMA_mean	sd	CV	BFT_mean	sd	CV	MS_mean	sd	CV
40	102	724.51	18.82	2.60	371.00	39.07	10.53	77.83	10.23	13.14	1.08	0.56	51.50	3.37	1.48	43.94
41	99	705.13	34.40	4.88	350.38	36.37	10.38	74.56	9.35	12.54	1.08	0.65	60.67	2.96	1.68	56.69
42	180	732.64	16.13	2.20	377.98	36.69	9.71	78.28	8.05	10.28	1.17	0.40	34.13	3.87	1.81	46.91
43	178	710.04	15.34	2.16	342.96	29.94	8.73	81.98	8.03	9.80	0.96	0.35	36.19	3.06	1.59	51.98
44	58	720.93	16.89	2.34	383.45	41.47	10.81	84.83	9.23	10.88	1.06	0.33	31.16	3.83	1.74	45.42
45	109	709.86	16.12	2.27	346.72	30.45	8.78	80.64	8.28	10.27	0.86	0.32	36.92	3.24	1.75	54.12
46	127	715.40	13.70	1.92	357.40	36.77	10.29	84.43	7.69	9.11	0.76	0.24	32.10	3.32	1.56	46.88
47	128	714.70	14.37	2.01	362.17	38.22	10.55	83.16	7.17	8.62	0.86	0.28	32.04	3.13	1.36	43.40

○ SNP를 고정효과(Fixed effect)로 간주하여 최소자승법을 이용하여 두 단계로 분석하였음.

(1) 고정효과 및 공변이 효과의 보정

표현형에 영향하는 주요 고정 및 공변이 효과들을 일반 선형모델을 적용하여 표현형을 보정하였는데 해당 고정 및 공변이 효과는 다음과 같음.

<표 3-3-16>

			도체 형질			
형질	요인	수준	CW	EMA	BFT	MS
산차수	FC	8	O	O	O	O
Sire(산차수)	RC	30	O	O	O	O
도체연령(월)	FV	1	O	O	O	O

※ FC: fixed cross-classified, FV: covariate, RC: random cross-classified
CW:도체중 EMA: 배장근단면적, BFT: 등지방 두께, MS 근내지방도

○ 위 모델을 SAS 9.0을 실시하여 수행하였고 여기서 얻은 잔차를 표현형으로 간주하여 각 SNP에 대하여 연관분석을 실시하였음.

(2) SNP와 형질과의 연관분석

- 해당모델은 단순 회귀분석모델로 아래와 같다

  $Y = \mu + \beta X + e$, X = 1, 0, -1 for 각 SNP의 AA, AB, BB 유전자형

- β은 해당표현형에 대하여 SNP의 상가적 효과를 나타냄

- 위 모델과 SNP효과를 제거한 모델간의 적합결여검정(LOF)를 실시하여 유의수준이 0.01이하인 SNP들을 선별하였는데 그 결과 시험집단에서 유의적인 육량육질 192개 SNP중에서 40개 SNP들이 유의적인 효과를 나타냈음 (등지방두께(BFT):9, 도체중(CW):9, 등심단면적(EMA):11, 근내지방도(MS7):11) (표3-3-9)

○ SNP를 임의효과(Random effect)로 간주하여 ASREML(v2.0)을 구동하여 분석

- 고정효과분석에서 얻어진 잔차를 표현형으로 간주하여 각 SNP를 임의효과로 간주하여 분석함

- 해당모델은 $\mathbf{Y = Xb + Z_q q + Z_u u + e}$,

  Y: 표현형 벡터, **b**: 고정효과 벡터, **q**: SNP 효과 벡터, **u**: polygenic 효과 벡터

  X: 고정효과와 관련된 설계행렬, $\mathbf{Z_q}$: SNP 효과관련 설계행렬, $\mathbf{Z_u}$: SNP 효과를 보정한 표현형 육종가(EPD) 관련 설계행렬, **e**: 잔차벡터.

- 위 모델과 SNP효과를 제거한 모델간의 검정통계량값을 (*LRT*) 적용하여 유의수준이 0.05이하인 SNP들을 선별하였는데 그 결과 시험집단에서 유의적인 육량육질 192개 SNP중에서 37개 SNP들이 유의적인 효과를 나타냈음 (등지방두께(BFT):8, 도체중(CW):6, 등심단면적(EMA):13, 근내지방도(MS7):10).

<표 3-3-17>. 서산과 상용집단에서 발굴되어진 육량육질 SNP 효과의 크기(표현형분산 대비 유전분산 비율)

서산(981두)	CW	BFT	EMA	MS7
표현형분산	984.1	0.117	51.73	1.93
SNP분산				
Fixed	102.3	0.010	5.07	0.22
Random	63.0	0.007	5.22	0.16
$\%\sigma^2_{SNP}/\sigma^2_p$ (%)				
Fixed	10.4	8.3	9.8	11.3
Random	6.4	5.8	10.1	8.4
h^2	0.11	0.33	0.62	0.48
$\%\sigma^2_{SNP}/h^2$ (%)				
Fixed	0.95	0.25	0.16	0.24
Random	0.58	0.18	0.16	0.17

상용집단(1,090두)	CW	BFT	EMA	MS9
표현형분산	1655.0	0.238	86.17	2.65
SNP분산				
Fixed	46.9	0.014	3.45	0.12
$\%\sigma^2_{SNP}/\sigma^2_p$ (%)				
Fixed	2.8	5.7	4.0	4.5
h^2	0.11	0.33	0.62	0.48
$\%\sigma^2_{SNP}/h^2$ (%)				
Fixed	0.26	0.17	0.06	0.09

○ 고정효과모델과 임의효과모델 결과 비교 분석

- 서산 거세우 981두에 대하여 형질과 192개 육량육질 SNP간 연관분석결과, 고정 및 임의효과 모델에서 각각 40개, 37개 SNP들이 검증되었음. 이중 26개 SNP들은 두 모델에서 중첩되게 유의적으로 발굴되어 (BFT:5개, CW:6개, EMA:7개, MS:8개), SNP 효과의 신뢰도를 높여줌.
- 일반적으로 SNP를 고정효과 간주하였을 때 임의효과보다 측정치값이 더 크게 나타남을 알 수가 있으며, 따라서 발굴되어진 마커수도 고정효과 모델에서 더 많았는데 (40>37), 이러한 결과는 고정효과모델에서는 마커의 효과값이 상향으로 편중된 (upward biased) 경향을 보임. 반면 임의효과에서는 이러한 편향된 측정치를 보정하기 때문에 측정값이 상향되는 것을 억제하고 고정효과모델보다 측정값이 작게 나타남.
- 이와같은 결과로 검증된 26개 SNP 마커들은 향후 24개월령(조기비육용도) 육량·육질 조기선발용 마커로 사용할 수 있음.
- 하지만 발굴되어진 마커수와 마커의 크기는 매우 제한되어 있음 (표 5). 전체 표현형분산에 대하여 해당 마커로 설명되는 분산의 비율은 고정(임의)효과모델에서는 도체중, 등지방두께, 배장근단면적, 근내지방도에 대하여 각각 10.4(6.4), 8.3(5.8), 9.8(10.1) 및 11.3(8.4)%로 10% 내외로 나타났으며, 전체유전분산중에서 해당 마커로 설명되는 분산의 비율도 각 형질별로 95(58), 25(18), 16(16) 및 24(17)%로 나타나 도체중을 제외하고는 25%이내인 수준임.
- 따라서 마커도움선발의 정확도와 기여도를 높이기 위해서는 차년도에 추가적으로 더 많은

시료를 가지고 형질을 측정하여 부가적인 육량·육질 마커를 발굴할 계획임.

나. 발굴된 육량육질 192개 SNP를 상용집단에서 검증

○ 분석대상의 상용집단 거세우 1,090두에 대한 집단별 개체 두수는 아래와 같음.

<표 3-3-18>

집단	충북 농협	정읍	종개협_경기	종개협_전북	한능11회	한능12회	한능13회	합계
개체수	536	80	56	9	45	168	196	1090

<표 3-3-19>. 상용집단에서 도체중(CW), 배장근단면적(EMA), 등지방두께(BFT), 근내지방도(MS) 기초 통계량

trt_name	n	mean	sd	CV	최대값	Q3	Q2	Q1	최소값
cw	1090	422.34	42.93	10.17	587	450	421	392	287
EMA	1090	89.33	10.14	11.35	124	96	88	83	53
BFT	1090	1.31	0.50	38.46	3.9	1.6	1.2	1	0.3
MS	1090	5.20	2.29	43.93	9	7	5	3	1

<표 3-3-20>. 집단별 도체일령, 도체중(CW), 배장근단면적(EMA), 등지방두께(BFT), 근내지방도(MS) 기초 통계량

집단	n	일령_mean	sd	CV	CW_mean	sd	CV	EMA_mean	sd	CV	BFT_mean	sd	CV	MS_mean	sd	CV
농협축산	536	938.34	78.88	8.41	412.26	41.08	9.96	85.84	9.05	10.55	1.29	0.50	38.39	3.73	1.65	44.26
정읍	80	912.59	46.18	5.06	424.71	44.01	10.36	91.69	10.65	11.61	1.50	0.59	39.44	6.85	1.77	25.88
종개협_경기	56	909.16	45.98	5.06	432.02	33.90	7.85	99.71	8.95	8.97	1.17	0.31	26.88	7.63	1.54	20.25
종개협_전북	9	829.11	240.10	28.96	444.33	31.83	7.16	94.44	7.81	8.27	1.43	0.71	49.82	7.89	0.93	11.76
한능11회	45	892.91	16.30	1.83	425.98	39.43	9.26	94.40	10.02	10.62	1.20	0.45	37.69	8.04	0.93	11.54
한능12회	168	932.35	16.29	1.75	441.86	42.91	9.71	93.77	10.21	10.88	1.38	0.54	39.28	7.04	1.60	22.75
한능13회	196	923.55	14.95	1.62	427.59	43.55	10.19	89.76	8.71	9.70	1.28	0.47	36.95	5.51	1.83	33.29

○ SNP를 고정효과로 간주하여 앞서 서산집단에서처럼 최소자승법을 이용하여 두 단계로 분석하였음

(1) 고정효과 및 공변이 효과의 보정

<표 3-3-21>

			통계적 모형			
형질	요인	수준	CW	EMA	BFT	MS
생시년·계절	FC	17	O			O
집단	FC	7	O	O		O
도체연령(월)	FV	1		O	O	

※ FC: fixed cross-classified, FV: covariate, RC: random cross-classified
CW:도체중 EMA: 배장근단면적, BFT: 등지방 두께, MS 근내지방도

○ 위 모델식에서 종모우 효과를 보정하지 않았는데 일부 집단에서는(농협축산) 혈통정보를 가지고 있지 않기 때문임. 따라서 위와 같이 설정된 모델을 SAS 9.0를 구동하여 분석하였고 여기서 얻어진 잔차를 표현형으로 간주하여 각 SNP에 대하여 연관분석을 실시하였음.

(2) SNP와 형질과의 연관분석

- 해당모델은 서산집단에 적용한 모델식을 적용하였으며 유의수준이 0.01이하인 SNP들을 선별하였음. - 분석결과 육량·육질 주요 4가지 형질에 대해 총 21개 SNP가 발굴되었음.

<표 3-3-22>. 상용집단에서 발굴된 도체중(CW), 등지방두께(BFT), 배장근단면적(EMA), 근내지방도(MS7) SNPs,

trt_name	chrom	mk_name	pos(bp)	beta_0	beta_0_sd	beta_1	beta_1_sd	f	logp	aa_cnt	ab_cnt	bb_cnt	all_cnt
CW	7	BTB-00986847	1,126,787	-8.18	2.55	-10.21	2.81	13.27	3.55	16	189	883	1088
CW	11	ARS-BFGL-NGS-21607	100,481,883	9.24	2.95	-11.03	3.20	11.91	3.24	919	165	6	1090
CW	14	BTB-01280026	25,170,557	10.05	2.76	12.42	3.06	16.48	4.28	3	202	885	1090
CW	29	BTA-65463-no-rs	31,816,218	-7.44	2.85	-9.01	3.10	8.43	2.42	8	171	910	1089
BFT	1	Hapmap42952-BTA-48143	95,518,232	0.00	0.02	0.06	0.02	9.22	2.61	237	504	349	1090
BFT	6	BTB-01312166	65,708,017	0.12	0.05	-0.14	0.05	6.71	2.01	1001	87	1	1089
BFT	10	BTA-100668-no-rs	68,586,181	0.04	0.02	0.08	0.03	10.03	2.80	46	393	651	1090
BFT	13	ARS-BFGL-NGS-73404	54,520,958	0.10	0.03	-0.13	0.04	13.70	3.65	889	193	8	1090
BFT	14	Hapmap25440-BTC-053771	10,464,996	0.01	0.02	0.06	0.02	8.81	2.52	169	519	398	1086
BFT	18	Hapmap36420-SCAFFOLD190338_7279	55,488,400	-0.04	0.02	0.08	0.02	13.62	3.63	531	453	106	1090
EMA	1	Hapmap48855-BTA-69221	33,799,177	-0.26	0.30	1.12	0.41	7.60	2.23	420	509	160	1089
EMA	1	BTB-00021776	49,267,473	-1.73	0.66	-2.12	0.73	8.45	2.43	2	187	894	1083
EMA	3	Hapmap27208-BTA-157501	76,469,248	0.11	0.28	1.36	0.40	11.59	3.16	228	545	317	1090
EMA	14	BTB-01280026	25,170,557	1.61	0.63	1.99	0.70	8.03	2.33	3	202	885	1090
EMA	18	BTA-42606-no-rs	18,746,752	-0.77	0.38	1.35	0.47	8.41	2.42	675	352	62	1089
MS7	2	BFGL-NGS-117383	63,905,821	-0.10	0.06	-0.20	0.08	6.68	2.01	76	425	589	1090
MS7	4	BTA-104512-no-rs	112,700,199	0.14	0.07	-0.25	0.08	8.88	2.53	681	355	54	1090
MS7	5	ARS-BFGL-NGS-8401	76,428,730	0.07	0.06	-0.21	0.07	7.80	2.27	498	472	120	1090
MS7	10	BTA-68192-no-rs	49,031,849	0.27	0.10	-0.35	0.11	9.62	2.70	854	226	10	1090
MS7	10	ARS-BFGL-NGS-35190	104,193,801	-0.03	0.05	-0.22	0.07	9.54	2.69	206	532	351	1089
MS7	13	ARS-BFGL-NGS-56654	10,185,777	-0.10	0.06	-0.22	0.08	7.48	2.20	71	431	588	1090

○ 서산집단에서 발굴되어진 SNP들과 비교해 보면 서산에서 유의적인 SNP들과 일치되는 SNP는 매우 제한적임. (예: 14번 염색체 10Mb에 BFT SNP, 1번 염색체 49Mb EMA SNP, 3번 염색체 76Mb EMA SNP, 2번 염색체 63 Mb MS7 SNP). 또한 어떤 SNP들은 측정되어진 효과가 서산집단과 다른 방향의 값을 나타내었음 (repulsion phase).

○ 이와 같이 어떤 SNP의 경우 SNP 효과가 서산집단과 상이한 결과를 보여주었는데 그 이유는 두 집단간에 환경조건이 다르기 때문임. 즉 서산집단에서는 24개월령에 출하하여 도체형질을 측정한 반면에 일반 상용집단은 고급육의 출현율을 높이기 위하여(예: >1등급이상) 고에너지 사료를 급여하는 장기 (30개월령 이상) 비육을 수행하기 때문임.

○ 따라서 상당수의 거세우들에게 비육후기에 고에너지사료를 급여시 육질이 많이 향상되는데, 이와같은 결과는 24개월령 도체에서 유의적인 효과를 가지는 SNP 마커들이 비육후기의 지방축적 유도 사양으로 인하여 마커효과가 상쇄되는 사실을 지적하고 있음.

○ 형질별로 발굴된 SNP수는 도체중 4개, 등지방두께 6개, 배장근단면적 5개, 및 근내지방도 6개로 나타났으며, SNP를 고정효과로 보정하였을 때 전체 표현형분산에 대하여 해당 마커로 설명되는 표현형 분산의 비율은 각 형질에 대하여 각각 2.8, 5.7, 4.0 및 4.5%로 10% 미만값을 나타났으며, 전체유전분산중에서 해당 마커들로 설명되는 분산의 비율도 각 형질별로 26, 17, 6 및 9%로 나타나 도체중을 제외하고는 20%이내인 수준임.

○ 이와 같은 결과는 24개월령 집단에서 발굴되어진 마커들이, 30개월령 도체형질에서는 효과정도가 매우 미비함을 지적하여 줌. 따라서 30개월령 개체들의 육량육질 마커의 발굴와 적용은 24개월령과 다른 접근방법으로 수행해야할 필요성을 제시하여 줌.

다. 시험(서산한우종모우)집단과 상용집단에서 육량육질 SNP 발굴을 위한 전장연관분석 비교

○ 본 연구에서 전년 과제 결과에 의해 유의적인 192개의 Veracode SNP를 적용하여 시험축군과 실용집단에서 발굴되어진 SNP 마커들의 비교 분석을 통하여 형질과의 연관성 여부에 대한 증거 및 신뢰도를 높이기 위하여 수행 되었음.

○ 3가지 비교 분석 집단으로 수행 하였음.

(1) 시험축군(981두) vs 상용집단(1090두)

- 192개의 Veracode SNP를 적용한 시험축군(서산)에서 수행된 연관성분석에서 P=0.01 유의수준에서 탐색되어진 마커 44 SNPs를 선별 하였음
- 192개의 Veracode SNP를 적용한 상용축군(비서산)에서 수행된 연관성분석에서 P=0.01 유의수준에서 탐색되어진 마커 21 SNPs를 선별 하였음

- 각 형질별로 서로 다른 chip에서 발굴되어진 SNP들이 20Mb 이내에 위치하는 SNP들을 선별하였음.

- 2 집단에서 공통적으로 선발된 SNP는 도체중에서 1개, 배장근단면적에 대해서 2개, 근내지방에서 1개 탐색됨.

<표 3-3-23>

형질	염색체	mk_name	pos
CW	14	BTB-01280026	25170557
EMA	1	BTB-00021776	49267473
EMA	3	Hapmap27208-BTA-157501	76469248
MS7	2	BFGL-NGS-117383	63905821

- 형질과 상관없이 서로 다른 chip에서 발굴되어진 SNP들이 20Mb 이내에 위치하는 SNP들을 선별하였음.

- 2 집단에서 형질과 상관없이 공통적으로 선발된 SNP는 8개, 선발된 SNP와 가까이 위치한 1개의 SNP로 이는 아마도 육질,육량 형질에 관여하는 pleitrophy 효과를 가지고 있는 것으로 판단됨.

<표 3-3-24>

비교집단	diff_dis	chrom	trt_name	mk_name	pos	비교집단	trt_name	chrom	mk_name	pos
시험축군	62516	7	CW	BTB-00986847	1126787	상용축군	BFT	7	BTB-00987018	1189303
시험축군	0	14	CW	BTB-01280026	25170557	상용축군	CW	14	BTB-01280026	25170557
시험축군	0	29	CW	BTA-65463-no-rs	31816218	상용축군	EMA	29	BTA-65463-no-rs	31816218
시험축군	0	29	CW	BTA-65463-no-rs	31816218	상용축군	MS7	29	BTA-65463-no-rs	31816218
시험축군	0	1	EMA	BTB-00021776	49267473	상용축군	EMA	1	BTB-00021776	49267473
시험축군	0	3	EMA	Hapmap27208-BTA-157501	76469248	상용축군	EMA	3	Hapmap27208-BTA-157501	76469248
시험축군	0	14	EMA	BTB-01280026	25170557	상용축군	CW	14	BTB-01280026	25170557
시험축군	0	2	MS7	BFGL-NGS-117383	63905821	상용축군	MS7	2	BFGL-NGS-117383	63905821
시험축군	0	4	MS7	BTA-104512-no-rs	112700199	상용축군	BFT	4	BTA-104512-no-rs	112700199

(2) 시험축군(497두) vs 시험축군(981두) vs 상용집단(1090두)

- Illumian chip에 내재되 있는 상동염색체에서 5만여개 중 33,568개 SNP를 적용한 시험축군(서산)에서 수행된 연관성분석에서 P=0.01 유의수준에서 탐색되어진 마커 SNPs 중 192개의 Veracod SNP 선별함.

- 192개의 Veracode SNP를 적용한 시험축군(서산)에서 수행된 연관성분석에서 P=0.01 유의수준에서 탐색되어진 마커 44 SNPs를 선별 하였음

- 192개의 Veracode SNP를 적용한 상용축군(비서산)에서 수행된 연관성분석에서 P=0.01 유의수준에서 탐색되어진 마커 21 SNPs를 선별 하였음

- 3 집단에서 공통적으로 선발된 SNP는 도체중 1개, 배장근단면적에 대해서 2개, 근내지방에서 1개 탐색됨. 이는 시험축군(981두) vs 상용집단(1090두) 에서와 동일한 결과로 다른 개체를 이용하여 나나타나 결과로 발굴되어진 마커의 형질에 대한 연관성의 신뢰도를 보여 주

고 있음.

- 이러한 결과로 육질,육량 형질에 관여하는 SNP는 한 개의 유전자에 위해 두 개 이상의 형질에 발현되어지는 pleitrophy 효과(다면발현)를 가지고 있는 것으로 판단됨.

(3) 전년과제 결과 vs [시험축군(497두) vs 시험축군(981두) vs 상용집단(1090두)]

- Illumian chip에 내재되 있는 상동염색체에서 5만여개 중 33,568개 SNP를 적용한 시험축군(서산)에서 수행된 연관성분석, Bayes A, B에서 P=0.01 유의수준에서 ranodme model에서 P=0.001 유의수준에서 탐색되어진 SNP들이 집중되어 있는 위치의 마커를 192개 선별함.

비교집단	diff_dis	chr	trt	mk_name	pos	비교집단	trt_name	chrom	mk_name	pos
서산_497	0	1	CW	BTA-06866-rs29021222	116377919	서산_981	CW	1	BTA-06866-rs29021222	116377919
서산_497	0	5	CW	Hapmap33068-BTA-160954	18775860	서산_981	CW	5	Hapmap33068-BTA-160954	18775860
서산_497	0	6	CW	BTB-00843812	55293700	서산_981	EMA	6	BTB-00843812	55293700
서산_497	212567	6	CW	ARS-BFGL-NGS-23616	55506267	서산_981	EMA	6	BTB-00843812	55293700
서산_497	0	7	CW	ARS-BFGL-NGS-28660	4130299	서산_981	MS7	7	ARS-BFGL-NGS-28660	4130299
서산_497	0	7	CW	BFGL-NGS-116673	88679092	서산_981	CW	7	BFGL-NGS-116673	88679092
서산_497	0	10	CW	BTA-68192-no-rs	49031849	비서산_1090	MS7	10	BTA-68192-no-rs	49031849
서산_497	0	10	CW	BTA-100668-no-rs	68586181	비서산_1090	BFT	10	BTA-100668-no-rs	68586181
서산_497	0	14	CW	BTB-01280026	25170557	서산_981 and 비서산_1090	CW	14	BTB-01280026	25170557
서산_497	0	14	CW	BTB-01280026	25170557	비서산_1090	EMA	14	BTB-01280026	25170557
서산_497	0	14	CW	Hapmap23111-BTC-012395	51494004	서산_981	CW	14	Hapmap23111-BTC-012395	51494004
서산_497	1541704	16	CW	ARS-BFGL-NGS-59831	33037337	서산_981	BFT	16	BTB-00635702	31495633
서산_497	563388	18	CW	ARS-BFGL-NGS-39866	18183364	비서산_1090	EMA	18	BTA-42606-no-rs	18746752
서산_497	0	21	CW	Hapmap43190-BTA-16332	44201492	서산_981	CW	21	Hapmap43190-BTA-16332	44201492
서산_497	0	21	CW	Hapmap43190-BTA-16332	44201492	서산_981	EMA	21	Hapmap43190-BTA-16332	44201492
서산_497	0	23	CW	UA-IFASA-8948	46324820	서산_981	CW	23	UA-IFASA-8948	46324820
서산_497	0	28	CW	BFGL-NGS-114518	40462756	서산_981	CW	28	BFGL-NGS-114518	40462756
서산_497	0	1	BFT	Hapmap24136-BTA-124014	55673837	서산_981	BFT	1	Hapmap24136-BTA-124014	55673837
서산_497	449830	3	BFT	ARS-BFGL-NGS-24326	23483332	서산_981	MS7	3	INRA-565	23933162
서산_497	0	5	BFT	ARS-BFGL-NGS-43407	110911478	서산_981	BFT	5	ARS-BFGL-NGS-43407	110911478
서산_497	62516	7	BFT	BTB-00987018	1189303	비서산_1090	CW	7	BTB-00986847	1126787
서산_497	0	7	BFT	BTB-00987018	1189303	서산_981	BFT	7	BTB-00987018	1189303
서산_497	0	14	BFT	Hapmap25440-BTC-053771	10464996	비서산_1090	BFT	14	Hapmap25440-BTC-053771	10464996
서산_497	230270	29	BFT	BTA-111991-no-rs	28417196	서산_981	BFT	29	BTA-65196-no-rs	28186926
서산_497	0	1	EMA	BTB-00021776	49267473	서산_981 and 비서산_1090	EMA	1	BTB-00021776	49267473
서산_497	0	3	EMA	Hapmap27208-BTA-157501	76469248	서산_981 and 비서산_1090	EMA	3	Hapmap27208-BTA-157501	76469248
서산_497	0	6	EMA	BTB-00843812	55293700	서산_981	EMA	6	BTB-00843812	55293700
서산_497	0	7	EMA	BFGL-NGS-116673	88679092	서산_981	CW	7	BFGL-NGS-116673	88679092
서산_497	0	9	EMA	BTB-00384802	35216259	서산_981	EMA	9	BTB-00384802	35216259
서산_497	0	10	EMA	BTA-100668-no-rs	68586181	비서산_1090	BFT	10	BTA-100668-no-rs	68586181
서산_497	0	11	EMA	ARS-BFGL-NGS-21607	100481883	비서산_1090	CW	11	ARS-BFGL-NGS-21607	100481883
서산_497	0	14	EMA	ARS-BFGL-NGS-26028	21080793	서산_981	CW	14	ARS-BFGL-NGS-26028	21080793
서산_497	0	14	EMA	ARS-BFGL-NGS-26028	21080793	서산_981	EMA	14	ARS-BFGL-NGS-26028	21080793
서산_497	0	20	EMA	Hapmap53674-rs29025319	8676696	서산_981	BFT	20	Hapmap53674-rs29025319	8676696
서산_497	0	20	EMA	Hapmap53674-rs29025319	8676696	서산_981	EMA	20	Hapmap53674-rs29025319	8676696
서산_497	0	20	EMA	ARS-BFGL-NGS-38569	57693263	서산_981	EMA	20	ARS-BFGL-NGS-38569	57693263
서산_497	0	21	EMA	Hapmap43190-BTA-16332	44201492	서산_981	CW	21	Hapmap43190-BTA-16332	44201492
서산_497	0	21	EMA	Hapmap43190-BTA-16332	44201492	서산_981	EMA	21	Hapmap43190-BTA-16332	44201492
서산_497	0	24	EMA	ARS-BFGL-NGS-35298	13445705	서산_981	EMA	24	ARS-BFGL-NGS-35298	13445705
서산_497	0	28	EMA	BFGL-NGS-114518	40462756	서산_981	CW	28	BFGL-NGS-114518	40462756
서산_497	0	29	EMA	BTA-65463-no-rs	31816218	서산_981	EMA	29	BTA-65463-no-rs	31816218
서산_497	0	29	EMA	BTA-65463-no-rs	31816218	서산_981	MS7	29	BTA-65463-no-rs	31816218
서산_497	0	29	EMA	BTA-65463-no-rs	31816218	비서산_1090	CW	29	BTA-65463-no-rs	31816218
서산_497	0	2	MS7	BFGL-NGS-117383	63905821	서산_981 and 비서산_1090	MS7	2	BFGL-NGS-117383	63905821
서산_497	0	3	MS7	ARS-BFGL-NGS-102388	20000610	서산_981	MS7	3	ARS-BFGL-NGS-102388	20000610
서산_497	0	3	MS7	INRA-565	23933162	서산_981	MS7	3	INRA-565	23933162
서산_497	0	3	MS7	ARS-BFGL-NGS-41558	123148964	서산_981	MS7	3	ARS-BFGL-NGS-41558	123148964
서산_497	0	7	MS7	BTB-00317097	65652720	서산_981	MS7	7	BTB-00317097	65652720
서산_497	0	10	MS7	ARS-BFGL-NGS-35190	104193801	비서산_1090	MS7	10	ARS-BFGL-NGS-35190	104193801
서산_497	0	13	MS7	ARS-BFGL-NGS-56654	10185777	비서산_1090	MS7	13	ARS-BFGL-NGS-56654	10185777
서산_497	0	13	MS7	ARS-BFGL-BAC-869	23814812	서산_981	MS7	13	ARS-BFGL-BAC-869	23814812
서산_497	0	13	MS7	ARS-BFGL-NGS-73404	54520958	비서산_1090	BFT	13	ARS-BFGL-NGS-73404	54520958
서산_497	0	16	MS7	Hapmap26379-BTA-130999	51370098	서산_981	MS7	16	Hapmap26379-BTA-130999	51370098
서산_497	0	18	MS7	Hapmap36420-SCAFFOLD190338_7279	55488400	비서산_1090	BFT	18	Hapmap36420-SCAFFOLD190338_7279	55488400
서산_497	1202840	23	MS7	Hapmap36138-SCAFFOLD96069_11607	6896529	서산_981	EMA	23	ARS-BFGL-NGS-23687	8099369
서산_497	0	26	MS7	BTA-61647-no-rs	42127980	서산_981	MS7	26	BTA-61647-no-rs	42127980
서산_497	0	29	MS7	BTA-65196-no-rs	28186926	서산_981	BFT	29	BTA-65196-no-rs	28186926
서산_497	0	29	MS7	BTA-65463-no-rs	31816218	서산_981	EMA	29	BTA-65463-no-rs	31816218
서산_497	0	29	MS7	BTA-65463-no-rs	31816218	서산_981	MS7	29	BTA-65463-no-rs	31816218
서산_497	0	29	MS7	BTA-65463-no-rs	31816218	비서산_1090	CW	29	BTA-65463-no-rs	31816218

<표 3-3-25>

- Illumian chip에 내재되 있는 상동염색체에서 5만여개 중 33,568개 SNP를 적용한 시험축군(서산)에서 수행된 연관성분석에서 P=0.01 유의수준에서 탐색되어진 마커 SNPs 중 192개의 Veracod SNP 선별함.
- 192개의 Veracode SNP를 적용한 시험축군(서산)에서 수행된 연관성분석에서 P=0.01 유의수준에서 탐색되어진 마커 44 SNPs를 선별 하였음.
- 192개의 Veracode SNP를 적용한 상용축군(비서산)에서 수행된 연관성분석에서 P=0.01 유의수준에서 탐색되어진 마커 21 SNPs를 선별 하였음<표 3-3-25>.

- 이러한 결과는 전년 과제 연구 결과에서 각 형질마다 특정 지역에 여러 개의 유의적인 SNPs를 발굴한 결과에 대한 신뢰도를 보여 주고 있음 대체적으로 다른 개체들(서산981두, 비서산1090두)를 이용하여 나타나 결과에서 확인 가능함.
- 또한 육질,육량 형질에 관여하는 SNP는 한 개의 유전자에 위해 두 개 이상의 형질에 발현되어지는 pleiotrophy 효과(다면발현)를 가지고 있는 것으로 판단됨.

라. 시험집단에서 육질등급에 관련된 SNP를 추가 발굴

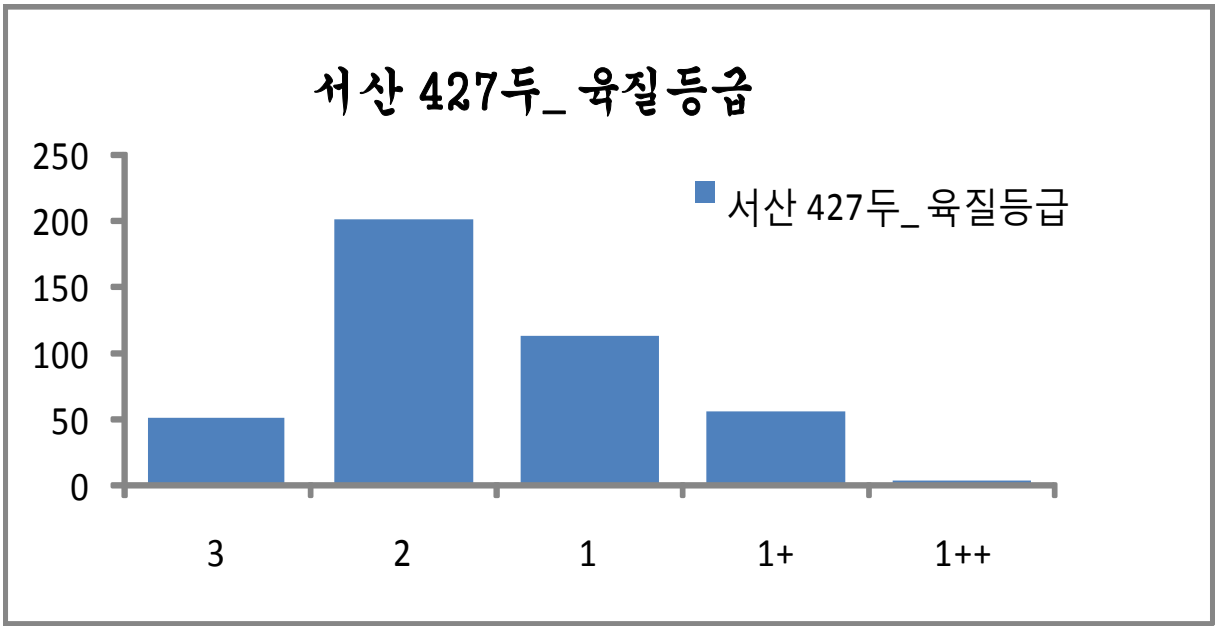
○ 로짓모형 분석 근거

- 앞서 발굴되어진 육량·육질관련 192개 마커들중에서 상용집단(1,090)에 적용시에 매우 제한된 유의적인 SNP들만이 검증되었음. 따라서 부가적인 SNP를 발굴하기 위해서는 다른 접근방법의 분석모델이 필요함.
- 상당수의 거세우들은 비육후기에(24개월령에서 30개월령) 고에너지사료를 급여할 경우 많은 지방이 침착되어 육질이 높은 등급의 도체로 바뀌게 됨.
- 하지만 아무리 고에너지사료를 급여하더라도 유전적으로 지방이 고기 사이에 (근내지방도) 침착이 잘되지 않은 개체들이 존재할 것임.

○ 분석수행

- Illumina chip에 내재되 있는 상동염색체에서 5만여개 중 33,568개 SNP를 적용하여 시험축군(427두)에 대한 육질등급과 연관되어진 SNP마커를 일차적으로 발굴 하고자 함.

시험축군의 육질등급 분포



<그림 3-3-5>

- 427두 개체들의 chip에 있는 SNP genotype과 육질등급간 연관분석을 다음과 같이 세 단계 분석으로 수행하였음.

(1) 육질등급들을 이항형태로 변환하였음: 근내지방도 3등급인 경우 '1'로 나머지 등급은 '0'

(2) 단순회귀분석 모델을 적용하였음.

$$Y = \mu + \beta X + e, \quad X = 1, 0, -1 \text{ for 각 SNP의 AA, AB, BB 유전자형}$$

- β은 해당표현형에 대하여 SNP의 상가적 효과를 나타냄.
- 33,568개 SNP 중 에서 유의수준이 0.01이하인 SNP들을 선별하였는데 총 731개 SNP가 선별됨.

<표 3-3-26>. 육질관련 염색체별 발굴된 SNP 갯수

염색체	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
육질등급(0,1)	49	48	38	27	22	40	31	30	18	46	24	30	29	21	31
염색체	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	합계
육질등급(0,1)	26	23	13	17	11	21	15	17	24	11	14	7	24	24	731

(3) 전장에서 발굴되어진 육질등급에 유의적인 SNP들에 대하여 SNP들간 연관성 즉 연관불균형(LD)이 존재할 수 할 수 있으므로 가장 적합한 SNP set를 선별하는 과정이 필요함. 따라서 stepwise-regression procedure를 적용하여 모델에 inclusion과 exclusion thresholds를 0.01 유의수준으로 결정하여 수행하였음.

- 탐색되어진 SNP들에 대하여 stepwise regression 방법을 이용한 model selection 결과, 육질등급에 대해 탐색되어진 마커 수는 35개 였으며, 이들이 전체 표현형 분산 중에 설명되어진 분산 비율은 63.61%로 나타남 (아래표 참조).

○ 분석결과 평가

- 본 모델을 이용하여 발굴되어진 SNP들은 향우 비육우들의 경우 비육 전에, 또는 암소의 경우 암소에서 태어난 송아지들에 대하여 육질의 나쁨 정도를 예측하는데 평가하고자 함.
- 즉 육질이 3등급으로 판명되는 경우 비육후기에 고에너지 사료를 급여하여도 육질이 상향될 확률이 매우 낮음. 따라서 본 마커를 송아지 또는 암소에게 미리 적용하여 육질 등급이 나쁜 개체를 조기에 선별하여 거세유무를 알려 줄 경우 사료비 및 생산단가를 절감할 것으로 기대함.

마. 육량·육질관련 최종 SNP set 결정

○ 192개 SNP set 및 로짓모형에서 발굴된 육량·육질 35개 SNP들 중에서 육량·육질과 유의적으로 연관되어있는 96개 SNP를 선별하였음 (제2협동과제 내용, 결과 참조).

○ 96개 SNP를 veracode Kit로 제작한 후(제2협동과제) 다음 두 집단에(N=2,735) 대하여 형질과의 연관성 여부를 결정하였음.

(1) 서산 한우 후보종모우의 거세우 집단: 40~49차 총 1,146두

<표 3-3-28>. 검정차수별 도체일령, 도체중(CW), 배장근단면적(EMA), 등지방두께(BFT), 근내지방도(MS) 기초 통계량

산차	n	일령_mean	sd	CV	CW_mean	sd	CV	EMA_mean	sd	CV	BFT_mean	sd	CV	MS_mean	sd	CV
40	102	724.51	18.82	2.60	371.00	39.07	10.53	77.83	10.23	13.14	1.08	0.56	51.50	3.37	1.48	43.94
41	99	705.13	34.40	4.88	350.38	36.37	10.38	74.56	9.35	12.54	1.08	0.65	60.67	2.96	1.68	56.69
42	180	732.64	16.13	2.20	377.98	36.69	9.71	78.28	8.05	10.28	1.17	0.40	34.13	3.87	1.81	46.91
43	178	710.04	15.34	2.16	342.96	29.94	8.73	81.98	8.03	9.80	0.96	0.35	36.19	3.06	1.59	51.98
44	58	720.93	16.89	2.34	383.45	41.47	10.81	84.83	9.23	10.88	1.06	0.33	31.16	3.83	1.74	45.42
45	109	709.86	16.12	2.27	346.72	30.45	8.78	80.64	8.28	10.27	0.86	0.32	36.92	3.24	1.75	54.12
46	127	715.40	13.70	1.92	357.40	36.77	10.29	84.43	7.69	9.11	0.76	0.24	32.10	3.32	1.56	46.88
47	128	714.70	14.37	2.01	362.17	38.22	10.55	83.16	7.17	8.62	0.86	0.28	32.04	3.13	1.36	43.40
48	180	714.33	14.11	1.97	363.21	37.18	10.24	83.58	7.92	9.47	0.87	0.33	37.49	3.08	1.50	48.59
49	166	701.82	21.13	3.01	341.65	40.20	11.77	80.31	7.74	9.64	0.70	0.29	42.36	3.03	1.43	47.15

<표 3-3-27>. 육질 우량 및 불량과 관련되어 발굴되어진 SNPs

육질등급								
SNP marker	염색체	pos(bp)	β	표준편차	$-LOG_{10}P$	A_빈도	B_빈도	6_a^2
ARS-BFGL-NGS-26771	1	69,528,623	0.05	0.016	2.526	0.40	0.60	0.0012
ARS-BFGL-NGS-7472	1	124,253,359	-0.061	0.016	2.054	0.56	0.44	0.0018
BTA-14230-rs29022995	2	20,978,362	-0.032	0.015	2.243	0.52	0.48	0.0005
BTA-90292-no-rs	2	90,639,723	-0.074	0.017	3.103	0.38	0.62	0.0026
BFGL-NGS-111424	2	139,493,013	-0.045	0.019	2.734	0.78	0.22	0.0007
BFGL-NGS-110586	3	105,007,296	-0.048	0.016	2.884	0.51	0.49	0.0012
ARS-BFGL-NGS-2229	3	121,786,597	-0.149	0.034	2.422	0.94	0.06	0.0023
ARS-BFGL-NGS-40507	4	25,183,064	0.043	0.017	2.206	0.38	0.62	0.0009
ARS-BFGL-NGS-104278	4	82,322,976	0.106	0.02	5.614	0.21	0.79	0.0037
BFGL-NGS-115275	5	105,981,906	-0.048	0.018	2.125	0.74	0.26	0.0009
ARS-BFGL-NGS-91848	6	19,660,701	0.049	0.017	2.527	0.37	0.63	0.0011
BTB-01527489	6	49,080,811	-0.088	0.033	2.502	0.93	0.07	0.0010
ARS-BFGL-NGS-65062	6	121,357,123	-0.091	0.017	2.216	0.57	0.43	0.0041
BFGL-NGS-110361	7	13,020,288	-0.039	0.021	2.083	0.20	0.80	0.0005
ARS-BFGL-NGS-84417	7	45,559,923	0.08	0.023	2.293	0.85	0.15	0.0017
BTB-00328499	7	104,641,306	0.051	0.019	2.073	0.79	0.21	0.0009
Hapmap59023-rs29022215	9	70,552,067	0.068	0.016	2.449	0.50	0.50	0.0023
BTB-00416489	10	32,359,100	0.041	0.015	2.056	0.49	0.51	0.0008
BTA-76282-no-rs	10	80,499,736	-0.06	0.019	2.56	0.24	0.76	0.0013
Hapmap25798-BTA-126388	11	34,208,674	-0.041	0.017	2.041	0.65	0.35	0.0008
Hapmap27450-BTA-157196	12	23,346,825	-0.077	0.025	2.683	0.11	0.89	0.0012
BFGL-NGS-116223	12	50,793,574	-0.084	0.02	2.69	0.20	0.80	0.0022
Hapmap39219-BTA-31890	13	22,692,474	-0.056	0.016	2.592	0.57	0.43	0.0015
BTB-01454391	13	34,018,752	0.052	0.024	2.182	0.85	0.15	0.0007
ARS-BFGL-NGS-97782	13	46,536,278	-0.077	0.025	2.288	0.13	0.87	0.0013
ARS-BFGL-NGS-73404	13	54,520,958	-0.077	0.028	5.164	0.90	0.10	0.0011
BFGL-NGS-114870	15	29,008,081	-0.078	0.017	3.124	0.47	0.53	0.0030
BTB-00648332	16	51,394,400	-0.054	0.017	2.511	0.40	0.60	0.0014
ARS-BFGL-BAC-35318	16	62,995,331	-0.045	0.016	2.395	0.53	0.47	0.0010
ARS-BFGL-NGS-62454	17	67,951,275	0.05	0.017	2.467	0.32	0.68	0.0011
BFGL-NGS-115680	18	44,993,079	-0.059	0.016	4.094	0.56	0.44	0.0017
Hapmap59970-rs29026939	21	42,906,062	-0.035	0.018	2.518	0.25	0.75	0.0005
BTB-00927181	26	18,624,183	-0.046	0.016	2.438	0.53	0.47	0.0011
Hapmap46848-BTA-60788	26	20,312,810	-0.06	0.016	2.251	0.40	0.60	0.0017
BTB-00995659	28	45,898,513	0.042	0.016	2.24	0.45	0.55	0.0009
6_P^2%	63.61							0.0505

(2) 상용집단 비육 거세우 집단: 총 1,589두

<표 3-3-29>. 충북농협= 농협축산연구원I + 농협축산연구원II

상용집단	농협축산연구원I	정읍	종개협_경기	종개협_전북	한능11회	한능12회	한능13회	한능14회	농협축산연구원II	합계
개체수	536	80	56	9	45	168	196	155	344	**1589**

집단	n	일령_mean	sd	CV	CW_mean	sd	CV	EMA_mean	sd	CV	BFT_mean	sd	CV	MS_mean	sd	CV
충북 농협	880	941.80	104.38	11.08	409.33	41.51	10.14	86.61	8.83	10.20	1.30	0.50	3.84	4.28	1.84	42.94
정읍	80	912.59	46.18	5.06	424.71	44.01	10.36	91.69	10.65	11.61	1.50	0.59	39.44	6.85	1.77	25.88
종개협_경기	56	909.16	45.98	5.06	432.02	33.90	7.85	99.71	8.95	8.97	1.17	0.31	26.88	7.63	1.54	20.25
종개협_전북	9	829.11	240.10	28.96	444.33	31.83	7.16	94.44	7.81	8.27	1.43	0.71	49.82	7.89	0.93	11.76
한능11회	45	892.91	16.30	1.83	425.98	39.43	9.26	94.40	10.02	10.62	1.20	0.45	37.69	8.04	0.93	11.54
한능12회	168	932.35	16.29	1.75	441.86	42.91	9.71	93.77	10.21	10.88	1.38	0.54	39.28	7.04	1.60	22.75
한능13회	196	923.55	14.95	1.62	427.57	43.55	10.19	89.76	8.71	9.70	1.28	0.47	36.95	5.51	1.83	33.29
한능14회	155				437.56	40.96	9.36	98.37	11.52	11.71	1.27	0.52	4.06	6.80	1.72	2.53

○ SNP를 고정효과(Fixed effect)로 간주하여 최소자승법을 이용하여 두 단계로 분석하였음.

(3) 고정효과 및 공변이 효과의 보정

- 표현형에 영향하는 주요 고정 및 공변이 효과들을 일반 선형모델을 적용하여 표현형을 보정하였는데 해당 고정 및 공변이 효과는 서산집단의 경우 산차수를 고정효과로, 도체월령을 공변이 효과로 모델에 보정하였으며, 상용집단의 경우 도체월령을 공변이 효과로 모델에 보정하였음.

- 위 모델을 SAS 9.0을 실시하여 수행하였고 여기서 얻은 잔차를 표현형으로 간주하여 각 SNP에 대하여 연관분석을 실시하였음.

(4) SNP와 형질과의 연관분석

- 해당모델은 단순 회귀분석모델로 아래와 같다

$$Y = \mu + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + e,$$

- X_1 = 1, 0, -1; X_2 = 0, 1, 0 for 각 SNP의 AA, AB, BB 유전자형

- β_1, β_2은 해당표현형에 대하여 각각 SNP의 상가적(additive) 및 우성(dominance) 효과를 나타냄.

- 위 모델과 SNP효과를 제거한 모델간의 적합결여검정(LOF)를 실시하여 유의수준이 0.05이하인 SNP들을 선별하였으며, SNP들간의 연관불균형(LD)이 있을 경우 불필요한 SNP를 제하고자 stepwise regression 방법을 적용하여 각 형질별 최적합 SNP set를 결정하였음 (inclusion & exclusion P-value: 0.05).

○ 연관분석 결과 총 55개의 SNP들이 육량육질과 연관성을 보였으며, 서산 및 상용집단에서 각각 35개 및 29개 SNP들이 발굴되었음.

<표 3-3-30>

	SNP효과수	BFT	CWT	EMA	Marb
서산집단	52	25	10	9	8
상용집단	40	13	5	7	15
합계	92	38	15	16	23

		$\%\sigma^2_{SNP}/\sigma^2_{phenotype}$		$\%\sigma^2_{SNP}/\sigma^2_{genotype}$	
형질	유전력	서산집단	상용집단	서산집단	상용집단
BFT	0.40	20.7	6.8	51.8	17.0
CWT	0.33	12.8	3.5	38.8	10.6
EMA	0.41	7.3	3.9	17.8	9.5
Marb	0.50	6.1	7.5	12.2	12.2

○ 55개 SNP들은 육량·육질 4형질에(등지방두께(BFT), 도체중(CWT), 등심단면적(EMA), 근내지방도(Marb)) 대하여 92개 효과를 보였는데 서산집단과 상용집단에서 각각 52개, 40개 효과를 나타내었으며, 형질별로는 등지방두께에 대하여 가장 많은 SNP효과 (38개)를 보였고, 근내지방도, 등심단면적, 도체중 순으로 발굴되었음.

번호	SNP	BTA	Position(bp)	형질	집단	SNP	Minor	빈도	효과	Estimates	Stderr	P-value	$\%\sigma^2_{SNP}/\sigma^2_{phenotype}$
1	seq-Hapmap24136-BTA-124014	1	55,673,837	BFT	서산집단	G/T	G	0.16	add	0.621	0.217	0.0044	0.66
2	seq-ARS-BFGL-NGS-26771	1	69,528,623	BFT	상용집단	A/G	A	0.36	add	1.072	0.407	0.0088	2.00
3	seq-BTA-06866-rs29021222	1	116,377,919	CWT	서산집단	C/G	G	0.09	add	6.759	2.512	0.0072	0.58
4	seq-Hapmap39595-BTA-85742	2	39,098,749	BFT	서산집단	G/T	G	0.07	add	-0.859	0.317	0.0068	0.60
5	seq-BFGL-NGS-117383	2	63,905,821	Marb	서산집단	A/G	A	0.21	add	-0.280	0.081	0.0005	1.01
6	seq-ARS-BFGL-NGS-80431	2	72,596,096	EMA	서산집단	A/G	A	0.26	add	-1.296	0.386	0.0008	0.95
6	seq-ARS-BFGL-NGS-80431	2	72,596,096	CWT	서산집단	A/G	A	0.26	add	-6.484	1.681	0.0001	1.20
7	seq-BTA-90292-no-rs	2	90,639,723	Marb	상용집단	C/T	C	0.48	dom	0.406	0.168	0.0163	1.16
8	seq-ARS-BFGL-NGS-102388	3	20,000,610	Marb	서산집단	C/T	T	0.13	add	-0.270	0.096	0.0049	0.67
9	seq-Hapmap27208-BTA-157501	3	76,469,248	BFT	상용집단	C/T	C	0.46	add	-0.451	0.189	0.0173	0.39
9	seq-Hapmap27208-BTA-157501	3	76,469,248	EMA	상용집단	C/T	C	0.46	add	1.107	0.369	0.0027	0.56
10	seq-ARS-BFGL-NGS-2229	3	121,786,597	BFT	서산집단	C/T	T	0.09	add	-0.868	0.438	0.0481	0.63
11	seq-ARS-BFGL-NGS-41558	3	123,148,964	BFT	상용집단	A/C	A	0.13	add	-0.769	0.291	0.0083	0.48
11	seq-ARS-BFGL-NGS-41558	3	123,148,964	Marb	서산집단	A/C	A	0.10	add	0.866	0.208	<.0001	1.45
11	seq-ARS-BFGL-NGS-41558	3	123,148,964	Marb	서산집단	A/C	A	0.10	dom	-0.668	0.236	0.0046	0.67
12	seq-ARS-BFGL-NGS-104278	4	82,322,976	BFT	서산집단	A/G	A	0.25	add	1.689	0.379	<.0001	3.20
12	seq-ARS-BFGL-NGS-104278	4	82,322,976	EMA	서산집단	A/G	A	0.25	add	-1.291	0.593	0.0298	0.81
12	seq-ARS-BFGL-NGS-104278	4	82,322,976	BFT	서산집단	A/G	A	0.25	dom	-1.702	0.467	0.0003	2.15
13	seq-BTA-104512-no-rs	4	112,700,199	Marb	상용집단	A/G	G	0.21	add	-0.295	0.091	0.0013	0.63
13	seq-BTA-104512-no-rs	4	112,700,199	BFT	서산집단	A/G	G	0.21	dom	0.602	0.235	0.0106	0.53
14	seq-Hapmap33068-BTA-160954	5	18,775,860	BFT	상용집단	A/G	A	0.22	add	-0.546	0.228	0.0168	0.39
14	seq-Hapmap33068-BTA-160954	5	18,775,860	Marb	상용집단	A/G	A	0.22	add	-0.255	0.093	0.0061	0.46
15	seq-ARS-BFGL-NGS-8401	5	76,428,730	Marb	상용집단	G/T	T	0.33	add	-0.168	0.081	0.0384	0.26
15	seq-ARS-BFGL-NGS-8401	5	76,428,730	BFT	서산집단	G/T	T	0.29	add	0.605	0.201	0.0027	0.73
15	seq-ARS-BFGL-NGS-8401	5	76,428,730	BFT	서산집단	G/T	T	0.29	dom	0.585	0.262	0.0258	0.40
16	seq-ARS-BFGL-NGS-43407	5	110,911,478	Marb	상용집단	A/G	G	0.46	add	0.220	0.078	0.0045	0.49
16	seq-ARS-BFGL-NGS-43407	5	110,911,478	BFT	서산집단	A/G	G	0.41	add	0.491	0.163	0.0027	0.73
17	seq-BTB-01312166	6	65,708,017	BFT	상용집단	C/T	T	0.05	add	-1.166	0.488	0.0169	0.39
17	seq-BTB-01312166	6	65,708,017	BFT	서산집단	C/T	T	0.05	add	-0.872	0.350	0.0129	0.50
18	seq-ARS-BFGL-NGS-65062	6	121,357,123	BFT	서산집단	A/C	C	0.47	dom	1.072	0.340	0.0017	1.60
19	seq-BTB-00986847	7	1,126,787	CWT	상용집단	A/C	A	0.11	add	-6.387	2.497	0.0106	0.41
19	seq-BTB-00986847	7	1,126,787	Marb	상용집단	A/C	A	0.11	add	0.286	0.123	0.0203	0.33
19	seq-BTB-00986847	7	1,126,787	BFT	상용집단	A/C	A	0.11	dom	-0.776	0.350	0.0267	0.34
20	seq-ARS-BFGL-NGS-28660	7	4,130,299	EMA	상용집단	C/T	T	0.21	add	-1.410	0.453	0.0019	0.60
21	seq-BTB-00301426	7	29,194,445	Marb	상용집단	A/G	A	0.48	add	-0.199	0.077	0.0092	0.41
22	seq-ARS-BFGL-NGS-84417	7	45,559,923	BFT	서산집단	G/T	T	0.17	dom	0.909	0.383	0.0180	0.91
23	seq-BFGL-NGS-116673	7	88,679,092	CWT	서산집단	G/T	T	0.07	add	9.464	2.927	0.0013	0.84
23	seq-BFGL-NGS-116673	7	88,679,092	EMA	서산집단	G/T	T	0.07	dom	-1.715	0.671	0.0107	0.55
24	seq-BTB-01837292	9	1,463,198	Marb	상용집단	A/G	G	0.15	dom	0.325	0.124	0.0085	0.42
25	seq-Hapmap59023-rs29022215	9	70,552,067	EMA	상용집단	C/T	T	0.49	add	1.361	0.648	0.0363	0.88
26	seq-BTB-00416489	10	32,359,100	CWT	서산집단	C/T	C	0.43	dom	-7.688	3.097	0.0133	1.03
27	seq-ARS-BFGL-NGS-31807	10	63,139,835	BFT	상용집단	A/G	A	0.28	dom	0.544	0.271	0.0446	0.28
28	seq-BTA-100668-no-rs	10	68,586,181	BFT	상용집단	A/C	A	0.23	add	0.687	0.228	0.0027	0.62
29	seq-ARS-BFGL-NGS-32379	10	82,876,725	BFT	상용집단	A/G	A	0.43	add	-0.381	0.190	0.0446	0.28
30	seq-ARS-BFGL-NGS-35190	10	104,193,801	Marb	상용집단	C/T	C	0.44	add	-0.153	0.077	0.0472	0.24

<표 3-3-31>

번호	SNP	BTA	Position(bp)	형질	집단	SNP	Minor	빈도	효과	Estimates	Stderr	P-value	$\%\sigma^2_{SNP}/\sigma^2_{phenotype}$
31	seq-Hapmap44798-BTA-104292	11	74,869,821	EMA	서산집단	C/G	G	0.35	add	1.162	0.375	0.0020	0.81
31	seq-Hapmap44798-BTA-104292	11	74,869,821	BFT	서산집단	C/G	G	0.35	add	0.351	0.174	0.0437	0.33
31	seq-Hapmap44798-BTA-104292	11	74,869,821	BFT	서산집단	C/G	G	0.35	dom	-0.592	0.239	0.0135	0.50
31	seq-Hapmap44798-BTA-104292	11	74,869,821	EMA	서산집단	C/G	G	0.35	dom	1.270	0.518	0.0143	0.51
32	seq-ARS-BFGL-NGS-21607	11	100,481,883	CWT	상용집단	C/T	T	0.08	add	-9.147	3.124	0.0035	0.54
32	seq-ARS-BFGL-NGS-21607	11	100,481,883	Marb	서산집단	C/T	T	0.06	add	-0.299	0.138	0.0307	0.39
33	seq-Hapmap25440-BTC-053771	14	10,464,996	BFT	상용집단	A/G	A	0.39	add	0.468	0.194	0.0162	0.40
33	seq-Hapmap25440-BTC-053771	14	10,464,996	BFT	서산집단	A/G	A	0.37	add	0.686	0.172	<.0001	1.29
33	seq-Hapmap25440-BTC-053771	14	10,464,996	Marb	상용집단	A/G	A	0.39	dom	0.212	0.107	0.0483	0.24
33	seq-Hapmap25440-BTC-053771	14	10,464,996	BFT	서산집단	A/G	A	0.37	dom	-0.711	0.236	0.0027	0.74
34	seq-ARS-BFGL-NGS-26028	14	21,080,793	EMA	서산집단	A/G	G	0.38	add	-0.731	0.345	0.0346	0.38
34	seq-ARS-BFGL-NGS-26028	14	21,080,793	CWT	서산집단	A/G	G	0.38	add	-3.921	1.527	0.0104	0.53
35	seq-BTB-01280026	14	25,170,557	EMA	상용집단	C/T	C	0.10	add	1.576	0.681	0.0208	0.33
35	seq-BTB-01280026	14	25,170,557	CWT	상용집단	C/T	C	0.10	add	12.440	2.901	<.0001	1.15
35	seq-BTB-01280026	14	25,170,557	CWT	서산집단	C/T	C	0.13	add	18.253	2.249	<.0001	5.31
35	seq-BTB-01280026	14	25,170,557	EMA	서산집단	C/T	C	0.13	dom	1.727	0.574	0.0027	0.76
36	seq-BTB-01640837	14	36,095,273	BFT	상용집단	G/T	G	0.40	dom	0.533	0.265	0.0441	0.28
37	seq-Hapmap23111-BTC-012395	14	51,494,004	Marb	상용집단	A/C	A	0.14	add	-0.291	0.117	0.0129	0.37
37	seq-Hapmap23111-BTC-012395	14	51,494,004	BFT	서산집단	A/C	A	0.12	add	0.489	0.249	0.0498	0.31
37	seq-Hapmap23111-BTC-012395	14	51,494,004	BFT	상용집단	A/C	A	0.14	dom	0.890	0.322	0.0059	0.52
38	seq-BTB-00635702	16	31,495,633	BFT	서산집단	A/G	G	0.35	add	0.380	0.164	0.0205	0.44
38	seq-BTB-00635702	16	31,495,633	CWT	서산집단	A/G	G	0.35	add	3.739	1.549	0.0160	0.47
39	seq-BTB-00652140	16	53,663,332	EMA	상용집단	C/T	C	0.11	add	-1.821	0.594	0.0022	0.58
39	seq-BTB-00652140	16	53,663,332	Marb	상용집단	C/T	C	0.11	add	-0.361	0.125	0.0038	0.51
40	seq-BFGL-NGS-115680	18	44,993,079	CWT	서산집단	C/T	T	0.43	add	5.882	2.243	0.0090	1.15
41	seq-Hapmap53674-rs29025319	20	8,676,696	BFT	서산집단	C/T	T	0.11	add	-1.675	0.488	0.0006	0.96
41	seq-Hapmap53674-rs29025319	20	8,676,696	EMA	서산집단	C/T	T	0.11	add	2.594	0.540	<.0001	1.94
41	seq-Hapmap53674-rs29025319	20	8,676,696	BFT	서산집단	C/T	T	0.11	dom	-1.268	0.550	0.0212	0.43
42	seq-BTA-18321-no-rs	20	66,423,918	BFT	서산집단	A/G	A	0.45	dom	-0.452	0.220	0.0402	0.34
43	seq-ARS-BFGL-NGS-55520	21	29,076,315	CWT	서산집단	A/G	G	0.33	add	3.431	1.552	0.0273	0.39
44	seq-BTB-01107683	21	29,363,186	Marb	상용집단	C/T	C	0.36	add	0.169	0.079	0.0329	0.28
44	seq-BTB-01107683	21	29,363,186	EMA	상용집단	C/T	C	0.36	dom	-1.412	0.519	0.0066	0.46
45	seq-ARS-BFGL-NGS-23687	23	8,099,369	EMA	서산집단	G/T	T	0.30	add	0.993	0.363	0.0063	0.63
45	seq-ARS-BFGL-NGS-23687	23	8,099,369	Marb	서산집단	G/T	T	0.30	dom	-0.228	0.094	0.0155	0.49
46	seq-ARS-BFGL-NGS-24167	24	49,979,961	Marb	상용집단	C/T	C	0.17	add	-0.205	0.101	0.0431	0.25
47	seq-Hapmap46894-BTA-89312	26	12,496,998	BFT	상용집단	A/G	A	0.30	dom	-0.685	0.269	0.0109	0.44
48	seq-BTB-00927181	26	18,624,183	BFT	서산집단	A/G	A	0.46	dom	0.684	0.341	0.0453	0.65
49	seq-Hapmap46848-BTA-60788	26	20,312,810	CWT	서산집단	A/G	A	0.39	dom	8.723	3.095	0.0050	1.33
50	seq-BTA-100341-no-rs	26	34,983,053	BFT	서산집단	G/T	T	0.41	add	-0.456	0.156	0.0035	0.70
51	seq-BTA-61647-no-rs	26	42,127,980	Marb	서산집단	G/T	T	0.13	add	-0.222	0.097	0.0227	0.44
52	seq-ARS-BFGL-NGS-39970	27	32,759,635	BFT	서산집단	C/T	T	0.36	add	-0.631	0.177	0.0004	1.03
52	seq-ARS-BFGL-NGS-39970	27	32,759,635	BFT	서산집단	C/T	T	0.36	dom	-0.481	0.238	0.0431	0.33
53	seq-BFGL-NGS-114518	28	40,462,756	EMA	상용집단	A/G	A	0.19	add	-1.318	0.456	0.0039	0.52
53	seq-BFGL-NGS-114518	28	40,462,756	CWT	상용집단	A/G	A	0.19	add	-4.164	1.924	0.0306	0.29
53	seq-BFGL-NGS-114518	28	40,462,756	Marb	상용집단	A/G	A	0.19	add	-0.478	0.095	<.0001	1.52
54	seq-BTB-00995659	28	45,898,513	CWT	상용집단	A/G	A	0.47	dom	-9.188	3.950	0.0204	1.08
55	seq-BTA-65463-no-rs	29	31,816,218	Marb	서산집단	G/T	G	0.10	add	0.348	0.104	0.0009	0.94

○ 발굴되어진 육량·육질 SNP효과의 크기는 전체 표현형 분산중에서 SNP로 설명되어지는 분산비율(%)로 나타내는데 서산집단에서 등지방두께 형질에 대하여 발굴된 SNP들이 표현형분산의 21%를 설명하여 가장 높은 비율을 보였으며 서산집단에서 도체형질에 대하여도 발굴된 SNP들이 표현형분산의 13%를 설명하였음.

- 전체 유전분산(유전력) 대비하여 발굴되어진 SNP로 설명될 경우, 서산집단의 등지방두께(BFT)에서 52%로 가장 높은 값을 보였으며, 도체중의 경우 39%로 적지 않은 유전분산이 발굴되어진 SNP들에 의하여 설명되어짐. 하지만 근내지방도(Marb)의 경우 12%로 낮게 나타났는데 이러한 결과는 추가적인 SNP 발굴의 필요성을 제시함.

○ 서산집단에 비하여 상용집단에서는 상대적으로 발굴되어진 SNP들이 설명하는 비중이 낮았는데 (예: 도체중 3.5%), 이는 상용집단의 경우 서산집단에 비하여 고에너지 사료를 급여하여 비육단계를 6개월 더 연장하여 서산집단에서 보다 더 큰 표현형분산에 기인된 것으로 보임.

○ 대부분의 SNP들의 각 형질에 매우 작은 효과를 나타내며 (전체 표현형 분산의 1% 미만), 극소수의 몇 SNP (예: 14번 염색체 25Mb에 CWT SNP) 만이 표현형분산의 3% 이상을 차지하고 있음. 이러한 사실은 육량·육질과 관련된 SNP효과들은 소수의 몇 개 큰 유전자와 대다수의 작은 유전자들이 매우 작은 효과를 가지고 형질의 변이에 관여하고 있음을 알 수 있음. 따라서 본 결과는 육량·육질에 관여하는 더 많은 유전자(SNP)를 발굴하기 위해서는 작은 효과를 가진 SNP를 발굴해야하며, 그렇게 할 경우 더 많은 시료크기(sample size)가 요구됨. 최근에 유전적 개량에 적용하는 유전체선발(Genomic Selection) 방법을 수행할 경우에도 동일한 선행조건임.

○ 서산집단에서 발굴되어진 SNP들과 비교해 보면 서산에서 유의적인 SNP들과 일치되는 SNP는 매우 제한적임. (예: 6번 염색체 65Mb에 BFT SNP, 14번 염색체 10Mb에 BFT SNP, 14번 염색체 25Mb에 CWT & EMA SNP, 2번 염색체 63 Mb MS7 SNP). 또한 어떤 SNP들은 측정되어진 효과 대상 형질이 서산집단과 상용집단에서 다른 경우도 있음.

○ 이와 같이 어떤 SNP의 경우 SNP 효과가 서산집단과 상이한 결과를 보여주었는데 그 이유는 두 집단간에 환경조건이 다르기 때문임. 즉 서산집단에서는 24개월령에 출하하여 도체형질을 측정한 반면에 일반 상용집단은 고급육의 출현율을 높이기 위하여(예: >1등급이상) 고에너지 사료를 급여하는 장기 (30개월령 이상) 비육을 수행하기 때문임.

CWT (도체중, kg)

번호	SNP	BTA	Position(bp)	SNP	Minor	빈도	효과	stimates	Stderr	P-value	$\%\sigma^2_{SNP}/\sigma^2_{phenotype}$
상용집단											
1	seq-BTB-00986847	7	1,126,787	A/C	A	0.11	add	-6.4	2.5	0.0106	0.41
2	seq-ARS-BFGL-NGS-21607	11	100,481,883	C/T	T	0.08	add	-9.1	3.1	0.0035	0.54
3	seq-BTB-01280026	14	25,170,557	C/T	C	0.10	add	12.4	2.9	<.0001	1.15
4	seq-BFGL-NGS-114518	28	40,462,756	A/G	A	0.19	add	-4.2	1.9	0.0306	0.29
5	seq-BTB-00995659	28	45,898,513	A/G	A	0.47	dom	-9.2	3.9	0.0204	1.08
										합계	3.47
서산집단											
1	seq-BTA-06866-rs29021222	1	116,377,919	C/G	G	0.09	add	6.8	2.5	0.0072	0.58
2	seq-ARS-BFGL-NGS-80431	2	72,596,096	A/G	A	0.26	add	-6.5	1.7	0.0001	1.20
3	seq-BFGL-NGS-116673	7	88,679,092	G/T	T	0.07	add	9.5	2.9	0.0013	0.84
4	seq-BTB-00416489	10	32,359,100	C/T	C	0.43	dom	-7.7	3.1	0.0133	1.03
5	seq-ARS-BFGL-NGS-26028	14	21,080,793	A/G	G	0.38	add	-3.9	1.5	0.0104	0.53
6	seq-BTB-01280026	14	25,170,557	C/T	C	0.13	add	18.3	2.2	<.0001	5.31
7	seq-BTB-00635702	16	31,495,633	A/G	G	0.35	add	3.7	1.5	0.0160	0.47
8	seq-BFGL-NGS-115680	18	44,993,079	C/T	T	0.43	add	5.9	2.2	0.0090	1.15
9	seq-ARS-BFGL-NGS-55520	21	29,076,315	A/G	G	0.33	add	3.4	1.6	0.0273	0.39
10	seq-Hapmap46848-BTA-60788	26	20,312,810	A/G	A	0.39	dom	8.7	3.1	0.0050	1.33
										합계	12.83

EMA (등심단면적, cm^2)

번호	SNP	BTA	Position(bp)	SNP	Minor	빈도	효과	stimates	Stderr	P-value	$\%\sigma^2_{SNP}/\sigma^2_{phenotype}$
상용집단											
1	seq-Hapmap27208-BTA-157501	3	76,469,248	C/T	C	0.46	add	1.11	0.37	0.0027	0.56
2	seq-ARS-BFGL-NGS-28660	7	4,130,299	C/T	T	0.21	add	-1.41	0.45	0.0019	0.60
3	seq-Hapmap59023-rs29022215	9	70,552,067	C/T	T	0.49	add	1.36	0.65	0.0363	0.88
4	seq-BTB-01280026	14	25,170,557	C/T	C	0.10	add	1.58	0.68	0.0208	0.33
5	seq-BTB-00652140	16	53,663,332	C/T	C	0.11	add	-1.82	0.59	0.0022	0.58
6	seq-BTB-01107683	21	29,363,186	C/T	C	0.36	dom	-1.41	0.52	0.0066	0.46
7	seq-BFGL-NGS-114518	28	40,462,756	A/G	A	0.19	add	-1.32	0.46	0.0039	0.52
										합계	3.93
서산집단											
1	seq-ARS-BFGL-NGS-80431	2	72,596,096	A/G	A	0.26	add	-1.30	0.39	0.0008	0.95
2	seq-ARS-BFGL-NGS-104278	4	82,322,976	A/G	A	0.25	add	-1.29	0.59	0.0298	0.81
3	seq-BFGL-NGS-116673	7	88,679,092	G/T	T	0.07	dom	-1.72	0.67	0.0107	0.55
4	seq-Hapmap44798-BTA-104292	11	74,869,821	C/G	G	0.35	add	1.16	0.37	0.0020	0.81
5	seq-Hapmap44798-BTA-104292	11	74,869,821	C/G	G	0.35	dom	1.27	0.52	0.0143	0.51
6	seq-ARS-BFGL-NGS-26028	14	21,080,793	A/G	G	0.38	add	-0.73	0.35	0.0346	0.38
7	seq-BTB-01280026	14	25,170,557	C/T	C	0.13	dom	1.73	0.57	0.0027	0.76
8	seq-Hapmap53674-rs29025319	20	8,676,696	C/T	T	0.11	add	2.59	0.54	<.0001	1.94
9	seq-ARS-BFGL-NGS-23687	23	8,099,369	G/T	T	0.30	add	0.99	0.36	0.0063	0.63
										합계	7.33

<표 3-3-32>

Marb (근내지방도)

번호	SNP	BTA	Position(bp)	SNP	Minor	빈도	효과	stimates	Stderr	P-value	$\%\sigma^2_{SNP}/\sigma^2_{phenotype}$
상용집단											
1	seq-BTA-90292-no-rs	2	90,639,723	C/T	C	0.48	dom	0.41	0.17	0.0163	1.16
2	seq-BTA-104512-no-rs	4	112,700,199	A/G	G	0.21	add	-0.30	0.09	0.0013	0.63
3	seq-Hapmap33068-BTA-160954	5	18,775,860	A/G	A	0.22	add	-0.25	0.09	0.0061	0.46
4	seq-ARS-BFGL-NGS-8401	5	76,428,730	G/T	T	0.33	add	-0.17	0.08	0.0384	0.26
5	seq-ARS-BFGL-NGS-43407	5	110,911,478	A/G	G	0.46	add	0.22	0.08	0.0045	0.49
6	seq-BTB-00986847	7	1,126,787	A/C	A	0.11	add	0.29	0.12	0.0203	0.33
7	seq-BTB-00301426	7	29,194,445	A/G	A	0.48	add	-0.20	0.08	0.0092	0.41
8	seq-BTB-01837292	9	1,463,198	A/G	G	0.15	dom	0.33	0.12	0.0085	0.42
9	seq-ARS-BFGL-NGS-35190	10	104,193,801	C/T	C	0.44	add	-0.15	0.08	0.0472	0.24
10	seq-Hapmap25440-BTC-053771	14	10,464,996	A/G	A	0.39	dom	0.21	0.11	0.0483	0.24
11	seq-Hapmap23111-BTC-012395	14	51,494,004	A/C	A	0.14	add	-0.29	0.12	0.0129	0.37
12	seq-BTB-00652140	16	53,663,332	C/T	C	0.11	add	-0.36	0.12	0.0038	0.51
13	seq-BTB-01107683	21	29,363,186	C/T	C	0.36	add	0.17	0.08	0.0329	0.28
14	seq-ARS-BFGL-NGS-24167	24	49,979,961	C/T	C	0.17	add	-0.20	0.10	0.0431	0.25
15	seq-BFGL-NGS-114518	28	40,462,756	A/G	A	0.19	add	-0.48	0.10	<.0001	1.52
										합계	7.54
서산집단											
1	seq-BFGL-NGS-117383	2	63,905,821	A/G	A	0.21	add	-0.28	0.08	0.0005	1.01
2	seq-ARS-BFGL-NGS-102388	3	20,000,610	C/T	T	0.13	add	-0.27	0.10	0.0049	0.67
3	seq-ARS-BFGL-NGS-41558	3	123,148,964	A/C	A	0.10	add	0.87	0.21	<.0001	1.45
4	seq-ARS-BFGL-NGS-41558	3	123,148,964	A/C	A	0.10	dom	-0.67	0.24	0.0046	0.67
5	seq-ARS-BFGL-NGS-21607	11	100,481,883	C/T	T	0.06	add	-0.30	0.14	0.0307	0.39
6	seq-ARS-BFGL-NGS-23687	23	8,099,369	G/T	T	0.30	dom	-0.23	0.09	0.0155	0.49
7	seq-BTA-61647-no-rs	26	42,127,980	G/T	T	0.13	add	-0.22	0.10	0.0227	0.44
8	seq-BTA-65463-no-rs	29	31,816,218	G/T	G	0.10	add	0.35	0.10	0.0009	0.94
										합계	6.05

BFT (등지방두께)

번호	SNP	BTA	Position(bp)	SNP	Minor	빈도	효과	stimates	Stderr	P-value	$\%\sigma^2_{SNP}/\sigma^2_{phenotype}$
상용집단											
1	seq-ARS-BFGL-NGS-26771	1	69,528,623	A/G	A	0.36	add	1.07	0.41	0.0088	2.00
2	seq-Hapmap27208-BTA-157501	3	76,469,248	C/T	C	0.46	add	-0.45	0.19	0.0173	0.39
3	seq-ARS-BFGL-NGS-41558	3	123,148,964	A/C	A	0.13	add	-0.77	0.29	0.0083	0.48
4	seq-Hapmap33068-BTA-160954	5	18,775,860	A/G	A	0.22	add	-0.55	0.23	0.0168	0.39
5	seq-BTB-01312166	6	65,708,017	C/T	T	0.05	add	-1.17	0.49	0.0169	0.39
6	seq-BTB-00986847	7	1,126,787	A/C	A	0.11	dom	-0.78	0.35	0.0267	0.34
7	seq-ARS-BFGL-NGS-31807	10	63,139,835	A/G	A	0.28	dom	0.54	0.27	0.0446	0.28
8	seq-BTA-100668-no-rs	10	68,586,181	A/C	A	0.23	add	0.69	0.23	0.0027	0.62
9	seq-ARS-BFGL-NGS-32379	10	82,876,725	A/G	A	0.43	add	-0.38	0.19	0.0446	0.28
10	seq-Hapmap25440-BTC-053771	14	10,464,996	A/G	A	0.39	add	0.47	0.19	0.0162	0.40
11	seq-BTB-01640837	14	36,095,273	G/T	G	0.40	dom	0.53	0.26	0.0441	0.28
12	seq-Hapmap23111-BTC-012395	14	51,494,004	A/C	A	0.14	dom	0.89	0.32	0.0059	0.52
13	seq-Hapmap46894-BTA-89312	26	12,496,998	A/G	A	0.30	dom	-0.68	0.27	0.0109	0.44
										합계	6.79
서산집단											
1	seq-Hapmap24136-BTA-124014	1	55,673,837	G/T	G	0.16	add	0.62	0.22	0.0044	0.66
2	seq-Hapmap39595-BTA-85742	2	39,098,749	G/T	G	0.07	add	-0.86	0.32	0.0068	0.60
3	seq-ARS-BFGL-NGS-2229	3	121,786,597	C/T	T	0.09	add	-0.87	0.44	0.0481	0.63
4	seq-ARS-BFGL-NGS-104278	4	82,322,976	A/G	A	0.25	add	1.69	0.38	<.0001	3.20
5	seq-ARS-BFGL-NGS-104278	4	82,322,976	A/G	A	0.25	dom	-1.70	0.47	0.0003	2.15
6	seq-BTA-104512-no-rs	4	112,700,199	A/G	G	0.21	dom	0.60	0.24	0.0106	0.53
7	seq-ARS-BFGL-NGS-8401	5	76,428,730	G/T	T	0.29	add	0.61	0.20	0.0027	0.73
8	seq-ARS-BFGL-NGS-8401	5	76,428,730	G/T	T	0.29	dom	0.59	0.26	0.0258	0.40
9	seq-ARS-BFGL-NGS-43407	5	110,911,478	A/G	G	0.41	add	0.49	0.16	0.0027	0.73
10	seq-BTB-01312166	6	65,708,017	C/T	T	0.05	add	-0.87	0.35	0.0129	0.50
11	seq-ARS-BFGL-NGS-65062	6	121,357,123	A/C	C	0.47	dom	1.07	0.34	0.0017	1.60
12	seq-ARS-BFGL-NGS-84417	7	45,559,923	G/T	T	0.17	dom	0.91	0.38	0.0180	0.91
13	seq-Hapmap44798-BTA-104292	11	74,869,821	C/G	G	0.35	add	0.35	0.17	0.0437	0.33
14	seq-Hapmap44798-BTA-104292	11	74,869,821	C/G	G	0.35	dom	-0.59	0.24	0.0135	0.50
15	seq-Hapmap25440-BTC-053771	14	10,464,996	A/G	A	0.37	add	0.69	0.17	<.0001	1.29
16	seq-Hapmap25440-BTC-053771	14	10,464,996	A/G	A	0.37	dom	-0.71	0.24	0.0027	0.74
17	seq-Hapmap23111-BTC-012395	14	51,494,004	A/C	A	0.12	add	0.49	0.25	0.0498	0.31
18	seq-BTB-00635702	16	31,495,633	A/G	G	0.35	add	0.38	0.16	0.0205	0.44
19	seq-Hapmap53674-rs29025319	20	8,676,696	C/T	T	0.11	add	-1.68	0.49	0.0006	0.96
20	seq-Hapmap53674-rs29025319	20	8,676,696	C/T	T	0.11	dom	-1.27	0.55	0.0212	0.43
21	seq-BTA-18321-no-rs	20	66,423,918	A/G	A	0.45	dom	-0.45	0.22	0.0402	0.34
22	seq-BTB-00927181	26	18,624,183	A/G	A	0.46	dom	0.68	0.34	0.0453	0.65
23	seq-BTA-100341-no-rs	26	34,983,053	G/T	T	0.41	add	-0.46	0.16	0.0035	0.70
24	seq-ARS-BFGL-NGS-39970	27	32,759,635	C/T	T	0.36	add	-0.63	0.18	0.0004	1.03
25	seq-ARS-BFGL-NGS-39970	27	32,759,635	C/T	T	0.36	dom	-0.48	0.24	0.0431	0.33
										합계	20.71

○ 따라서 상당수의 거세우들에게 비육후기에 고에너지사료를 급여시 육질이 많이 향상되는데, 이와같은 결과는 24개월령 도체에서 유의적인 효과를 가지는 SNP 마커들이 비육후기의 지방축적 유도 사양으로 인하여 마커효과가 상쇄되는 사실을 지적하고 있음.

○ 이러한 결과는 24개월 도체시기와 30개월 도체시기에 따른 적절한 유전마커를 선별해서 마커도움선발을 적용해야 하는 사실을 제시하여 줌.

4. 발굴된 육량·육질 SNP 마커를 보정한 분자육종가 추정 및 선발반응 평가

가. SNP 마커를 보정한 분자 육종가(MBV) 추정

○ 각 SNP에 대하여 다음과 같은 SNP 상가적 효과를 보정한 단순회귀분석 모델을 적용하였음

$$Y = \Sigma X\beta + e,$$

여기서 Y=각 개체들의 분자육종가를 포함하는 벡터, X = 각 SNP 유전자형에 해당되는 계수값을 포함하는 설계행렬로, 유전자형, AA, AB, BB에 대하여 각각 1, 0, -1을 나타내며 β은 해당 표현형에 대하여 발굴되어진 SNP들의 상가적(additive) 효과 측정치 벡터를 나타냄.

○ 각 개체별로 마커 육종가는 다음과 같은 식에 의하여(n개의 SNP들이 선별되어진 경우) 결정됨.

$$MBV = \Sigma\beta X = \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 \text{ --- } + \beta_n X_n$$

○ 서산 후보 종모우 MBV 추정

- 서산집단에서 발굴되어진 SNP 35개, 상용집단에서 발굴되어진 SNP 29개의 육량·육질 추정값을 이용하여, 동 SNP들의 유전자형을 기록하고 있는 후보종모우 77두에 대하여 적용하여 24개월령(서산집단) 분자육종가, 30개월령(상용집단)분자육종가 값을 추정하였음. 아래표는 해당 종모우의 표현형 육종가(축산과학원 개량평가과에서 추정되어진 값), 24개월, 30개월 육종가 값을 나타내고 있음.

<표 3-3-33>

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
1		혈통육종가(EPD)				분자육종가(24개월령출하)				분자육종가(30개월령출하)			
2	KPN	BFT	EMA	CWT	Marb	BFT	EMA	CWT	Marb	BFT	EMA	CWT	Marb
3	KPN546	-0.13	-0.21	5.57	0.60	-3.89	1.73	-5.01	0.23	-0.24	-1.26	-20.23	1.77
4	KPN574	-0.86	3.40	-6.16	-0.12	-2.79	7.07	-2.34	-1.61	1.06	-4.44	-11.04	1.22
5	KPN582	-0.31	1.76	3.63	-0.05	-6.80	4.28	12.68	-0.62	-2.44	2.26	-20.23	0.27
6	KPN583	0.48	-1.64	0.32	0.78	-1.83	5.42	12.99	-1.44	-1.16	-0.01	-15.20	1.38
7	KPN584	0.02	1.32	4.10	0.48	-2.24	5.04	1.86	-1.76	-0.98	1.26	-26.62	1.01
8	KPN590	-0.25	2.01	2.05	0.15	-5.05	1.53	-5.95	-1.73	-0.93	-1.21	-20.23	1.20
9	KPN591	2.23	-2.22	2.56	0.41	1.20	3.44	16.31	-1.73	0.86	-2.83	-11.04	0.47
10	KPN593	-0.51	0.39	3.73	1.00	-4.86	6.14	-2.52	-1.11	-0.16	2.67	-17.43	1.34
11	KPN594	-1.45	2.00	7.92	-0.35	-4.64	1.99	30.55	-2.04	0.38	1.99	9.68	1.42
12	KPN596	2.20	-0.02	8.45	-0.24	-2.89	6.04	0.19	-1.53	-0.83	-3.08	-11.04	0.44
13	KPN601	-0.23	-3.34	-2.81	0.36	-3.73	0.12	-15.07	-1.41	-2.24	2.92	-17.43	1.87
14	KPN604	-1.00	0.20	7.26	-1.03	-2.90	4.32	-3.73	-1.73	1.27	0.40	-17.43	2.15
15	KPN606	1.07	0.99	1.35	1.00	-2.40	2.71	-9.98	-1.73	2.32	1.26	-11.04	1.63
16	KPN609	0.53	-1.15	0.94	0.16	-0.15	3.58	-15.10	-1.46	1.41	-2.37	-20.23	0.32
17	KPN610	0.10	0.72	4.06	0.33	-6.86	3.69	-23.69	-1.16	0.34	1.81	-20.23	1.13
18	KPN613	1.27	-0.58	-6.62	0.12	-3.65	5.31	7.70	-0.84	1.64	0.40	-20.23	1.09
19	KPN616	-0.99	2.10	0.21	-0.18	-5.81	-2.02	-22.48	-1.19	1.70	0.40	-20.23	0.82
20	KPN618	1.73	1.05	2.86	0.20	-3.94	4.43	2.46	-1.82	-0.95	-1.26	-11.04	1.28
21	KPN619	-1.25	1.94	-3.31	0.34	-4.37	3.32	-2.21	-1.73	-1.76	0.20	-11.04	1.26
22	KPN620	-0.10	-1.46	-1.56	0.46	1.19	-3.18	-9.69	-1.95	3.12	1.51	-20.23	0.45
23	KPN621	0.39	0.25	0.91	-0.10	-3.43	4.31	6.85	-1.73	1.36	-1.26	-20.23	0.97
24	KPN622	0.06	2.32	8.20	0.40	0.73	7.04	18.26	-0.74	1.33	2.68	1.40	0.12
25	KPN624	-1.36	-1.26	-6.24	0.29	-5.74	2.72	-2.03	-1.95	0.74	0.10	-11.04	1.48
26	KPN625	2.18	-0.04	8.09	-0.76	-2.78	3.49	-0.41	-1.78	-0.15	-4.35	-15.20	0.46
27	KPN626	-2.03	5.40	8.29	1.20	-4.06	4.62	3.19	-1.38	-1.53	0.15	-11.04	1.37
28	KPN628	-0.03	1.95	15.24	0.89	-4.04	4.06	1.12	-1.81	-0.75	-0.92	-15.20	1.03
29	KPN629	1.17	0.70	8.92	0.39	-3.18	3.46	19.81	-2.04	-1.62	1.52	-2.76	1.24
30	KPN631	-0.32	2.15	-4.11	0.49	-7.08	3.69	-13.27	-1.11	0.34	-3.73	-11.04	1.03
31	KPN633	0.03	0.51	4.51	0.22	-2.56	1.83	2.77	-1.68	1.06	-3.73	-20.23	1.48
32	KPN635	1.26	-0.34	4.84	-0.01	1.30	-0.86	-0.25	-1.34	-0.52	-1.47	-15.20	0.32
33	KPN637	1.17	0.17	9.57	0.54	-1.52	2.60	9.10	-1.93	1.75	1.65	-6.05	1.03
34	KPN646	0.92	-0.02	4.40	-1.05	-3.24	3.03	16.91	-2.29	0.00	-1.58	-15.20	0.42
35	KPN678	-0.38	-1.40	-3.67	0.15	-7.36	1.74	15.20	-1.73	-0.16	-2.82	-2.76	1.18
36	KPN687	-1.01	4.19	3.04	-0.45	-5.00	5.42	-7.16	-1.78	1.35	-1.26	-20.23	0.27
37	KPN690	0.62	-0.73	-0.11	0.47	-4.66	0.54	6.51	-1.46	-1.45	-2.58	-24.39	1.85
38	KPN694	0.97	1.76	8.01	1.06	-3.94	2.72	-3.53	-1.68	0.55	-1.21	-20.23	1.59
39	KPN696	0.07	1.33	4.76	0.58	-4.55	3.86	10.12	-2.04	-1.39	0.24	-15.20	0.28
40	KPN697	0.55	-1.13	1.09	-0.06	-3.74	7.19	23.11	-2.01	-0.85	1.78	1.40	1.08
41	KPN698	0.01	1.02	-2.94	0.48	-5.79	8.07	17.54	-1.95	-1.15	2.84	1.40	0.96
42	KPN700	-1.10	3.70	-5.56	0.31	-5.23	6.45	2.46	-2.23	-1.63	-1.72	-20.23	0.39
43	KPN705	-0.25	3.76	-0.64	0.29	-2.99	3.01	-9.59	-1.61	-1.40	-2.37	-20.23	0.58

○ 혈통육종가, 24개월령출하 & 30개월령출하 분자육종가간에 상관계수는 다음과 같이 계산되어 짐.

<표 3-3-34>

상관계수	BFT	EMA	CWT	Marb
표현형-혈통:24개월령분자육종가	0.32	0.34	0.36	0.24
표현형-혈통:30개월령분자육종가	0.18	0.05	0.29	0.28
24개월령:30개월령분자육종가	0.04	0.47	0.67	0.47

- 혈통-24개월, 혈통-30개월령 분자육종가간의 상관계수값은 0.05에서 0.36으로 비교적 낮은 정의 상관을 보였는데 가장 높은 상관은 0.36값을 보인 도체중에서 혈통-24개월분자육종가 간에 나타났음.
- 혈통-24개월MBV 상관이 혈통-30개월령 MBV 상관보다 더 높게 나타났는데 이는 혈통육종가값이 24개월령에 출하된 자손거세우 성적에 근거하여 추정되어지기 때문으로 보임.
- 24개월령MBV －30개월령MBV 상관의 경우 등지방두께는 상관값이 0.04로이 매우 낮은 반면에 도체중은 0.67, 배장근단면적 및 근내지방도는 0.47로 중정도 정의 상관을 보임. 이러한 결과는 등지방두께와 관련되어 발굴되어진 SNP마커들의 효과는 24개월출하시기와 30개월 출하시기에 관련성이 적음을 시사하고 있음.

○ 본 결과에 근거하여 볼 때, 발굴되어진 SNP마커들은 형질의 유전분산 전체를 설명하지는 않고 부분적으로 제한되어 설명하고 있기 때문에 후보 종모우 선발이나, 우량암소 검정시에 혈통-표현형 육종가와 분자육종가를 동시에 고려하여 선발하는 방법이 적절하다고 판단됨.

○ 암소 육량육질 분자육종가 추정

- 죽암농장에서 사육되고 있는 임의의 암소 96두를 선별하여 Illumina 50k SNP chip으로 genotype을 수행하였고, 서산집단 및 상용집단을 이용하여 발굴되어진 55개 SNP들에 대하여 각 형질별로 측정값들을 각 개체의 SNP 유전자형에 따른 측정값을 보정하여 아래와 같은 분자육종가(MBV) 값을 측정하였음.
- 이 MBV값에 근거하여 암소에서 태어나는 수송아지의 육량육질을 미리 예측하여, 암소의 선발 또는 도태 여부에 근거를 제시할 수 있음 (서산종모우_죽암암소_MBV_형기은.xlsx).

나. 각 형질별로 마커도움 선발반응(MAS) 평가

○ 마커도움선발의 효율성 평가는 다음과 같음.

$E = R_{MAS}/R_P = (1/h)[q+h^2_{pol}(1-q)]^{1/2}$

$R_{MAS} = ir_{g,I}\sigma_g$,로 마커도움선발반응, R_P:표현형 선발 반응을 나타냄.

h^2: 해당형질의 유전력, q:유전분산중에서 SNP로 설명되는 비율이며

$h^2_{pol} = h^2(1-q)/(1-qh^2)$

○ 따라서 서산 및 상용 집단에서 발굴되어진 각 형질별로 마커도움선발의 효율성은 다음과 같음.

<표 3-3-35>

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1	죽암농장		분자육종가(24개월령출하)				분자육종가(30개월령출하)			
2	암소	초산일령	BFT	EMA	CWT	Marb	BFT	EMA	CWT	Marb
3	JA393	791	-3.80	4.84	-28.68	-1.74	1.44	-4.15	-15.20	-0.22
4	JA264	661	-3.95	4.12	-18.74	-2.01	-1.87	-1.58	-15.20	0.08
5	JA392	706	-3.48	4.74	-19.15	-2.01	0.00	-1.63	-24.39	0.90
6	JA443	796	-4.88	1.58	-11.77	-1.71	-1.25	-5.46	-21.63	0.46
7	JA539	673	-0.67	4.18	-4.11	-2.01	-1.60	0.89	-21.59	0.74
8	JA389	714	-5.00	4.12	-17.19	-1.66	0.73	-4.15	-24.39	0.09
9	JA494	703	-7.95	4.16	-13.79	-1.44	-0.33	-4.10	-15.20	0.57
10	JA435	754	-3.46	4.48	-22.02	-1.96	-0.53	-4.40	-24.39	1.03
11	JA519	674	-3.62	4.15	12.15	-1.78	1.07	-2.82	-2.76	0.17
12	JA535	802	-4.78	6.76	-10.90	-2.01	-0.39	-5.51	-15.20	0.64
13	JA398	815	-4.52	6.60	-11.23	-1.66	1.14	-1.33	-24.39	0.16
14	JA543	800	-5.31	4.12	-17.71	-1.31	-0.94	-3.29	-15.20	1.22
15	JA523	747	-3.95	6.03	-18.56	-1.78	-0.27	-1.58	-24.39	0.42
16	JA403	818	-0.59	4.01	-13.45	-1.74	-0.63	-4.40	-15.20	-0.12
17	JA268	825	-5.66	4.59	-2.18	-2.23	-1.52	-1.88	-24.39	0.47
18	JA526	748	-4.09	3.49	-22.02	-1.51	-2.83	-1.83	-15.20	0.10
19	JA506	879	-3.02	5.15	-10.05	-2.01	0.38	-1.33	-15.20	-0.20
20	JA379	711	-5.07	4.43	-7.49	-2.01	-1.34	-0.47	-21.59	0.39
21	JA265	644	-6.08	4.42	-13.97	-2.01	0.83	-5.76	-15.20	0.64
22	JA262	664	-4.75	6.03	-6.10	-1.44	-2.38	-1.88	-15.20	0.36
23	JA397	780	-4.32	2.99	-21.83	-1.74	1.65	-4.10	-15.20	0.21
24	JA399	699	-5.49	7.44	-19.46	-1.74	-0.69	-4.35	-15.20	0.55
25	JA501	859	-0.74	4.43	0.20	-1.59	0.71	-1.63	-24.39	-0.63
26	JA384	664	-3.97	5.15	-21.68	-1.93	2.38	-2.99	-6.05	0.31
27	JA433	791	-3.30	2.45	-17.56	-2.23	0.83	-2.69	-15.20	-0.37
28	JA387	700	-2.37	4.01	-16.88	-2.01	0.22	-2.99	-30.78	1.04
29	JA518	720	-4.00	1.69	-17.71	-1.09	-1.95	-0.22	-21.59	0.36
30	JA396	742	-3.93	4.85	-14.51	-2.01	-0.38	-4.40	-15.20	0.94
31	JA408	706	-3.67	4.12	-6.97	-2.01	-0.69	-6.87	-15.20	0.41
32	JA402	817	-2.63	6.60	-19.95	-1.51	1.13	-1.33	-15.20	-0.21
33	JA423	607	-2.51	4.01	-17.40	-2.01	0.09	-3.04	-15.20	0.38
34	JA412	747	-4.09	4.01	-29.86	-2.01	0.03	-5.46	-30.78	0.25

<표 3-3-36>

서산집단				
형질	h^2	q	h^2_{pol}	MAS효율도
BFT	0.40	0.518	0.24	2.0
CWT	0.33	0.388	0.23	2.2
EMA	0.41	0.178	0.36	1.5
Marb	0.50	0.122	0.47	1.2

상용집단				
형질	h^2	q	h^2_{pol}	MAS효율도
BFT	0.40	0.170	0.36	1.5
CWT	0.33	0.106	0.31	1.7
EMA	0.41	0.095	0.39	1.4
Marb	0.50	0.122	0.47	1.2

- 일반적으로 해당 형질의 유전력이 낮은 경우와 마커로 설명되는 유전분산정도가 높을수록 MAS 효율도는 높아짐. 서산집단에서 등지방두께와 도체중의 경우 효율도가 각각 2.0 및 2.2로 높은 수치를 나타내었고 근내지방도의 경우 1.5, 배장근단면적의 경우 1과 거의 근사한 값을 나타내어 표현형 선발을 이용한 선발 반응과 별 차이를 보이지 않음.
- 상용집단의 경우 서산집단보다 MAS 효율도가 낮게 나타났는데 이는 마커로 설명되어지

는 유전분산비율이 낮기 때문임.

- 이러한 결과는 서산집단 및 상용집단에서 도체중의 경우 발굴된 마커를 적용할 경우 기존 표현형선발보다 훨씬 높은 선발반응을 기대할 수 있으며 서산집단에서 등지방두께의 경우 기존 표현형선발보다 높은 선발반응을 기대할 수 있음. 하지만 도체중 이외의 다른 육질 형질에서는 마커로 설명되어지는 유전분산을 높이기 위하여 부가적인 형질관련 마커의 발굴 필요성을 제시하여 줌.

제 4 절 대규모 SNP genotyping을 통한 형질 관련 SNP contents 발굴

1. 연구개발 내용 및 방법

가. Picogreen (DNA specific fluoroscence dye)을 이용한 정밀한 DNA 농도 측정

○ DNA genome-wide Chip 실험시 실험의 성공 여부를 결정하는 주요 요인으로 시료 DNA의 농도를 들 수 있으며, 일반적으로 DNA의 농도 측정에 사용되는 spectrophotometer의 OD 값은 260 nm에서의 상대적인 DNA 농도를 구하는 것으로 본 연구에는 부적합함.

○ 각 시료 당 750 ng (15 ul)의 DNA가 필요하며 Picogreen을 이용하여 측정된 농도를 기준으로 함 <그림 3-4-1>.

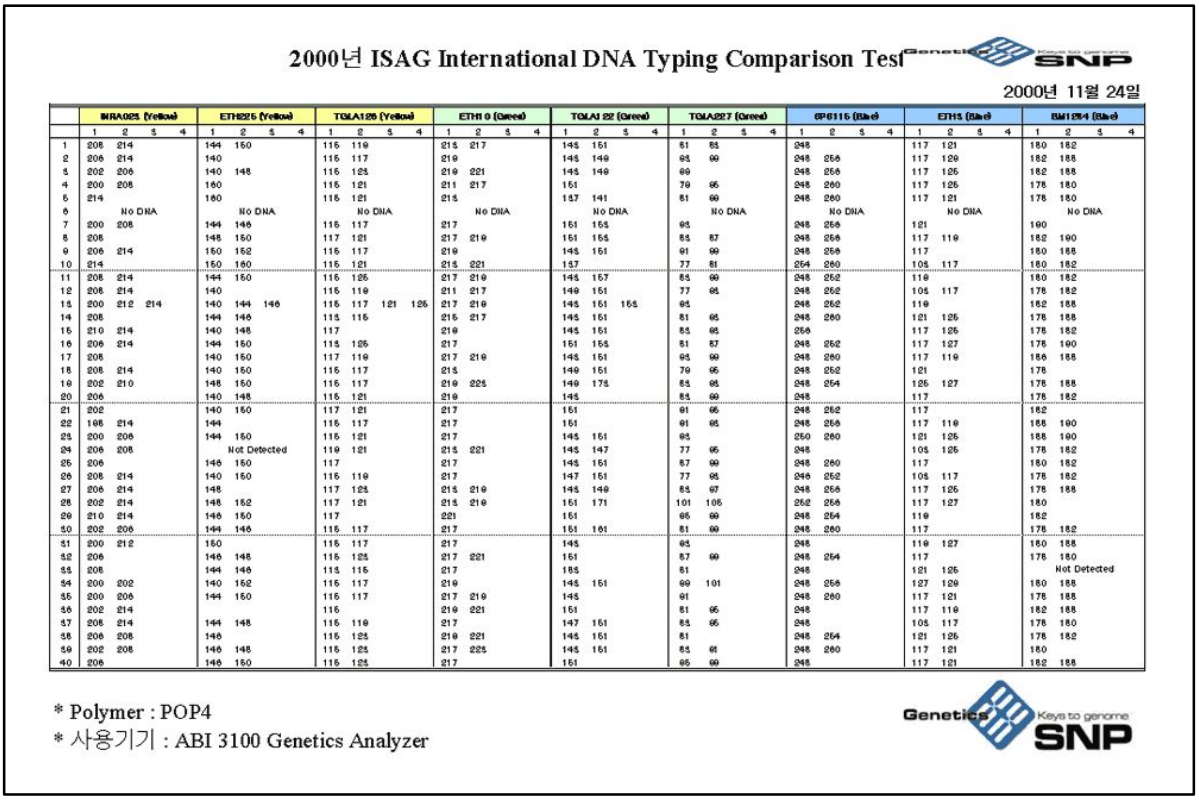
<그림 3-4-1>. Chip 실험용 DNA 농도 측정 시스템 (Fluorometer)

나. ISAG marker를 활용한 친자감별 및 혈통확인

○ PicoGreen 을 통해 정량화된 DNA의 PCR 은 ABI 9700을 사용하였으며, PCR 후 ABI3100을 이용하여 전기영동 수행 후 genotyper를 이용하여 각 개체의 유전형을 확인하였음.

○ 2000년 11월 24일 축산기술연구소와 공동으로 국제동물유전학회(ISAG)가 주관한 microsatellite DNA typing 국제비교시험에 참가하여 공시된 9개 microsatellite marker를 정확

히 typing하여 얻은 공신력으로 연구에서 사용될 한우 시료들의 혈통관계를 확인하였음.



2000년 ISAG International DNA Typing Comparison Test

2000년 11월 24일

	INRA023 (Yellow)				ETH225 (Yellow)				TGLA126 (Yellow)				ETH10 (Green)				TGLA122 (Green)				TGLA227 (Green)				BP6116 (Blue)				ETH3 (Blue)				BM1824 (Blue)			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	208	214			144	150			115	119			215	217			145	151			81	85			248				117	121			180	182		
2	206	214			140				115	117			219				145	149			95	99			248	256			117	129			182	188		
3	202	206			140	148			115	125			219	221			145	149			99				248	256			117	125			182	188		
4	200	208			150				115	121			211	217			151				79	95			248	260			117	125			178	180		
5	214				150				115	121			215				137	141			81	99			248	260			117	121			178	180		
6	No DNA				No DNA				No DNA				No DNA				No DNA				No DNA				No DNA				No DNA				No DNA			
7	200	208			144	146			115	117			217				151	155			95				248	256			121				190			
8	208				148	150			117	121			217	219			151	155			85	87			248	256			117	119			182	190		
9	206	214			150	152			115	117			219				145	151			91	99			248	256			117				180	188		
10	214				150	160			115	121			215	221			137				77	81			254	260			105	117			180	182		
11	208	214			144	150			115	125			217	219			145	157			85	99			248	252			119				180	182		
12	206	214			140				115	119			211	217			149	151			77	95			248	252			105	117			178	182		
13	200	212	214		140	144	146		115	117	121	125	217	219			145	151	155		95				248	252			119				182	188		
14	208				144	146			115	115			215	217			145	151			81	85			248	260			121	125			178	188		
15	210	214			140	148			117				219				145	151			85	95			256				117	125			178	182		
16	206	214			144	150			115	125			217				151	155			81	87			248	252			117	127			178	190		
17	208				140	150			117	119			217	219			145	151			95	99			248	260			117	119			186	188		
18	208	214			140	150			115	117			215				149	151			79	95			248	252			121				178			
19	202	210			148	150			115	117			219	225			149	175			85	95			248	254			125	127			178	188		
20	206				140	148			115	121			219				145				85	99			248				117				178	182		
21	202				140	150			117	121			217				151				91	95			248	252			117				182			
22	198	214			144				115	117			217				151				91	95			248	256			117	119			188	190		
23	200	206			144	150			115	121			217				145	151			95				250	260			121	125			188	190		
24	206	208			Not Detected				119	121			215	221			145	147			77	95			248				105	125			178	182		
25	206				146	150			117				217				145	151			87	99			248	260			117				180	182		
26	208	214			140	150			115	119			217				147	151			77	95			246	252			105	117			178	182		
27	206	214			148				117	125			215	219			145	149			85	97			248	256			117	125			178	188		
28	202	214			148	152			117	121			215	219			151	171			101	105			252	256			117	127			180			
29	210	214			146	150			117				221				151				95	99			248	254			119				182			
30	202	206			144	146			115	117			217				151	161			81	99			248	260			117				178	182		
31	200	212			150				115	117			217				145				95				248				119	127			180	188		
32	206				146	148			115	125			217	221			151				87	99			248	254			117				178	180		
33	208				144	146			115	115			217				155				81				248				121	125			Not Detected			
34	200	202			140	152			115	117			219				145	151			99	101			248	256			127	129			180	188		
35	200	206			144	150			115	117			217	219			145				91				248	260			117	121			178	188		
36	202	214							115				219	221			151				81	95			248				117	119			182	188		
37	208	214			144	148			115	119			217				147	151			85	95			248				105	117			178	180		
38	206	208			146				115	125			219	221			145	151			81				248	264			121	125			178	182		
39	202	208			146	148			115	125			217	225			145	151			85	91			248	260			117	121			180			
40	206				146	150			115	125			217				151				95	99			248				117	121			182	188		

* Polymer : POP4
* 사용기기 : ABI 3100 Genetics Analyzer

<그림 3-4-2>. ISAG international DNA typing comparison test.

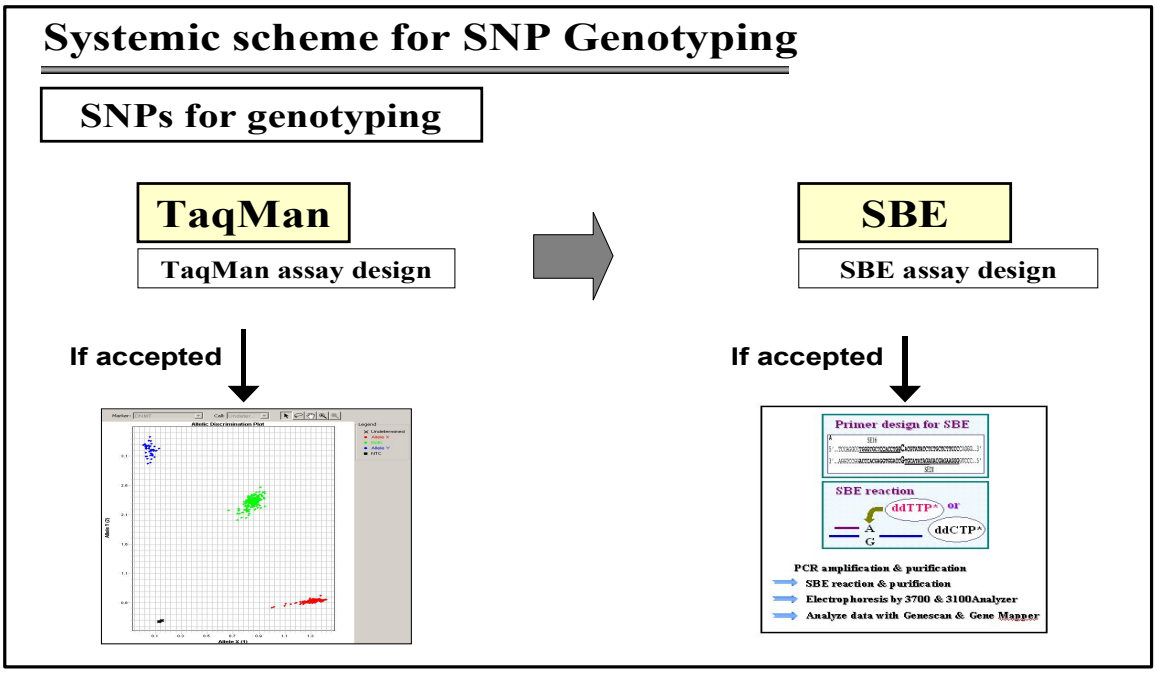
○ 9개의 ISAG merker 정보는 표 1과 같음.

<표 3-4-1>. International Panel of Microsatellites for Cattle Parentage Testing (ISAG Panel)

Locus	Primer Sequence (5'-3')	
BM1824	Forward	GAGCAAGGTGTTTTTCCAATC
	Reverse	CATTCTCCAACTGCTTCCTTG
BM2113	Forward	GCTGCCTTCTACCAAATACCC
	Reverse	CTTCCTGAGAGAAGCAACACC
INRA023	Forward	GAGTAGAGCTACAAGATAAACTTC
	Reverse	TAACTACAGGGTGTTAGATGAACTC
SPS115	Forward	AAAGTGACACAACAGCTTCTCCAG
	Reverse	AACGAGTGTCCTAGTTTGGCTGTG
TGLA122	Forward	CCCTCCTCCAGGTAAATCAGC
	Reverse	AATCACATGGCAAATAAGTACATAC
TGLA126	Forward	CTAATTTAGAATGAGAGAGGCTTCT
	Reverse	TTGGTCTCTATTCTCTGAATATTCC
TGLA227	Forward	CGAATTCCAAATCTGTTAATTTGCT
	Reverse	ACAGACAGAAACTCAATGAAAGCA
ETH10	Forward	GTTCAGGACTGGCCCTGCTAACA
	Reverse	CCTCCAGCCCACTTTCTCTTCTC
ETH225	Forward	GATCACCTTGCCACTATTTCCT
	Reverse	ACATGACAGCCAGCTGCTACT

다. 육량·육질 관련 candidate SNP의 association analysis

○ TaqMan 및 SBE 기법은 각각 typing 할 SNP의 규모에 따라 적절하게 선택·운용함으로써 단기간에 대량의 시료에서 다수의 SNP를 효율적으로 genotyping 할 수 있음. 우선 TaqMan probe system을 이용하며, TaqMan assay 적용이 적절하지 못한 SNP들은 최종적으로 SBE 기법을 위한 extension primer를 자체적으로 design함으로써 실험여건에 따른 최적의 기법을 선택함 <그림 3-4-3>.

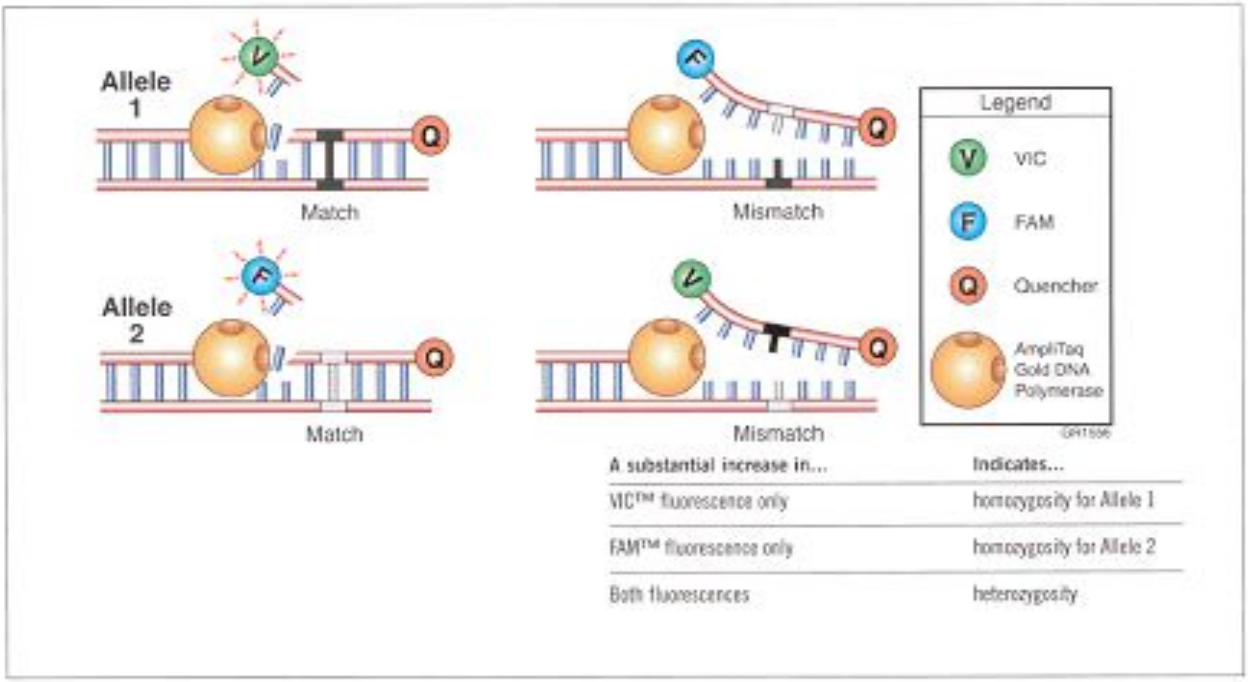


<그림 3-4-3>. TaqMan 및 SBE assay.

○ 384 well microplate를 이용한 High-throughput genotyping system 이용으로 대량의 genotype를 분석하며, 실험 자동화를 위해 ABI 3100/3730 analyzer, 7900HT system, GeneAmp PCR System 9700, Hydra robot 등의 automation 장비를 이용함. 결과는 Gene-mapper, GeneScan, Genotyper 등 다양한 Software를 이용하여 분석함으로써 고효율로 SNP screening을 수행함.

○ SNP Genotyping by TaqMan assay

- 지정된 polymorphic site의 genotyping을 위해서 TaqMan assay를 이용하며, TaqMan probe의 한쪽은 FAM dye를 다른 한쪽은 VIC dye로 labelling 하여 사용함.
- PCR은 TaqMan universal Master mix에 900 nM의 PCR primer와 200 nM의 TaqMan probe를 혼합하여 20ng의 genomic DNA와 함께 total volume이 5uL가 되도록 조정한 후 PCR 반응을 수행 함.
- PCR 반응은 50℃에서 20분간 pre-reaction을 시킨 후 95℃에서 10분간 denaturation 시키고 이어서 95℃ 15초와 60℃ 1분의 반응을 40 cycle 동안 반복 수행하여 반응시킨 후 반응된 산물은 ABI Prizm 7900HT에 옮겨서 형광 밀도를 측정하여 결과를 확인함 (그림 4).



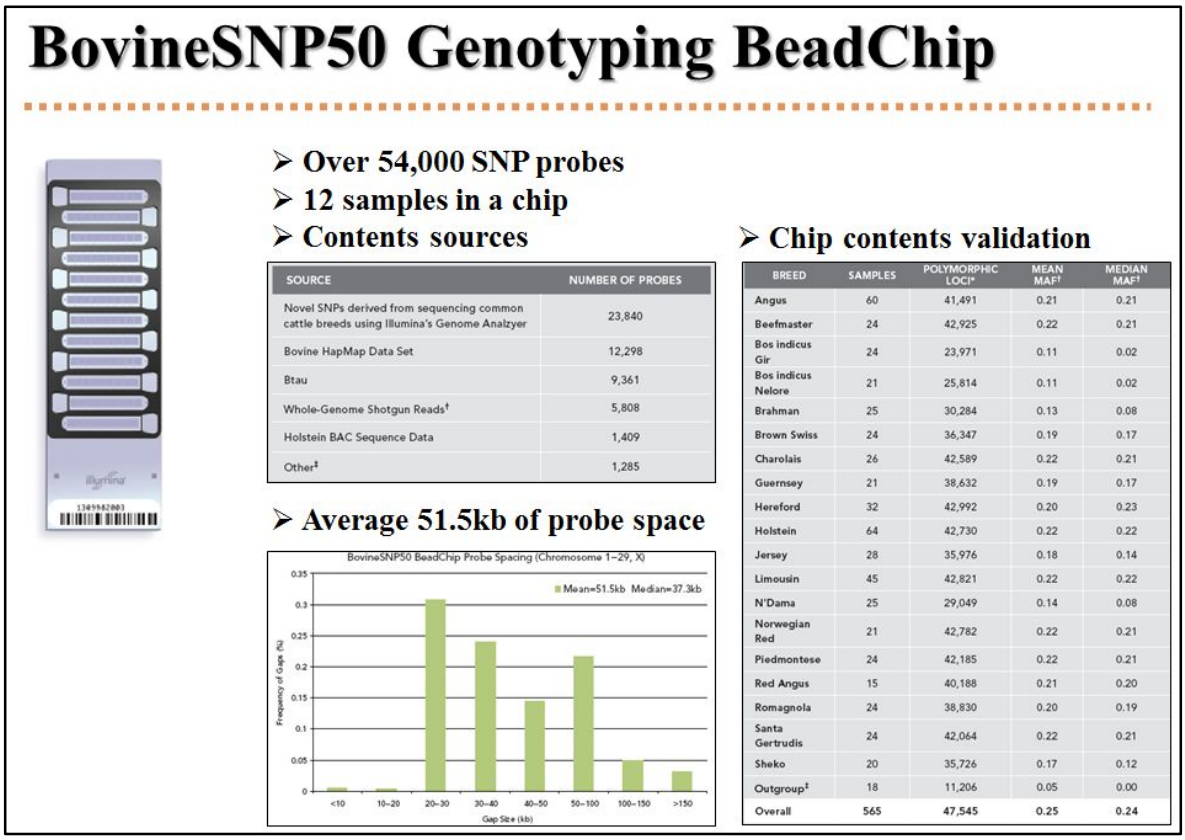
<그림 3-4-4>. TaqMan Assay의 원리.

○ 실증시험을 위한 SNP genotyping이 완료되면 (주)에스엔피제네틱스에서 그간 축적한 다양한 분석 기법을 이용하여 SNP와 관련된 다양한 genetic analysis (allele frequency, HWE, haplotype construction & frequency, Linkage Disequilibrium co-efficiency(|D'|, X^2 P value, r^2, d^2)를 수행함.

○ 또한 logistic analysis 등의 다양한 통계 기법을 **semi-automated scheme을 적용**하여 SNP 우종간 차이를 분석함. 즉, 시료의 genotype data와 우종관련 자료를 merging하여 library를 구성하고 우종간 차이 분석을 위한 기본적인 분석 code를 자동화하여 SAS 시스템을 통한 분석을 수행함.

라. Bovine 50K Chip을 이용한 SNP genotyping

○ 한우의 유전체 분석을 위해 Illumina, Inc.에서 개발된 5만개의 cattle SNP contents를 함유하고 있는 Bovine 50K chip을 이용하였음 <그림 3-4-5>.



<그림 3-4-5>. Genome-wide SNP BeadChip for Bovine.

○ Bovine 50K chip은 총 54,001개의 SNP로 구성되어 있으며, 20여개 breed에서 확인된 polymorphic loci이며, Illumina 자체적으로 확인한 SNP가 23,840개, Bovine HapMap DB에서 12,298개, Btau에서 9,361개, Whole-genome shotgun reads를 통해 5,808개, Holstein BAC sequence data에서 1,409개 그리고 기타 정보를 통해 1,285개의 SNP를 수집하여 chip contents로 활용하였음.

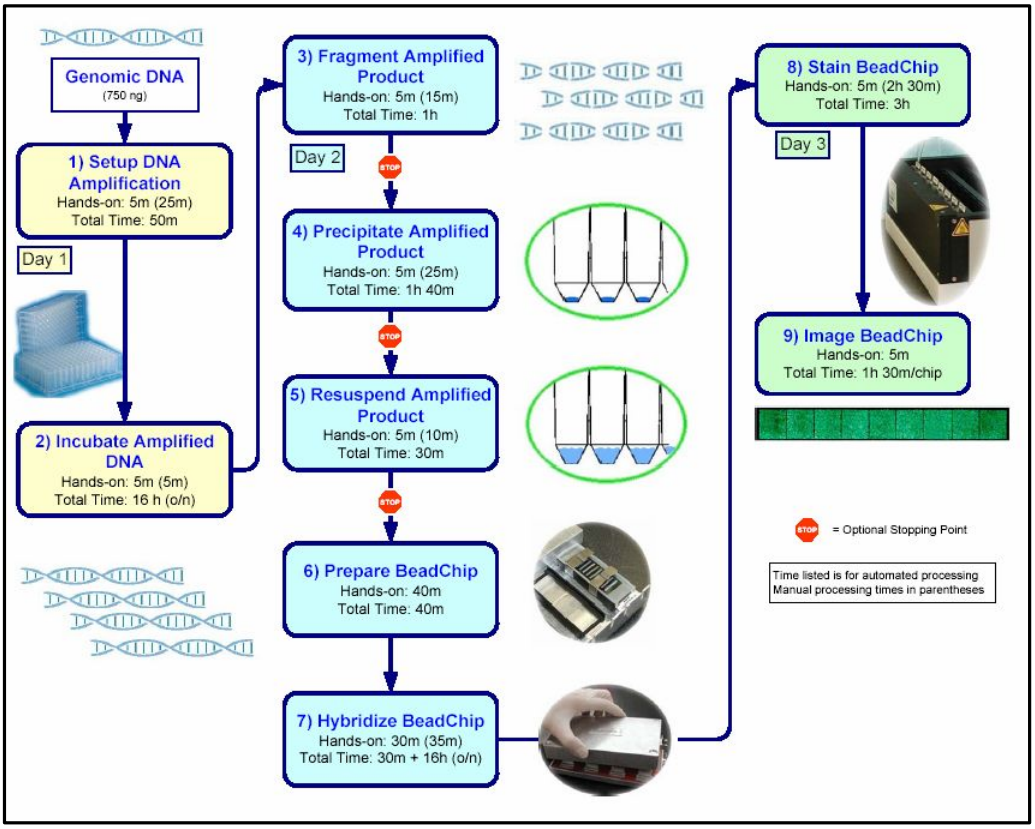
마. Chip SNP genotyping assay

○ 총 3단계로 구분되어 진행됨 (그림 6).

- 1단계 : Picogreen으로 정량된 750 ng의 DNA 시료는 genome wide amplification 방법으로 증폭됨.

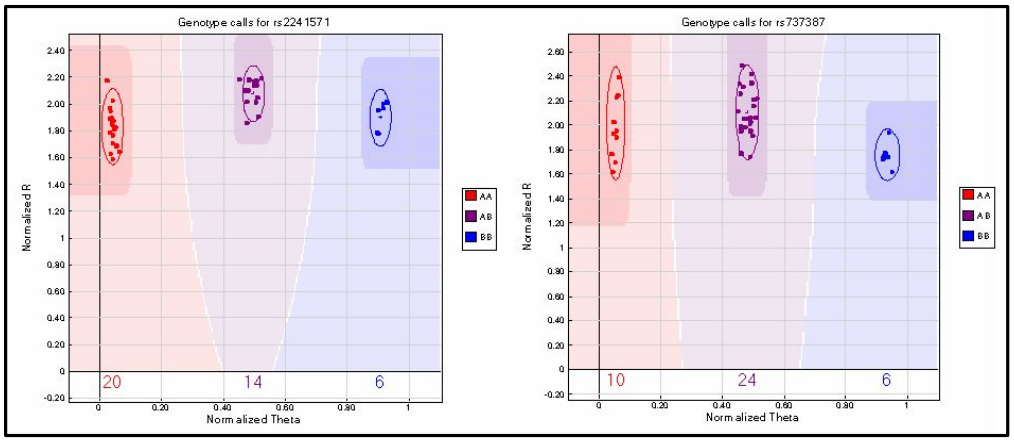
- 2단계 : 증폭된 시료는 chemical method로 무작위로 조각을 내어 2-propanol 침전법으로 purification을 수행함. Chip은 DNA 시료를 넣기 전에 완충용액으로 전처리되며, 전처리된 Chip에 DNA 시료를 가함.

- 3단계 : 약 16 시간 동안 incubation 시행 후 staining, allele specific primer extension, hybridization, target removal, washing하여 Illumina BeadStation 500으로 scanning을 진행함.



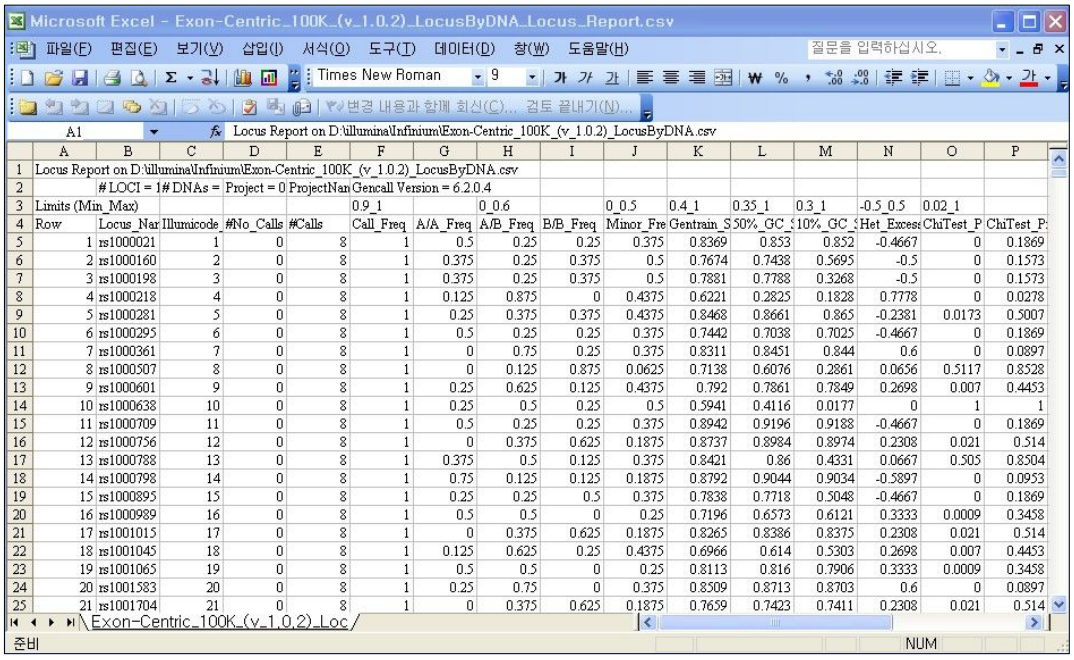
<그림 3-4-6>. 실험 단계의 모식도.

○ Genotype clustering은 Illumina사에서 반복실험 (100회 이상)에 의해 프로그램된 auto-clustering system을 적용하여 대규모 시료의 genotype을 동시에 calling함 <그림 3-4-7>.



<그림 3-4-7>. Automated Genotype Clustering.

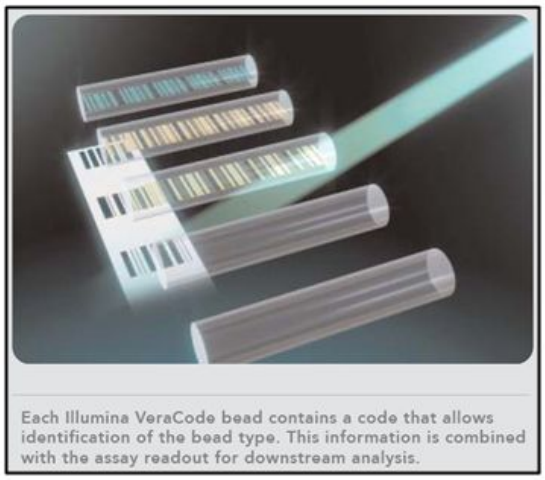
○ 자동으로 calling된 SNP 정보는 다양한 통계분석에 쉽게 적용 가능하며, cluster에 문제가 확인되면 수동 수정이 가능함. Reporting tool에서 선택적으로 원하는 자료를 얻을 수 있으며, Microsoft Excel sheet의 형태로 result output이 가능함으로써 Haplotype 및 LD 측정을 위한 data mining을 매우 용이하게 처리할 수 있음. Report되는 자료는 genotype 뿐만아니라 allele frequency, heterozygosity, HWE, clustering score 등 통계분석 시 참고자료로 활용 가능함 <그림 3-4-8>.

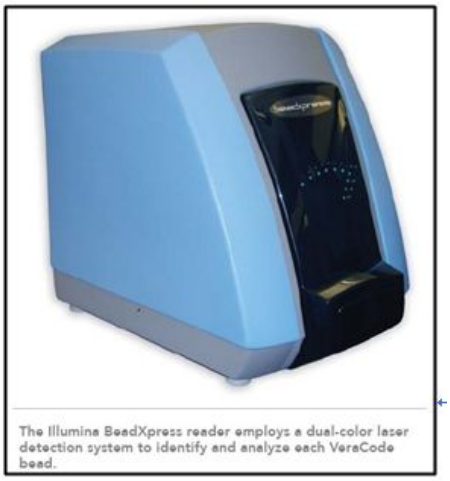


<그림 3-4-8>. Automated Genotype Report (Excel-format)

바. 육량·육질 관련 선별된 SNP의 대규모 실용축군에서의 Genotyping

○ Illumina Veracode technology는 정확도가 높고 분석비용이 저렴하며, 대용량 SNP 마커를 대량 시료에서 분석하기에 최적의 방법임 <그림 3-4-9>.





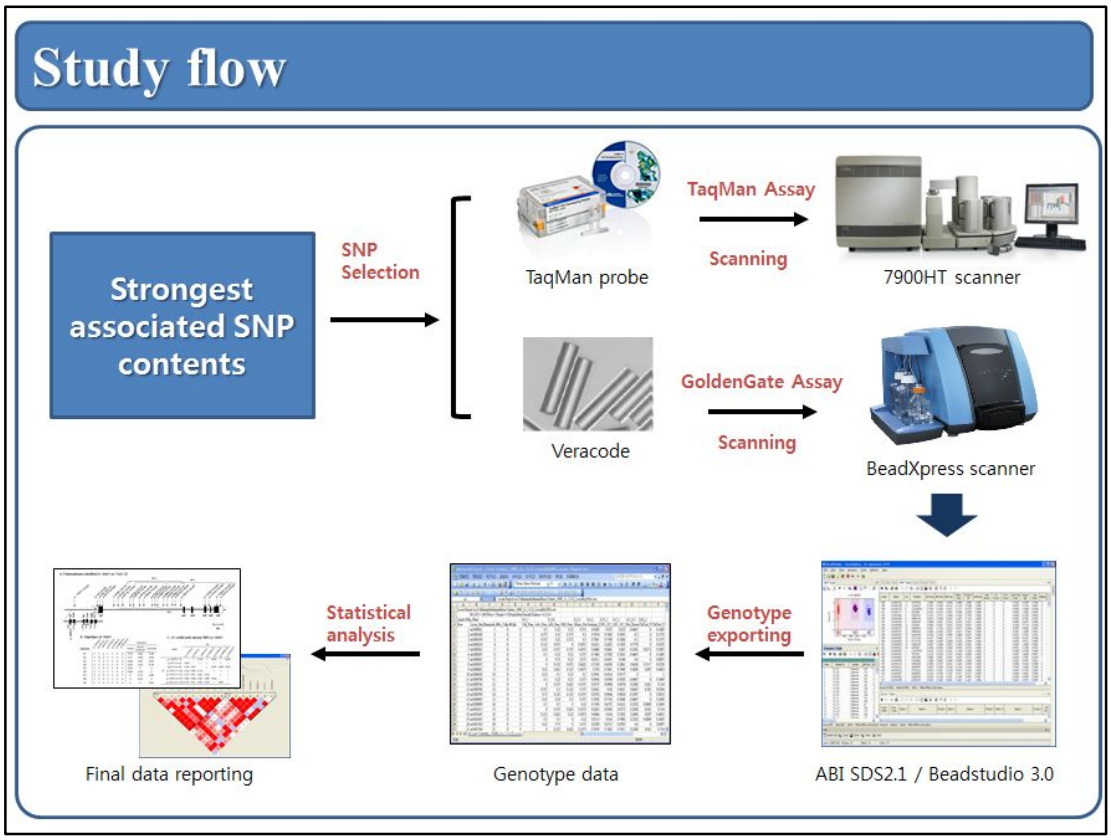
<그림 3-4-9>. VeraCode technology

○ BeadXpress reader는 Veracode bead의 code 및 fluoresence signal을 scanning하여 시료별 genotype을 결정함. 각각의 Veracode bead에는 code가 기록되어 있어 scanning 후 code와 시료 ID를 비교하여 자동으로 시료별 결과를 제공함.

○ Veracode technology를 이용한 golden gate assay는 96개에서 384개까지 SNP multiplexing이 가능하여 본 연구과제의 96개 SNP genotyping에 적합하며 average call rate 99% 이상, reproducibility 99.9% 이상으로 정확한 정보를 지닌 genotype의 확보가 가능할 것임.

○ 시료를 96 단위로 DNA plate를 제작하고 streptavidin과 biotin을 넣어 DNA를 활성화시키고 활성화된 DNA에 allele specific oligo, locus specific oligo, universal PCR primer (oligo pool)를 넣어 hybridization함.

○ 각 SNP에 특이적으로 binding된 oligo와 primer는 extension, ligation 과정을 거쳐 PCR 반응을 하고 각 DNA, SNP 별로 특이적으로 생성된 형광 probe를 Veracode에 붙이고 BeadXpress를 이용하여 각 시료별로 형광이미지 (scanning image)를 구현함.



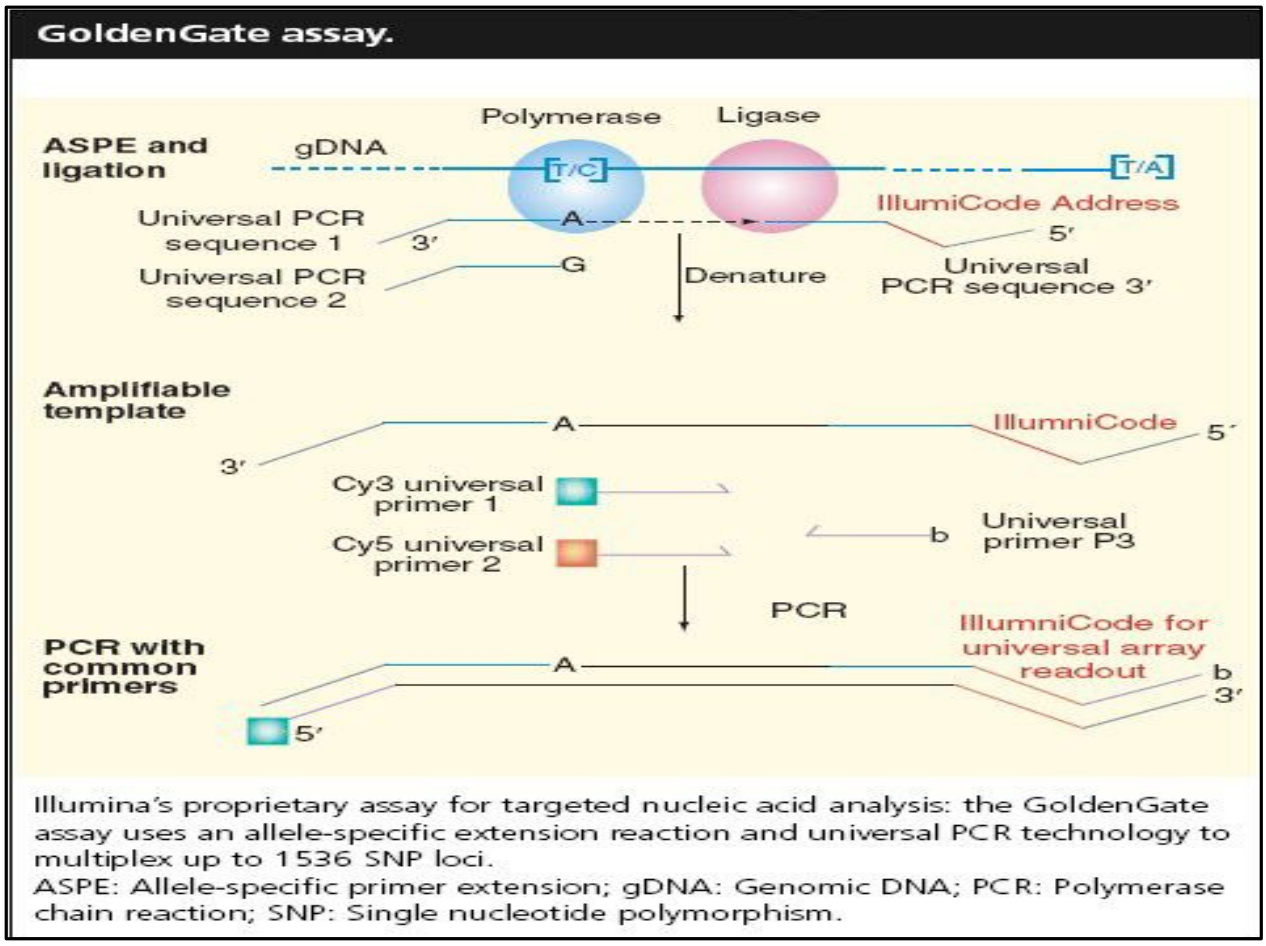
<그림 3-4-10>. VeraCode technology를 활용한 Study flow

○ Golden gate assay는 크게 allele specific primer extension, ligation, amplification 단계로 나뉘는데 각 SNP별로 제작된 3개의 primer (allele specific primer 1 & 2, locus specific primer)를 allele specific primer extension 반응이 이루어짐. Allele 특이적으로 binding한 primer는 polymerase에 의해 extension되고 locus specific primer와 ligation되어 SNP의 유전형에 따라 두 가지의 DNA가닥이 생성됨 <그림 3-4-11>.

○ Allele specific DNA fragment는 PCR 반응으로 amplification되며 이 때 형광 probe를 이용하여 SNP의 유전형에 따라 서로 다른 형광을 갖게 되고 BeadXpress scanner를 이용하여 scanning되면 각 SNP 별 genotype을 결정할 수 있음.

○ A/G SNP를 예로 들었을 때 A형은 Cy3가, G형은 Cy5가 labeling되어 scanning 결과에서 AA, AG, GG 형이 각각 형광의 종류 및 형광의 강도에 의해 분리되며 genotype이 결정됨.

○ Genotyping assay가 완료되면 각 SNP의 cluster image를 검토하여 genotype clustering이 정확히 구성되었는지 확인하고 수정함.



<그림 3-4-11>. GoldGate assay

○ Genotype clustering이 완료되면 GenomeStudio software를 이용하여 SNP 빈도, HWE, chromosome, position 등의 기본정보를 분석함.

○ 각 SNP의 genotype 정보는 GenomeStudio의 자동화된 exporting 시스템을 이용하여 추출하며 이후의 통계분석에 활용함.

2. 연구개발 결과

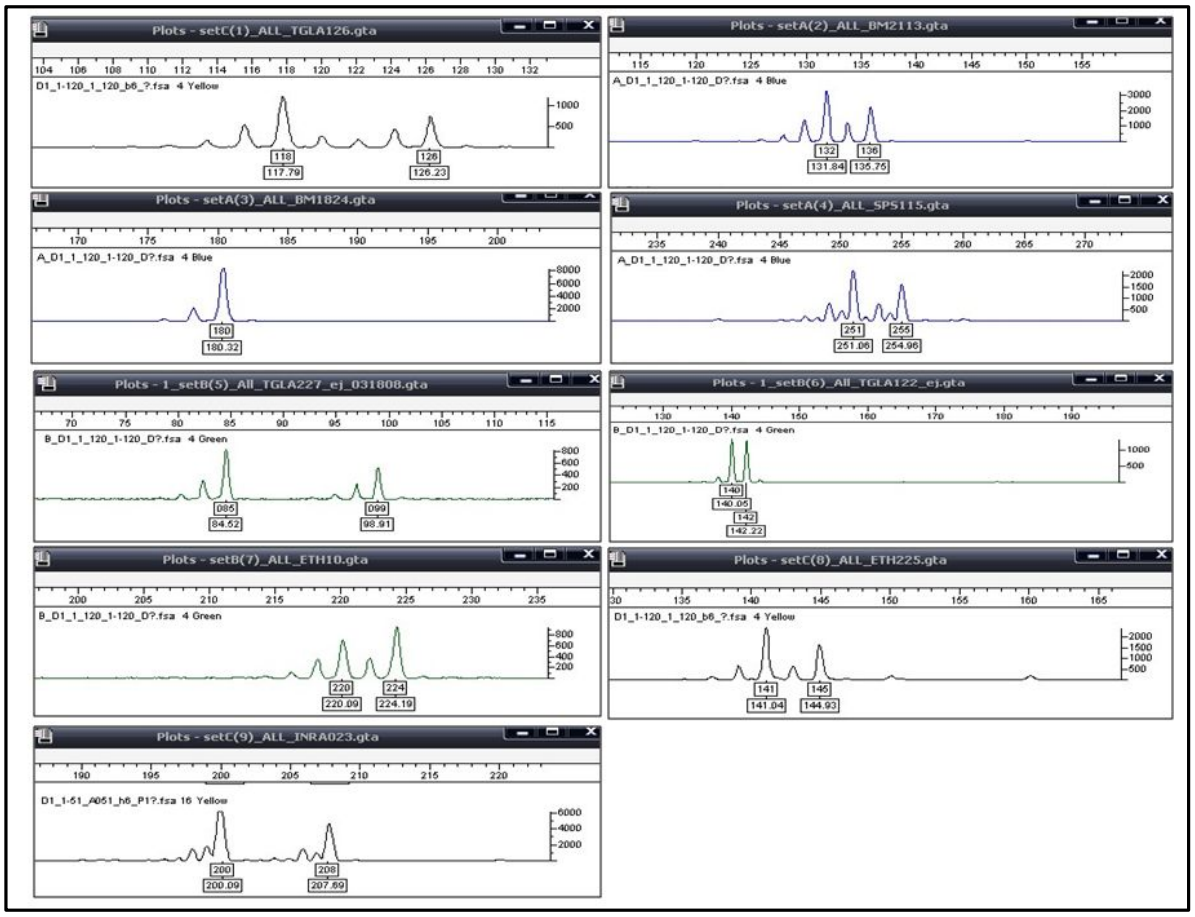
가. ISAG marker를 활용한 친자감별 및 혈통확인

○ ISAG 9개 marker를 활용하여 정읍한우, 경북대 클러스터 사업에서 확보한 한우집단을 포함 총 1,807 두에 친자감별 및 혈통확인을 시도하여 종모우 39두와 거세우 1741 두 등 총 1780두에 대한 확인을 완료하였음.

<표 3-4-2>. 종모우에 대한 ISAG marker genotyping 결과

J_ID	SNP_ID	BM2113		BM1824		SPS115		TGLA227		TGLA122		ETH10		ETH225		INRA023		TGLA126	
		Peak1	Peak2	Peak1	Peak2	Peak1	Peak2	Peak1	Peak2	Peak1	Peak2	Peak1	Peak2	Peak1	Peak2	Peak1	Peak2	Peak1	Peak2
KPN110	KPN110	134	134	180	182	245	247	85	93	140	178	216	218	141	141	208	210	120	126
KPN184	KPN184	136	138	180	188	249	257	95	95	142	142	216	224	143	147	208	216	118	118
KPN209	KPN209	134	138	180	188	251	257	93	95	144	150	218	220	145	145	204	216	124	126
KPN219	KPN219	138	138	182	188	249	253	93	107	142	144	216	224	143	147	202	210	118	124
KPN243	KPN243	134	138	180	182	251	251	85	95	134	144	216	224	141	141	208	208	124	126
KPN248	KPN248	134	134	180	182	245	247	81	91	150	150	218	218	141	145	208	214	122	124
KPN261	KPN261	138	138	180	182	245	245	79	83	134	160	216	220	141	147	208	210	118	118
KPN263	KPN263	138	138	180	188	247	251	85	99	140	144	216	216	145	155	208	210	118	118
KPN279	KPN279	134	136	180	188	253	253	95	99	134	150	218	218	141	145	208	208	118	124
KPN289	KPN289	138	138	180	180	253	257	85	95	140	140	218	220	141	141	216	216	120	126
KPN291	KPN291	138	138	178	180	245	245	93	97	152	160	218	224	141	143	208	216	120	126
KPN305	KPN305	136	136	188	188	251	257	79	93	140	144	218	220	145	147	204	208	118	124
KPN330	KPN330	138	138	180	184	245	253	83	85	142	150	218	220	141	143	208	210	118	128
KPN333	KPN333	134	138	180	180	245	249	95	99	140	150	220	220	141	143	208	214	118	126
KPN334	KPN334	138	138	184	188	245	249	83	99	144	144	218	220	141	141	210	214	118	120
KPN336	KPN336	138	138	184	184	245	253	83	83	150	150	218	224	141	143	208	216	118	126
KPN337	KPN337	132	138	180	184	245	245	83	99	140	144	218	218	141	143	208	210	118	118
KPN338	KPN338	132	138	182	184	245	251	83	85	144	180	216	218	141	141	208	210	118	126
KPN343	KPN343	138	138	180	182	249	253	91	99	152	160	222	222	141	147	202	208	118	126
KPN348	KPN348	134	138	182	188	245	249	93	95	134	150	212	218	141	145	208	214	118	126
KPN354	KPN354	134	138	180	182	245	251	83	95	142	144	218	222	141	145	210	216	118	118
KPN364	KPN364	134	136	180	182	247	251	85	85	142	174	216	224	141	147	208	216	118	126
KPN369	KPN369	138	138	180	190	249	253	95	95	144	180	210	218	141	145	210	216	118	118
KPN374	KPN374	134	138	178	180	245	251	83	85	134	144	218	224	145	147	208	210	118	124
KPN387	KPN387	134	134	180	188	245	257	85	99	142	150	216	218	143	147	200	210	118	118
KPN388	KPN388	138	138	180	188	245	245	81	99	140	150	220	222	143	143	200	208	118	126
KPN407	KPN407	138	138	178	180	251	253	83	99	134	142	216	216	141	143	208	216	118	118
KPN450	KPN450	136	138	182	186	245	251	85	87	134	144	216	224	141	141	208	208	118	126
KPN452	KPN452	134	138	182	182	249	253	95	107	142	150	216	216	143	145	202	208	118	120
KPN458	KPN458	138	138	180	188	245	253	83	93	150	174	218	218	143	147	200	216	126	126
KPN460	KPN460	136	136	178	188	251	253	79	93	134	144	218	224	145	147	204	210	124	126
KPN478	KPN478	136	136	180	182	245	257	83	95	142	150	216	224	145	147	208	208	118	118
KPN480	KPN480	138	138	180	182	245	249	83	107	144	150	216	224	143	147	202	208	118	120
KPN485	KPN485	132	132	182	188	245	253	83	85	142	142	218	218	145	147	204	216	118	124
KPN487	KPN487	136	136	180	182	245	251	99	99	142	150	208	220	141	145	200	208	118	118
KPN496	KPN496	138	138	182	188	245	253	93	95	134	142	218	224	143	145	202	210	118	124
KPN521	KPN521	136	138	184	188	245	249	83	95	134	142	216	224	143	143	208	208	118	118
KPN538	KPN538	134	138	178	180	245	245	95	99	140	152	218	220	141	141	212	216	118	118
KPN110	KPN110	134	134	180	182	245	247	85	93	140	178	216	218	141	141	208	210	120	126

○ ISAG marker genotyping 된 개체들 중에서 ID가 확인된 놈들은 총 1699두였으며, 친자관계를 확인한 결과, 부(KPN)가 확인된 개체수 1312두, 모(dam)가 확인된 개체수 411두, 부모 양쪽다 확인된 개체수 411두 였음.



<그림 3-4-12>. Diagram of ISAG marker.

○ <표 3-4-3>에서와 같이 총 친자감별 실패 비율은 40%로 예상보다 매우 높은 비율로 친자관계가 아닌 한우를 사육하는 것으로 확인되었음. 한우의 수정은 농림부에서 엄격하게 선별한 종모우만을 활용하여 번식을 시키는 것을 기본으로 볼 때 친자 실패율이 40%라는 수치는 일반 농가에서의 한우 종모 관리가 매우 부실함을 반증하는 결과로 볼 수 있음.

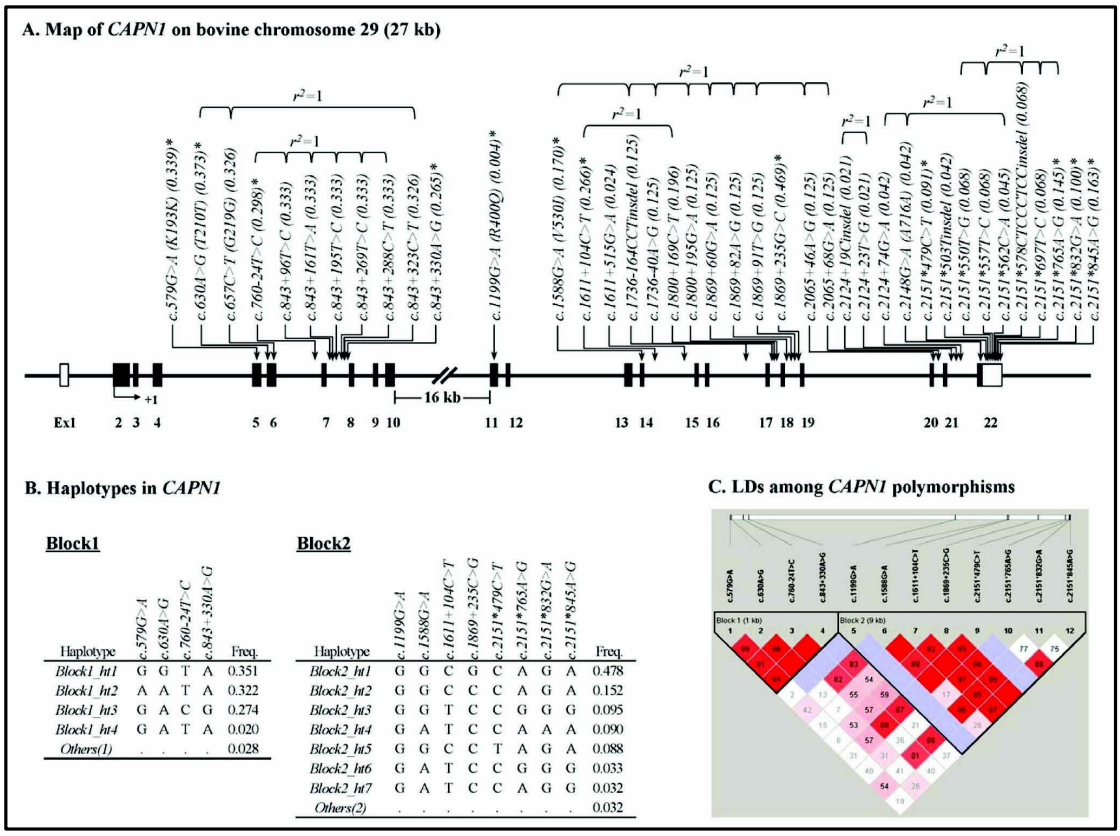
<표 3-4-3>. 친자감별 실패율

Description	N	%
총 친자감별 실패 비율	526	40
KPN_자식 감별 실패 비율	397	30
Dam_자식 감별 실패 비율	24	2
KPN&Dam_자식 실패 비율	105	8

○ 따라서, 일반 농가의 한우에 대한 친자감별이 보다 정확하게 이루어져야 할 필요성이 매우 높다는 것이 본 연구결과를 통해 새롭게 밝혀졌음.

나. 육량 육질 관련 candidate gene-association study

○ Whole-genome SNP typing과 병행하여 수행한 candidate gene approach 연구를 통해 micromolar calcium-activated neutral protease gene (micro-calpain, CAPN1) 유전자의 한우 경제형질과의 연관성이 확인하였음.



Block1 Haplotype	c.579G>A	c.630A>G	c.760-24T>C	c.843+330A>G	Freq.
Block1_ht1	G	G	T	A	0.351
Block1_ht2	A	A	T	A	0.322
Block1_ht3	G	A	C	G	0.274
Block1_ht4	G	A	T	A	0.020
Others(1)	.	.	.	.	0.028

Block2 Haplotype	c.1199G>A	c.1588G>A	c.1611+104C>T	c.1869+235C>G	c.2151*479C>T	c.2151*765A>G	c.2151*832G>A	c.2151*845A>G	Freq.
Block2_ht1	G	G	C	G	C	A	G	A	0.478
Block2_ht2	G	G	C	C	C	A	G	A	0.152
Block2_ht3	G	G	T	C	C	G	G	G	0.095
Block2_ht4	G	A	T	C	C	A	A	A	0.090
Block2_ht5	G	G	C	C	T	A	G	A	0.088
Block2_ht6	G	A	T	C	C	G	G	G	0.033
Block2_ht7	G	A	T	C	C	A	G	G	0.032
Others(2)	.	.	.	.	.	.	.	.	0.032

<그림 3-4-13>. Map of CAPN1.

○ Marbling score (MS)는 소의 carcass quality에 영향을 주는 주요한 quantitative trait 중 하나임. 24두의 한우를 이용하여 총 39개의 sequence variant를 확인하였으며, 이 중 12개의 common SNP를 선별하여 기 확보된 한우 시료 총 421두에서 SNP genotyping 및 통계분석을 통해 경제형질 연관 SNP contents를 발굴하고자 하였음 (그림 13 및 표 4).

○ 확보된 다양한 경제형질 관련 phenotype 들과의 연관성 분석을 통해 3'UTR에 위치한 c.2151*832G>A가 marbling score에 매우 밀접한 연관성이 있음을 확인하였음 (표 5). 특히 risk allele인 A allele를 가질수록 marbling score가 감소하는 현상을 확인하였으며, 이를 통해 c.2151*832 G allele를 가지는 한우의 marbling score가 높음을 알 수 있었으며, CAPN1 단염

기 변이가 육질의 판별에 매우 유용한 SNP contents로서의 가능성을 확인했다 할 수 있을 것임.

○ 연구를 통해 확인된 결과는 BMC Genetics에 개제 완료되었음 (Cheong et al. A single nucleotide polymorphism in CAPN1 associated with marbling score in Korean cattle. 2008. BMC Genetics. 9:33-39).

<표 3-4-4>. Genotype and allele frequencies of 39 polymorphism in CAPN1

SNP	Position	AA change	Genotypes and number of animal			Minor allele frequency	Heterozygosity	HWE**
*c.579G>A**	Exon5	K193K	G (187)	AG (177)	A (53)	0.339	0.448	0.276
*c.630A>G**	Exon6	T210T	A (174)	AG (180)	G (67)	0.373	0.468	0.078
c.657C>T	Exon6	G219G	C (13)	CT (5)	T (5)	0.326	0.44	0.015
*c.760-24T>C**	Intron6	.	T (210)	CT (161)	C (43)	0.298	0.419	0.148
c.843+96T>C	Intron7	.	T (10)	CT (12)	C (2)	0.333	0.444	0.54
c.843+161T>A	Intron7	.	T (10)	AT (12)	A (2)	0.333	0.444	0.54
c.843+195T>C	Intron7	.	T (10)	CT (12)	C (2)	0.333	0.444	0.54
c.843+269T>C	Intron7	.	T (10)	CT (12)	C (2)	0.333	0.444	0.54
c.843+288C>T	Intron7	.	C (10)	CT (12)	T (2)	0.333	0.444	0.54
c.843+323C>T	Intron7	.	C (13)	CT (5)	T (5)	0.326	0.44	0.015
*c.843+330A>G**	Intron7	.	A (224)	AG (156)	G (31)	0.265	0.39	0.596
*c.1199G>A**	Exon11	R400Q	G (417)	AG (3)	A (0)	0.004	0.007	0.941
*c.1588G>A**	Exon14	V530I	G (289)	AG (111)	A (15)	0.17	0.282	0.293
*c.1611+104C>T**	Intron14	.	C (227)	CT (155)	T (33)	0.266	0.391	0.369
c.1611+515G>A	Intron14	.	G (20)	AG (1)	A (0)	0.024	0.046	0.911
c.1736-164CCTinsdel	Intron16	.	del (19)	insdel (4)	ins (1)	0.125	0.219	0.243
c.1736-40A>G	Intron17	.	A (19)	AG (4)	G (1)	0.125	0.219	0.243
c.1800+169C>T	Intron17	.	C (16)	CT (5)	T (2)	0.196	0.315	0.138
c.1800+195G>A	Intron17	.	G (19)	AG (4)	A (1)	0.125	0.219	0.243
c.1869+60G>A	Intron18	.	G (19)	AG (4)	A (1)	0.125	0.219	0.243
c.1869+82A>G	Intron18	.	A (19)	AG (4)	G (1)	0.125	0.219	0.243
c.1869+91T>G	Intron18	.	T (19)	GT (4)	G (1)	0.125	0.219	0.243
*c.1869+235G>C**	Intron18	.	C (128)	CG (189)	G (102)	0.469	0.498	0.053
c.2065+46A>G	Intron20	.	A (19)	AG (4)	G (1)	0.125	0.219	0.243
c.2065+68G>A	Intron20	.	G (19)	AG (4)	A (1)	0.125	0.219	0.243
c.2124+19Cinsdel	Intron21	.	ins (23)	insdel (1)	del (0)	0.021	0.041	0.917
c.2124+23T>G	Intron21	.	T (23)	GT (1)	G (0)	0.021	0.041	0.917
c.2124+74G>A	Intron21	.	G (22)	AG (2)	A (0)	0.042	0.08	0.831
c.2148G>A	Exon22	A716A	G (22)	AG (2)	A (0)	0.042	0.08	0.831
*c.2151*479C>T**	3'UTR	.	C (342)	CT (65)	T (5)	0.091	0.165	0.345
*c.2151*503Tinsdel*	3'UTR	.	ins (22)	insdel (2)	del (0)	0.042	0.08	0.831
*c.2151*550T>G*	3'UTR	.	T (19)	GT (3)	G (0)	0.068	0.127	0.731
*c.2151*557T>C*	3'UTR	.	T (19)	CT (3)	C (0)	0.068	0.127	0.731
*c.2151*562C>A*	3'UTR	.	C (20)	AC (2)	A (0)	0.045	0.087	0.823
*c.2151*578CTCCCTCCinsdel*	3'UTR	.	ins (19)	insdel (3)	del (0)	0.068	0.127	0.731
*c.2151*697T>C*	3'UTR	.	T (19)	CT (3)	C (0)	0.068	0.127	0.731
*c.2151*765A>G**	3'UTR	.	A (307)	AG (96)	G (12)	0.145	0.247	0.187
*c.2151*832G>A**	3'UTR	.	G (335)	AG (75)	A (4)	0.1	0.18	0.931
*c.2151*845A>G**	3'UTR	.	A (293)	AG (112)	G (12)	0.163	0.273	0.744

*Frequencies of the six polymorphisms marked by asterisks were determined by genotyping 421 Korean native cattle. Frequencies of the remaining polymorphisms were determined by re-sequencing 24 unrelated Korean native cattle DNAs.
** P-values of deviation from Hardy-Weinberg equilibrium

<표 3-4-5>. Association analyses of CAPN1 polymorphism with carcass traits among Korean native cattles

Trait	Polymorphism	Position	Amino acid change	Genotype			*P*	$P^{cor.}$
				C/C	C/R	R/R		
				N(LSMEAN ± SE)	N(LSMEAN ± SE)	N(LSMEAN ± SE)		
CW	*c.579G>A*	Exon5	K193K	187(309.56 ± 2.58)	177(311.93 ± 2.57)	53(314.91 ± 4.99)	0.33	NS
	c.630A>G	Exon6	T210T	174(312.17 ± 2.61)	180(311.14 ± 2.53)	67(310.88 ± 4.20)	0.16	NS
	c.760-24T>C	Intron6	.	210(312.93 ± 2.24)	161(306.26 ± 2.72)	43(319.27 ± 4.92)	0.11	NS
	c.843+330A>G	Intron7	.	224(312.42 ± 2.21)	156(306.68 ± 2.65)	31(323.82 ± 6.18)	0.69	NS
	c.1199G>A	Exon11	R400Q	417(311.43 ± 1.50)	3(294.47 ± 19.76)	.	0.46	NS
	c.1588G>A	Exon14	V530I	289(311.78 ± 1.93)	111(309.62 ± 3.27)	15(311.41 ± 9.12)	0.84	NS
	c.1611+104C>T	Intron14	.	227(311.32 ± 2.26)	155(311.06 ± 2.74)	33(313.20 ± 5.98)	0.88	NS
	c.1869+235C>G	Intron18	.	128(313.33 ± 3.15)	189(308.92 ± 2.50)	102(312.55 ± 3.23)	0.73	NS
	*c.2151*479C>T*	3'UTR	.	342(311.37 ± 1.78)	65(304.72 ± 4.80)	5(321.32 ± 16.27)	0.49	NS
	*c.2151*765A>G*	3'UTR	.	307(310.08 ± 2.01)	96(310.63 ± 4.15)	12(311.52 ± 11.10)	0.23	NS
	*c.2151*832G>A*	3'UTR	.	335(311.67 ± 1.75)	75(309.30 ± 4.14)	4(315.85 ± 19.01)	0.84	NS
	*c.2151*845A>G*	3'UTR	.	293(308.97 ± 2.07)	112(312.82 ± 3.75)	12(317.88 ± 10.33)	0.11	NS
	Block2_ht2	.	.	300(310.77 ± 1.86)	95(314.78 ± 3.50)	15(300.73 ± 8.72)	0.85	NS
	Block2_ht3	.	.	335(310.25 ± 1.80)	72(316.69 ± 4.68)	3(303.60 ± 20.41)	0.46	NS
MS	*c.579G>A*	Exon5	K193K	187(2.10 ± 0.10)	177(2.39 ± 0.10)	53(2.00 ± 0.19)	0.85	NS
	c.630A>G	Exon6	T210T	174(2.19 ± 0.10)	180(2.29 ± 0.10)	67(2.09 ± 0.17)	0.64	NS
	c.760-24T>C	Intron6	.	210(2.18 ± 0.09)	161(2.26 ± 0.11)	43(2.16 ± 0.20)	0.69	NS
	c.843+330A>G	Intron7	.	224(2.18 ± 0.09)	156(2.21 ± 0.11)	31(2.16 ± 0.25)	0.78	NS
	c.1199G>A	Exon11	R400Q	417(2.21 ± 0.06)	3(1.77 ± 0.79)	.	0.47	NS
	c.1588G>A	Exon14	V530I	289(2.21 ± 0.08)	111(2.24 ± 0.13)	15(2.12 ± 0.37)	0.60	NS
	c.1611+104C>T	Intron14	.	227(2.19 ± 0.09)	155(2.17 ± 0.11)	33(2.56 ± 0.24)	0.22	NS
	c.1869+235C>G	Intron18	.	128(2.30 ± 0.13)	189(2.23 ± 0.10)	102(2.12 ± 0.13)	0.09	NS
	*c.2151*479C>T*	3'UTR	.	342(2.34 ± 0.07)	65(1.56 ± 0.19)	5(0.94 ± 0.65)	**0.0007**	**0.02**
	*c.2151*765A>G*	3'UTR	.	307(2.19 ± 0.08)	96(2.33 ± 0.17)	12(2.67 ± 0.45)	0.08	NS
	*c.2151*832G>A*	3'UTR	.	335(2.20 ± 0.07)	75(2.31 ± 0.17)	4(1.10 ± 0.76)	0.13	NS
	*c.2151*845A>G*	3'UTR	.	293(2.15 ± 0.08)	112(2.42 ± 0.15)	12(2.77 ± 0.41)	0.06	NS
	Block2_ht2	.	.	300(2.11 ± 0.07)	95(2.56 ± 0.14)	15(2.20 ± 0.35)	0.28	NS
	Block2_ht3	.	.	335(2.14 ± 0.07)	72(2.54 ± 0.19)	3(2.28 ± 0.82)	0.21	NS

Genotype and haplotype distributions and *P*-values controlling for sire and age at slaughter as covariates are shown.
C/C, C/R, and R/R represent the common allele, and heterozygotes and homozygotes for the rare allele, respectively.
N(LSMEAN ± SE): Number of animals (least square mean of values ± standard errors).
$P^{cor.}$ represents the simple corrected *P*-value (Bonferroni correction).
Significant associations are shown in boldface. NS: not significant

BMC Genetics

BioMed Central

Research article

Open Access

A single nucleotide polymorphism in *CAPN1* associated with marbling score in Korean cattle

Hyun Sub Cheong[1], Du-Hak Yoon[2], Byung Lae Park[1], Lyoung Hyo Kim[1], Joon Seol Bae[1], Sohg Namgoong[1], Hae Won Lee[1], Chang Soo Han[1], Ji On Kim[1], Il-Cheong Cheong[2] and Hyoung Doo Shin*[1,3]

Address: [1]Department of Genetic Epidemiology, SNP Genetics, Inc., Rm 1407, Complex B, WooLim Lion's Valley, 371-28, Gasan-Dong, Geumcheon-Gu, Seoul, 153-803, Korea, [2]Du-Hak Yoon, Il-Cheong Cheong, National Livestock Research Institute, RDA, Suwon, 441-706, Korea and [3]Department of Life Science, Sogang University, 1 Shinsu-dong, Mapo-gu, Seoul, 121-742, Korea

Email: Hyun Sub Cheong - chhs@snp-genetics.com; Du-Hak Yoon - dhyoon@rda.go.kr; Byung Lae Park - blpark@snp-genetics.com; Lyoung Hyo Kim - lyoung@snp-genetics.com; Joon Seol Bae - jsbae@snp-genetics.com; Sohg Namgoong - herewego5@snp-genetics.com; Hae Won Lee - hwlee78@snp-genetics.com; Chang Soo Han - csh@snp-genetics.com; Ji On Kim - jion80@snp-genetics.com; Il-Cheong Cheong - cheongic@rda.go.kr; Hyoung Doo Shin* - hdshin@sogang.ac.kr

* Corresponding author

Published: 19 April 2008

BMC Genetics 2008, **9**:33 doi:10.1186/1471-2156-9-33

Received: 1 October 2007
Accepted: 19 April 2008

This article is available from: http://www.biomedcentral.com/1471-2156/9/33

© 2008 Cheong et al; licensee BioMed Central Ltd.
This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/2.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Abstract

Background: Marbling score (MS) is the major quantitative trait that affects carcass quality in beef cattle. In this study, we examined the association between genetic polymorphisms of the micromolar calcium-activated neutral protease gene (micro-calpain, *CAPN1*) and carcass traits in Korean cattle (also known as Hanwoo).

Results: By direct DNA sequencing in 24 unrelated Korean cattle, we identified 39 sequence variants within exons and their flanking regions in *CAPN1*. Among them, 12 common polymorphic sites were selected for genotyping in the beef cattle (n = 421). Statistical analysis revealed that a polymorphism in the 3'UTR (*c.2151*479C>T*) showed significant association with MS ($P_{cor.}$ = 0.02).

Conclusion: Our findings suggest that polymorphisms in *CAPN1* might be one of the important genetic factors involved in carcass quality in beef cattle, although it could be false positive association.

Background

Genetic improvement has long been considered an important factor in the competitiveness of beef cattle production. Identification of the genes and/or polymorphisms underlying quantitative/qualitative traits, and an understanding of how these genes/polymorphisms interact with the environment or with other genes affecting economic traits might be the keys to successful application of marker-assisted selection in the commercial animal population. As one of these economic traits, marbling is intramuscular fat that gives meat flavor and tenderness. Thus, an increase in the degree of marbling raises the level of meat quality.

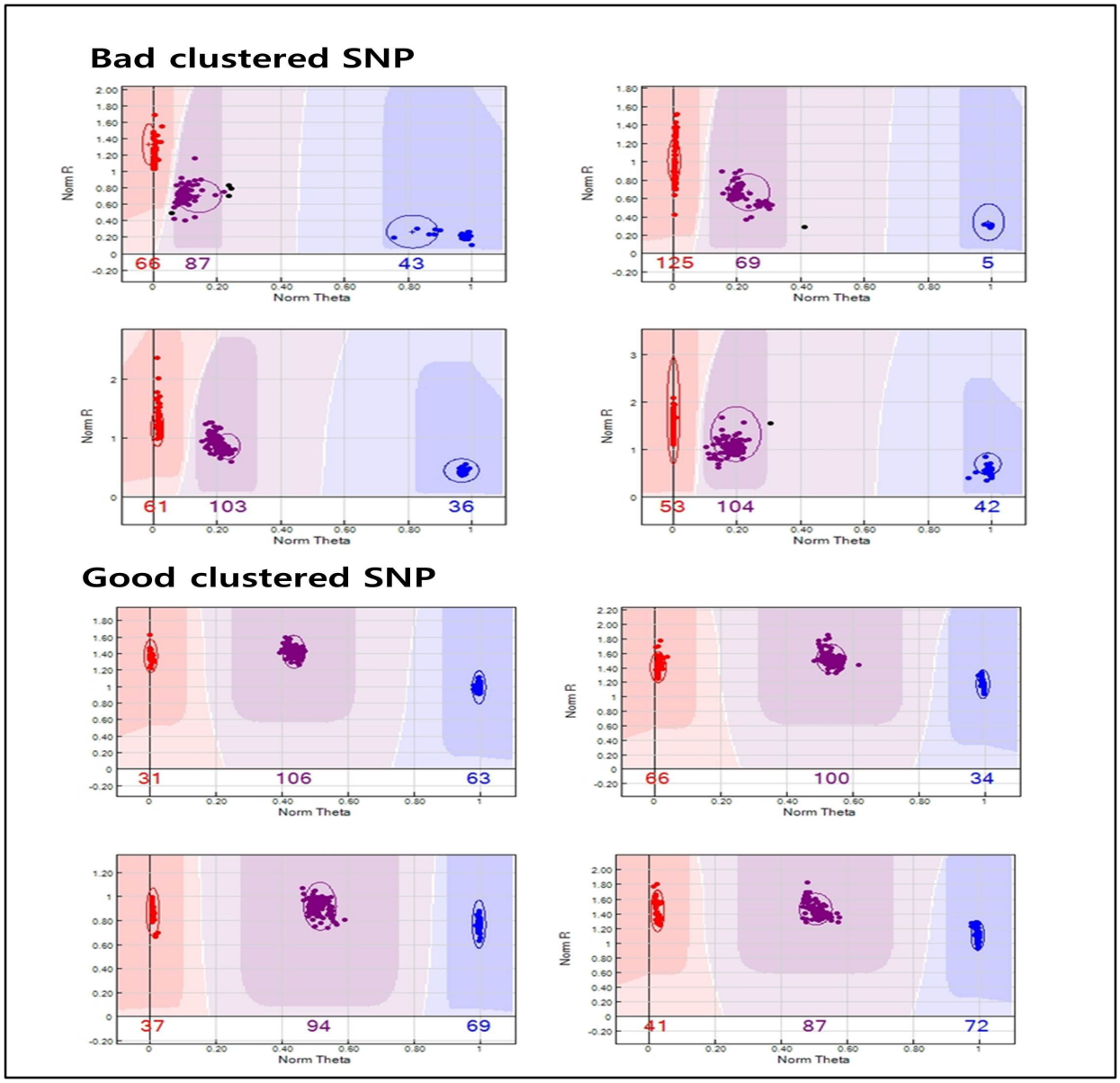
Calpain is a ubiquitous cytoplasmic cysteine protease, the activity of which is absolutely dependent on calcium [1]. Two genes of calpain (CAPN1 [macro-calpain] and CAPN2 [mili-calpain]) have been identified [2]. CAPN1

<그림 3-4-14>

○ 다. 육량 육질 관련 Genome-wide SNP scanning

○ 1~2차 년도에 수행된 정읍한우 및 경북클러스터 한우 등 총 132두 및 서산 가축개량소에서 제공한 556두의 종모우 및 거세우 등 총 688두의 한우에 대한 whole-genome SNP genotyping을 수행하여 총 37,152,688 genotype data를 확보하였음.

○ Bovine chip의 실험이 완료되면 raw data를 GenomeStudio를 통해 SNP 별 cluster를 확인하고, cluster 조정을 통해 사용 가능한 SNP와 버려야 할 SNP를 구분 정리 한 후 이 자료를 활용하여 이후 기본 분석 및 통계분석에 사용함.



<그림 3-4-15>. Genotype cluster

○ 평균 call rate는 99.85% 로 매우 양질의 genotype을 확보하였음. 전체 SNP의 평균 minor allele frequency는 0.201로 확인되었으며, Hardy-Weinberg Equilibrium을 벗어나는 SNP는 583개로 전체 대비 1.2%에 불과하였음.

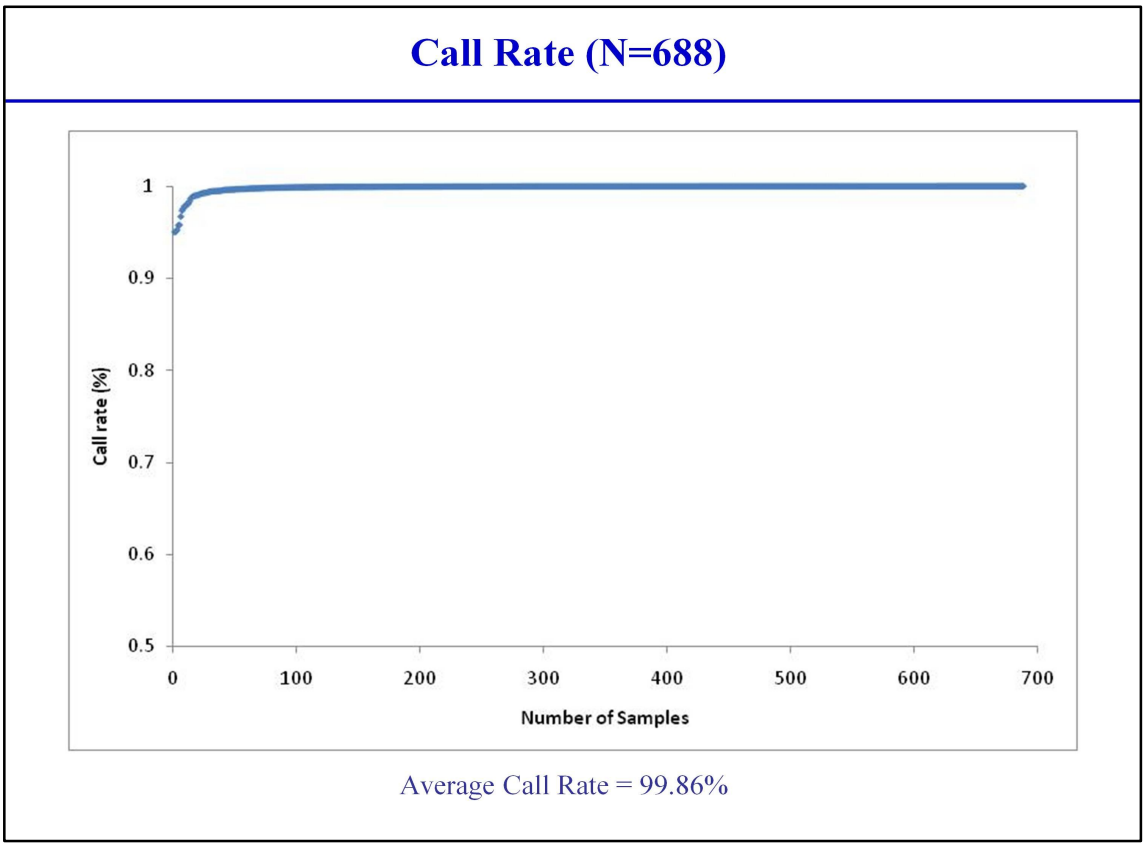
BovineSNP50 (50K chip)

결과항목	Basic Information
Number of SNPs on Chip	54,001
Number of Samples	688 두
Genotype Call Rate	99.86%
Average MAF	0.201
Monomorphic SNPs	5,939 (11.6%)
SNPs MAF > 0.05	37,520 (73.3%)
SNPs HWE-P < 0.01 (N of autosomal SNPs = 48,893)	583 (1.2%)

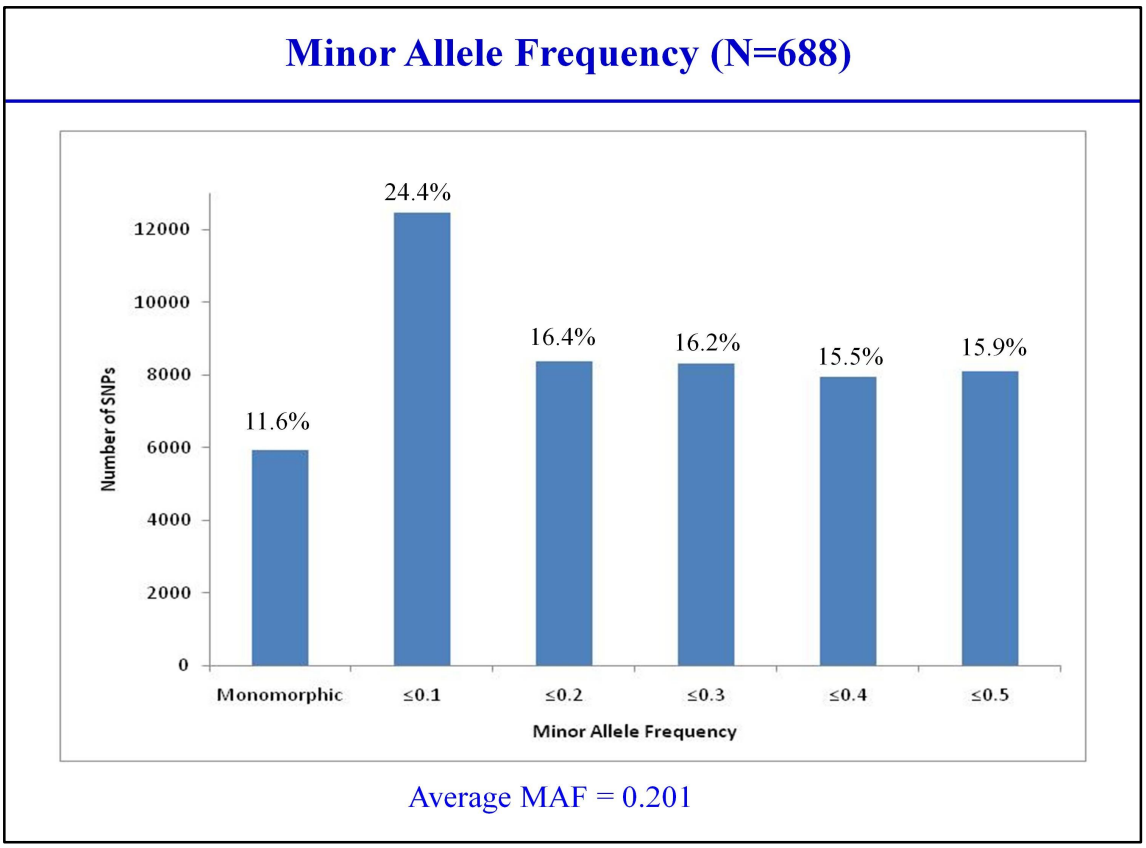
<그림 3-4-16>. Bovine 50K 결과 요약.

○ 총 5,939개의 SNP가 한우에서는 다형성을 나타내지 않았으며, 전체 SNP 대비 11.6%를 차지하는 수준이었음. 또한 minor allele frequency가 5% 이상 되는 common SNP의 비율은 37,520개로 73.3%에 달하는 것으로 확인되어 경제형질 연관 SNP contents 발굴 분석에 매우 유용할 것으로 판단됨 <그림 3-4-17>.

○ 688 두의 한우에서 나타난 빈도를 살펴보면 monomorphic SNP가 11.6%, 0.1 이하의 빈도는 24.4%, 0.1~0.2 의 SNP 빈도는 16.4%, 0.2~0.3 의 SNP 빈도는 16.2%, 0.3~0.4 의 SNP 빈도는 15.5% 그리고 0.4~0.5 의 SNP 빈도는 15.9%로 확인되었음.

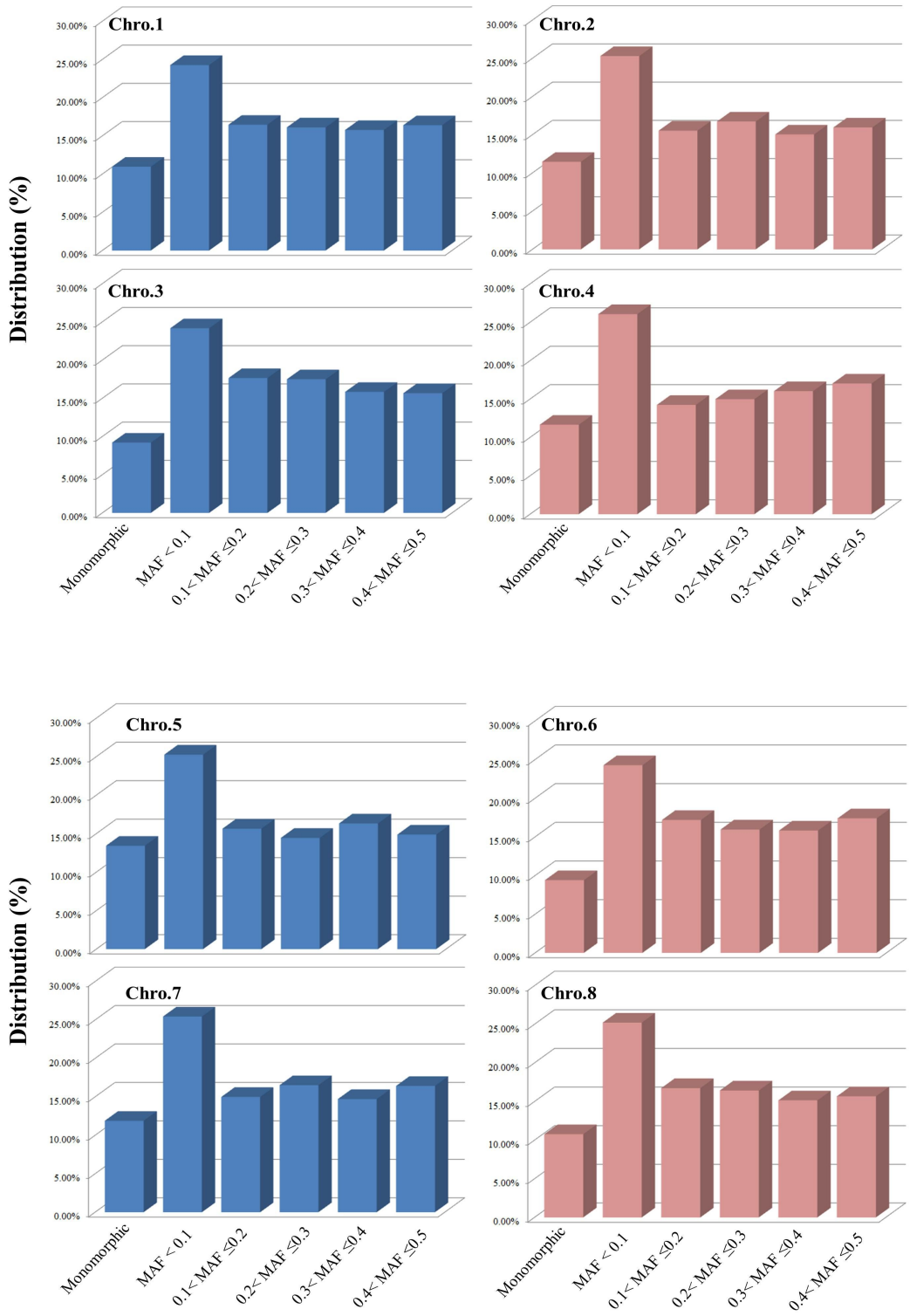


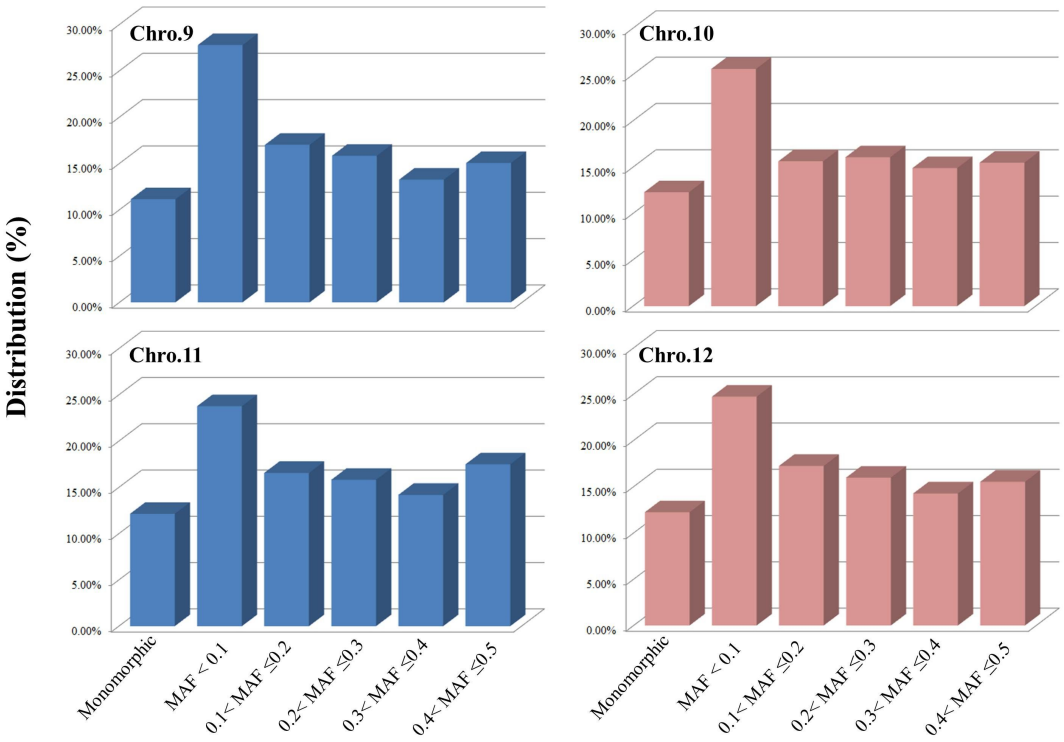
<그림 3-4-17>. Diagram of call rate.

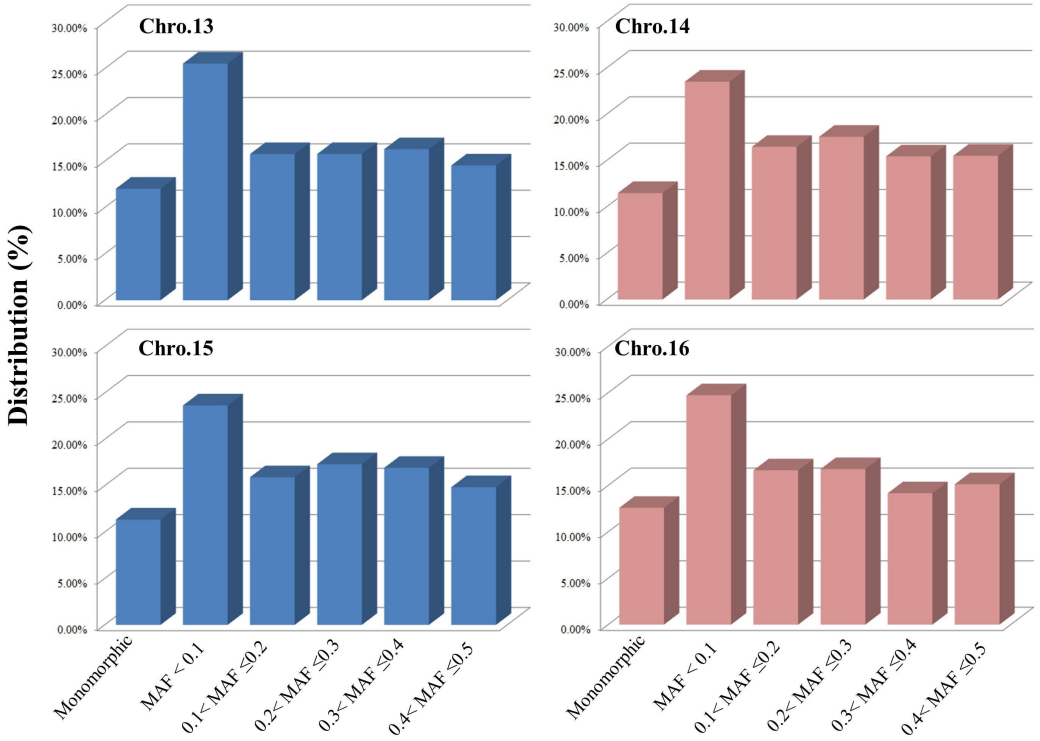


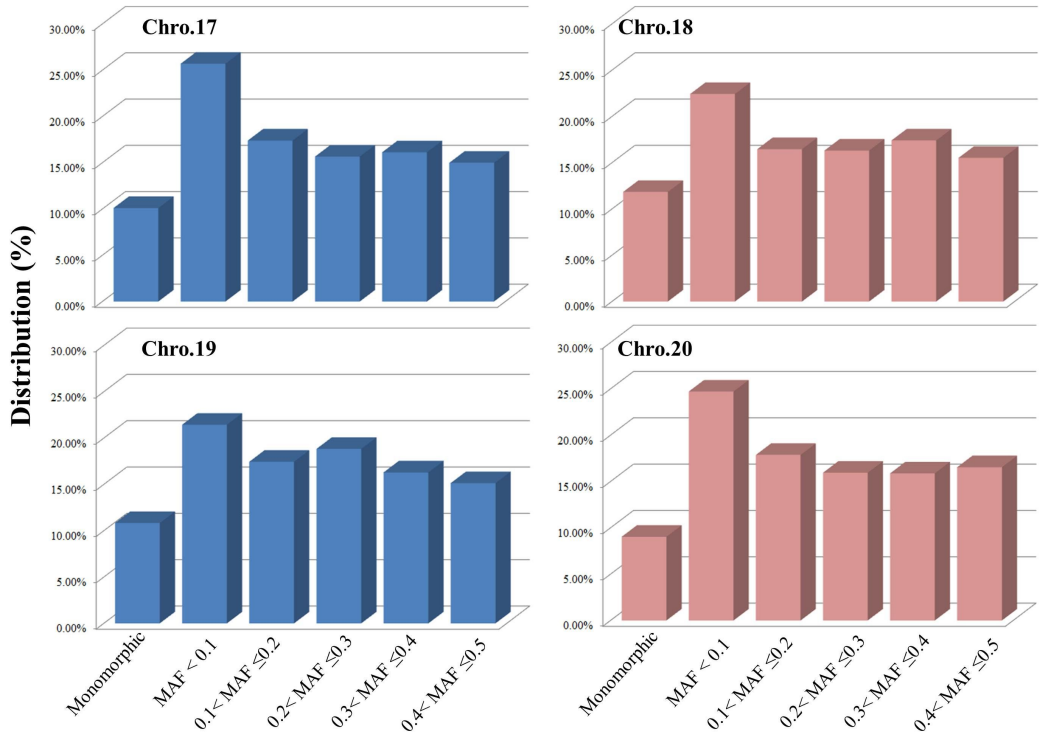
<그림 3-4-18>. MAF 분포도.

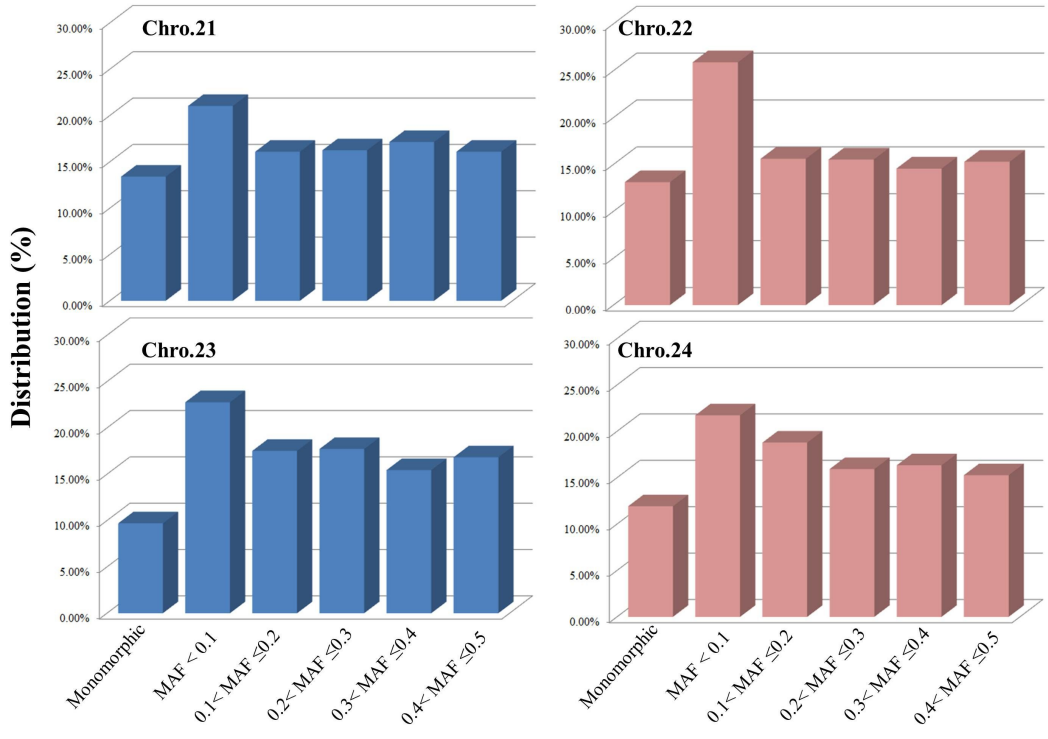
○ Bovine 50K 실험 후 염색체별 MAF 빈도를 살펴보면 전체 빈도와 크게 차이는 없으나 염색체 별로 특징적인 부분이 관찰되었음. 염색체 19, 24, 26의 경우 평균적으로 가장 높은 빈도를 차지했던 10% 미만 MAF의 빈도가 상대적으로 낮고, 10~20% MAF가 상대적으로 높은 빈도를 나타내었음 (그림 18).

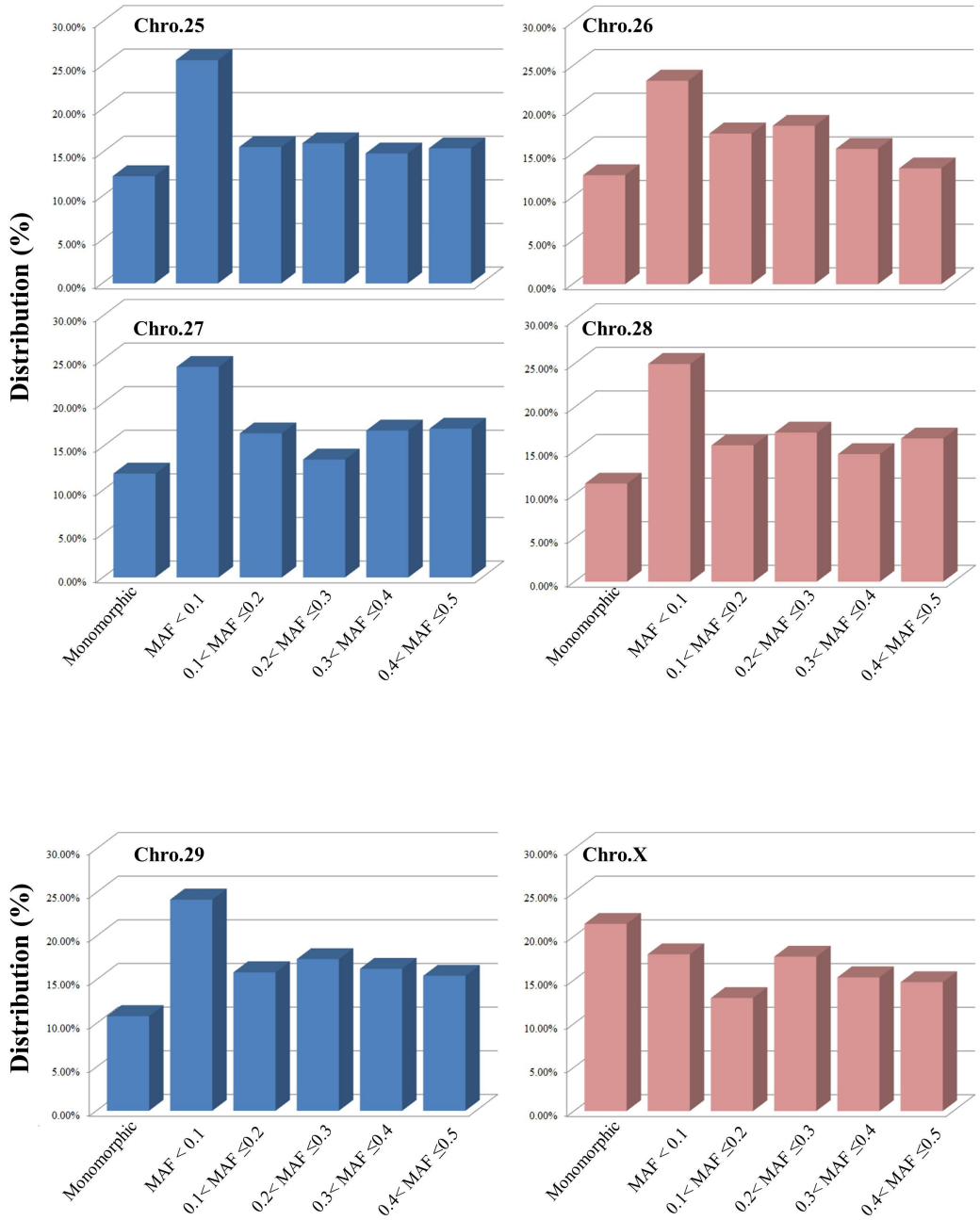



Distribution (%)
Chro.9
Chro.10
Chro.11
Chro.12
30.00%
25.00%
20.00%
15.00%
10.00%
5.00%
0.00%
Monomorphic
MAF < 0.1
0.1< MAF ≤0.2
0.2< MAF ≤0.3
0.3< MAF ≤0.4
0.4< MAF ≤0.5


Distribution (%)
Chro.13
Chro.14
Chro.15
Chro.16
30.00%
25.00%
20.00%
15.00%
10.00%
5.00%
0.00%
Monomorphic
MAF < 0.1
0.1< MAF ≤0.2
0.2< MAF ≤0.3
0.3< MAF ≤0.4
0.4< MAF ≤0.5


Distribution (%)
Chro.17
Chro.18
Chro.19
Chro.20
30.00%
25.00%
20.00%
15.00%
10.00%
5.00%
0.00%
Monomorphic
MAF < 0.1
0.1< MAF ≤0.2
0.2< MAF ≤0.3
0.3< MAF ≤0.4
0.4< MAF ≤0.5

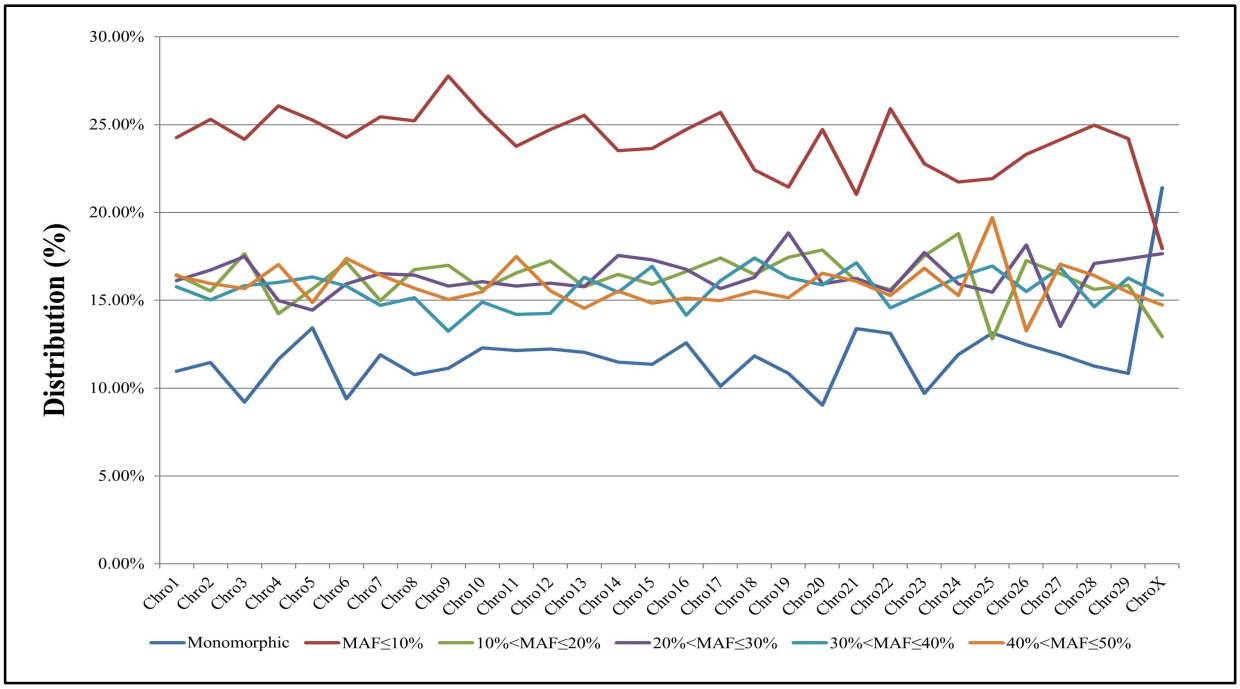

Distribution (%)
Chro.21
Chro.22
Chro.23
Chro.24
30.00%
25.00%
20.00%
15.00%
10.00%
5.00%
0.00%
Monomorphic
MAF < 0.1
0.1< MAF ≤0.2
0.2< MAF ≤0.3
0.3< MAF ≤0.4
0.4< MAF ≤0.5



<그림 3-4-19>. 색체별 빈도 분포.

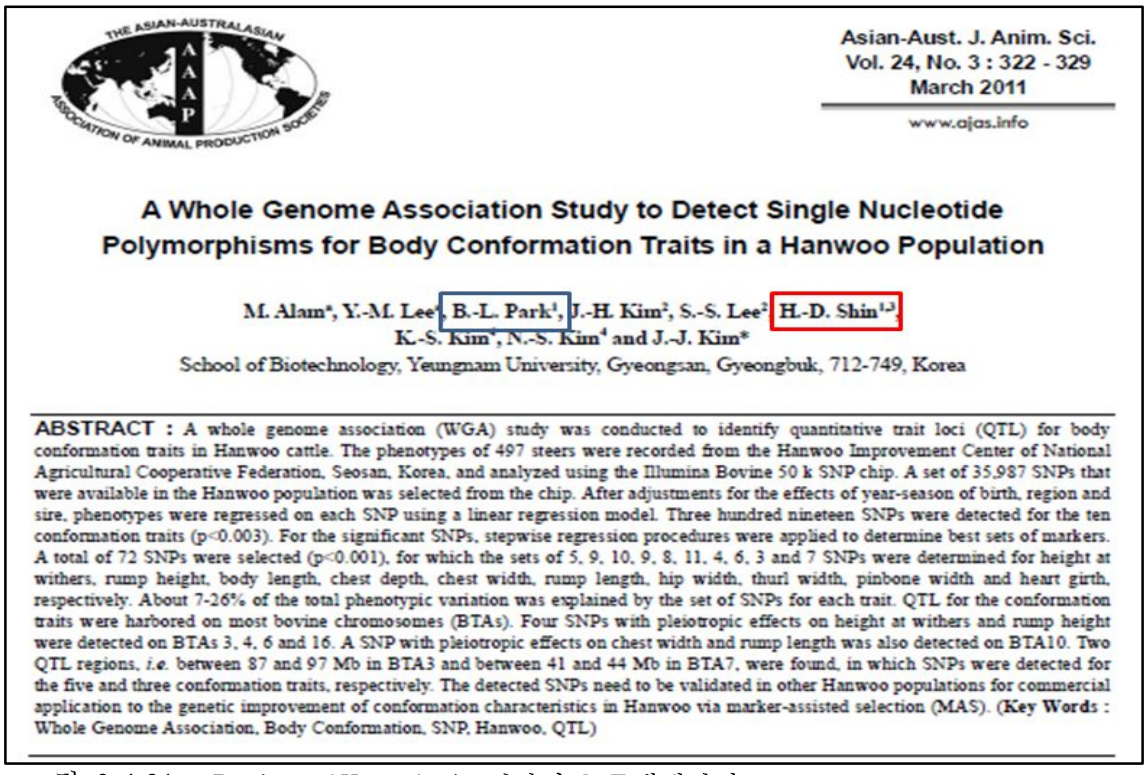
○ 염색체 2, 4, 5, 7, 8, 13, 17, 22, 25에서는 10% MAF 미만의 SNP들이 다른 염색체에 비해서 매우 높게 나타나는 특징을 보였으며, 성염색체의 경우 monomorphic SNP의 빈도가 가장 높게 나타나는 것으로 확인되었음.

○ MAF의 빈도별 분포를 도식화하여 보면 이러한 염색체별 SNP MAF의 분포를 쉽게 확인할 수 있었음 <그림 3-4-20>.



○ <그림 3-4-20>. 염색체별 MAF 구간 빈도 비교.

○ 전체적으로 빈도가 높았던 10% 미만 MAF 군의 경우와 마찬가지로 타 구간보다 상대적으로 분포가 적었던 Monomorphic SNP 들도 5번, 10번, 16번 21번,22번, 25번 염색체에서 상대적으로 높은 분포를 나타내었음. 염색체 22번을 제외하면 monomorphic SNP의 분포와 10% 미만의 MAF 군의 분포가 상반되게 나타나는 것이 매우 특징적으로 나타나고 있음.



Asian-Aust. J. Anim. Sci.
Vol. 24, No. 3 : 322 - 329
March 2011
www.ajas.info

A Whole Genome Association Study to Detect Single Nucleotide Polymorphisms for Body Conformation Traits in a Hanwoo Population

M. Alam*, Y.-M. Lee[1], B.-L. Park[1], J.-H. Kim[2], S.-S. Lee[2], H.-D. Shin[1,3], K.-S. Kim[3], N.-S. Kim[4] and J.-J. Kim*
School of Biotechnology, Yeungnam University, Gyeongsan, Gyeongbuk, 712-749, Korea

ABSTRACT : A whole genome association (WGA) study was conducted to identify quantitative trait loci (QTL) for body conformation traits in Hanwoo cattle. The phenotypes of 497 steers were recorded from the Hanwoo Improvement Center of National Agricultural Cooperative Federation, Seosan, Korea, and analyzed using the Illumina Bovine 50 k SNP chip. A set of 35,987 SNPs that were available in the Hanwoo population was selected from the chip. After adjustments for the effects of year-season of birth, region and sire, phenotypes were regressed on each SNP using a linear regression model. Three hundred nineteen SNPs were detected for the ten conformation traits ($p<0.003$). For the significant SNPs, stepwise regression procedures were applied to determine best sets of markers. A total of 72 SNPs were selected ($p<0.001$), for which the sets of 5, 9, 10, 9, 8, 11, 4, 6, 3 and 7 SNPs were determined for height at withers, rump height, body length, chest depth, chest width, rump length, hip width, thurl width, pinbone width and heart girth, respectively. About 7-26% of the total phenotypic variation was explained by the set of SNPs for each trait. QTL for the conformation traits were harbored on most bovine chromosomes (BTAs). Four SNPs with pleiotropic effects on height at withers and rump height were detected on BTAs 3, 4, 6 and 16. A SNP with pleiotropic effects on chest width and rump length was also detected on BTA10. Two QTL regions, *i.e.* between 87 and 97 Mb in BTA3 and between 41 and 44 Mb in BTA7, were found, in which SNPs were detected for the five and three conformation traits, respectively. The detected SNPs need to be validated in other Hanwoo populations for commercial application to the genetic improvement of conformation characteristics in Hanwoo via marker-assisted selection (MAS). (**Key Words :** Whole Genome Association, Body Conformation, SNP, Hanwoo, QTL)

<그림 3-4-21>. Bovine 50K analysis 결과의 논문개제실적.

○ 최종적으로 추출된 genotype은 제 1 협동연구기관에 양도하여 linkage analysis 및 경제형질 연관 분석에 사용할 수 있도록 하였으며, 제 1 협동 연구기관에서 분석된 경제형질 관련 통계분석 결과를 AJAS에 공동으로 개제하였음.

○ 또한, Bovine GWAS 연구를 통해 발굴한 경제형질 관련 SNP contents는 모든 세부과제들이 공동으로 특허를 출원하였음.

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2012-0011728
(43) 공개일자 2012년02월08일

(51) Int. Cl.
C12Q 1/68 (2006.01) *C12N 15/11* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2010-0073837
(22) 출원일자 2010년07월30일
심사청구일자 2010년07월30일

(71) 출원인
충북대학교 산학협력단
충청북도 청주시 흥덕구 개신동 12
(72) 발명자
김내수
충청북도 청주시 흥덕구 내수동로 52, 축산학과 (개신동, 충북대학교)
김종주
경상북도 경산시 대학로 280, 생명공학부 (대동, 영남대학교)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
김승진, 양부현

전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 한우의 육량 또는 육질의 조기 선발에 유용한 단일염기다형성 마커

(57) 요 약

본 발명은 한우의 도체중, 배장근단면적, 등지방두께, 또는 근내지방도의 육량 및 육질 판단에 유용한 SNP 마커를 제공한다. 또한, 본 발명은 본 발명의 SNP 마커를 이용하여 한우육의 품질을 판단하는 방법을 제공하며, 한우의 상기 육질 특성의 판단에 사용되는 키트를 제공한다. 본 발명의 SNP 마커를 이용하면 한우의 도체중, 배장근단면적, 등지방두께 또는 근내지방도를 간편한 방법으로 판단할 수 있으며, 이를 토대로 우육 품질이 우수한 한우품종을 조기에 선발하여 개량하는데 유용하게 사용될 수 있다.

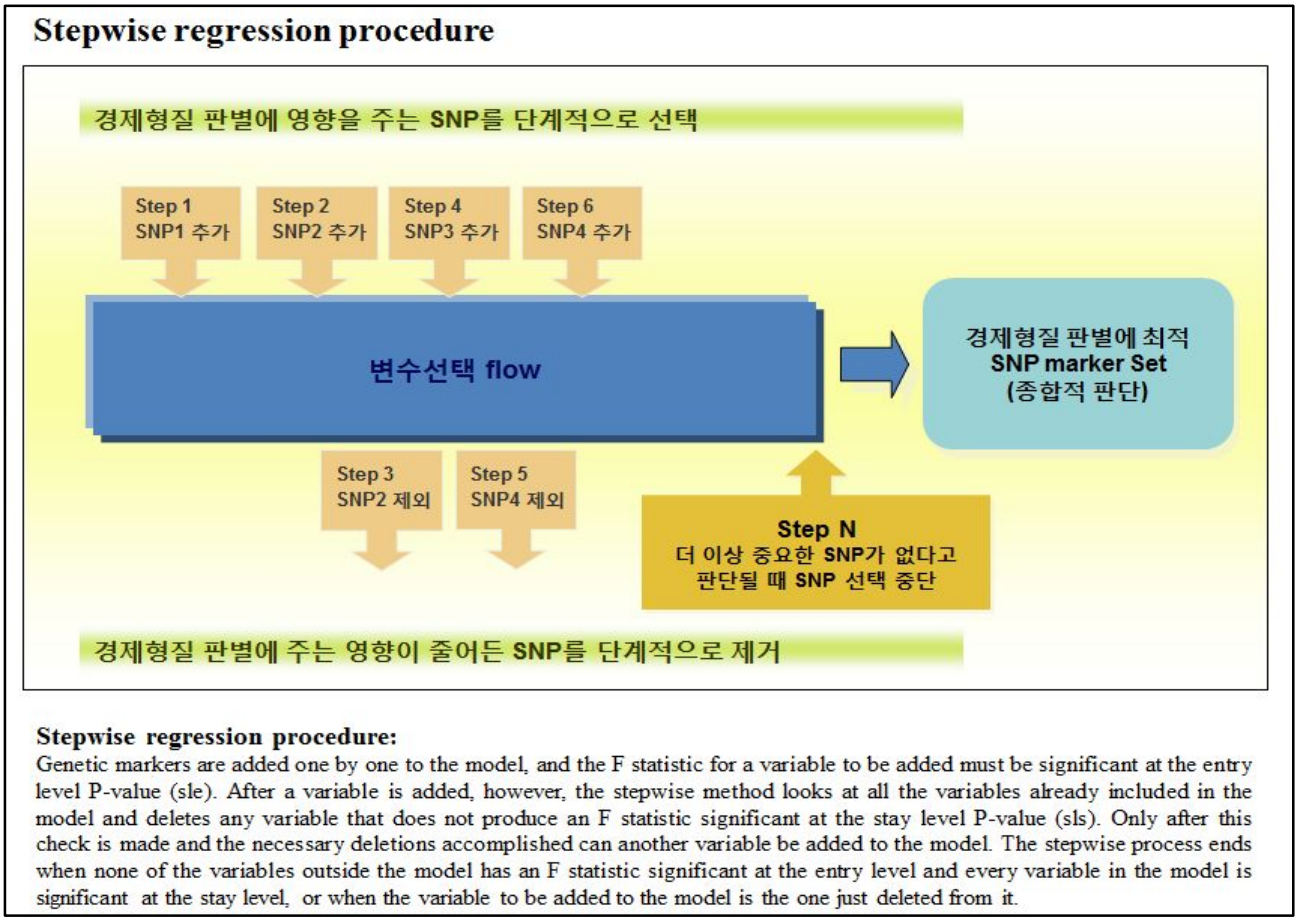
(72) 발명자
리이
경상북도 경산시 대학로 280, 생명공학부 (대동, 영남대학교)
김관석
충청북도 청주시 흥덕구 1순환로1137번길 123, 208동 201호 (분평동, 주공2단지아파트)
박병래
경기도 부천시 원미구
신형두
서울특별시 종로구 창경궁로 265,
이성수
충청남도 서산시 안견로 365-10, 대동, 서산 롯데캐슬)
김진호
충청남도 천안시 동남구 청수로 136-8,

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 307013-5
부처명 농림수산식품부
연구관리전문기관 농림수산식품기술기획평가원(IPET)
연구사업명 농림기술개발과제
연구과제명 한우 육량?육질 조기 선발용 DNA Kit 산업화 기술 개발
기여율 1/1
주관기관 충북대학교 산학협력단
연구기간 2007.05.30 ~ 2012.05.29

<그림 3-4-22>. Bovine GWAS를 통해 발굴한 경제형질 관련 SNP contents특허 출원 실적

라. GWAS를 통해 선별된 후보 contents의 genotyping

○ 제 1 협동과제에서 QTL 분석 및 stepwise analysis 등을 통해 경제형질 판별에 가장 적합하다고 판단되는 조합을 broad 하게 선별하여 총 192개를 선별하였음. 판별 SNP 조합은 Stringency를 가지지 않고 Broad 하게 선별되어야 하는데, 이는 실험 기법상의 특징 때문에 전체 SNP가 genotyping에 성공되는 조합을 고려해야 하기 때문임.



<그림 3-4-23>. Diagram of Stepwise analysis.

○ 제작된 oligo pool은 총 1,920두에서 GoldenGate assay를 통해 genotyping 되었음.

<표 3-4-6>. 수집된 1,920두

시료 구분	두수
40-45차 종모우 및 후대검정우	405
46-47차 종모우 및 후대검정우	388
종개협, 한능평, 농협축산연구원 종모우 및 후대검정우	1,127
총 계	1,920

○ 선별되어 실험된 192개 SNP 가운데 총 173개의 SNP가 genotyping에 성공하여 90.1%의 SNP success rate을 나타내었음. 총 1,920 두의 한우 가운데 1,888두에서 실험에 성공하여 98.33%의 실험 성공률을 나타내었음.

Replication Genotyping 결과 요약

항목	결과
Total Number of SNPs	192-plex
Number of SNPs after QC	173
Number of Samples	1,920
SNP Success Rate	90.1% (=173/192)
Sample Success Rate	98.33%
Genotype Call Rate	99.88%

<그림 3-4-24>. Replication assay 결과 요약.

○ 실험에 성공한 173개 SNP의 평균 calling 율은 99.88%로 매우 좋은 양질의 genotype data를 생산했음을 확인할 수 있음.<표 3-4-7>

<표 3-4-7>. 시료 별 call rate

Sample ID	Call Rate	Sample ID	Call Rate	Sample ID	Call Rate	Sample ID	Call Rate
54202	100.0%	64037	100.0%	74214	100.0%	84033	100.0%
54206	100.0%	64038	100.0%	74217	100.0%	84038	100.0%
54222	100.0%	64040	100.0%	74218	99.4%	84039	100.0%
54224	100.0%	64042	100.0%	74219	99.4%	84040	100.0%
54225	100.0%	64044	99.4%	74220	100.0%	84041	99.4%
54228	100.0%	64045	100.0%	74222	100.0%	84044	100.0%
54229	100.0%	64046	100.0%	74231	99.4%	84051	100.0%
54231	100.0%	64047	100.0%	74233	100.0%	84056	100.0%
54245	100.0%	64048	100.0%	74240	100.0%	84065	100.0%
54246	99.4%	64053	100.0%	74242	100.0%	84068	100.0%
54248	100.0%	64054	100.0%	74243	100.0%	84069	100.0%
54252	Fail	64056	100.0%	74244	100.0%	84070	100.0%
54255	100.0%	64057	100.0%	74248	100.0%	84071	100.0%
54256	100.0%	64058	98.8%	74251	100.0%	84072	100.0%
54258	100.0%	64060	Fail	74254	100.0%	84073	100.0%
54259	100.0%	64061	100.0%	74256	100.0%	84074	99.4%
54263	100.0%	64062	100.0%	74257	100.0%	84076	100.0%
54265	100.0%	64063	100.0%	74262	100.0%	84077	100.0%
54266	100.0%	64067	100.0%	74263	100.0%	84078	99.4%
54267	100.0%	64070	100.0%	74264	100.0%	84080	100.0%
54268	99.4%	64071	100.0%	74265	99.4%	84081	100.0%
54270	100.0%	64073	100.0%	74269	100.0%	84086	100.0%
54271	100.0%	64075	100.0%	74272	100.0%	84095	100.0%
54285	100.0%	64078	100.0%	74276	99.4%	84096	100.0%
54287	100.0%	64079	100.0%	74280	100.0%	84098	100.0%
54297	100.0%	64083	100.0%	74285	100.0%	84108	100.0%
54301	99.4%	64084	100.0%	74289	100.0%	84109	99.4%
54305	100.0%	64086	100.0%	74295	100.0%	84110	100.0%
54308	100.0%	64087	100.0%	74296	100.0%	84123	100.0%
54311	100.0%	64089	100.0%	74299	100.0%	84124	100.0%
54318	100.0%	64092	99.4%	74301	100.0%	84125	100.0%
54319	100.0%	64098	100.0%	74304	100.0%	84126	100.0%
54320	100.0%	64099	100.0%	74307	100.0%	84129	100.0%
54322	100.0%	64100	100.0%	74308	100.0%	84140	100.0%
54327	100.0%	64102	100.0%	74309	100.0%	84144	100.0%
54328	99.4%	64115	100.0%	74311	100.0%	84146	100.0%
54329	100.0%	64116	100.0%	74314	100.0%	84147	100.0%
54332	99.4%	64118	100.0%	74315	100.0%	84148	100.0%
54338	100.0%	64125	100.0%	74316	100.0%	84153	100.0%
54341	99.4%	64128	99.4%	74329	100.0%	84158	100.0%
54353	99.4%	64129	100.0%	74330	100.0%	84168	100.0%
54358	100.0%	64130	99.4%	74331	100.0%	84171	100.0%
54359	100.0%	64131	100.0%	74336	100.0%	84172	100.0%
54364	100.0%	64133	99.4%	74337	100.0%	84174	100.0%
54369	100.0%	64134	100.0%	74338	100.0%	84175	100.0%
54370	99.4%	64136	100.0%	74339	100.0%	84176	100.0%
54374	100.0%	64141	100.0%	74354	100.0%	84177	100.0%
54376	100.0%	64142	100.0%	74361	100.0%	84178	100.0%
54377	100.0%	64146	100.0%	74362	99.4%	84179	100.0%
54382	100.0%	64148	100.0%	74371	100.0%	84180	99.4%
54383	100.0%	64150	100.0%	74375	100.0%	84181	99.4%
54384	100.0%	64151	99.4%	74379	100.0%	84186	100.0%
54385	100.0%	64152	100.0%	74387	100.0%	84189	100.0%
54387	100.0%	64156	100.0%	74390	100.0%	84191	100.0%
64001	100.0%	64163	99.4%	74391	100.0%	84192	100.0%
64004	100.0%	64164	99.4%	74394	100.0%	46_002	100.0%
64010	100.0%	64165	100.0%	74397	100.0%	46_004	99.4%
64012	100.0%	64166	100.0%	84004	100.0%	46_008	100.0%
64013	100.0%	64167	100.0%	84012	100.0%	46_010	100.0%
64018	100.0%	64171	Fail	84013	100.0%	46_012	100.0%
64022	100.0%	64177	100.0%	84024	100.0%	46_026	99.4%
64024	100.0%	74207	100.0%	84026	100.0%	46_028	100.0%

Sample ID	Call Rate	Sample ID	Call Rate	Sample ID	Call Rate	Sample ID	Call Rate
64034	100.0%	74212	100.0%	84032	100.0%	46_062	100.0%
46_070	100.0%	46_360	100.0%	46_530	100.0%	47_084	99.4%
46_072	97.7%	46_362	99.4%	46_532	100.0%	47_086	100.0%
46_104	95.4%	46_368	100.0%	46_534	100.0%	47_088	100.0%
46_124	100.0%	46_370	100.0%	46_536	100.0%	47_092	97.1%
46_150	100.0%	46_372	99.4%	46_538	100.0%	47_094	100.0%
46_166	100.0%	46_376	100.0%	46_540	100.0%	47_096	100.0%
46_184	100.0%	46_378	100.0%	46_542	100.0%	47_098	100.0%
46_196	100.0%	46_382	100.0%	46_544	100.0%	47_100	100.0%
46_214	100.0%	46_384	100.0%	46_546	99.4%	47_102	100.0%
46_218	99.4%	46_386	100.0%	46_548	99.4%	47_104	99.4%
46_226	100.0%	46_390	100.0%	46_550	100.0%	47_106	99.4%
46_228	100.0%	46_392	100.0%	46_552	99.4%	47_108	100.0%
46_234	97.7%	46_394	100.0%	46_554	100.0%	47_110	100.0%
46_238	100.0%	46_396	100.0%	46_556	99.4%	47_112	100.0%
46_240	99.4%	46_398	99.4%	46_560	100.0%	47_116	100.0%
46_246	100.0%	46_402	99.4%	46_562	100.0%	47_118	100.0%
46_248	100.0%	46_404	100.0%	46_564	99.4%	47_122	100.0%
46_250	100.0%	46_406	100.0%	46_566	100.0%	47_124	100.0%
46_252	100.0%	46_408	100.0%	46_572	99.4%	47_128	100.0%
46_254	100.0%	46_412	100.0%	46_574	100.0%	47_130	100.0%
46_256	100.0%	46_414	99.4%	46_576	100.0%	47_132	100.0%
46_260	100.0%	46_416	100.0%	46_580	100.0%	47_134	100.0%
46_262	100.0%	46_418	100.0%	46_584	100.0%	47_136	100.0%
46_264	99.4%	46_420	100.0%	46_586	100.0%	47_138	100.0%
46_268	100.0%	46_422	100.0%	46_588	100.0%	47_140	99.4%
46_270	100.0%	46_424	100.0%	46_590	100.0%	47_142	100.0%
46_272	100.0%	46_426	100.0%	46_592	99.4%	47_150	100.0%
46_276	99.4%	46_428	100.0%	46_594	100.0%	47_152	100.0%
46_278	100.0%	46_430	100.0%	46_600	100.0%	47_154	100.0%
46_280	100.0%	46_432	100.0%	46_602	100.0%	47_156	100.0%
46_282	100.0%	46_436	100.0%	46_604	99.4%	47_158	99.4%
46_284	100.0%	46_438	100.0%	47_002	100.0%	47_160	100.0%
46_286	100.0%	46_440	98.8%	47_004	100.0%	47_162	100.0%
46_288	100.0%	46_442	100.0%	47_006	99.4%	47_164	99.4%
46_290	100.0%	46_444	100.0%	47_008	99.4%	47_166	98.3%
46_292	100.0%	46_448	100.0%	47_010	100.0%	47_168	100.0%
46_294	100.0%	46_452	100.0%	47_012	100.0%	47_170	100.0%
46_296	100.0%	46_454	100.0%	47_014	100.0%	47_172	100.0%
46_298	100.0%	46_456	99.4%	47_018	99.4%	47_174	100.0%
46_300	100.0%	46_458	100.0%	47_020	100.0%	47_176	100.0%
46_308	100.0%	46_460	100.0%	47_024	100.0%	47_178	100.0%
46_314	100.0%	46_462	100.0%	47_026	100.0%	47_182	100.0%
46_316	100.0%	46_464	100.0%	47_028	100.0%	47_184	Fail
46_318	100.0%	46_470	99.4%	47_034	100.0%	47_186	Fail
46_320	100.0%	46_472	100.0%	47_036	100.0%	47_210	100.0%
46_322	100.0%	46_474	100.0%	47_038	100.0%	47_212	100.0%
46_324	100.0%	46_476	100.0%	47_040	100.0%	47_214	100.0%
46_326	100.0%	46_478	100.0%	47_048	100.0%	47_216	100.0%
46_328	99.4%	46_480	100.0%	47_050	100.0%	47_220	100.0%
46_330	100.0%	46_482	100.0%	47_052	100.0%	47_222	100.0%
46_334	100.0%	46_484	100.0%	47_054	99.4%	47_226	100.0%
46_336	100.0%	46_486	99.4%	47_060	100.0%	47_228	100.0%
46_338	100.0%	46_488	100.0%	47_064	100.0%	47_230	99.4%
46_340	100.0%	46_490	100.0%	47_066	100.0%	47_232	100.0%
46_342	100.0%	46_492	100.0%	47_068	100.0%	47_236	99.4%
46_344	100.0%	46_494	100.0%	47_070	100.0%	47_238	99.4%
46_346	100.0%	46_496	99.4%	47_072	100.0%	47_240	100.0%
46_348	100.0%	46_500	99.4%	47_074	100.0%	47_244	100.0%
46_350	100.0%	46_502	100.0%	47_076	100.0%	47_246	100.0%
46_354	100.0%	46_512	100.0%	47_078	100.0%	47_248	100.0%
46_356	100.0%	46_516	100.0%	47_080	100.0%	47_250	100.0%
46_358	100.0%	46_520	100.0%	47_082	100.0%	47_252	99.4%

Sample ID	Call Rate	Sample ID	Call Rate	Sample ID	Call Rate	Sample ID	Call Rate
47_254	100.0%	47_436	100.0%	han0042	100.0%	han0106	100.0%
47_256	100.0%	47_438	100.0%	han0043	100.0%	han0107	99.4%
47_258	100.0%	47_442	100.0%	han0044	100.0%	han0108	100.0%
47_260	100.0%	47_444	100.0%	han0045	100.0%	han0109	100.0%
47_262	100.0%	47_454	99.4%	han0046	100.0%	han0110	100.0%
47_264	100.0%	47_460	100.0%	han0047	100.0%	han0111	100.0%
47_266	100.0%	47_462	98.8%	han0048	100.0%	han0112	100.0%
47_268	100.0%	47_464	100.0%	han0049	100.0%	han0113	100.0%
47_270	100.0%	47_466	99.4%	han0050	100.0%	han0114	100.0%
47_272	100.0%	47_468	100.0%	han0051	100.0%	han0115	100.0%
47_274	99.4%	47_472	99.4%	han0052	100.0%	han0117	100.0%
47_278	100.0%	47_478	100.0%	han0053	100.0%	han0118	100.0%
47_280	100.0%	47_480	100.0%	han0054	100.0%	han0119	100.0%
47_282	100.0%	47_482	100.0%	han0055	99.4%	han0121	100.0%
47_284	100.0%	47_490	100.0%	han0056	100.0%	han0122	100.0%
47_288	100.0%	47_492	100.0%	han0057	100.0%	han0123	100.0%
47_290	100.0%	47_496	100.0%	han0058	100.0%	han0125	100.0%
47_292	100.0%	47_500	99.4%	han0059	100.0%	han0126	100.0%
47_294	100.0%	47_502	100.0%	han0060	99.4%	han0127	100.0%
47_306	100.0%	47_508	100.0%	han0061	100.0%	han0128	100.0%
47_314	100.0%	47_510	100.0%	han0062	100.0%	han0129	100.0%
47_318	100.0%	47_520	100.0%	han0063	100.0%	han0130	100.0%
47_322	100.0%	47_532	100.0%	han0064	100.0%	han0131	100.0%
47_328	100.0%	47_534	100.0%	han0065	100.0%	han0132	96.5%
47_330	100.0%	47_536	100.0%	han0066	100.0%	han0133	100.0%
47_332	100.0%	47_538	100.0%	han0067	100.0%	han0134	100.0%
47_334	99.4%	47_540	100.0%	han0068	100.0%	han0135	100.0%
47_338	100.0%	han0001	100.0%	han0069	100.0%	han0136	100.0%
47_340	100.0%	han0002	100.0%	han0070	99.4%	han0138	100.0%
47_344	100.0%	han0003	100.0%	han0071	100.0%	han0139	100.0%
47_348	99.4%	han0004	100.0%	han0072	100.0%	han0141	99.4%
47_356	100.0%	han0006	100.0%	han0073	100.0%	han0142	100.0%
47_358	100.0%	han0008	100.0%	han0074	100.0%	han0143	99.4%
47_364	100.0%	han0009	98.8%	han0075	100.0%	han0144	100.0%
47_366	100.0%	han0010	100.0%	han0076	100.0%	han0146	100.0%
47_368	100.0%	han0011	100.0%	han0077	100.0%	han0147	100.0%
47_370	100.0%	han0012	100.0%	han0078	100.0%	han0148	99.4%
47_372	100.0%	han0013	100.0%	han0079	100.0%	han0149	100.0%
47_374	100.0%	han0016	100.0%	han0080	100.0%	han0153	100.0%
47_376	100.0%	han0017	100.0%	han0081	100.0%	han0155	100.0%
47_378	100.0%	han0018	100.0%	han0082	100.0%	han0156	99.4%
47_380	100.0%	han0019	100.0%	han0083	99.4%	han0157	100.0%
47_382	100.0%	han0020	100.0%	han0084	100.0%	han0162	Fail
47_384	100.0%	han0021	100.0%	han0085	100.0%	han0164	99.4%
47_390	100.0%	han0022	100.0%	han0087	100.0%	han0165	100.0%
47_392	100.0%	han0023	100.0%	han0088	100.0%	han0166	98.8%
47_394	99.4%	han0024	98.8%	han0089	100.0%	han0167	100.0%
47_398	99.4%	han0025	Fail	han0090	100.0%	han0170	99.4%
47_400	100.0%	han0026	100.0%	han0091	100.0%	han0176	100.0%
47_402	100.0%	han0027	100.0%	han0092	100.0%	han0178	100.0%
47_404	100.0%	han0028	100.0%	han0093	100.0%	han0179	100.0%
47_408	100.0%	han0029	100.0%	han0094	100.0%	han0180	100.0%
47_410	100.0%	han0031	100.0%	han0095	99.4%	han0181	100.0%
47_412	100.0%	han0032	100.0%	han0096	100.0%	han0182	99.4%
47_414	100.0%	han0033	100.0%	han0097	100.0%	han0183	99.4%
47_416	100.0%	han0034	100.0%	han0098	100.0%	han0184	100.0%
47_418	100.0%	han0035	100.0%	han0099	99.4%	han0185	100.0%
47_420	100.0%	han0036	Fail	han0100	100.0%	han0186	100.0%
47_422	100.0%	han0037	100.0%	han0101	100.0%	han0187	100.0%
47_424	100.0%	han0038	100.0%	han0102	100.0%	han0188	99.4%
47_426	100.0%	han0039	100.0%	han0103	100.0%	han0189	99.4%
47_430	100.0%	han0040	100.0%	han0104	100.0%	han0190	100.0%
47_432	100.0%	han0041	100.0%	han0105	100.0%	han0191	100.0%

Sample ID	Call Rate	Sample ID	Call Rate	Sample ID	Call Rate	Sample ID	Call Rate
han0192	100.0%	hnp0010	99.4%	hnp0075	100.0%	hnp0138	Fail
han0194	100.0%	hnp0011	100.0%	hnp0076	100.0%	hnp0139	100.0%
han0196	100.0%	hnp0012	99.4%	hnp0077	100.0%	hnp0140	100.0%
han0197	99.4%	hnp0013	100.0%	hnp0078	100.0%	hnp0141	100.0%
han0200	100.0%	hnp0014	99.4%	hnp0079	100.0%	hnp0142	Fail
han0201	100.0%	hnp0015	99.4%	hnp0080	99.4%	hnp0143	100.0%
han0202	100.0%	hnp0017	99.4%	hnp0081	100.0%	hnp0144	100.0%
han0203	100.0%	hnp0018	100.0%	hnp0082	100.0%	hnp0145	100.0%
han0204	100.0%	hnp0019	100.0%	hnp0083	100.0%	hnp0146	Fail
han1-121	98.3%	hnp0020	100.0%	hnp0084	100.0%	hnp0147	100.0%
han1-122	100.0%	hnp0021	100.0%	hnp0085	100.0%	hnp0148	100.0%
han1-125	99.4%	hnp0022	100.0%	hnp0086	100.0%	hnp0149	100.0%
han1-135	100.0%	hnp0023	100.0%	hnp0087	100.0%	hnp0150	100.0%
han1-138	99.4%	hnp0024	100.0%	hnp0088	99.4%	hnp0151	98.3%
han1-144	100.0%	hnp0025	100.0%	hnp0089	100.0%	hnp0152	99.4%
han1-147	100.0%	hnp0026	100.0%	hnp0090	100.0%	hnp0153	99.4%
han1-156	100.0%	hnp0027	99.4%	hnp0091	100.0%	hnp0154	Fail
han1-162	100.0%	hnp0028	100.0%	hnp0092	100.0%	hnp0155	100.0%
han1-274	100.0%	hnp0029	100.0%	hnp0093	100.0%	hnp0156	100.0%
han1-314	100.0%	hnp0031	100.0%	hnp0094	100.0%	hnp0157	100.0%
han2-104	99.4%	hnp0032	100.0%	hnp0095	100.0%	hnp0158	100.0%
han2-111	100.0%	hnp0033	100.0%	hnp0096	100.0%	hnp0159	100.0%
han2-126	100.0%	hnp0034	100.0%	hnp0097	100.0%	hnp0160	100.0%
han2-131	100.0%	hnp0035	100.0%	hnp0098	100.0%	hnp0161	100.0%
han2-134	99.4%	hnp0036	100.0%	hnp0099	100.0%	hnp0162	100.0%
han2-136	100.0%	hnp0037	100.0%	hnp0100	100.0%	hnp0163	100.0%
han2-138	99.4%	hnp0038	100.0%	hnp0101	100.0%	hnp0164	100.0%
han2-160	100.0%	hnp0039	100.0%	hnp0102	100.0%	hnp0165	100.0%
han2-171	100.0%	hnp0040	100.0%	hnp0103	99.4%	hnp0166	100.0%
han2-311	100.0%	hnp0041	100.0%	hnp0104	99.4%	hnp0167	100.0%
han2-336	100.0%	hnp0042	100.0%	hnp0105	99.4%	hnp0168	100.0%
han3-101	100.0%	hnp0043	99.4%	hnp0106	100.0%	hnp0169	100.0%
han3-103	100.0%	hnp0044	100.0%	hnp0107	100.0%	hnp0170	100.0%
han3-106	99.4%	hnp0045	100.0%	hnp0108	99.4%	hnp0171	99.4%
han3-110	100.0%	hnp0046	97.1%	hnp0109	100.0%	hnp0172	99.4%
han3-111	100.0%	hnp0047	100.0%	hnp0110	100.0%	hnp0173	100.0%
han3-113	99.4%	hnp0048	99.4%	hnp0111	100.0%	hnp0174	100.0%
han3-116	100.0%	hnp0049	100.0%	hnp0112	99.4%	hnp0176	100.0%
han3-117	100.0%	hnp0050	100.0%	hnp0113	100.0%	hnp0177	100.0%
han3-118	100.0%	hnp0051	99.4%	hnp0114	98.8%	hnp0178	100.0%
han3-123	98.8%	hnp0052	100.0%	hnp0115	100.0%	hnp0179	100.0%
han3-125	100.0%	hnp0053	99.4%	hnp0116	100.0%	hnp0180	100.0%
han3-127	100.0%	hnp0054	100.0%	hnp0117	100.0%	hnp0181	99.4%
han3-141	100.0%	hnp0055	100.0%	hnp0118	99.4%	hnp0182	100.0%
han3-142	100.0%	hnp0056	98.8%	hnp0119	99.4%	hnp0183	100.0%
han3-143	100.0%	hnp0057	100.0%	hnp0120	100.0%	hnp0184	100.0%
han3-147	100.0%	hnp0058	100.0%	hnp0121	100.0%	hnp0185	100.0%
han3-149	99.4%	hnp0059	100.0%	hnp0122	Fail	hnp0186	Fail
han3-152	100.0%	hnp0060	100.0%	hnp0123	100.0%	hnp0187	100.0%
han3-153	100.0%	hnp0061	100.0%	hnp0124	100.0%	hnp0188	100.0%
han3-154	100.0%	hnp0062	100.0%	hnp0125	100.0%	hnp0189	100.0%
han3-157	100.0%	hnp0063	100.0%	hnp0126	100.0%	hnp0190	100.0%
han3-158	100.0%	hnp0064	100.0%	hnp0127	99.4%	hnp0191	100.0%
han3-163	99.4%	hnp0065	100.0%	hnp0128	100.0%	hnp0192	100.0%
hnp0001	100.0%	hnp0066	100.0%	hnp0129	100.0%	hnp0193	100.0%
hnp0002	99.4%	hnp0067	100.0%	hnp0130	100.0%	hnp0194	100.0%
hnp0003	100.0%	hnp0068	100.0%	hnp0131	100.0%	hnp0195	100.0%
hnp0004	100.0%	hnp0069	99.4%	hnp0132	100.0%	hnp0196	100.0%
hnp0005	100.0%	hnp0070	100.0%	hnp0133	100.0%	hnp0197	100.0%
hnp0006	100.0%	hnp0071	98.8%	hnp0134	100.0%	hnp0198	99.4%
hnp0007	100.0%	hnp0072	99.4%	hnp0135	99.4%	hnp0199	100.0%
hnp0008	100.0%	hnp0073	100.0%	hnp0136	100.0%	hnp0200	99.4%
hnp0009	99.4%	hnp0074	100.0%	hnp0137	100.0%	hnp0201	100.0%

Sample ID	Call Rate	Sample ID	Call Rate	Sample ID	Call Rate	Sample ID	Call Rate
hnp0202	100.0%	jun3-203	100.0%	ker4257	100.0%	ker6002	100.0%
hnp0203	99.4%	jun3-204	100.0%	ker4258	100.0%	ker6003	100.0%
hnp0204	100.0%	jun3-205	99.4%	ker4259	100.0%	ker6004	100.0%
hnp0205	100.0%	jun3-206	100.0%	ker4260	100.0%	ker6005	100.0%
jeb0408	98.8%	jun3-207	98.8%	ker4261	100.0%	ker6006	100.0%
jeb0409	99.4%	jun3-208	100.0%	ker4264	100.0%	ker6012	100.0%
jeb0410	100.0%	jun3-212	98.8%	ker4267	100.0%	ker6015	99.4%
jeb0411	99.4%	jun3-213	100.0%	ker4268	100.0%	ker6016	100.0%
jeb0413	100.0%	jun3-216	100.0%	ker4269	100.0%	ker6017	99.4%
jeb0414	100.0%	jun3-218	100.0%	ker4273	100.0%	ker6018	100.0%
jeb0415	100.0%	jun3-220	100.0%	ker5906	100.0%	ker6029	100.0%
jeb0416	100.0%	jun3-222	100.0%	ker5912	100.0%	ker6031	100.0%
jeb0417	100.0%	jun3-223	100.0%	ker5913	100.0%	ker6033	100.0%
jun1-120	100.0%	jun3-224	100.0%	ker5914	100.0%	ker6034	99.4%
jun1-121	99.4%	jun3-225	99.4%	ker5915	99.4%	ker6039	99.4%
jun11-22	100.0%	jun3-229	100.0%	ker5916	100.0%	ker6046	100.0%
jun11-24	100.0%	jun3-230	100.0%	ker5918	100.0%	ker6057	100.0%
jun11-26	100.0%	jun3-231	100.0%	ker5919	99.4%	KOR000168656361	100.0%
jun11-27	100.0%	jun3-232	100.0%	ker5920	100.0%	KOR000168656439	100.0%
jun11-28	100.0%	jun3-234	100.0%	ker5921	100.0%	KOR000168656750	100.0%
jun11-29	100.0%	jun3-235	100.0%	ker5922	100.0%	KOR000182796623	100.0%
jun11-30	100.0%	jun3-236	100.0%	ker5923	100.0%	KOR000182797033	100.0%
jun11-31	100.0%	jun3-237	100.0%	ker5924	100.0%	KOR000182798016	100.0%
jun11-32	99.4%	jun3-238	100.0%	ker5925	99.4%	KOR000182798047	97.1%
jun11-33	100.0%	jun3-239	100.0%	ker5928	100.0%	KOR000182798054	100.0%
jun11-34	100.0%	jun3-240	99.4%	ker5931	100.0%	KOR000182798184	100.0%
jun11-35	99.4%	jun3-241	100.0%	ker5932	100.0%	KOR000184772670	100.0%
jun11-48	100.0%	jun3-242	100.0%	ker5933	99.4%	KOR000185108591	99.4%
jun11-62	100.0%	jun3-243	99.4%	ker5934	100.0%	KOR000185108980	100.0%
jun11-74	100.0%	jun9-161	100.0%	ker5935	100.0%	KOR000185109000	100.0%
jun11-90	100.0%	jun9-169	100.0%	ker5936	100.0%	KOR000185119511	100.0%
jun11-91	100.0%	ker4203	99.4%	ker5937	100.0%	KOR000185119580	100.0%
jun11-92	99.4%	ker4213	100.0%	ker5938	100.0%	KOR000185119849	Fail
jun11-93	100.0%	ker4214	100.0%	ker5939	100.0%	KOR000188632147	100.0%
jun11-95	Fail	ker4215	100.0%	ker5940	100.0%	KOR000189506737	100.0%
jun11-98	100.0%	ker4217	100.0%	ker5942	100.0%	KOR000189506744	Fail
jun2-149	100.0%	ker4219	Fail	ker5947	100.0%	KOR000189507123	100.0%
jun3-119	100.0%	ker4220	Fail	ker5948	100.0%	KOR000189507888	100.0%
jun3-120	99.4%	ker4221	Fail	ker5949	100.0%	KOR000189521044	100.0%
jun3-122	100.0%	ker4222	Fail	ker5950	99.4%	KOR000189522027	100.0%
jun3-124	100.0%	ker4223	Fail	ker5951	100.0%	KOR000189522652	100.0%
jun3-125	100.0%	ker4224	Fail	ker5952	100.0%	KOR000189711810	100.0%
jun3-126	99.4%	ker4225	Fail	ker5953	100.0%	KOR000190308634	100.0%
jun3-127	100.0%	ker4226	Fail	ker5960	100.0%	KOR000190312471	100.0%
jun3-129	100.0%	ker4229	100.0%	ker5961	99.4%	KOR000190626905	100.0%
jun3-130	100.0%	ker4230	100.0%	ker5962	99.4%	KOR000192257077	100.0%
jun3-131	100.0%	ker4231	100.0%	ker5963	100.0%	KOR000192257978	100.0%
jun3-137	100.0%	ker4232	100.0%	ker5964	100.0%	KOR000192301329	99.4%
jun3-138	100.0%	ker4233	100.0%	ker5966	100.0%	KOR000192303774	100.0%
jun3-143	99.4%	ker4234	100.0%	ker5967	100.0%	KOR000192316552	100.0%
jun3-144	100.0%	ker4235	100.0%	ker5968	100.0%	KOR000192346337	100.0%
jun3-145	99.4%	ker4236	100.0%	ker5969	100.0%	KOR000192452847	100.0%
jun3-146	100.0%	ker4237	100.0%	ker5970	99.4%	KOR000192455817	100.0%
jun3-147	100.0%	ker4238	99.4%	ker5971	100.0%	KOR000192462129	100.0%
jun3-148	100.0%	ker4239	100.0%	ker5972	100.0%	KOR000192857598	100.0%
jun3-184	100.0%	ker4243	100.0%	ker5974	99.4%	KOR000193710311	100.0%
jun3-188	100.0%	ker4244	100.0%	ker5985	100.0%	KOR000193761900	100.0%
jun3-189	100.0%	ker4245	100.0%	ker5986	100.0%	KOR000194358437	100.0%
jun3-190	99.4%	ker4246	100.0%	ker5988	100.0%	KOR000194359106	100.0%
jun3-196	100.0%	ker4251	100.0%	ker5989	99.4%	KOR000194359151	99.4%
jun3-198	100.0%	ker4254	99.4%	ker5991	100.0%	KOR000194361130	100.0%
jun3-200	100.0%	ker4255	100.0%	ker5998	96.5%	KOR000194361581	99.4%
jun3-202	100.0%	ker4256	100.0%	ker5999	100.0%	KOR000194371023	100.0%

Sample ID	Call Rate	Sample ID	Call Rate	Sample ID	Call Rate	Sample ID	Call Rate
KOR000194697666	100.0%	KOR000199456091	99.4%	KPN686	100.0%	kyu0459	100.0%
KOR000194777849	100.0%	KOR000199462764	100.0%	KPN688	99.4%	kyu0460	100.0%
KOR000195440438	100.0%	KOR000199464041	99.4%	KPN689	99.4%	kyu0461	100.0%
KOR000196531623	100.0%	KOR000199548352	99.4%	KPN691	100.0%	kyu0462	100.0%
KOR000196531838	100.0%	KOR000199548369	98.8%	KPN693	100.0%	kyu0463	100.0%
KOR000196550549	100.0%	KOR000199551024	100.0%	KPN695	100.0%	kyu0464	100.0%
KOR000196550815	100.0%	KOR000199557767	100.0%	KPN699	100.0%	kyu0465	100.0%
KOR000196557142	99.4%	KOR000199574030	100.0%	KPN703	100.0%	kyu0466	100.0%
KOR000196559481	100.0%	KOR000199623257	100.0%	KPN704	100.0%	kyu0467	100.0%
KOR000196572879	100.0%	KOR000199627576	100.0%	KPN708	100.0%	kyu0468	100.0%
KOR000196581802	Fail	KOR000199645730	100.0%	KPN709	100.0%	kyu0469	100.0%
KOR000196591078	100.0%	KOR000199650451	100.0%	KPN710	100.0%	kyu0470	100.0%
KOR000196591160	100.0%	KOR000199820953	100.0%	KPN711	99.4%	kyu0472	100.0%
KOR000196701729	100.0%	KOR000199821462	100.0%	KPN712	100.0%	kyu0473	100.0%
KOR000196701750	99.4%	KOR000199827884	99.4%	KPN714	99.4%	kyu0474	100.0%
KOR000196701859	100.0%	KOR000199827952	100.0%	KPN716	100.0%	kyu0475	100.0%
KOR000196860914	100.0%	KOR000199830747	100.0%	KPN717	100.0%	kyu0476	100.0%
KOR000196866237	100.0%	KOR000199852152	100.0%	KPN720	100.0%	kyu0477	99.4%
KOR000196868330	100.0%	KOR000199852466	100.0%	KPN721	100.0%	kyu0480	99.4%
KOR000196868460	100.0%	KOR000200128269	100.0%	KPN722	100.0%	kyu0481	100.0%
KOR000196904687	100.0%	KOR000200143071	100.0%	KPN723	99.4%	kyu0482	100.0%
KOR000196904953	100.0%	KOR000201049662	100.0%	KPN724	100.0%	kyu0483	100.0%
KOR000196911470	100.0%	KOR000201049693	100.0%	KPN725	100.0%	kyu0484	100.0%
KOR000197116164	100.0%	KOR000201174654	100.0%	KPN726	100.0%	kyu0485	100.0%
KOR000197117901	100.0%	KOR000202200673	100.0%	KPN728	100.0%	kyu0486	100.0%
KOR000197117918	100.0%	KOR000202200888	100.0%	KPN730	100.0%	kyu0487	99.4%
KOR000197167173	100.0%	KOR000203114733	100.0%	KPN731	100.0%	kyu0488	100.0%
KOR000197167203	100.0%	KOR000203114955	100.0%	KPN737	100.0%	kyu0489	100.0%
KOR000197167227	100.0%	KPN244	100.0%	KPN738	100.0%	kyu0490	100.0%
KOR000197167258	100.0%	KPN281	100.0%	KPN741	100.0%	kyu0491	99.4%
KOR000197167265	100.0%	KPN305	100.0%	KPN742	100.0%	kyu0492	100.0%
KOR000197292547	100.0%	KPN430	98.8%	KPN743	100.0%	kyu0494	99.4%
KOR000197299966	100.0%	KPN478	100.0%	KPN748	99.4%	kyu0495	99.4%
KOR000197300365	99.4%	KPN484	100.0%	KPN750	100.0%	kyu0496	100.0%
KOR000197300396	Fail	KPN488	99.4%	KPN751	100.0%	kyu0497	100.0%
KOR000197300426	100.0%	KPN518	99.4%	KPN753	100.0%	nou0956	100.0%
KOR000197300969	100.0%	KPN536	98.8%	KPN754	100.0%	nou0957	99.4%
KOR000197342747	100.0%	KPN550	99.4%	KPN757	100.0%	nou0958	100.0%
KOR000197583195	100.0%	KPN581	100.0%	KPN763	100.0%	nou0959	100.0%
KOR000197695379	100.0%	KPN585	99.4%	KPN768	100.0%	nou0960	100.0%
KOR000197695904	100.0%	KPN586	100.0%	KPN769	100.0%	nou0962	100.0%
KOR000197695928	100.0%	KPN587	100.0%	KPN771	100.0%	nou0963	100.0%
KOR000197696635	100.0%	KPN598	100.0%	kyu0301	100.0%	nou0964	100.0%
KOR000197697069	100.0%	KPN605	100.0%	kyu0302	99.4%	nou0965	100.0%
KOR000197697625	100.0%	KPN608	100.0%	kyu0303	100.0%	nou0966	100.0%
KOR000197714773	100.0%	KPN612	100.0%	kyu0304	100.0%	nou0967	100.0%
KOR000197714827	100.0%	KPN614	99.4%	kyu0305	100.0%	nou0968	100.0%
KOR000198113711	100.0%	KPN623	100.0%	kyu0306	99.4%	nou0969	100.0%
KOR000198147297	100.0%	KPN634	100.0%	kyu0307	100.0%	nou0970	100.0%
KOR000198304676	100.0%	KPN636	100.0%	kyu0308	100.0%	nou0971	100.0%
KOR000198310424	98.8%	KPN647	100.0%	kyu0309	100.0%	nou0973	99.4%
KOR000198338640	100.0%	KPN654	99.4%	kyu0310	100.0%	nou0974	100.0%
KOR000198912680	100.0%	KPN659	100.0%	kyu0311	99.4%	nou0975	100.0%
KOR000198915667	100.0%	KPN660	100.0%	kyu0312	100.0%	nou0976	99.4%
KOR000199345722	100.0%	KPN661	100.0%	kyu0313	100.0%	nou0977	100.0%
KOR000199347771	100.0%	KPN662	100.0%	kyu0451	100.0%	nou0978	99.4%
KOR000199348501	100.0%	KPN671	100.0%	kyu0452	100.0%	nou0979	100.0%
KOR000199409004	99.4%	KPN673	100.0%	kyu0453	100.0%	nou0981	100.0%
KOR000199412547	100.0%	KPN680	99.4%	kyu0454	100.0%	nou0983	100.0%
KOR000199415890	99.4%	KPN681	100.0%	kyu0455	100.0%	nou0984	100.0%
KOR000199417160	100.0%	KPN683	100.0%	kyu0456	99.4%	nou0985	100.0%
KOR000199417191	100.0%	KPN684	99.4%	kyu0457	100.0%	nou0986	Fail
KOR000199451386	100.0%	KPN685	100.0%	kyu0458	99.4%	nou0987	100.0%

Sample ID	Call Rate	Sample ID	Call Rate	Sample ID	Call Rate	Sample ID	Call Rate
nou0988	100.0%	nou1061	Fail	nou1125	100.0%	sek0406	100.0%
nou0989	100.0%	nou1063	100.0%	nou1126	99.4%	sek0407	99.4%
nou0990	100.0%	nou1064	100.0%	nou1130	100.0%	sek0408	100.0%
nou0992	100.0%	nou1065	99.4%	nou1131	100.0%	sek0409	99.4%
nou0993	100.0%	nou1066	100.0%	nou1132	100.0%	sek0410	100.0%
nou0994	100.0%	nou1067	100.0%	nou1134	99.4%	sek0411	100.0%
nou0995	100.0%	nou1068	99.4%	nou1136	99.4%	sek0412	100.0%
nou0996	100.0%	nou1069	100.0%	nou1139	100.0%	sek0414	100.0%
nou0997	100.0%	nou1070	99.4%	nou1140	100.0%	sek0415	100.0%
nou0998	100.0%	nou1071	100.0%	nou1141	99.4%	sek0416	100.0%
nou0999	99.4%	nou1072	100.0%	nou1143	99.4%	sek0417	99.4%
nou1000	100.0%	nou1073	100.0%	nou1144	100.0%	sek0418	100.0%
nou1001	100.0%	nou1074	99.4%	nou1145	99.4%	sek0419	100.0%
nou1002	100.0%	nou1075	100.0%	nou1146	100.0%	sek0420	100.0%
nou1003	100.0%	nou1076	100.0%	nou1147	100.0%	sek0421	100.0%
nou1004	100.0%	nou1077	100.0%	nou1148	100.0%	sek0422	100.0%
nou1005	100.0%	nou1078	100.0%	nou1149	100.0%	sek0423	100.0%
nou1006	100.0%	nou1079	100.0%	nou1151	100.0%	sek0424	100.0%
nou1007	100.0%	nou1080	99.4%	nou1153	100.0%	sek0425	100.0%
nou1008	100.0%	nou1081	100.0%	nou1154	100.0%	sek0426	99.4%
nou1009	100.0%	nou1082	99.4%	nou1157	100.0%	sek0427	100.0%
nou1010	100.0%	nou1083	100.0%	nou1158	100.0%	sek0428	100.0%
nou1011	100.0%	nou1084	99.4%	nou1159	100.0%	sek0429	100.0%
nou1012	100.0%	nou1085	100.0%	nou1162	100.0%	sek0430	100.0%
nou1013	98.3%	nou1086	100.0%	nou1164	100.0%	sek0431	100.0%
nou1014	100.0%	nou1087	100.0%	nou1165	100.0%	sek0432	99.4%
nou1015	100.0%	nou1088	100.0%	nou1166	100.0%	sek0433	Fail
nou1016	100.0%	nou1089	100.0%	nou1167	99.4%	sek0434	100.0%
nou1017	100.0%	nou1090	100.0%	nou1168	100.0%	sek0435	100.0%
nou1018	100.0%	nou1091	100.0%	nou1169	100.0%	sek0436	100.0%
nou1019	100.0%	nou1092	100.0%	nou1175	100.0%	sek0437	100.0%
nou1020	99.4%	nou1093	100.0%	nou1176	100.0%	sek0438	100.0%
nou1021	100.0%	nou1094	100.0%	nou1330	99.4%	sek0439	100.0%
nou1031	100.0%	nou1095	100.0%	nou1331	100.0%	sek0440	99.4%
nou1032	100.0%	nou1096	100.0%	nou1334	100.0%	sek0441	98.8%
nou1033	99.4%	nou1097	100.0%	nou1335	100.0%	sek0442	99.4%
nou1034	98.3%	nou1098	100.0%	nou1336	100.0%	sek0443	100.0%
nou1035	100.0%	nou1099	100.0%	nou1337	100.0%	sek0444	99.4%
nou1036	98.8%	nou1100	100.0%	nou1338	99.4%	sek0445	100.0%
nou1037	100.0%	nou1101	100.0%	nou1339	100.0%	sek0446	100.0%
nou1038	99.4%	nou1102	100.0%	nou1340	100.0%	sek0447	100.0%
nou1039	100.0%	nou1103	98.8%	nou1341	100.0%	sek0448	100.0%
nou1040	99.4%	nou1104	100.0%	nou1342	100.0%	sek0449	100.0%
nou1041	100.0%	nou1105	100.0%	nou1343	99.4%	sek0450	Fail
nou1042	98.8%	nou1106	100.0%	nou1344	100.0%	sek0451	100.0%
nou1043	100.0%	nou1107	98.8%	nou1347	100.0%	sek0452	100.0%
nou1044	100.0%	nou1108	100.0%	nou1348	100.0%	sek0453	100.0%
nou1045	100.0%	nou1109	100.0%	nou1349	100.0%	sek0454	100.0%
nou1046	100.0%	nou1110	99.4%	nou1350	100.0%	sek0455	100.0%
nou1047	99.4%	nou1111	100.0%	nou1351	99.4%	sek0456	99.4%
nou1048	99.4%	nou1112	99.4%	nou1354	100.0%	sek0457	100.0%
nou1049	100.0%	nou1113	99.4%	nou1355	100.0%	sek0458	100.0%
nou1050	100.0%	nou1114	100.0%	nou1360	100.0%	sek0459	100.0%
nou1051	100.0%	nou1115	100.0%	nou1363	100.0%	sek0460	100.0%
nou1052	100.0%	nou1116	100.0%	nou1364	100.0%	sek0461	100.0%
nou1053	100.0%	nou1117	100.0%	nou1365	100.0%	sek0462	100.0%
nou1054	100.0%	nou1118	100.0%	nou1366	100.0%	sek0463	100.0%
nou1055	100.0%	nou1119	100.0%	nou1367	100.0%	sek0464	100.0%
nou1056	100.0%	nou1120	100.0%	nou1368	100.0%	sek0465	100.0%
nou1057	100.0%	nou1121	100.0%	nou1369	100.0%	sek0466	100.0%
nou1058	100.0%	nou1122	99.4%	nou1371	Fail	sek0467	100.0%
nou1059	99.4%	nou1123	99.4%	nou1372	100.0%	sek0468	99.4%
nou1060	100.0%	nou1124	100.0%	nou1373	100.0%	sek0469	99.4%

Sample ID	Call Rate	Sample ID	Call Rate	Sample ID	Call Rate
sek0470	100.0%	sek0594	100.0%	sek0870	100.0%
sek0471	100.0%	sek0595	100.0%	sek0872	100.0%
sek0472	100.0%	sek0596	100.0%	sek0873	99.4%
sek0473	100.0%	sek0597	100.0%	sek0874	100.0%
sek0474	100.0%	sek0598	100.0%	sek0875	100.0%
sek0475	100.0%	sek0599	100.0%	sek0876	99.4%
sek0476	100.0%	sek0600	100.0%	sek0877	100.0%
sek0477	100.0%	sek0601	99.4%	sek0879	99.4%
sek0478	99.4%	sek0602	100.0%	sek0880	100.0%
sek0479	100.0%	sek0603	99.4%	sek0881	100.0%
sek0480	98.8%	sek0604	100.0%	sek0883	100.0%
sek0481	100.0%	sek0605	100.0%	sek0885	100.0%
sek0482	100.0%	sek0606	100.0%	sek0886	100.0%
sek0483	100.0%	sek0607	100.0%	sek0887	100.0%
sek0484	100.0%	sek0608	100.0%	sek0888	100.0%
sek0485	100.0%	sek0609	100.0%	sek0889	100.0%
sek0486	100.0%	sek0610	100.0%	sek0890	100.0%
sek0487	99.4%	sek0611	100.0%	sek0892	100.0%
sek0488	99.4%	sek0612	100.0%	sek0894	100.0%
sek0489	100.0%	sek0613	100.0%	sek0895	100.0%
sek0490	100.0%	sek0614	100.0%	sek0896	100.0%
sek0491	97.1%	sek0615	100.0%	sek0897	100.0%
sek0492	100.0%	sek0616	100.0%	sek0900	100.0%
sek0493	98.8%	sek0617	100.0%	sek0901	100.0%
sek0494	100.0%	sek0618	100.0%	sek0902	100.0%
sek0495	100.0%	sek0619	100.0%	sek0903	100.0%
sek0496	100.0%	sek0713	100.0%	sek0904	100.0%
sek0497	100.0%	sek0714	100.0%	sek0905	100.0%
sek0498	100.0%	sek0715	100.0%	sek0906	100.0%
sek0499	100.0%	sek0716	99.4%	sek0907	100.0%
sek0500	99.4%	sek0720	100.0%	sek0908	100.0%
sek0501	99.4%	sek0721	100.0%	sek0909	100.0%
sek0502	100.0%	sek0722	100.0%	sek0911	99.4%
sek0503	99.4%	sek0723	100.0%	sek0912	100.0%
sek0504	98.8%	sek0725	100.0%		
sek0505	100.0%	sek0726	100.0%		
sek0506	100.0%	sek0727	99.4%		
sek0507	97.7%	sek0729	100.0%		
sek0508	100.0%	sek0730	100.0%		
sek0569	100.0%	sek0834	100.0%		
sek0571	99.4%	sek0836	100.0%		
sek0572	100.0%	sek0837	100.0%		
sek0573	99.4%	sek0838	100.0%		
sek0574	100.0%	sek0839	100.0%		
sek0575	99.4%	sek0840	100.0%		
sek0576	100.0%	sek0845	100.0%		
sek0577	100.0%	sek0846	100.0%		
sek0578	100.0%	sek0847	100.0%		
sek0579	100.0%	sek0848	100.0%		
sek0580	100.0%	sek0850	100.0%		
sek0581	100.0%	sek0855	99.4%		
sek0582	100.0%	sek0856	100.0%		
sek0583	100.0%	sek0857	99.4%		
sek0584	98.8%	sek0858	100.0%		
sek0585	100.0%	sek0859	100.0%		
sek0586	100.0%	sek0860	99.4%		
sek0587	100.0%	sek0862	100.0%		
sek0588	100.0%	sek0863	100.0%		
sek0589	100.0%	sek0864	100.0%		
sek0590	100.0%	sek0865	100.0%		
sek0591	100.0%	sek0867	99.4%		
sek0592	100.0%	sek0868	100.0%		
sek0593	100.0%	sek0869	100.0%		

○ 선발된 총 192개의 SNP 중 173개의 SNP가 genotyping에 성공하였으며, 그 목록은 표 8과 같음. Assay fail 된 SNP contents 들 중 LD 등을 고려하여 타 SNP로 대체하거나 제외시킨 후 2차 validation을 수행하게 됨.

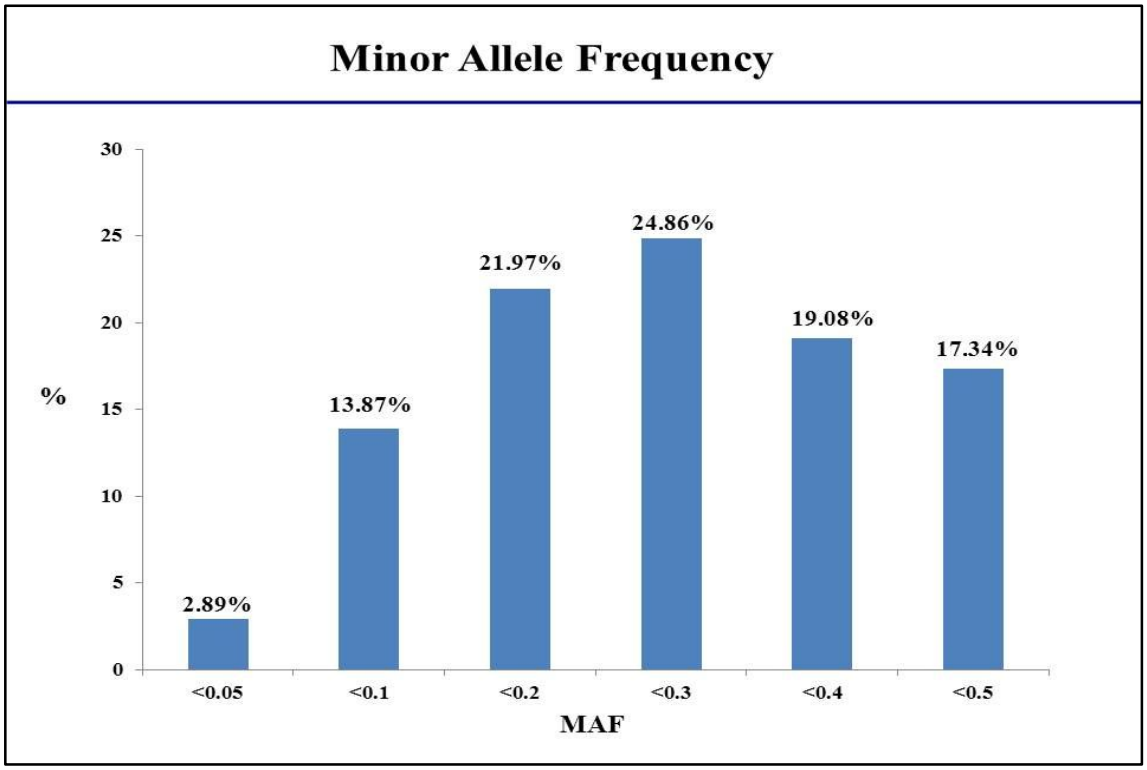
<표 3-4-8>. 192 candidate SNP의 genotyping 결과

N	Model	Trait	MAKER NAME	CHR	POS	Call Rate	MAF
1	Random	BFT	Hapmap48855-BTA-69221	1	33,799,177	100.0%	0.369
2	Random	BFT	Hapmap24136-BTA-124014	1	55,673,837	100.0%	0.136
3	Fixed	BFT	ARS-BFGL-NGS-24966	1	80,963,023	100.0%	0.100
4	Fixed	BFT	ARS-BFGL-NGS-96340	1	82,490,785	100.0%	0.397
5	Random	BFT	Hapmap39595-BTA-85742	2	39,098,749	99.7%	0.085
6	Fixed	BFT	ARS-BFGL-NGS-24326	3	23,483,332	99.5%	0.086
7	Fixed	BFT	BTB-00143051	3	95,181,289	100.0%	0.139
8	Random	BFT	BTA-104512-no-rs	4	112,700,199	100.0%	0.198
9	Random	BFT	ARS-BFGL-NGS-8401	5	76,428,730	100.0%	0.299
10	Bayes_B	BFT	BTA-78066-no-rs	6	116,228,740	100.0%	0.138
11	Random	BFT	BTB-00986847	7	1,126,787	99.9%	0.097
12	Fixed	BFT	BTB-00987018	7	1,189,303	100.0%	0.049
13	Fixed	BFT	BTB-00310752	7	45,413,301	Fail	.
14	Bayes_B	BFT	BTB-00431649	8	113,626,199	99.8%	0.255
15	Fixed	BFT	ARS-BFGL-NGS-67833	10	21,266,128	99.7%	0.096
16	Random	BFT	ARS-BFGL-NGS-71570	10	41,340,063	Fail	.
17	Random	BFT	Hapmap44798-BTA-104292	11	74,869,821	99.8%	0.367
18	Fixed	BFT	Hapmap51188-BTA-21659	12	35,903,917	100.0%	0.068
19	Fixed	BFT	BFGL-NGS-111243	12	61,065,245	99.8%	0.257
20	Random	BFT	UA-IFASA-2080	12	74,684,907	99.8%	0.162
21	Random	BFT	Hapmap50934-BTA-32439	13	40,149,293	100.0%	0.351
22	Random	BFT	BTB-01186797	13	48,891,690	99.8%	0.166
23	Fixed	BFT	Hapmap25440-BTC-053771	14	10,464,996	99.8%	0.387
24	Random	BFT	BFGL-NGS-112072	15	31,500,839	Fail	.
25	Random	BFT	BTA-36920-no-rs	15	42,474,074	100.0%	0.132
26	Random	BFT	BTB-00635702	16	31,495,633	99.5%	0.339
27	Random	BFT	ARS-BFGL-NGS-13513	16	40,624,954	100.0%	0.438
28	Random	BFT	ARS-BFGL-NGS-19797	19	26,213,497	100.0%	0.222
29	Random	BFT	BTB-00772171	20	10,063,422	99.7%	0.354
30	Fixed	BFT	BTA-18321-no-rs	20	66,423,918	100.0%	0.431
31	Random	BFT	ARS-BFGL-BAC-31757	20	70,705,603	99.0%	0.181
32	Random	BFT	Hapmap38611-BTA-57967	24	36,033,657	99.6%	0.230
33	Bayes_B	BFT	ARS-BFGL-NGS-24167	24	49,979,961	100.0%	0.172
34	Fixed	BFT	ARS-BFGL-NGS-26452	25	39,228,497	99.9%	0.393
35	Random	BFT	BTA-100341-no-rs	26	34,983,053	100.0%	0.421
36	Random	BFT	Hapmap25551-BTA-139364	27	28,158,398	99.9%	0.053
37	Fixed	BFT	ARS-BFGL-NGS-39970	27	32,759,635	99.9%	0.352
38	Random	BFT	BTB-01008169	29	14,357,597	99.7%	0.268
39	Random	BFT	BTA-65196-no-rs	29	28,186,926	100.0%	0.471
40	Fixed	BFT	BTA-111991-no-rs	29	28,417,196	100.0%	0.042
41	Random	BFT	ARS-BFGL-NGS-104120	29	39,150,999	99.9%	0.250
42	Random	HCWT	ARS-BFGL-BAC-31500	1	79,937,590	100.0%	0.175
43	Bayes_B	HCWT	BTB-00048035	1	108,181,537	99.3%	0.188
44	Random	HCWT	BTA-06866-rs29021222	1	116,377,919	100.0%	0.086
45	Random	HCWT	ARS-BFGL-NGS-25873	1	148,854,022	100.0%	0.122
46	Random	HCWT	Hapmap22957-BTA-47431	2	42,831,814	99.9%	0.110
47	Bayes_B	HCWT	Hapmap45949-BTA-66899	3	24,817,742	100.0%	0.307
48	Fixed	HCWT	BTB-01535640	3	72,305,544	99.9%	0.442
49	Random	HCWT	BTB-00145926	3	101,424,751	100.0%	0.470
50	Fixed	HCWT	Hapmap33068-BTA-160954	5	18,775,860	100.0%	0.210
51	Random	HCWT	BFGL-NGS-117294	5	24,275,405	100.0%	0.206
52	Bayes_B	HCWT	BTA-73718-no-rs	5	66,075,729	100.0%	0.073
53	Random	HCWT	Hapmap52961-rs29016208	5	74,226,162	100.0%	0.275
54	Bayes_B	HCWT	BTA-31193-no-rs	6	19,411,668	99.5%	0.354
55	Bayes_B	HCWT	BTA-121735-no-rs	6	31,915,391	100.0%	0.156
56	Bayes_B	HCWT	BTB-00843812	6	55,293,700	100.0%	0.147
57	Fixed	HCWT	ARS-BFGL-NGS-23616	6	55,506,267	100.0%	0.356
58	Bayes_B	HCWT	BTA-76499-no-rs	6	62,774,663	99.8%	0.242
59	Random	HCWT	BTB-01312166	6	65,708,017	99.9%	0.049

60	Random	HCWT	ARS-BFGL-NGS-41730	6	122,509,741	Fail	.
61	Random	HCWT	BTB-00301426	7	29,194,445	100.0%	0.480
62	Random	HCWT	BTB-01400946	7	44,535,244	99.7%	0.175
63	Fixed	HCWT	ARS-BFGL-NGS-4768	7	57,508,231	100.0%	0.216
64	Fixed	HCWT	Hapmap40463-BTA-79519	7	60,521,808	100.0%	0.075
65	Random	HCWT	BTB-01273492	7	78,559,259	99.9%	0.375
66	Random	HCWT	Hapmap39122-BTA-91625	9	5,992,605	99.7%	0.438
67	Fixed	HCWT	ARS-BFGL-NGS-71599	9	66,107,036	Fail	.
68	Bayes_B	HCWT	ARS-BFGL-NGS-21248	10	8,208,480	99.6%	0.274
69	Fixed	HCWT	BTA-68192-no-rs	10	49,031,849	100.0%	0.117
70	Fixed	HCWT	BTA-100668-no-rs	10	68,586,181	100.0%	0.219
71	Random	HCWT	BFGL-NGS-114957	13	76,326,512	100.0%	0.327
72	Random	HCWT	Hapmap24966-BTC-054594	14	24,199,226	99.8%	0.293
73	Fixed	HCWT	BTB-01280026	14	25,170,557	100.0%	0.100
74	Random	HCWT	UA-IFASA-1789	14	32,977,353	99.8%	0.402
75	Fixed	HCWT	BTB-01640837	14	36,095,273	100.0%	0.393
76	Fixed	HCWT	Hapmap23111-BTC-012395	14	51,494,004	100.0%	0.124
77	Fixed	HCWT	ARS-BFGL-NGS-102395	15	77,837,175	100.0%	0.443
78	Fixed	HCWT	ARS-BFGL-NGS-59831	16	33,037,337	99.9%	0.471
79	Fixed	HCWT	BTB-00652140	16	53,663,332	99.8%	0.085
80	Fixed	HCWT	ARS-BFGL-NGS-22403	16	62,016,376	100.0%	0.252
81	Bayes_B	HCWT	Hapmap41258-BTA-41381	17	61,097,348	100.0%	0.313
82	Random	HCWT	ARS-BFGL-NGS-39866	18	18,183,364	100.0%	0.396
83	Random	HCWT	ARS-BFGL-NGS-62218	18	46,707,053	Fail	.
84	Random	HCWT	BFGL-NGS-119721	20	22,886,823	100.0%	0.112
85	Bayes_B	HCWT	Hapmap33736-BTA-163613	21	39,290,111	99.8%	0.346
86	Fixed	HCWT	Hapmap43190-BTA-16332	21	44,201,492	100.0%	0.312
87	Random	HCWT	ARS-BFGL-NGS-41013	22	52,979,972	100.0%	0.256
88	Random	HCWT	ARS-BFGL-NGS-68645	22	58,959,545	100.0%	0.093
89	Fixed	HCWT	UA-IFASA-8948	23	46,324,820	100.0%	0.451
90	Bayes_B	HCWT	ARS-BFGL-NGS-88403	25	36,159,444	100.0%	0.071
91	Bayes_B	HCWT	BTB-00939306	26	33,620,683	98.0%	0.480
92	Random	HCWT	ARS-BFGL-NGS-102382	27	27,098,146	100.0%	0.219
93	Fixed	HCWT	BFGL-NGS-114518	28	40,462,756	100.0%	0.183
94	Bayes_B	HCWT	Hapmap40017-BTA-65421	29	33,632,380	99.7%	0.031
95	Random	LEA	ARS-BFGL-NGS-34353	1	40,931,076	100.0%	0.066
96	Fixed	LEA	BTB-00021776	1	49,267,473	99.6%	0.075
97	Bayes_B	LEA	Hapmap42952-BTA-48143	1	95,518,232	100.0%	0.474
98	Fixed	LEA	BTA-121216-no-rs	2	26,529,985	100.0%	0.367
99	Random	Lea	ARS-BFGL-NGS-80431	2	72,596,096	99.9%	0.221
100	Fixed	LEA	Hapmap27208-BTA-157501	3	76,469,248	100.0%	0.444
101	Bayes_B	LEA	BTB-01168059	3	84,391,517	100.0%	0.374
102	Random	LEA	ARS-BFGL-NGS-11769	3	92,297,184	99.9%	0.142
103	Random	LEA	Hapmap36465-SCAFFOLD163794_561	3	101,449,660	100.0%	0.184
104	Bayes_B	LEA	Hapmap49426-BTA-107052	4	27,108,524	100.0%	0.451
105	Bayes_B	LEA	ARS-BFGL-NGS-97941	4	45,991,114	99.8%	0.189
106	Fixed	LEA	BTB-01721944	4	46,072,692	Fail	.
107	Random	LEA	ARS-BFGL-NGS-43407	5	110,911,478	99.9%	0.449
108	Random	LEA	ARS-BFGL-NGS-105242	6	100,874,084	100.0%	0.168
109	Bayes_B	LEA	BTB-01096127	6	101,411,125	Fail	.
110	Random	LEA	ARS-BFGL-NGS-69648	6	110,492,191	100.0%	0.296
111	Random	LEA	BTB-00302618	7	28,327,690	100.0%	0.211
112	Bayes_B	LEA	BTB-00317489	7	64,536,896	100.0%	0.305
113	Random	LEA	BTB-01269021	7	75,830,004	100.0%	0.144
114	Fixed	LEA	Hapmap53914-rs29021936	8	21,215,935	100.0%	0.237
115	Fixed	LEA	BTB-01837292	9	1,463,198	100.0%	0.148
116	Bayes_B	LEA	BTB-00384802	9	35,216,259	99.9%	0.230
117	Bayes_B	LEA	BTA-84365-no-rs	9	82,321,186	100.0%	0.307
118	Random	LEA	ARS-BFGL-NGS-66951	9	101,872,443	100.0%	0.092
119	Random	LEA	BTB-00426704	10	50,112,936	99.9%	0.087
120	Fixed	LEA	ARS-BFGL-NGS-32379	10	82,876,725	100.0%	0.444
121	Bayes_B	LEA	BTB-01468914	11	31,445,193	100.0%	0.487
122	Bayes_B	LEA	ARS-BFGL-NGS-21607	11	100,481,883	100.0%	0.070
123	Fixed	LEA	ARS-BFGL-NGS-22794	12	27,907,563	100.0%	0.445
124	Random	LEA	Hapmap24385-BTA-163189	12	50,289,293	100.0%	0.224
125	Random	LEA	ARS-BFGL-NGS-26028	14	21,080,793	100.0%	0.344
126	Bayes_B	LEA	Hapmap60878-rs29012474	15	52,710,098	100.0%	0.464
127	Bayes_B	LEA	BTB-01082458	17	16,772,807	99.7%	0.158
128	Fixed	LEA	ARS-BFGL-NGS-17494	17	18,044,557	100.0%	0.071
129	Fixed	LEA	ARS-BFGL-NGS-14442	18	9,684,917	99.9%	0.041

130	Random	LEA	BTA-42606-no-rs	18	18,746,752	100.0%	0.218
131	Bayes_B	LEA	UA-IFASA-5783	19	14,495,715	99.8%	0.257
132	Random	LEA	Hapmap40434-BTA-45533	19	46,157,261	100.0%	0.384
133	Random	LEA	Hapmap53674-rs29025319	20	8,676,696	99.8%	0.122
134	Fixed	LEA	ARS-BFGL-NGS-38569	20	57,693,263	100.0%	0.218
135	Random	LEA	ARS-BFGL-NGS-55520	21	29,076,315	100.0%	0.368
136	Fixed	LEA	BTB-01107683	21	29,363,186	100.0%	0.337
137	Random	LEA	ARS-BFGL-NGS-23687	23	8,099,369	99.5%	0.262
138	Random	LEA	ARS-BFGL-BAC-42839	24	3,761,377	99.7%	0.364
139	Random	LEA	ARS-BFGL-NGS-35298	24	13,445,705	100.0%	0.297
140	Random	LEA	ARS-BFGL-NGS-106450	24	22,028,142	99.8%	0.402
141	Random	LEA	BTA-100770-no-rs	24	40,446,177	Fail	.
142	Fixed	LEA	ARS-BFGL-NGS-16328	26	18,231,319	Fail	.
143	Bayes_B	LEA	ARS-BFGL-NGS-38894	26	25,269,449	100.0%	0.125
144	Random	Marb	BTB-00037084	1	87,457,261	100.0%	0.311
145	Random	Marb	BTA-43345-no-rs	1	99,506,676	100.0%	0.471
146	Fixed	Marb	ARS-BFGL-NGS-100540	2	3,903,007	98.2%	0.239
147	Fixed	Marb	ARS-BFGL-NGS-50482	2	63,739,826	Fail	.
148	Random	Marb	BFGL-NGS-117383	2	63,905,821	100.0%	0.250
149	Fixed	Marb	ARS-BFGL-NGS-102388	3	20,000,610	100.0%	0.120
150	Random	Marb	INRA-565	3	23,933,162	100.0%	0.238
151	Fixed	Marb	BTA-90312-no-rs	3	32,807,638	Fail	.
152	Bayes_B	Marb	BTB-00160676	3	122,951,391	99.9%	0.216
153	Bayes_B	Marb	ARS-BFGL-NGS-41558	3	123,148,964	99.7%	0.110
154	Random	Marb	BTB-01420058	4	30,314,124	100.0%	0.285
155	Fixed	Marb	BTB-01507733	5	8,543,656	Fail	.
156	Random	Marb	Hapmap28023-BTC-060518	6	88,350,096	Fail	.
157	Bayes_B	Marb	ARS-BFGL-NGS-28660	7	4,130,299	99.8%	0.197
158	Fixed	Marb	BTB-00317097	7	65,652,720	99.8%	0.293
159	Random	Marb	Hapmap38787-BTA-84605	9	89,179,019	100.0%	0.500
160	Random	Marb	ARS-BFGL-NGS-10383	10	47,283,343	99.8%	0.234
161	Random	Marb	ARS-BFGL-NGS-31807	10	63,139,835	100.0%	0.284
162	Bayes_B	Marb	ARS-BFGL-NGS-35190	10	104,193,801	99.9%	0.448
163	Random	Marb	ARS-BFGL-NGS-21703	11	7,628,440	Fail	.
164	Random	Marb	ARS-BFGL-NGS-36344	11	95,264,159	Fail	.
165	Bayes_B	Marb	ARS-BFGL-NGS-80012	12	19,931,659	100.0%	0.131
166	Bayes_B	Marb	BFGL-NGS-116369	12	83,382,732	Fail	.
167	Fixed	Marb	ARS-BFGL-BAC-869	13	23,814,812	100.0%	0.059
168	Random	Marb	ARS-BFGL-NGS-11198	13	38,637,266	99.9%	0.055
169	Random	Marb	ARS-BFGL-NGS-24766	13	46,302,085	99.8%	0.251
170	Random	Marb	ARS-BFGL-NGS-73404	13	54,520,958	100.0%	0.090
171	Random	Marb	ARS-BFGL-NGS-17362	15	74,403,614	99.8%	0.226
172	Fixed	Marb	Hapmap26379-BTA-130999	16	51,370,098	99.9%	0.362
173	Fixed	Marb	ARS-BFGL-NGS-73708	18	7,075,230	99.8%	0.378
174	Fixed	Marb	Hapmap36420-SCAFFOLD190338_7279	18	55,488,400	100.0%	0.313
175	Random	Marb	BFGL-NGS-112910	24	47,866,817	Fail	.
176	Fixed	Marb	Hapmap46894-BTA-89312	26	12,496,998	100.0%	0.278
177	Fixed	Marb	BTA-61647-no-rs	26	42,127,980	100.0%	0.139
178	Fixed	Marb	ARS-BFGL-NGS-72819	27	42,606,662	Fail	.
179	Random	Marb	UA-IFASA-8888	29	31,763,987	100.0%	0.410
180	Fixed	Marb	BTA-65463-no-rs	29	31,816,218	99.9%	0.086
181	Random	QG	BTB-01651634	4	49,466,354	99.8%	0.494
182	Fixed	QG	BFGL-NGS-116673	7	88,679,092	99.3%	0.082
183	Random	QG	BTA-66275-no-rs	10	39,819,291	100.0%	0.457
184	Random	QG	BTB-01099836	12	8,917,626	100.0%	0.178
185	Random	QG	UA-IFASA-2256	12	73,401,994	99.9%	0.440
186	Fixed	QG	BFGL-NGS-112325	12	73,441,493	100.0%	0.444
187	Fixed	QG	ARS-BFGL-NGS-56654	13	10,185,777	100.0%	0.251
188	Fixed	QG	ARS-BFGL-NGS-14592	13	56,803,006	99.9%	0.114
189	Random	QG	ARS-BFGL-NGS-28898	14	19,576,550	99.6%	0.200
190	Fixed	QG	ARS-BFGL-BAC-33692	20	46,253,140	100.0%	0.317
191	Random	QG	ARS-BFGL-NGS-74728	22	8,296,322	100.0%	0.079
192	Fixed	QG	Hapmap36138-SCAFFOLD96069_11607	23	6,896,529	100.0%	0.218

○ Genotyping assay가 성공한 173개의 SNP의 MAF 빈도를 살펴보면, 5% 미만이 2.89%, 5% 이상10% 미만인 SNP가 13.87%, 10~20% 인 SNP가 21.97%, 20~30%인 SNP가 24.86%, 30~40%인 SNP가 19.08% 그리고 40% 이상인 SNP가 17.34%로 확인되었음 (그림 24).



<그림 3-4-25>. MAF 빈도 별 분포.

○ 확인된 SNP data는 제 1 협동연구기관으로 전달되어 경제형질 판별을 위한 2차 validation assay 용 SNP 선별을 위한 분석에 사용되었음.

마. 1차 validation assay를 통해 선별된 2차 contents의 genotyping assay

○ 제 1 협동연구기관에서 1차 validation assay를 통해 확인된 173개의 SNP 들로부터 다양한 통계분석을 통해 총 96개의 SNP를 선별하였으며, 사용시료로는 서산 가축개량소에서 수령한 종모우 및 후대검정우 381두, 지역 농협 420 두 및 한능평 159두 등 총 960두의 한우 시료를 신규 수령하여 사용하였음<표 3-4-9>.

<표 3-4-9>. 2차 validation 시료

시료출처	Final selected samples
서산 가축 개량소 후대검정우, 종모우	381
농협	420
한능평	159
	960

○ 제 1 협동과제의 분석결과를 통해 선별된 96개의 SNP contents 중 2개의 SNP가 assay fail로 확인되었으며, 최종 선별을 위해 이 2 SNP는 LD 등을 고려하여 다른 SNP contents 로 교체해야 함.

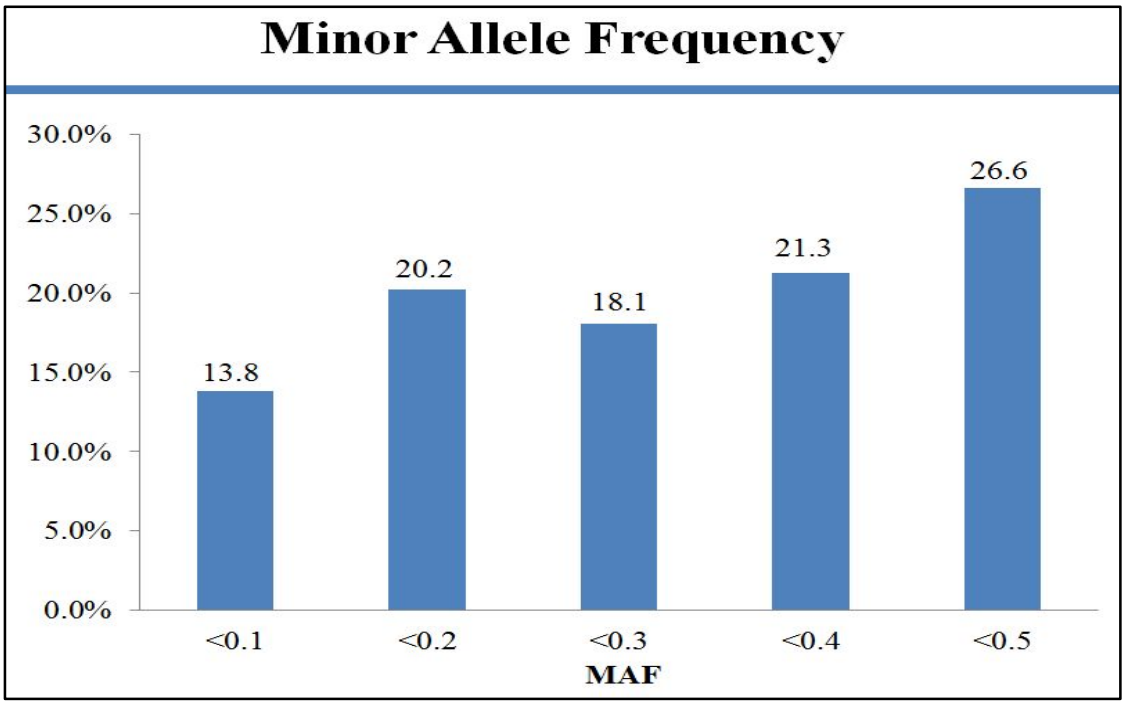
<표 3-4-10>. 2차 validation을 위해 선별된 96 SNP의 genotyping assay 결과

Index	Name	Chr	Position	Minor Freq	HW Equil
1	seq-ARS-BFGL-NGS-31807	10	63139835	0.265	0.79
2	seq-BFGL-NGS-114870	15	29008081	0.4362	0.8371
3	seq-BTB-00986847	7	1126787	0.1125	0.1147
4	seq-Hapmap46848-BTA-60788	26	20312810	0.4155	0.1604
5	seq-Hapmap27208-BTA-157501	3	76469248	0.4802	0.7318
6	seq-ARS-BFGL-NGS-23687	23	8099369	0.2572	0.2934
7	seq-INRA-565	3	23933162	0.2273	0.6145
8	seq-Hapmap53914-rs29021936	8	21215935	0.2639	0.405
9	seq-ARS-BFGL-NGS-39970	27	32759635	0.3807	0.4417
10	seq-BTB-01837292	9	1463198	0.1401	0.9235
11	seq-ARS-BFGL-NGS-65062	6	121357123	0.4679	0.4089
12	seq-BTB-01280026	14	25170557	0.1176	0.9852
13	seq-Hapmap59023-rs29022215	9	70552067	0.4818	0.1929
14	seq-BTB-01535640	3	72305544	0.4209	0.0259
15	seq-BTB-00416489	10	32359100	0.4084	0.9552
16	seq-ARS-BFGL-NGS-80012	12	19931659	0.1449	0.5329
17	seq-ARS-BFGL-NGS-91848	6	19660701	0.3947	0.7192
18	seq-BTB-00987018	7	1189303	0.062	0.377
19	seq-ARS-BFGL-NGS-35298	24	13445705	0.3031	0.1354
20	seq-ARS-BFGL-BAC-31757	20	70705603	0.1631	0.3124
21	seq-BFGL-NGS-111424	2	139493013	0.2082	0.7654
22	seq-Hapmap46894-BTA-89312	26	12496998	0.3089	0.6332
23	seq-ARS-BFGL-NGS-43407	5	110911478	0.4289	0.2306
24	seq-ARS-BFGL-NGS-35190	10	104193801	0.4545	0.5812
25	seq-ARS-BFGL-NGS-21607	11	100481883	0.0749	0.9081
26	seq-ARS-BFGL-NGS-80431	2	72596096	0.2575	0.0171
27	seq-ARS-BFGL-NGS-104278	4	82322976	0.2401	0.7329
28	seq-ARS-BFGL-NGS-67833	10	21266128	Fail	Fail
29	seq-Hapmap36420-SCAFFOLD190338_7279	18	55488400	Fail	Fail
30	seq-ARS-BFGL-NGS-84417	7	45559923	0.1594	0.1996
31	seq-BTB-00021776	1	49267473	0.0634	0.8871
32	seq-BTB-00843812	6	55293700	0.129	0.8737
33	seq-BTA-78066-no-rs	6	116228740	0.1467	0.1999
34	seq-BTA-100341-no-rs	26	34983053	0.4031	0.9749
35	seq-BTB-00652140	16	53663332	0.0947	0.5364
36	seq-BTA-61647-no-rs	26	42127980	0.1499	0.9969
37	seq-ARS-BFGL-NGS-28660	7	4130299	0.2476	0.4485
38	seq-ARS-BFGL-NGS-26452	25	39228497	0.4312	0.138
39	seq-BTB-01107683	21	29363186	0.3187	0.7607
40	seq-BTB-01640837	14	36095273	0.3979	0.6826
41	seq-BFGL-NGS-117383	2	63905821	0.2193	0.4387
42	seq-BFGL-NGS-111243	12	61065245	0.2562	0.0194
43	seq-ARS-BFGL-NGS-4768	7	57508231	0.2262	0.1811
44	seq-BTB-01312166	6	65708017	0.0371	0.5846
45	seq-BTB-00037084	1	87457261	0.2706	0.1139
46	seq-Hapmap44798-BTA-104292	11	74869821	0.3471	0.6258
47	seq-ARS-BFGL-NGS-24167	24	49979961	0.179	0.0425
48	seq-ARS-BFGL-NGS-22794	12	27907563	0.4642	0.1654
49	seq-BTA-18321-no-rs	20	66423918	0.4376	0.0437
50	seq-BTA-65463-no-rs	29	31816218	0.1097	0.5579
51	seq-ARS-BFGL-NGS-8401	5	76428730	0.3305	0.8687
52	seq-ARS-BFGL-NGS-55520	21	29076315	0.3464	0.4741
53	seq-Hapmap23111-BTC-012395	14	51494004	0.1132	0.5023
54	seq-Hapmap25440-BTC-053771	14	10464996	0.3462	0.3238

55	seq-BTB-00927181	26	18624183	0.4829	0.4689
56	seq-BFGL-NGS-110586	3	105007296	0.433	0.8873
57	seq-BTB-00995659	28	45898513	0.4599	0.0447
58	seq-ARS-BFGL-NGS-26028	14	21080793	0.3845	0.2253
59	seq-ARS-BFGL-NGS-62454	17	67951275	0.361	0.3813
60	seq-Hapmap48855-BTA-69221	1	33799177	0.369	0.6431
61	seq-ARS-BFGL-NGS-17494	17	18044557	0.0829	0.1254
62	seq-BFGL-NGS-115680	18	44993079	0.4277	0.7767
63	seq-BTB-01527489	6	49080811	0.0807	0.6306
64	seq-ARS-BFGL-NGS-7472	1	124253359	0.4486	0.2321
65	seq-ARS-BFGL-NGS-59831	16	33037337	0.485	0.7975
66	seq-Hapmap26379-BTA-130999	16	51370098	0.3535	0.7555
67	seq-Hapmap53674-rs29025319	20	8676696	0.1106	0.2585
68	seq-BTB-00143051	3	95181289	0.1332	0.9048
69	seq-BFGL-NGS-116673	7	88679092	0.0797	0.1739
70	seq-ARS-BFGL-NGS-32379	10	82876725	0.4332	0.7319
71	seq-Hapmap40463-BTA-79519	7	60521808	0.0744	0.3882
72	seq-ARS-BFGL-BAC-35318	16	62995331	0.4872	0.9058
73	seq-ARS-BFGL-NGS-2229	3	121786597	0.0995	0.4121
74	seq-BTA-90292-no-rs	2	90639723	0.4984	0.492
75	seq-BTA-104512-no-rs	4	112700199	0.2112	0.6542
76	seq-BTB-01273492	7	78559259	0.3658	0.5637
77	seq-BTB-00648332	16	51394400	0.4304	0.9975
78	seq-Hapmap39595-BTA-85742	2	39098749	0.0695	0.795
79	seq-BTB-00635702	16	31495633	0.3169	0.4325
80	seq-UA-IFASA-8948	23	46324820	0.4481	0.6416
81	seq-BTB-00317097	7	65652720	0.2931	0.0192
82	seq-BTB-00301426	7	29194445	0.4791	0.2743
83	seq-BTA-68192-no-rs	10	49031849	0.1062	0.8588
84	seq-Hapmap33068-BTA-160954	5	18775860	0.2102	0.7372
85	seq-ARS-BFGL-NGS-102388	3	20000610	0.1176	0.5169
86	seq-BFGL-NGS-114518	28	40462756	0.1999	0.169
87	seq-Hapmap25798-BTA-126388	11	34208674	0.3214	0.5727
88	seq-ARS-BFGL-NGS-26771	1	69528623	0.3555	0.2525
89	seq-Hapmap39219-BTA-31890	13	22692474	0.3936	0.0579
90	seq-BTB-00384802	9	35216259	0.2238	0.4779
91	seq-BTA-06866-rs29021222	1	116377919	0.0979	0.7242
92	seq-BTA-100668-no-rs	10	68586181	0.2278	0.518
93	seq-BTB-01454391	13	34018752	0.1008	0.5811
94	seq-ARS-BFGL-NGS-41558	3	123148964	0.0941	0.209
95	seq-BTA-121216-no-rs	2	26529985	0.3501	0.026
96	seq-Hapmap24136-BTA-124014	1	55673837	0.1567	0.0853

○ Genotyping assay가 성공한 94개의 SNP의 MAF 빈도를 살펴보면, 10% 미만이 13.8%, 10~20% 인 SNP가 20.2%, 20~30%인 SNP가 18.1%, 30~40%인 SNP가 21.3% 그리고 40% 이상인 SNP가 26.6%로 확인되었음.

○ 확인된 SNP data는 제 1 협동연구기관으로 전달되어 경제형질 판별을 위한 최종 validation assay 용 SNP 선별을 위한 분석에 사용되었음.



<그림 3-4-26>. 2차 validation assay SNP의 MAF 분포.

<표 3-4-11>. 2차 validation 시료의 call rate

N	Sample ID	Call Rate	N	Sample ID	Call Rate	N	Sample ID	Call Rate	N	Sample ID	Call Rate
1	KPN735	100.0%	64	KPN797	100.0%	127	94618	100.0%	190	94648	100.0%
2	KPN760	100.0%	65	94503	100.0%	128	94627	100.0%	191	94658	100.0%
3	KPN776	100.0%	66	94511	100.0%	129	94635	100.0%	192	94666	98.9%
4	KPN784	100.0%	67	94519	100.0%	130	94643	100.0%	193	94667	100.0%
5	KPN824	100.0%	68	94527	98.9%	131	94651	100.0%	194	94676	100.0%
6	94506	98.9%	69	94535	100.0%	132	94661	100.0%	195	94684	100.0%
7	94514	100.0%	70	94543	100.0%	133	94565	100.0%	196	104002	100.0%
8	94522	100.0%	71	94551	100.0%	134	94573	100.0%	197	104010	100.0%
9	94530	100.0%	72	94559	100.0%	135	94581	100.0%	198	104019	100.0%
10	94538	100.0%	73	KPN756	100.0%	136	94590	100.0%	199	104028	98.9%
11	94546	100.0%	74	KPN774	100.0%	137	94598	100.0%	200	104036	100.0%
12	94554	100.0%	75	KPN782	100.0%	138	94606	100.0%	201	104044	100.0%
13	KPN739	100.0%	76	KPN802	100.0%	139	94619	100.0%	202	104052	97.9%
14	KPN764	100.0%	77	94504	100.0%	140	94628	100.0%	203	104061	100.0%
15	KPN777	100.0%	78	94512	98.9%	141	94636	100.0%	204	104070	100.0%
16	KPN786	100.0%	79	94520	100.0%	142	94644	100.0%	205	94668	98.9%
17	KPN829	100.0%	80	94528	100.0%	143	94652	100.0%	206	94677	100.0%
18	94507	100.0%	81	94536	100.0%	144	94662	100.0%	207	94685	100.0%
19	94515	100.0%	82	94544	100.0%	145	94566	98.9%	208	104003	100.0%
20	94523	100.0%	83	94552	100.0%	146	94574	100.0%	209	104011	100.0%
21	94531	100.0%	84	94560	100.0%	147	94582	100.0%	210	104020	100.0%
22	94539	98.9%	85	KPN758	100.0%	148	94591	100.0%	211	104029	100.0%
23	94547	100.0%	86	KPN775	100.0%	149	94599	100.0%	212	104037	100.0%
24	94555	100.0%	87	KPN783	100.0%	150	94607	100.0%	213	104045	100.0%
25	KPN740	100.0%	88	KPN822	100.0%	151	94621	100.0%	214	104053	100.0%
26	KPN765	100.0%	89	94505	100.0%	152	94629	100.0%	215	104062	100.0%
27	KPN778	100.0%	90	94513	100.0%	153	94637	98.9%	216	104071	98.9%
28	KPN789	100.0%	91	94521	100.0%	154	94645	100.0%	217	94670	100.0%
29	KPN830	100.0%	92	94529	100.0%	155	94655	100.0%	218	94678	100.0%
30	94508	100.0%	93	94537	100.0%	156	94663	100.0%	219	94686	100.0%
31	94516	100.0%	94	94545	100.0%	157	94567	100.0%	220	104004	100.0%
32	94524	100.0%	95	94553	100.0%	158	94575	100.0%	221	104013	100.0%
33	94532	100.0%	96	94561	100.0%	159	94583	100.0%	222	104021	98.9%
34	94540	100.0%	97	94562	100.0%	160	94592	98.9%	223	104030	100.0%
35	94548	100.0%	98	94570	100.0%	161	94600	100.0%	224	104038	100.0%
36	94556	100.0%	99	94578	100.0%	162	94608	100.0%	225	104046	100.0%
37	KPN744	100.0%	100	94586	100.0%	163	94622	100.0%	226	104054	100.0%
38	KPN770	100.0%	101	94595	98.9%	164	94630	100.0%	227	104063	100.0%
39	KPN779	100.0%	102	94603	100.0%	165	94638	100.0%	228	104072	100.0%
40	KPN791	100.0%	103	94616	100.0%	166	94646	100.0%	229	94671	100.0%
41	94501	100.0%	104	94625	98.9%	167	94656	100.0%	230	94679	100.0%
42	94509	100.0%	105	94633	98.9%	168	94664	100.0%	231	94687	100.0%
43	94517	100.0%	106	94641	100.0%	169	94568	100.0%	232	104005	100.0%
44	94525	100.0%	107	94649	100.0%	170	94576	100.0%	233	104014	100.0%
45	94533	100.0%	108	94659	100.0%	171	94584	100.0%	234	104022	98.9%
46	94541	100.0%	109	94563	100.0%	172	94593	100.0%	235	104031	100.0%
47	94549	100.0%	110	94571	100.0%	173	94601	100.0%	236	104039	100.0%
48	94557	100.0%	111	94579	100.0%	174	94612	100.0%	237	104047	100.0%
49	KPN746	100.0%	112	94587	100.0%	175	94623	100.0%	238	104055	98.9%
50	KPN772	Fail	113	94596	100.0%	176	94631	100.0%	239	104064	100.0%
51	KPN780	100.0%	114	94604	100.0%	177	94639	100.0%	240	104073	100.0%
52	KPN792	100.0%	115	94617	100.0%	178	94647	100.0%	241	94672	100.0%
53	94502	100.0%	116	94626	100.0%	179	94657	100.0%	242	94680	100.0%
54	94510	100.0%	117	94634	100.0%	180	94665	100.0%	243	94688	97.9%
55	94518	100.0%	118	94642	100.0%	181	94569	100.0%	244	104006	100.0%
56	94526	100.0%	119	94650	100.0%	182	94577	100.0%	245	104015	100.0%
57	94534	100.0%	120	94660	100.0%	183	94585	100.0%	246	104023	100.0%
58	94542	100.0%	121	94564	100.0%	184	94594	98.9%	247	104032	100.0%
59	94550	100.0%	122	94572	100.0%	185	94602	100.0%	248	104040	100.0%
60	94558	100.0%	123	94580	100.0%	186	94615	100.0%	249	104048	100.0%
61	KPN755	100.0%	124	94589	100.0%	187	94624	100.0%	250	104056	98.9%
62	KPN773	100.0%	125	94597	100.0%	188	94632	100.0%	251	104065	100.0%
63	KPN781	100.0%	126	94605	98.9%	189	94640	100.0%	252	104074	100.0%

N	Sample ID	Call Rate	N	Sample ID	Call Rate	N	Sample ID	Call Rate	N	Sample ID	Call Rate
253	94673	100.0%	316	104104	98.9%	379	104133	100.0%	442	hnp14_077	100.0%
254	94681	100.0%	317	104112	100.0%	380	104141	100.0%	443	hnp14_085	100.0%
255	94689	100.0%	318	104120	100.0%	381	104149	100.0%	444	hnp14_093	100.0%
256	104007	100.0%	319	104128	100.0%	382	104157	98.9%	445	hnp14_006	98.9%
257	104016	98.9%	320	104136	100.0%	383	104165	98.9%	446	hnp14_014	100.0%
258	104024	100.0%	321	104144	100.0%	384	K3623	100.0%	447	hnp14_022	100.0%
259	104033	100.0%	322	104152	100.0%	385	hnp14_160	100.0%	448	hnp14_030	98.9%
260	104041	100.0%	323	104160	100.0%	386	hnp14_009	100.0%	449	hnp14_038	100.0%
261	104049	100.0%	324	104168	100.0%	387	hnp14_162	100.0%	450	hnp14_046	98.9%
262	104057	100.0%	325	104081	100.0%	388	hnp14_025	100.0%	451	hnp14_054	100.0%
263	104066	100.0%	326	104089	100.0%	389	hnp14_033	100.0%	452	hnp14_062	97.9%
264	104075	100.0%	327	104097	100.0%	390	hnp14_041	100.0%	453	hnp14_070	100.0%
265	94674	100.0%	328	104105	100.0%	391	hnp14_049	100.0%	454	hnp14_078	100.0%
266	94682	100.0%	329	104113	100.0%	392	hnp14_057	100.0%	455	hnp14_086	100.0%
267	94690	100.0%	330	104121	100.0%	393	hnp14_065	100.0%	456	hnp14_094	100.0%
268	104008	100.0%	331	104129	100.0%	394	hnp14_073	100.0%	457	hnp14_007	100.0%
269	104017	98.9%	332	104137	100.0%	395	hnp14_081	100.0%	458	hnp14_015	100.0%
270	104025	100.0%	333	104145	100.0%	396	hnp14_089	100.0%	459	hnp14_023	100.0%
271	104034	100.0%	334	104153	100.0%	397	hnp14_002	100.0%	460	hnp14_031	100.0%
272	104042	100.0%	335	104161	100.0%	398	hnp14_010	100.0%	461	hnp14_039	100.0%
273	104050	100.0%	336	104169	100.0%	399	hnp14_018	100.0%	462	hnp14_047	100.0%
274	104059	100.0%	337	104082	100.0%	400	hnp14_026	100.0%	463	hnp14_055	100.0%
275	104067	100.0%	338	104090	100.0%	401	hnp14_034	100.0%	464	hnp14_063	100.0%
276	104076	100.0%	339	104098	100.0%	402	hnp14_042	97.9%	465	hnp14_071	100.0%
277	94675	100.0%	340	104106	100.0%	403	hnp14_050	100.0%	466	hnp14_079	100.0%
278	94683	100.0%	341	104114	100.0%	404	hnp14_058	100.0%	467	hnp14_087	100.0%
279	104001	100.0%	342	104122	100.0%	405	hnp14_066	100.0%	468	hnp14_095	100.0%
280	104009	100.0%	343	104130	100.0%	406	hnp14_074	100.0%	469	hnp14_008	Fail
281	104018	100.0%	344	104138	100.0%	407	hnp14_082	98.9%	470	hnp14_016	100.0%
282	104026	100.0%	345	104146	100.0%	408	hnp14_090	98.9%	471	hnp14_024	100.0%
283	104035	100.0%	346	104154	98.9%	409	hnp14_161	100.0%	472	hnp14_032	100.0%
284	104043	98.9%	347	104162	100.0%	410	hnp14_011	100.0%	473	hnp14_040	100.0%
285	104051	100.0%	348	104170	100.0%	411	hnp14_019	100.0%	474	hnp14_048	100.0%
286	104060	100.0%	349	104083	98.9%	412	hnp14_027	100.0%	475	hnp14_056	100.0%
287	104068	100.0%	350	104091	100.0%	413	hnp14_035	100.0%	476	hnp14_064	100.0%
288	104077	100.0%	351	104099	98.9%	414	hnp14_043	100.0%	477	hnp14_072	100.0%
289	104078	100.0%	352	104107	98.9%	415	hnp14_051	100.0%	478	hnp14_080	100.0%
290	104086	100.0%	353	104115	100.0%	416	hnp14_059	100.0%	479	hnp14_088	100.0%
291	104094	100.0%	354	104123	100.0%	417	hnp14_067	100.0%	480	hnp14_096	100.0%
292	104102	100.0%	355	104131	100.0%	418	hnp14_075	100.0%	481	hnp14_097	100.0%
293	104110	100.0%	356	104139	100.0%	419	hnp14_083	100.0%	482	hnp14_105	100.0%
294	104118	100.0%	357	104147	100.0%	420	hnp14_091	100.0%	483	hnp14_113	100.0%
295	104126	100.0%	358	104155	100.0%	421	hnp14_004	100.0%	484	hnp14_121	98.9%
296	104134	100.0%	359	104163	100.0%	422	hnp14_012	98.9%	485	hnp14_165	100.0%
297	104142	100.0%	360	K3620	100.0%	423	hnp14_020	98.9%	486	hnp14_137	100.0%
298	104150	100.0%	361	104084	100.0%	424	hnp14_164	100.0%	487	hnp14_145	100.0%
299	104158	100.0%	362	104092	100.0%	425	hnp14_036	98.9%	488	hnp14_153	100.0%
300	104166	100.0%	363	104100	98.9%	426	hnp14_044	100.0%	489	B1164	100.0%
301	104079	100.0%	364	104108	100.0%	427	hnp14_052	100.0%	490	B1188	Fail
302	104087	98.9%	365	104116	100.0%	428	hnp14_060	100.0%	491	B1205	100.0%
303	104095	100.0%	366	104124	100.0%	429	hnp14_068	98.9%	492	B1229	100.0%
304	104103	100.0%	367	104132	100.0%	430	hnp14_076	100.0%	493	hnp14_098	100.0%
305	104111	100.0%	368	104140	100.0%	431	hnp14_084	100.0%	494	hnp14_106	Fail
306	104119	100.0%	369	104148	100.0%	432	hnp14_092	98.9%	495	hnp14_114	100.0%
307	104127	100.0%	370	104156	100.0%	433	hnp14_005	100.0%	496	hnp14_122	98.9%
308	104135	100.0%	371	104164	100.0%	434	hnp14_013	100.0%	497	hnp14_130	100.0%
309	104143	97.9%	372	K3622	100.0%	435	hnp14_021	100.0%	498	hnp14_138	100.0%
310	104151	100.0%	373	104085	100.0%	436	hnp14_029	98.9%	499	hnp14_146	100.0%
311	104159	100.0%	374	104093	100.0%	437	hnp14_037	100.0%	500	hnp14_154	100.0%
312	104167	100.0%	375	104101	100.0%	438	hnp14_045	100.0%	501	B1170	100.0%
313	104080	100.0%	376	104109	100.0%	439	hnp14_053	100.0%	502	B1192	Fail
314	104088	100.0%	377	104117	100.0%	440	hnp14_061	100.0%	503	B1211	100.0%
315	104096	100.0%	378	104125	100.0%	441	hnp14_069	100.0%	504	B1244	100.0%

N	Sample ID	Call Rate	N	Sample ID	Call Rate	N	Sample ID	Call Rate	N	Sample ID	Call Rate
505	hnp14_099	100.0%	568	hnp14_128	100.0%	631	K3711	100.0%	694	B1339	98.9%
506	hnp14_107	100.0%	569	hnp14_136	100.0%	632	B1019	100.0%	695	B1352	100.0%
507	hnp14_115	100.0%	570	hnp14_144	100.0%	633	B1027	100.0%	696	B1367	Fail
508	hnp14_123	100.0%	571	hnp14_152	100.0%	634	B1035	100.0%	697	B1060	100.0%
509	hnp14_131	100.0%	572	B1153	100.0%	635	B1043	100.0%	698	B1071	100.0%
510	hnp14_139	100.0%	573	B1185	100.0%	636	K3753	Fail	699	B1090	100.0%
511	hnp14_147	100.0%	574	B1204	100.0%	637	B0964	100.0%	700	B1113	100.0%
512	hnp14_168	100.0%	575	B1228	100.0%	638	B0972	100.0%	701	B1130	100.0%
513	B1171	100.0%	576	K3648	98.9%	639	B0980	100.0%	702	B1254	100.0%
514	B1199	100.0%	577	B0959	100.0%	640	B0988	100.0%	703	B1285	100.0%
515	B1212	98.9%	578	K3660	100.0%	641	K3686	100.0%	704	B1310	100.0%
516	K3624	100.0%	579	K3666	100.0%	642	K3700	Fail	705	B1328	100.0%
517	hnp14_100	100.0%	580	K3680	100.0%	643	B1012	100.0%	706	B1340	100.0%
518	hnp14_108	100.0%	581	K3682	100.0%	644	B1020	100.0%	707	B1354	98.9%
519	hnp14_116	100.0%	582	B0999	100.0%	645	K3728	100.0%	708	B1368	100.0%
520	hnp14_124	100.0%	583	K3705	100.0%	646	B1036	100.0%	709	B1061	100.0%
521	hnp14_132	98.9%	584	K3720	98.9%	647	K3742	100.0%	710	B1072	Fail
522	hnp14_140	100.0%	585	B1023	100.0%	648	K3755	100.0%	711	B1092	98.9%
523	hnp14_148	100.0%	586	B1031	100.0%	649	B0965	100.0%	712	B1114	100.0%
524	hnp14_156	100.0%	587	K3737	100.0%	650	K3664	98.9%	713	B1131	100.0%
525	B1175	100.0%	588	B1047	98.9%	651	B0981	Fail	714	B1255	100.0%
526	B1200	100.0%	589	K3651	100.0%	652	B0989	100.0%	715	B1290	98.9%
527	B1213	100.0%	590	B0968	Fail	653	B0997	100.0%	716	B1311	100.0%
528	K3627	100.0%	591	B0976	100.0%	654	B1005	100.0%	717	B1329	100.0%
529	hnp14_101	100.0%	592	B0984	100.0%	655	K3717	100.0%	718	B1341	100.0%
530	hnp14_109	100.0%	593	B0992	100.0%	656	B1021	100.0%	719	B1356	100.0%
531	hnp14_117	98.9%	594	K3694	100.0%	657	K3729	100.0%	720	B1370	100.0%
532	hnp14_125	100.0%	595	K3706	100.0%	658	B1037	100.0%	721	B1062	100.0%
533	hnp14_133	100.0%	596	K3724	100.0%	659	B1045	100.0%	722	B1073	100.0%
534	hnp14_141	100.0%	597	B1024	100.0%	660	K3756	100.0%	723	B1093	100.0%
535	hnp14_149	100.0%	598	K3732	100.0%	661	B0966	Fail	724	B1120	100.0%
536	hnp14_157	100.0%	599	B1040	100.0%	662	B0974	100.0%	725	B1137	100.0%
537	B1180	100.0%	600	B1048	100.0%	663	B0982	100.0%	726	B1256	100.0%
538	B1201	Fail	601	K3653	100.0%	664	B0990	100.0%	727	B1300	100.0%
539	B1218	100.0%	602	B0969	100.0%	665	B0998	100.0%	728	B1314	100.0%
540	K3629	100.0%	603	B0977	100.0%	666	K3701	100.0%	729	B1330	100.0%
541	hnp14_102	100.0%	604	B0985	100.0%	667	K3718	100.0%	730	B1342	100.0%
542	hnp14_110	100.0%	605	B0993	100.0%	668	B1022	Fail	731	B1357	100.0%
543	hnp14_118	100.0%	606	B1001	100.0%	669	B1030	98.9%	732	B1374	100.0%
544	hnp14_126	100.0%	607	K3707	100.0%	670	B1038	100.0%	733	B1063	Fail
545	hnp14_134	100.0%	608	B1017	100.0%	671	B1046	100.0%	734	B1076	100.0%
546	hnp14_142	100.0%	609	B1025	100.0%	672	B1054	100.0%	735	B1097	100.0%
547	hnp14_150	Fail	610	B1033	100.0%	673	B1055	100.0%	736	B1121	100.0%
548	hnp14_158	100.0%	611	K3739	100.0%	674	B1068	100.0%	737	B1139	100.0%
549	B1181	100.0%	612	B1049	100.0%	675	B1088	100.0%	738	B1257	100.0%
550	B1202	100.0%	613	K3656	98.9%	676	B1107	98.9%	739	B1302	100.0%
551	B1220	100.0%	614	B0970	100.0%	677	B1127	100.0%	740	B1317	100.0%
552	K3638	98.9%	615	K3667	100.0%	678	B1148	100.0%	741	B1331	100.0%
553	hnp14_103	100.0%	616	B0986	100.0%	679	B1266	100.0%	742	B1345	100.0%
554	hnp14_111	100.0%	617	B0994	100.0%	680	B1308	100.0%	743	B1360	100.0%
555	hnp14_119	100.0%	618	K3696	100.0%	681	B1326	100.0%	744	B1375	100.0%
556	hnp14_127	100.0%	619	K3710	100.0%	682	B1337	100.0%	745	B1064	100.0%
557	hnp14_135	100.0%	620	B1018	100.0%	683	B1351	100.0%	746	B1086	97.9%
558	hnp14_143	100.0%	621	B1026	100.0%	684	B1366	100.0%	747	B1101	98.9%
559	hnp14_151	100.0%	622	K3736	100.0%	685	B1057	100.0%	748	B1122	100.0%
560	hnp14_159	100.0%	623	K3741	100.0%	686	B1069	100.0%	749	B1140	100.0%
561	B1184	100.0%	624	K3746	100.0%	687	B1089	100.0%	750	B1258	100.0%
562	B1203	100.0%	625	K3658	100.0%	688	B1112	100.0%	751	B1303	100.0%
563	B1227	100.0%	626	K3661	100.0%	689	B1129	100.0%	752	B1320	98.9%
564	K3640	98.9%	627	K3679	100.0%	690	B1251	100.0%	753	B1334	100.0%
565	hnp14_104	100.0%	628	B0987	100.0%	691	B1280	100.0%	754	B1347	98.9%
566	hnp14_112	100.0%	629	B0995	100.0%	692	B1309	100.0%	755	B1361	100.0%
567	hnp14_120	100.0%	630	K3698	100.0%	693	B1327	100.0%	756	B1376	100.0%

N	Sample ID	Call Rate	N	Sample ID	Call Rate	N	Sample ID	Call Rate	N	Sample ID	Call Rate
757	B1066	100.0%	820	B1441	100.0%	883	EH5761	100.0%	946	EH5820	100.0%
758	B1087	100.0%	821	B1463	100.0%	884	EH5779	98.9%	947	EH5847	100.0%
759	B1106	98.9%	822	B1479	100.0%	885	EH5796	100.0%	948	EH5869	100.0%
760	B1126	98.9%	823	B1490	100.0%	886	EH5811	100.0%	949	EH5624	100.0%
761	B1142	100.0%	824	B1514	100.0%	887	EH5840	100.0%	950	EH5639	Fail
762	B1260	100.0%	825	K3615	100.0%	888	EH5856	100.0%	951	EH5656	100.0%
763	B1307	100.0%	826	EH5549	100.0%	889	EH5599	98.9%	952	EH5685	98.9%
764	B1323	100.0%	827	EH5559	100.0%	890	EH5630	100.0%	953	EH5727	Fail
765	B1336	100.0%	828	EH5580	100.0%	891	EH5646	100.0%	954	EH5759	100.0%
766	B1350	100.0%	829	B1393	100.0%	892	EH5664	100.0%	955	EH5773	100.0%
767	B1363	100.0%	830	B1409	100.0%	893	EH5704	100.0%	956	EH5792	98.9%
768	B1377	100.0%	831	B1426	100.0%	894	EH5746	100.0%	957	EH5809	100.0%
769	B1379	100.0%	832	B1444	100.0%	895	EH5766	100.0%	958	EH5826	98.9%
770	B1397	98.9%	833	B1466	100.0%	896	EH5780	100.0%	959	EH5851	100.0%
771	B1415	100.0%	834	B1480	100.0%	897	EH5797	100.0%	960	EH5871	100.0%
772	B1436	100.0%	835	B1491	100.0%	898	EH5813	100.0%			
773	B1449	100.0%	836	B1518	100.0%	899	EH5841	100.0%			
774	B1473	100.0%	837	K3616	100.0%	900	EH5857	100.0%			
775	B1483	100.0%	838	EH5552	98.9%	901	EH5602	100.0%			
776	B1507	100.0%	839	EH5560	100.0%	902	EH5631	100.0%			
777	B1523	Fail	840	EH5581	100.0%	903	EH5650	100.0%			
778	K3763	100.0%	841	B1395	100.0%	904	EH5665	100.0%			
779	EH5555	100.0%	842	B1410	100.0%	905	EH5709	100.0%			
780	EH5573	100.0%	843	B1427	100.0%	906	EH5753	100.0%			
781	B1381	100.0%	844	B1445	100.0%	907	EH5767	100.0%			
782	B1398	100.0%	845	B1471	100.0%	908	EH5782	100.0%			
783	B1417	100.0%	846	B1481	100.0%	909	EH5801	98.9%			
784	B1437	100.0%	847	B1495	100.0%	910	EH5814	98.9%			
785	B1451	100.0%	848	B1519	100.0%	911	EH5842	Fail			
786	B1474	100.0%	849	K3758	Fail	912	EH5858	100.0%			
787	B1485	100.0%	850	EH5553	100.0%	913	EH5606	100.0%			
788	B1508	100.0%	851	EH5561	100.0%	914	EH5632	100.0%			
789	B1525	100.0%	852	EH5583	100.0%	915	EH5651	Fail			
790	K3764	100.0%	853	B1396	100.0%	916	EH5666	100.0%			
791	EH5556	100.0%	854	B1413	100.0%	917	EH5710	100.0%			
792	EH5574	100.0%	855	B1435	100.0%	918	EH5756	100.0%			
793	B1382	100.0%	856	B1446	100.0%	919	EH5769	100.0%			
794	B1403	100.0%	857	B1472	100.0%	920	EH5783	100.0%			
795	B1420	100.0%	858	B1482	100.0%	921	EH5804	100.0%			
796	B1438	100.0%	859	B1503	Fail	922	EH5815	100.0%			
797	B1458	100.0%	860	B1521	100.0%	923	EH5843	100.0%			
798	B1475	100.0%	861	K3759	100.0%	924	EH5861	100.0%			
799	B1487	100.0%	862	EH5554	100.0%	925	EH5614	100.0%			
800	B1509	100.0%	863	EH5570	100.0%	926	EH5635	100.0%			
801	K3608	98.9%	864	EH5588	100.0%	927	EH5653	100.0%			
802	K3767	100.0%	865	EH5596	100.0%	928	EH5670	100.0%			
803	EH5557	100.0%	866	EH5627	100.0%	929	EH5716	100.0%			
804	EH5576	97.9%	867	EH5640	100.0%	930	EH5757	100.0%			
805	B1386	100.0%	868	EH5661	100.0%	931	EH5771	100.0%			
806	B1405	98.9%	869	EH5692	Fail	932	EH5786	100.0%			
807	B1421	100.0%	870	EH5733	100.0%	933	EH5807	100.0%			
808	B1439	100.0%	871	EH5760	100.0%	934	EH5816	100.0%			
809	B1462	100.0%	872	EH5777	100.0%	935	EH5846	100.0%			
810	B1478	100.0%	873	EH5793	100.0%	936	EH5867	100.0%			
811	B1488	100.0%	874	EH5810	100.0%	937	EH5616	100.0%			
812	B1512	100.0%	875	EH5834	100.0%	938	EH5637	100.0%			
813	K3614	100.0%	876	EH5853	98.9%	939	EH5654	100.0%			
814	K3768	100.0%	877	EH5597	100.0%	940	EH5683	Fail			
815	EH5558	100.0%	878	EH5628	100.0%	941	EH5723	100.0%			
816	EH5578	100.0%	879	EH5644	100.0%	942	EH5758	100.0%			
817	B1388	100.0%	880	EH5663	100.0%	943	EH5772	100.0%			
818	B1408	98.9%	881	EH5702	100.0%	944	EH5787	100.0%			
819	B1424	100.0%	882	EH5742	100.0%	945	EH5808	100.0%			

바. 암소에 대한 Genome-wide SNP scanning

○ 현재까지 진행된 경제형질 관련 SNP contents 발굴 연구는 종모우 및 거세우만을 이용하여 진행하여 왔음. 그러나 종모우의 경우 우수한 품종 및 혈통을 선별하여 관리하여 왔지만 어미소인 암소의 경우에는 철저한 관리가 효과적으로 이루어지지 않았음.

○ 따라서, 본 연구에서는 죽암 농협에서 확보된 암소군에 대한 Bovine chip scanning을 통해 암소에서도 GWAS를 수행하여 유전적으로 우수한 경제형질을 지닌 암소 선별에 효과적으로 이용될 수 있는 contents를 확보하고자 96두에서의 GWAS를 실시하였으며, 결과 요약은 그림 26과 같음.

○ 죽암암소 96두에서 수행된 chip scanning 결과 평균 call rate은 99.987%로 매우 우수한 실험결과를 얻었으며, 평균 MAF는 0.237로 거세우 들에 비해 평균 MAF값이 다소 높게 나타났음. Monomorphic SNP의 비율도 상대적으로 다소 높은 편이었음.

Bovine SNP50 (50K chip) in Cow

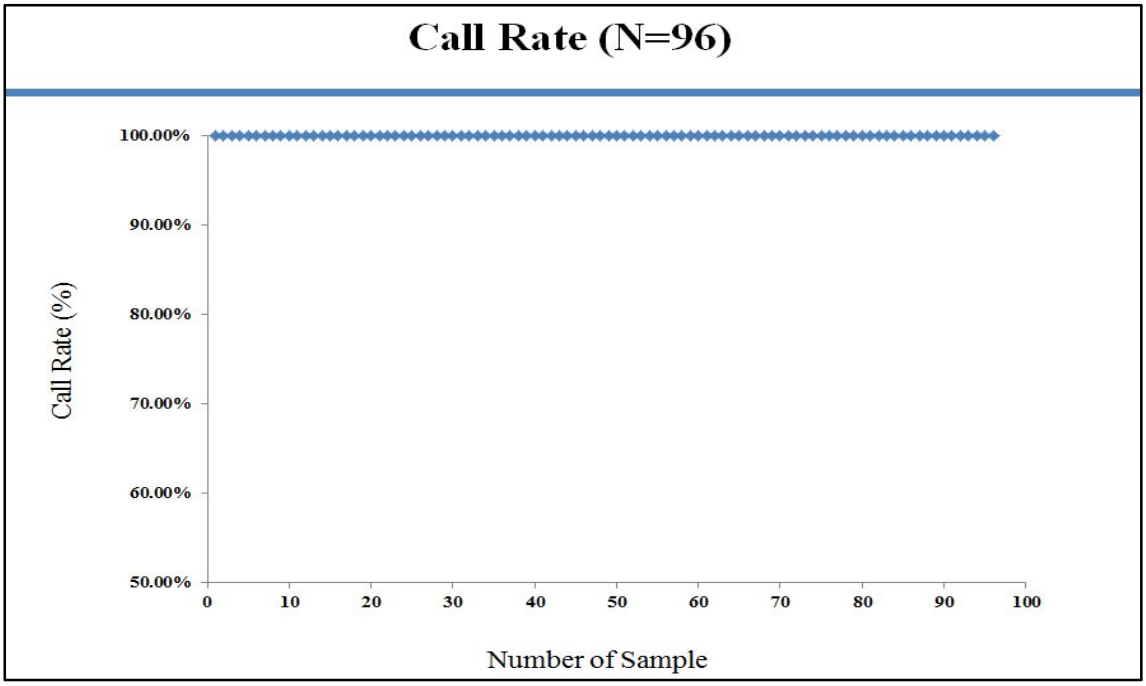
Description	Basic Information
Number of SNPs on Chip	54,001
Number of Samples	96
Genotype Call Rate	99.987%
Average MAF	0.237
Monomorphic SNPs	8,560 (16.09%)
SNPs MAF > 0.05	38,483 (72.34%)
SNPs HWE-P<0.01	402 (0.76%)

<그림 3-4-27>. Summary of Bovine50K scanning in Cow.

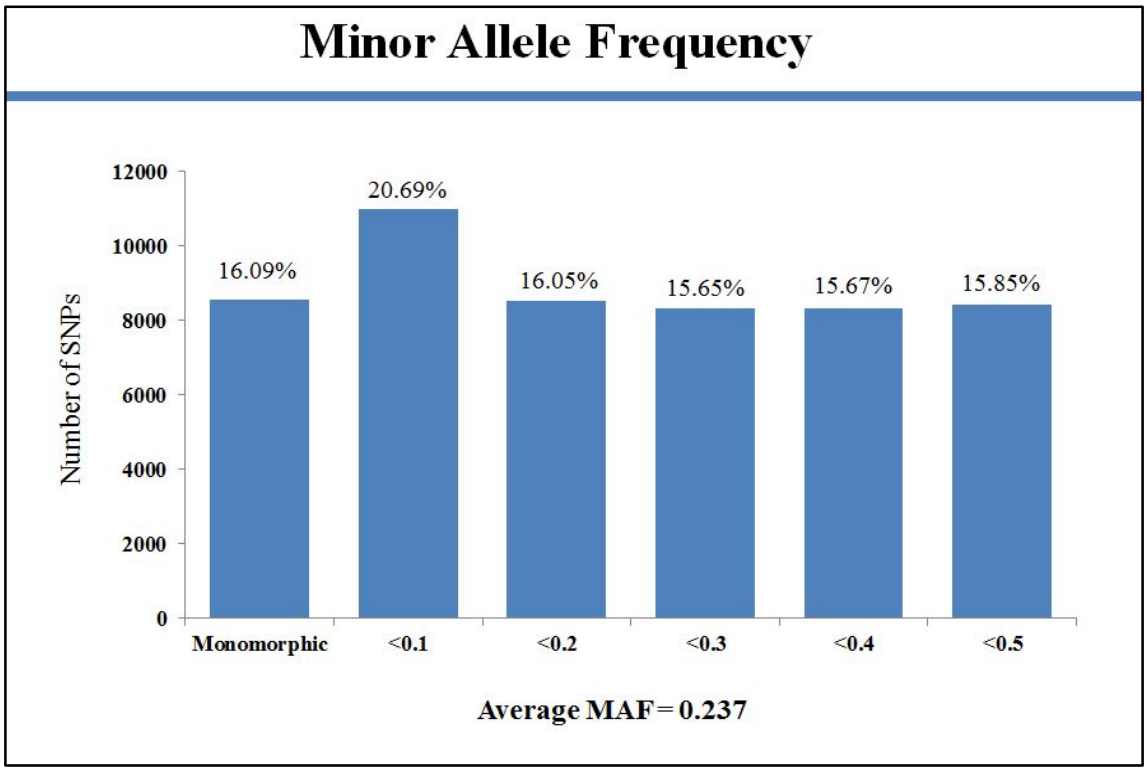
○ 96두에서의 시료별 call rate은 표 12 및 그림 27에 정리하였음.

<표 3-4-12>. Call rate of each Cow sample

Index	Sample ID	Call Rate	Index	Sample ID	Call Rate	Index	Sample ID	Call Rate
1	JA262	99.97%	33	JA399	99.99%	65	JA501	99.99%
2	JA263	99.98%	34	JA400	99.99%	66	JA503	99.99%
3	JA264	99.99%	35	JA402	99.99%	67	JA504	99.98%
4	JA265	99.98%	36	JA403	100.00%	68	JA506	99.99%
5	JA268	99.99%	37	JA404	99.98%	69	JA510	99.99%
6	JA272	100.00%	38	JA405	100.00%	70	JA512	99.99%
7	JA283	99.98%	39	JA406	99.99%	71	JA513	99.99%
8	JA287	99.99%	40	JA407	100.00%	72	JA516	99.99%
9	JA289	99.99%	41	JA408	100.00%	73	JA518	99.98%
10	JA290	99.98%	42	JA409	99.99%	74	JA519	99.99%
11	JA312	99.98%	43	JA410	99.99%	75	JA520	99.98%
12	JA376	99.98%	44	JA411	99.99%	76	JA521	99.99%
13	JA377	99.98%	45	JA412	99.99%	77	JA522	99.98%
14	JA378	99.99%	46	JA413	100.00%	78	JA523	99.99%
15	JA379	99.98%	47	JA416	99.99%	79	JA524	99.99%
16	JA380	99.98%	48	JA423	99.99%	80	JA526	99.98%
17	JA381	99.98%	49	JA432	99.97%	81	JA527	99.99%
18	JA383	99.99%	50	JA433	99.97%	82	JA528	99.98%
19	JA384	99.98%	51	JA435	100.00%	83	JA529	100.00%
20	JA385	99.99%	52	JA443	99.98%	84	JA530	99.99%
21	JA387	99.99%	53	JA459	99.99%	85	JA531	99.99%
22	JA388	100.00%	54	JA460	99.98%	86	JA533	99.99%
23	JA389	99.99%	55	JA465	99.97%	87	JA534	99.99%
24	JA390	99.99%	56	JA472	100.00%	88	JA535	99.99%
25	JA391	99.98%	57	JA475	99.99%	89	JA536	99.99%
26	JA392	100.00%	58	JA476	99.99%	90	JA537	99.99%
27	JA393	99.99%	59	JA478	99.99%	91	JA538	99.99%
28	JA394	99.98%	60	JA480	99.99%	92	JA539	99.98%
29	JA395	99.98%	61	JA487	99.98%	93	JA540	99.98%
30	JA396	99.98%	62	JA489	99.99%	94	JA541	99.98%
31	JA397	99.99%	63	JA493	99.97%	95	JA542	99.99%
32	JA398	99.99%	64	JA494	99.99%	96	JA543	99.98%



<그림 3-4-28>. Call rate of Cow sample.



<그림 3-4-29>. Minor allele frequency of Cow.

○ 거세우 등의 수소에 비해 암소의 경우 monomorphic SNP가 약 5% 정도 높게 나타나는 특징을 확인했으며, 반면 10% 이하의 MAF를 가지는 SNP의 비율이 4% 정도 낮게 나타났음. 나머지 구역에서의 비율에는 큰 차이가 없는 것으로 보아 rare allele를 가지는 SNP의 경우와 Y 염색체 유무에 따른 차이로 판단됨.

○ 추출된 죽암 암소의 genome-wide scanning data는 제 1협동 연구기관으로 전달되어 경제형질 연관 분석을 수행하였음.

사. DNA 테스트 키트

○ 경제형질 유전자 검사에 적합한 SNP contents가 최종 결정되어 통합 키트 제작되었음 (Golden Gate Assay Kit).

Contents information of test kit

No	Locus ID	Allele	Chromosome	MapInfo
1	BTB-01527489	[T/C]	6	49080811
2	ARS-BFGL-NGS-102388	[A/G]	3	20000610
3	Hapmap27208-BTA-157501	[A/G]	3	76469248
4	ARS-BFGL-NGS-32379	[A/G]	10	82876725
5	ARS-BFGL-NGS-41558	[A/C]	3	123148964
6	ARS-BFGL-NGS-80012	[A/G]	12	19931659
7	ARS-BFGL-NGS-59831	[T/G]	16	33037337
8	ARS-BFGL-NGS-26028	[A/G]	14	21080793
9	Hapmap25440-BTC-053771	[A/G]	14	10464996
10	BTB-00037084	[A/G]	1	87457261
11	BTB-00843812	[A/C]	6	55293700
12	BTA-104512-no-rs	[A/G]	4	112700199
13	Hapmap46848-BTA-60788	[A/G]	26	20312810
14	BTB-00317097	[A/G]	7	65652720
15	Hapmap39595-BTA-85742	[T/G]	2	39098749
16	BTB-01273492	[A/G]	7	78559259
17	BTA-65463-no-rs	[A/C]	29	31816218
18	BTA-61647-no-rs	[A/C]	26	42127980
19	Hapmap24136-BTA-124014	[T/G]	1	55673837
20	Hapmap33068-BTA-160954	[A/G]	5	18775860
21	ARS-BFGL-NGS-104278	[T/C]	4	82322976
22	INRA-565	[T/C]	3	23933162
23	ARS-BFGL-NGS-21607	[T/C]	11	100481883
24	Hapmap26379-BTA-130999	[T/C]	16	51370098
25	BFGL-NGS-116673	[T/G]	7	88679092
26	Hapmap46894-BTA-89312	[T/C]	26	12496998
27	BTA-100668-no-rs	[T/G]	10	68586181
28	BFGL-NGS-114518	[A/G]	28	40462756
29	Hapmap53674-rs29025319	[T/C]	20	8676696
30	BTB-00301426	[T/C]	7	29194445
31	ARS-BFGL-NGS-35298	[T/G]	24	13445705
32	BTB-00635702	[A/G]	16	31495633
33	BTB-00986847	[T/G]	7	1126787
34	BTB-01280026	[T/C]	14	25170557
35	BFGL-NGS-117383	[A/G]	2	63905821
36	BTB-00384802	[T/C]	9	35216259
37	BTB-01107683	[T/C]	21	29363186
38	ARS-BFGL-NGS-43407	[A/G]	5	110911478
39	ARS-BFGL-NGS-28660	[T/C]	7	4130299
40	BFGL-NGS-110586	[T/C]	3	105007296
41	ARS-BFGL-NGS-65062	[A/C]	6	121357123
42	BTA-100341-no-rs	[T/G]	26	34983053
43	ARS-BFGL-NGS-31807	[A/G]	10	63139835
44	BTA-06866-rs29021222	[G/C]	1	116377919
45	BTB-00652140	[T/C]	16	53663332
46	ARS-BFGL-NGS-84417	[A/C]	7	45559923
47	Hapmap44798-BTA-104292	[C/G]	11	74869821
48	ARS-BFGL-NGS-39970	[T/C]	27	32759635

○ Golden Gate Assay 실험의 표준 프로토콜을 다음과 같이 작성하여 키트에 포함할 예정이며, 결과 분석방법에 대한 정보는 제 1 협동과제에서 제안한 방식을 수용하여 안내하게 됨.

예시) DNA 테스트 키트의 표준분석법 (standard Protocol)

○ 검체에서 DNA 추출

① 검체를 잘게 다져 1.5 mL 튜브에 옮긴다.

② 핵산 해리 혼합액을 300 uL 첨가하고 단백질분해효소 K (20㎎/mL 농도)를 10 uL 첨가한다.

③ 잘 혼합한 후 검체가 완전히 용해될 때 까지 55℃ 항온수조에 둔다 (약 40분～1시간 30분). 이때 10분 간격으로 약 10～20초 간 혼합기를 이용하여 잘 혼합한다.

④ 얼음 위에 3분 간 둔 뒤 단백질 침전 용액을 100 uL 첨가한 후 20초 간 혼합기를 이용하여 잘 혼합한다.

⑤ 얼음 위에 5분 간 둔 뒤 14,000 *G* 에서 5분 간 원심분리한다.

⑥ 상층액을 새로운 1.5 mL 튜브에 옮기고 이소프로판올 300uL를 첨가하여 위 아래로 뒤집으며 잘 섞어준다.

⑦ 14,000 *G* 에서 5분 간 원심분리한다.

⑧ 상층액을 피펫으로 DNA 응축물이 없어지지 않도록 조심스럽게 버린다.

⑨ 70% 에탄올을 1 mL 넣고 2~3번 위 아래로 뒤집으며 잘 섞은 뒤 14,000 *G*에서 5분 간 원심분리한다.

⑩ 상층액을 피펫으로 DNA 응축물이 없어지지 않도록 조심스럽게 버리고 상온에서 DNA 응축물을 건조시킨다 (약 5분 간 상온에 방치).

⑪ RNA 분해효소가 첨가된 DNA 재수화 용액 50 uL를 가한다.

[시약의 조제]

① 핵산 해리 혼합액

- Nucleic lysis solution (Promega A7943 또는 이와 동등한 결과를 얻을 수 있는 제품) 500 uL 당 0.5 M EDTA를 120 uL를 첨가해서 조제한다.

② RNA 분해효소가 첨가된 DNA 재수화 (rehydration) 용액

- DNA rehydration solution 1mL 당 RNase (4 ㎎/mL) 10 uL를 첨가하여 조제한다.

○ DNA 농도측정

※ 아래의 DNA농도측정 방법 이외에도 일반적 DNA농도측정기, 아가로즈겔 전기영동을 이용하는 방법, DNA정량측정용 시약 등의 방법으로 농도, 순도를 측정할 수 있다.

① 모든 DNA 시료 농도는 피코그린 DNA 정량 용액(Molecular probe Cat# P-7581 또는 이와 동등한 결과를 얻을 수 있는 제품)과 lambda DNA (Invitrogen Cat# 25250-28 또는 이와 동등한 결과를 얻을 수 있는 제품)를 이용하여 측정한다.

② Lambda DNA 표준액을 만들기 위해 lambda DNA 원액을 각각 0, 1.5262, 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 ng/uL의 농도로 희석한다.

③ 농도별 lambda DNA 희석 시료 2 uL를 98 uL의 피코그린 희석 용액에 넣고 빛이 없는 곳에서 30분 간 상온에서 반응한 후 자외선흡광광도계 (480 nm/520 nm)로 측정한다.

④ 측정된 값과 희석된 농도값을 기초로 표준곡선을 작성한다.

⑤ DNA 시료는 원액 2 uL를 TE 완충액 (pH 8.0)으로 10배 희석하여 위와 같은 방법으로 측정하며 표준곡선을 이용하여 정확한 농도를 산출한다. 이때 DNA의 농도가 100 ng/uL 이상이거나 1 ng/uL 이하일 경우 다시 희석하여 재측정한다.

⑥ 최종 DNA 농도가 50 ng/uL이 되도록 TE 완충액 (pH 8.0)에 희석한다.

[시약의 조제]

① 피코그린 희석 용액

피코그린 시약을 TE 완충액 (pH 8.0)을 사용하여 1:200으로 희석한다.

② TE 완충액 (pH 8.0)

각각의 최종농도가 10mM Tris-염산용액 (pH 8.0), 1mM EDTA 용액 (pH 8.0)이 되도록 멸균증류수를 사용하여 조제한다.

○ 마커의 genotyping

※ 준비된 DNA 시료 (50 ng/uL)에 대하여 다음의 과정에 따라 실험한다.

① DNA 플레이트 준비

㉮ DNA 플레이트에 5 uL의 DNA 플레이트 제조용 시약을 넣고 DNA 시료 (50

ng/uL)를 옮겨 넣는다.

㉯ DNA 플레이트를 가열기로 봉합하고 90℃로 예열 시켜놓은 가열기에서 30분간 반응시킨다.

㉰ 가열 봉합재를 용액이 튀지 않도록 조심스럽게 제거한 후 5 uL의 침전시약을 넣고 용액이 청색으로 변할 때 까지 충분히 혼합한다.

㉱ 15 uL의 2-프로필알콜을 넣고 3000 *G*로 20분간 원심분리한 후 상층액을 제거하고 상온에서 15~20분간 말린다.

㉲ DNA 플레이트의 각 칸에 10 uL의 혼탁액을 넣고 청색의 침전물이 완전히 풀어질 때까지 충분히 혼합한다.

② 유전형특이연장반응용 (Allele-Specific Extension) 플레이트 준비

㉮ 유전형특이연장반응용 플레이트 각 칸에 10 uL의 올리고시약을 넣고 30 uL의 올리고 혼성 접합시약을 추가로 넣는다.

㉯ DNA 플레이트의 봉합을 조심스럽게 제거하고 10 uL의 DNA 반응액을 유전형특이연장반응용 플레이트로 옮기고 비드가 완전히 풀어질 때까지 충분히 혼합한다.

㉰ 70℃로 예열된 가열기에 유전형특이연장반응용 플레이트를 놓고, 즉시 가열기를 30℃로 맞춘다. 30℃로 온도가 떨어질 때까지 놓아둔다.

③ 연장 (Extension) 및 접합 (Ligation) 반응

㉮ 2분 동안 또는 비드가 한 곳으로 모일 때까지 자석 플레이트 위에 유전형특이연장반응용 플레이트를 올려놓고 비드를 제외한 상층액 (~50 uL)을 제거하고 50 uL의 연장접합반응 혼합용액을 넣는다.

㉯ 비드가 완전히 풀어질 때까지 충분히 혼합한다.

㉰ 다시 자석 플레이트 위에 유전형특이연장반응용 플레이트를 올려놓고 비드를 제외하고 연장접합반응 혼합용액을 제거한다.

㉱ ㉯, ㉰의 과정을 반복한다.

㉲ 8-채널 피펫을 사용하여 50 uL의 범용완충액을 유전형특이연장반응용 플레이트의 각 칸에 넣고 2분 동안 비드가 한 곳으로 모일 때까지 자석 플레이트 위에 유전형특이연장반응용 플레이트를 올려놓는다.

㉳ 8-채널 피펫을 사용하여 비드를 제외하고 범용완충액을 제거한다.

㉴ ㉲, ㉳의 과정을 반복한다.

㉮ 8-채널 피펫을 사용하여 37 uL 연장접합반응 효소를 유전형특이연장반응용 플레이트의 각 칸에 넣어주고 플레이트를 접착 필름으로 봉합한 다음 비드가 풀어지도록 1,600~1,700 *G*으로 비드가 완전히 풀어질 때까지 1분간 충분히 혼합한다.

㉯ 유전형특이연장반응용 플레이트를 45℃로 예열시킨 가열기에서 15분간 반응시킨다.

④ PCR 반응

㉮ PCR 혼합용액 튜브에 64 uL의 DNA 중합효소와 50 uL의 Uracil DNA glucosylase를 넣고 충분히 혼합하고 PCR 플레이트에 PCR 혼합액을 30 uL씩 분주한다.

㉯ 2분 동안 또는 비드가 한곳으로 몰릴 때까지 자석 플레이트 위에 유전형특이연장반응용 플레이트를 올려놓고 비드를 제외한 상층액 (~50 uL)를 제거한 후 50 uL의 범용완충액을 넣어준다.

㉰ 다시 비드가 모일 수 있도록 자석 플레이트 위에 2분 동안 올려고 상층액을 모두 제거하고 35 uL의 DNA 해리용액을 유전형특이연장반응용 플레이트의 각 칸에 넣어준다.

㉱ 비드를 풀어주기 위해 1,800-1,900 *G* 으로 1분간 충분히 혼합하고 95℃로 예열시킨 가열기에 1분 동안 올려놓는다.

㉲ 가열기에서 플레이트를 꺼낸 뒤 2분 동안 또는 비드가 모일 때까지 자석 플레이트 위에 플레이트를 올려놓은 후 30 uL 상층액을 PCR 플레이트로 옮긴다.

㉳ PCR 플레이트를 가열 봉합하고 유전자 증폭 장비로 즉시 옮긴다.

㉴ 유전자 증폭 장비의 PCR 반응을 다음 그림과 같이 수행한다.

⑤ PCR 반응체의 결합 과정

㉮ 비드용액을 충분히 혼합한 후, 20 uL씩 PCR 플레이트로 옮겨 잘 섞은 후 필터 플레이트로 옮긴다.

㉯ 커버로 덮고 빛을 차단한 채로 상온에서 60분간 두어 결합이 일어나도록 한다.

⑥ VeraCode 비드 플레이트 용 중간 플레이트 준비

㉮ 빈 96 칸 규격의 폐물 수거 플레이트 위에 필터 플레이트 어댑터를 놓고 PCR 반응액이 들어있는 필터 플레이트를 올려놓는다.

㉯ 25℃ 에서 1,000 *G* (~2,000 *G*)로 5분 동안 원심분리한다.

㉰ 50 uL의 범용완충액을 필터 플레이트에 넣고 25℃에서 1,000 *G* (~2,000 *G*)로 5

분 동안 원심분리한다.

㉱ 30 uL의 혼성용액을 중간 플레이트에 분주한다.

㉲ 중간 플레이트와 폐물 수거 플레이트를 교체하고 30 uL의 0.1N 수산화 나트륨를 필터 플레이트에 분주한다.

㉳ 즉시 25℃에서 1000 *G* (~2,000 *G*)로 5분간 원심분리한다.

⑦ VeraCode 비드 플레이트의 혼성 반응

㉮ 15 mL 튜브에 3 mL의 혼성용액과 3 mL의 0.1N 수산화나트륨 용액을 넣고 충분히 혼합하여 혼성용액을 중화시킨다.

㉯ 50 uL의 중화된 혼성용액을 중간 플레이트의 각 칸에 분주하고 중간 플레이트 안의 시료를 4~5회 피펫으로 섞어준다.

㉰ 100 uL의 반응체를 VeraCode 비드 플레이트에 옮긴다.

㉱ 시료가 들어있는 VeraCode 비드 플레이트를 3시간 동안 혼성 (850 *G*, 45℃) 시킨다.

㉲ VeraCode 비드 플레이트에 200 uL의 세척액을 첨가하고 각 칸의 용액을 피펫으로 섞어준다.

㉳ 각 칸 바닥에 비드가 모이도록 2분 동안 기다린 후 상층액을 제거한다.

㉴ ㉲, ㉳의 과정을 반복한다.

⑧ VeraCode 비드 플레이트 스캐닝

- 반응과정이 끝난 VeraCode 비드 플레이트를 BeadXpress reader로 스캐닝한다. 스캐닝이 완료되면 GenomeStudio software를 이용하여 genotype을 결정한다.

⑨ 최종 게노타입은 키트 내의 설명에 따라 GenomeStudio software의 Final Report (matrix) 형식으로 genotype을 추출한다.

○ 결과판정

① 제 1 협동 기관에서 제시한 방식을 수용하여 안내함.

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
1차 연도 (2007)	제1세부 (충북대, 김내수) 한우 집단 조성, 개량평가 및 산업 시스템 구축	시험 및 실용축군인 정읍 단풍미인 한우 집단의 수소 및 암소에 대한 도체성적 및 초음파 성적자료의 수집 및 전산화	100%	○거세 수소 비육우(600두) 시험축군 - 집단 조성 (혈통등록우 이상) 및 자료관리 - 체중측정: 생시체중, 이유체중, 1년체중, 출하체중 - 도축시 혈액채취 - 도체성적자료 전산정리 - 도축시 시료채취(등심단면적 약 1kg 채취) ○암소(2000두) 실용축군: 정읍, 대관령, 수원 - 집단 조성(혈통등록우 이상) 및 자료관리 - 초음파 측정, BCS 및 체중측정 - 초음파 성적자료 전산정리
	제2세부 (충북대, 김관석) 한우집단의 육량 및 육질 형질에 대한 분자유전학적 특성 분석	기존 QTL 부위의 기능성 후보유전자 발굴 및 한우내 DNA 변이 탐색	100%	◦소 육량 및 육질 관련 QTL 좌위(현재 59개)에 발굴된 기능성 후보유전자 변이를 탐색 및 한우집단에서의 유전자형 분석 ◦근육내 지방산 조성 및 축적 관련 기능성 후보유전자 발굴을 위한 유전자 발현 양상과 유전자염기서열 분석
	제1협동 (영남대, 김종주) 한우 유전체의 통계유전학적 분석을 통한 DNA 마커 발굴	대량 SNP에 대한 연관 불균형 조사 및 Hapmap 구성	100%	○한우 유용 SNP 대량 발굴 및 연관지도 작성 ○발굴 되어진 SNP들간 연관 불균형 조사 및 Hapmap 결정
	제2협동 (SNP Genetics) 대규모 SNP genotyping을 통한 형질 관련 SNP 발굴	Bovine whole-genome scanning을 통한 육량 및 육질 관련 SNP contents 대량 발굴	100%	○확보된 774두의 한우 시료의 친자 감별을 위한 microsatellite marker genotyping ○Bovine genome wide scanning을 통한 132 두 한우 형질 관련 SNP contents 대량 발굴

2차 연도 (2008)	제1세부 (충북대, 김내수) 한우 집단 조성, 개량평가 및 산업 시스템 구축	42,43차 후대 검정우, 한우능력평가대회, 전북고급육대회, 경기도 고품질경진대회에 대한 도체성적 및 DNA 확보 (총 732두)	100%	○42차 후대검정우 170두, 43차 후대검정우 203두 DNA 확보 및 도체성적자료 전산정리 ○한우능력평가대회 45두, 전북고급육대회 10두, 경기도 고품질경진대회 59두 DNA 확보 및 도체성적자료 전산정리 ○정읍 시험축군 중 혈액 채취한 개체중 245두에 대한 도체성적자료 전산정리
	제2세부 (충북대, 김관석) 한우집단의 육량 및 육질 형질에 대한 분자유전학적 특성 분석	1차년도 소 QTL 영역에서 분석된 유전자 마커들에 대한 상용축군에서의 분석	100%	○BTA1, BTA5 의 QTL 영역에 존재하는 단일염기 변이들 중 한우집단에서 연관성분석에 활용 가능한 16 종의 SNP를 선정하여 도체형질이 있는 상용한우집단에 연관성, Linkage Disequilibrium, 및 Haplotype block 분석을 통해, 상용한우집단에서 QTL 영역에 대한 검증과 QTL 영역을 한우산업에 적용하기 위한 모델을 수립하는 체계적인 연구 수행.
		유전자기능을 이용하여 발굴된 후보유전자의 염기서열정보분석 및 한우집단, 이를 이용한 SNaPshop 및 HRM 분석기법을 개발하여 상용한우집단에 적용	100%	○상용한우집단에서육량관련 CAV2, CAV3와 CSRP3 유전자의 단일염기변이와 도체형질과의 연관성분석을 SNaPshot방법으로 DNA kit제작 및 적용 ○지방산 및 육질관련 후보유전자인 FASN, 유전자의 특성을 파악하기 위해 Sequencing을 통한 총 염기서열 분석 및 새로운 단일염기변이발견 및 첨단분석방법인 HRM기법을 이용하여 LD 및 Haplotype block 분석을 상용한우집단에서 수행
		Sequenom의 Massarray와 ABI의 SNaPshot SNP 분석방법을 이용하여 한우시험축군내의 유전자형분석결과를 DB화	100%	○한우집단에서 발굴된 유전자마커의 대량분석방법 검증과 표현형에 미치는 효과 검증
	제1협동 (영남대, 김종주) 한우 유전체의 통계유전학적 분석을 통한 DNA 마커 발굴	○시험축군에 연관 및 연관불균형 방법으로 QTL 탐색	100%	○시험축군에서 연관/연관불균형 정보를 이용한 전 염색체상에서 육량 육질 QTL 탐색
	제2협동 (SNP Genetics) 대규모 SNP genotyping을 통한 형질 관련 SNP 발굴	확보된 한우 시료의 친자 감별을 위한 ISAG marker genotyping	100%	○확보된 한우 시료의 친자 감별을 위한 microsatellite marker genotyping을 통해 1,063 두의 정읍 및 경북 한우에 대한 genotyping 완료
		Bovine whole-genome scanning을 통한 육량 및 육질 관련 SNP contents 대량 발굴	100%	○선별된 168두에 대한 Bovine genome wide scanning을 완료

3차 연도 (2009)	제1세부 (충북대, 김내수) 한우 집단 조성, 개량평가 및 산업 시스템 구축	44차, 45차 후대검정우, 12회 한우능력평가대회에 대한 도체성적 및 DNA 확보(총557두)	100%	○서산 한우개량 사업소의 협조를 받아 44차 후대검정우 192두, 45차 후대검정우 191두에 대한 DNA 확보 및 도체성적자료 전산정리 ○한국종축개량협회의 협조를 받아 12회 한우능력평가대회 174두에 대한 DNA 확보 및 도체성적자료 전산정리
	제2세부 (충북대, 김관석) 한우집단의 육량 및 육질 형질에 대한 분자유전학적 특성 분석	시험 축 군에 연관/연관불균형 방법으로 발굴된 SNP 좌위에 대한 한우 염색체 영역 분석	100%	○Bovine 50K illumina chip에 의해 significance 한 마커들을 이용해 한우집단내의 QTL 영역의 원인 유전자 탐색을 위한 염색체 지도 작성
		한우 후대검정두 고기시료에서 DNA 추출	100%	○한우개량사업소에서 출하된 45차 고기시료 (>200)에서 DNA추출 및 한우 후대검정우 DNA Bank 구축
		한우 QTL 부위 내 유용 유전자 변이 발굴 및 원인 유전자 탐색	100%	○일본화우의 QTL 영역 데이터를 비교 이용하여 한우의 중요한 SNP 및 후보유전자들의 선발
		QTL좌위의 실용축군에 적용한 형질관련 DNA 마커의 검증 및 산업적 적용	100%	○한우 후대검정우 집단에서 Fatty Acid Synthase(FASN) 유전자의 단일염시 변이가 육량 및 육질에 미치는 영향 검증 및 한우개량 목적으로 적용방안 제시
		한우형질관련 contents의 개발을 위한 SNP 발굴	100%	○한우 유전체 해독을 통한 대량 SNP 발굴
	제1협동 (영남대, 김종주) 한우 유전체의 통계유전학적 분석을 통한 DNA 마커 발굴	시험축군에 연관 및 연관불균형 방법으로 QTL 탐색	100%	○시험축군에서 연관/연관불균형 정보를 이용한 전 염색체상에서 육량 육질 QTL 탐색
		실용축군에 형질 관련 DNA마커의 적용 및 분석	100%	○시험축군에서 발굴되어진 형질 연관 SNP를 실용축군에 적용하여 효과 검정
		시험, 실용축군에서 얻어진 표형형, SNP 유전자형, 혈통자료의 DB 구축	100%	○혈통, 표현형, 유전자료의 효율적인 관리를 위한 DB 구축
	제2협동 (SNP Genetics) 대규모 SNP genotyping을 통한 형질 관련 SNP 발굴	한우 후대검정우 시료의 DNA 확보 (>1,000)	100%	○제2세부과제에서 제공받은 DNA와 자체 확보한 후대검정우 시료를 Chip 분석에 이용
		후대검정우 시료의 Chip 분석용 DNA Quality test	100%	○혈통 및 개체수 정보, DNA의 quality를 다른 세부/협동과제와 협의하여 최종 개체선발
		Bovine genome wide scanning	100%	○추가적인 Bovine genome wide scanning을 통해 5만개 SNP에 대한 유전형을 종모우 및 후대검정우 총 688두 에서 최종 확보함

4차 연도 (2010)	제1세부 (충북대, 김내수) 한우 집단 조성, 개량평가 및 산업 시스템 구축	후대 생산 축군에 대한 도체성적 수집과 전산 정리 및 유전능력 평가	100%	○숫소 비육우(2000두) 실용축군 - 집단 조성(혈통등록우 이상)및 자료관리 - 도체성적자료 전산정리 ○ 유전능력 평가 - 집단 조성(혈통등록우 이상)및 자료관리 - 분석모형 개발 - 유전평가 실시 - 교배지침 작성 및 교배 수립
	제2세부 (충북대, 김관석) 한우집단의 육량 및 육질 형질에 대한 분자유전학적 특성 분석	QTL 부위내 기능성 유전자 변이를 이용한 정밀 QTL 지도 작성 및 원인 유전자 동정	100%	○조성된 한우 시험축군에서 발굴된 육량 및 육질관련 QTL부위의 기능성 후보유전자 탐색 및 QTL 연관성 정밀 분석 - 한우 시험축군에서 Fine QTL mapping 실시 ○발굴된 QTL좌위의 기능성 후보유전자에 대한 생물정보학과 분자생물학적 접근을 통한 원인유전자 동정 ○타 한우 축군 및 외래 육우집단에서 발굴된 DNA마커들에 대한 시험/실용 축군효용성 검정
	제1협동 (영남대, 김종주) 한우 유전체의 통계유전학적 분석을 통한 DNA 마커 발굴	실용축군에 적용할 후보유전자 SNP와 형질간의 연관성 분석	100%	◦시험축군에서 발굴한 육량육질 관련 100여개 SNP를 실용축군에 적용
		DNA 마커를 보정한 육종가 추정 방법 개발, 평가 및 적용	100%	◦전 게놈상의 모든 QTL효과를 추정한 게놈선발 방법 개발 및 적용 ◦실용축군에서 DNA마커를 보정한 EPD 추정 방법 (MAS)개발 및 적용 ◦세대당 DNA마커효과에 대한 선발반응 평가
	제2협동 (SNP Genetics) 대규모 SNP genotyping을 통한 형질 관련 SNP 발굴	제 1협동기관에서 선발한 한우 경제형질 관련 SNP contents에 대한 Veracode oligo pool제작	100%	제 1협동기관에서 선발한 한우 경제형질 관련 SNP contents에 대한 Veracode oligo pool (192 SNPs) 제작
		GoldenGate assay를 통한 대규모 실용한구 축군에서의 validation genotyping	100%	GoldenGate assay를 통한 대규모 실용한우 (n=1,920) 축군에서의 validation genotyping

5차 연도 (2011)	제1세부 (충북대, 김내수) 한우 집단 조성, 개량평가 및 산업 시스템 구축	유전체 선발(Genomic Selection)을 위한 집단 구축	100%	후대 검정우 489두에 대한 SNP chip genotyping과 혈통 및 도체 성적 자료와 보증 종모우 59두에 대한 SNP chip genotyping과 혈통 자료 구축
		유전체 정보(SNPs)를 이용한 유전 능력 평가	100%	유전체 정보를 이용하여 유전체 육종가를 추정할 수 있는 프로그램 전산화
	제2세부 (충북대, 김관석) 한우집단의 육량 및 육질 형질에 대한 분자유전학적 특성 분석	한우유전체 염기서열 해독정보와 GWAS 분석결과를 이용한 한우 육량육질에 대한 원인유전자 탐색	100%	한우 염색체 3, 13, 14번에서 발굴된 후보유전자 변이의 생물정보학적 분석을 통해서 한우 마블링과 도체중에 영향을 주는 원인유전자로 검증
	제1협동 (영남대, 김종주) 한우 유전체의 통계유전학적 분석을 통한 DNA 마커 발굴	실용축군에 적용할 후보유전자 SNP와 형질간의 연관성 분석	100%	◦시험축군에서 발굴한 육량육질 관련 100여개 SNP를 실용축군에 적용
		DNA 마커를 보정한 육종가 추정 방법 개발, 평가 및 적용	100%	◦전 게놈상의 모든 QTL효과를 추정한 게놈선발 방법 개발 및 적용 ◦실용축군에서 DNA마커를 보정한 EPD 추정 방법 (MAS)개발 및 적용 ◦세대당 DNA마커효과에 대한 선발반응 평가
	제2협동 (SNP Genetics) 대규모 SNP genotyping을 통한 형질 관련 SNP 발굴	제 1협동기관에서 선발한 한우 경제형질 관련 SNP contents에 대한 Veracode oligo pool제작	100%	제 1협동기관에서 선발한 한우 경제형질 관련 SNP contents에 대한 Veracode oligo pool (96 SNPs) 제작
		GoldenGate assay를 통한 대규모 실용 한우 축군에서의 validation genotyping	100%	GoldenGate assay를 통한 대규모 실용한우 (n=960두) 축군에서의 2차 validation genotyping
		한우 암소에 대한 genome-wide scaaning	100%	96두의 죽암암소 시료에서의 genome-wide scanning을 통한 genotype data 확보

※관련분야의 기여도

연 구 내 용	관련분야의 기여도
- 한우 유전체해독 및 DNA Pool 구축	- 한우 종모우 및 지역별 한우시료를 확보하고 allele frequency를 포함한 한우 SNP를 포함한 유전체 정보를 확보 하여 한우 유전자 연구를 위한 기초 확립
- 한우 경제형질 판별용 SNP Pool 구축	
- 한우의 경제형질에 관여하는 유전적 구조 및 특성을 규명하였음. 즉 한우 육량육질과 관련된 SNP 발굴 및 특성 규명 (극소수의 효과가 큰 SNP와 효과가 매우 작은 많은 SNP들이 관여함)	- 육량육질과 관련된 추가적 SNP마커를 발굴하거나 선발 및 교배를 적용하여 유전적 개량을 수행할 경우 소수 몇 개의 유전자 보다는 다수의 많은 유전자가 관여하는 접근방법이 필요함. 예: 효과가 적은 마커효과를 정확히 측정하기 위해서는 많은 시료수가 필요함
- 도체중과 관련된 효과가 큰 SNP 발굴 (BTA14번, 25Mb, seq-BTB-01280026 SNP:C/T) 전체 표현형 분산의 5.3%(서산집단) 및 1.2%(상용집단)를 설명하며 대립인자대체 측정값은 각각의 집단에서 18.3kg 및 12.4kg으로 추정됨	- TT유전자형보다는 CT유전자형을 가진 수송아지를 선별하여 비육할 경우 1등급기준으로 14,000원/kg * 12.4 = 173,600원의 소득등가를 가져옴. - TT보다는 CC유전자형을 가진 수송아지를 선별하여 비육할 경우 347,200원 소득증대를 기여할 수 있음 - 연간 전국적으로 출하되는 거세우 1%(3만두)를 TT=>CT로 대처할 경우 52억의 한우산업에서 추가소득을 기대함
- 한우 육량육질 형질 판별용 SNP kit 개발	- 현재 한우 경락가격을 결정하는 주요 육량육질 형질들에 관여하는 주요 SNP 마커를 후대검정우 또는 우량암소 선발에 조기에 적용하여 후대검정우 선발/개량의 효율성을 제고하고 우량 암송아지 선발 또는 도태 결정에 대하여 정보를 조기에 제공
- 우량한우 관리체계 확립	- 우수한 품종 및 고부가 가치의 한우생산 및 체계적 관리를 위한 과학적검사체계의 확립
- 한우품종에서 수입육 품종과 빈도차가 큰 한우 특이 SNP 대량발굴	- 한우품종과 수입쇠고기를 판별할 수 있는 유전 원천정보 대량 발굴
- 대용량 SNP (5만개) 칩을 활용한 한우 품종의 유전적 진화트리분석결과 한우는 타 50품종과 확연히 다른 진화분지를 형성함	- 한우가 한반도지역에 오랜기간 적합하게 진화되어 독특한 유전적 특성을 지난 품종임을 증명
- 소비자의 우수 한우육에 대한 신뢰 제고	- 우수한 품질의 한우를 생산·관리·감독할 수 있는 수단을 마련함으로써 소비자의 신뢰를 확보함

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

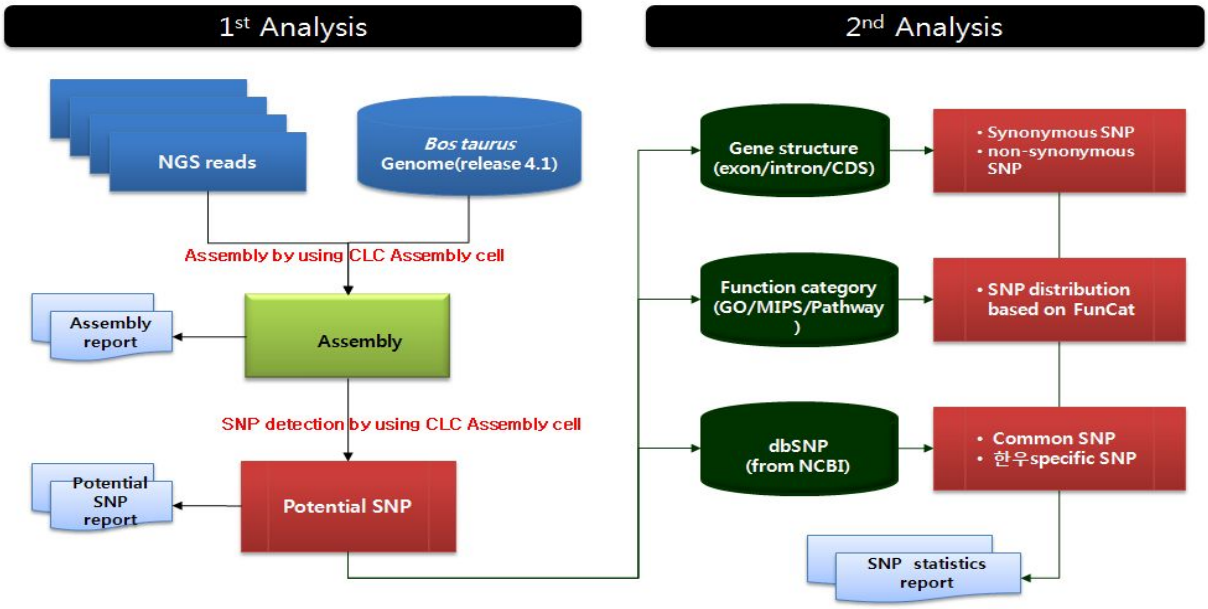
제 1 절 한우 유전체 서열 해독 및 한우 유용 SNP 대량발굴

○ 본 연구사업은 국내 최초로 한우 10개체를 이용하여 유전체서열을 해독하여 NCBI에 등록되어 있는 소의 표준서열에 정렬시켜 표준유전체서열의 92%를 해독하였으며 한우에서 유용한 SNP를 3백만개를 발굴하였는데 그 중에 230만개는 한우 특이 SNP로 규명되었음. 또한 국제 Bovine Hapmap consortium에 공동연구를 통하여 Affymetrix(주) 사에 주관하는 전세계 소 10개 품종과 조합하여 45백만개의 SNP를 발굴하는데 기여하였고, 이중에서 한우에서 유용한 SNP 130만개의 SNP정보들이 확인되었음 (제2세부과제 연구결과 참조)

○ 이러한 유전체 변이의 기초 변이 정보(SNP)를 대량 발굴한 사례는 지금까지 전무하며 본 과제 수행 결과 중에서 가장 두드러진 성과 중 하나라고 볼 수 있음.

○ 향우 이러한 한우에서 유용한 유전체 정보는 한우의 모든 분자유전·육종학 연구 및 산업적 활용에 근간이 되는 유전적 원천정보를 제공하게 됨. 즉 한우에서 유전정보를 활용하는 모든 분야에, 예) 생산이력, 친자감별, 품종식별, 경제형질 개량, 질병유전자발굴 등, 기본정보를 제공하게 될 것임.

○ 본 과제에서 발굴되어진 SNP 및 유전체 정보들은 현재 IPET 2011년 기획과제인 '고기능성·고품질 한우육 생산기술 개발(연구책임자 영남대 김종주)'에서 유전체자료를 생물정보학적 기법을 적용하여 한우 유전체 연구를 수행하고 있으며, 여기서 분석 결과들을 한우유전체과제들을 수행하는데 기반 정보를 DB화하여 필요한 연구자와 기관에 제공해 줄 계획임.



Chromosome	Gene (/Total gene #)		Total SNP in gene			Non-synonymous		Synonymous	
			Count (/TotalSNP)		SNP/Gene	Count	NS/Gene	Count	SY/Gene
Chr 01	723	(2,7%)	48,588	(32,4%)	67,20	128	0,18	432	0,60
Chr 02	735	(2,7%)	44,636	(35,5%)	60,73	134	0,18	541	0,74
Chr 03	1,078	(4,0%)	42,158	(36,2%)	39,11	178	0,17	621	0,58
Chr 04	603	(2,2%)	46,626	(40,5%)	77,32	115	0,19	429	0,71
Chr 05	1,061	(3,9%)	38,736	(35,0%)	36,51	182	0,17	674	0,64
Chr 06	505	(1,9%)	35,386	(31,1%)	70,07	82	0,16	327	0,65
Chr 07	1,051	(3,9%)	29,993	(29,2%)	28,54	179	0,17	689	0,66
Chr 08	590	(2,2%)	31,996	(28,6%)	54,23	99	0,17	398	0,67
Chr 09	422	(1,6%)	25,618	(26,9%)	60,71	86	0,20	269	0,64
Chr 10	817	(3,0%)	36,358	(36,6%)	44,50	182	0,22	576	0,71
Chr 11	787	(2,9%)	34,923	(34,2%)	44,37	110	0,14	416	0,53
Chr 12	325	(1,2%)	22,924	(26,3%)	70,54	81	0,25	244	0,75
Chr 13	653	(2,4%)	31,581	(38,0%)	48,36	84	0,13	340	0,52
Chr 14	369	(1,4%)	22,981	(27,9%)	62,28	61	0,17	239	0,65
Chr 15	821	(3,0%)	27,396	(32,5%)	33,37	250	0,30	787	0,96
Chr 16	548	(2,0%)	26,413	(34,4%)	48,20	102	0,19	310	0,57
Chr 17	483	(1,8%)	22,339	(31,0%)	46,25	72	0,15	277	0,57
Chr 18	1,012	(3,7%)	21,112	(34,0%)	20,86	167	0,17	569	0,56
Chr 19	983	(3,6%)	25,895	(44,4%)	26,34	145	0,15	519	0,53
Chr 20	275	(1,0%)	21,600	(30,2%)	78,55	47	0,17	184	0,67
Chr 21	431	(1,6%)	21,991	(32,1%)	51,02	66	0,15	209	0,48
Chr 22	456	(1,7%)	26,093	(44,6%)	57,22	75	0,16	230	0,50
Chr 23	626	(2,3%)	19,891	(35,6%)	31,77	149	0,24	499	0,80
Chr 24	278	(1,0%)	16,780	(27,6%)	60,36	49	0,18	179	0,64
Chr 25	531	(2,0%)	17,663	(41,5%)	33,26	58	0,11	225	0,42
Chr 26	341	(1,3%)	20,494	(41,6%)	60,10	52	0,15	189	0,55
Chr 27	209	(0,8%)	14,097	(29,3%)	67,45	31	0,15	144	0,69
Chr 28	262	(1,0%)	19,607	(40,5%)	74,84	39	0,15	187	0,71
Chr 29	534	(2,0%)	18,499	(33,5%)	34,64	92	0,17	347	0,65
Chr X	563	(2,1%)	9,275	(20,2%)	16,47	39	0,07	138	0,25
Chr Un	42	(0,2%)	375	(1,9%)	8,93	2	0,05	8	0,19
Mito	0	(0,0%)	0	(0,0%)	0,00	0	0,00	0	0,00
Total	18,114	(66,7%)	822,024	(33,2%)	45,38	3,136	0,17	11,196	0,62

Chr	Total SNP	CDS						Intron		Inter-region	
		Synonymous		Non-synonymous		Exon					
Chr 01	135,915	422	(0,3%)	136	(0,1%)	306	(0,2%)	41,859	(30,8%)	93,192	(68,6%)
Chr 02	118,459	529	(0,4%)	128	(0,1%)	371	(0,3%)	38,587	(32,6%)	78,844	(66,6%)
Chr 03	109,514	621	(0,6%)	180	(0,2%)	560	(0,5%)	38,489	(35,1%)	69,664	(63,6%)
Chr 04	105,740	425	(0,4%)	112	(0,1%)	263	(0,2%)	38,439	(36,4%)	66,501	(62,9%)
Chr 05	103,138	691	(0,7%)	192	(0,2%)	458	(0,4%)	34,996	(33,9%)	66,801	(64,8%)
Chr 06	103,098	315	(0,3%)	87	(0,1%)	256	(0,2%)	29,459	(28,6%)	72,981	(70,8%)
Chr 07	92,703	633	(0,7%)	178	(0,2%)	335	(0,4%)	28,196	(30,4%)	63,361	(68,3%)
Chr 08	99,688	372	(0,4%)	85	(0,1%)	292	(0,3%)	29,676	(29,8%)	69,263	(69,5%)
Chr 09	86,607	271	(0,3%)	88	(0,1%)	171	(0,2%)	22,711	(26,2%)	63,366	(73,2%)
Chr 10	91,103	520	(0,6%)	177	(0,2%)	335	(0,4%)	31,768	(34,9%)	58,303	(64,0%)
Chr 11	94,962	401	(0,4%)	100	(0,1%)	324	(0,3%)	31,802	(33,5%)	62,335	(65,6%)
Chr 12	72,005	200	(0,3%)	57	(0,1%)	141	(0,2%)	20,401	(28,3%)	51,206	(71,1%)
Chr 13	75,854	331	(0,4%)	90	(0,1%)	371	(0,5%)	27,596	(36,4%)	47,466	(62,6%)
Chr 14	70,606	212	(0,3%)	51	(0,1%)	154	(0,2%)	19,132	(27,1%)	51,057	(72,3%)
Chr 15	71,780	594	(0,8%)	188	(0,3%)	300	(0,4%)	22,859	(31,8%)	47,839	(66,6%)
Chr 16	65,075	290	(0,4%)	90	(0,1%)	190	(0,3%)	21,894	(33,6%)	42,611	(65,5%)
Chr 17	64,566	247	(0,4%)	80	(0,1%)	198	(0,3%)	18,400	(28,5%)	45,641	(70,7%)
Chr 18	55,923	567	(1,0%)	156	(0,3%)	383	(0,7%)	17,139	(30,6%)	37,678	(67,4%)
Chr 19	53,159	488	(0,9%)	155	(0,3%)	380	(0,7%)	22,393	(42,1%)	29,743	(56,0%)
Chr 20	67,280	181	(0,3%)	41	(0,1%)	142	(0,2%)	19,974	(29,7%)	46,942	(69,8%)
Chr 21	58,801	195	(0,3%)	57	(0,1%)	193	(0,3%)	16,992	(28,9%)	41,364	(70,3%)
Chr 22	54,157	232	(0,4%)	80	(0,1%)	199	(0,4%)	23,888	(44,1%)	29,758	(54,9%)
Chr 23	51,704	476	(0,9%)	147	(0,3%)	308	(0,6%)	17,312	(33,5%)	33,461	(64,7%)
Chr 24	57,043	165	(0,3%)	53	(0,1%)	138	(0,2%)	15,722	(27,6%)	40,965	(71,8%)
Chr 25	39,359	236	(0,6%)	49	(0,1%)	186	(0,5%)	15,825	(40,2%)	23,063	(58,6%)
Chr 26	43,759	171	(0,4%)	61	(0,1%)	152	(0,3%)	17,665	(40,4%)	25,710	(58,8%)
Chr 27	42,496	137	(0,3%)	35	(0,1%)	112	(0,3%)	11,483	(27,0%)	30,729	(72,3%)
Chr 28	42,189	184	(0,4%)	38	(0,1%)	148	(0,4%)	16,841	(39,9%)	24,978	(59,2%)
Chr 29	47,032	289	(0,6%)	82	(0,2%)	116	(0,2%)	14,793	(31,5%)	31,752	(67,5%)
Chr X	21,043	70	(0,3%)	23	(0,1%)	42	(0,2%)	3,945	(18,7%)	16,963	(80,6%)
Chr Y	2,913	19	(0,7%)	2	(0,1%)	1	(0,0%)	181	(6,2%)	2,710	(93,0%)
Chr Un	205,326	872	(0,4%)	313	(0,2%)	263	(0,1%)	21,514	(10,5%)	182,364	(88,8%)
Total	2,402,997	11,356	(0,5%)	3,311	(0,1%)	7,788	(0,3%)	731,931	(30,5%)	1,648,611	(68,6%)

<그림 5-1-1>

제 2 절 한우 육량육질 SNP kit 개발 및 적용

1. 선 유전정보에 따른 적절한 사양정보를 제공하는 육종·사양을 조합한 새로운 패러다임 구축

○ 한우 육량육질형질은 유전과 환경요인이 결합되어 발현되지만, 현재 한우 고급육 생산에 관련된 연구와 사업들은 육종과 사양이 별도로 진행되어 고급육향상이 매우 제한되어 있음

○ 본 사업 결과로 개체의 유전적 자질을 조기에 진단하여, 그 예측 결과에 따른 맞춤형 사양 프로그램을 구축하여 농가 현장에 적용함으로써 고급육 출현에 큰 효과를 기대.

<그림 5-2-1>

2. 육량육질 SNP 마커를 국가 한우 종모우 검정사업에 활용

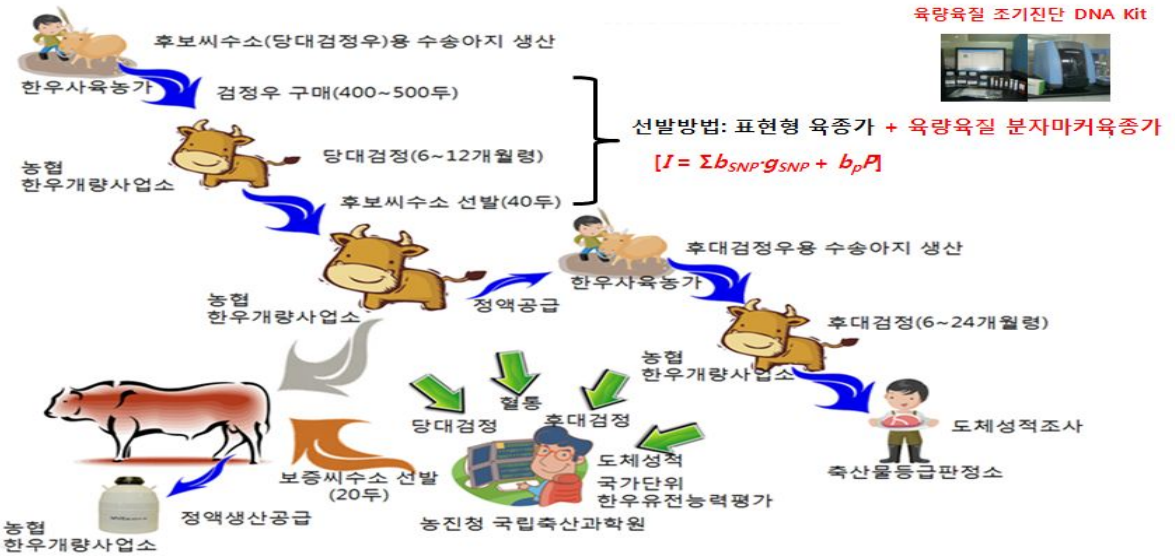
○ 현재 국가에서 수행중인 보증종모우 선발사업에 시범적으로 다음과 같이 적용할 수 있음

- 육종농가에서 후보 수송아지 3~4천두에서 당대검정용으로 선발하는 약 400두를 대상으로, 현재는 혈통정보와 6개월에서 12개월령의 증체량을 근거로 선발하고 있지만 각 개체의 도체성적이 없으므로 도체정보를 근거로 선발하진 않고 있음.

- 따라서 도체성적(도체중, 등지방두께, 등심단면적, 근내지방도)과 연관되어 있는 SNP 마커들의 유전자형에 근거하여 400두를 선발하여 후대검정을 실시할 경우 육량육질과 관련된 형질의 개량 (육종가) 정확도가 더 증가 될 것으로 기대 됨

- 또한 단기성장, 도체형질, 고급육, 기능성 형질과 관련된 SNP들의 효과를 조합한 선발지수식을 설정하여 선발에 적용할 경우 여러 형질을 동시에 고려하는 선발 효과를 가져올 수 있음 (아래 그림 참조)

- 본 연구결과 발굴되어진 육량육질 SNP마커들이 해당 형질의 모든 유전분산을 설명하지 않기 때문에 분자육종프로그램은 기존 후대검정방법에 병행하여 수행하는게 바람직함



<그림 5-2-2>

3. 육량육질 SNP 마커를 국가 암소 검정사업에 활용

○ 현재 국가에서 수행중인 암소검정사업에 시범적으로 다음과 같이 적용할 수 있음

- 2011년 전국에 54개 한우사업단(축협)이 참여하고 있는 암소검정사업은 혈통정보와 초음파(생체) 고급육 형질(마블링, 등심단면적, 등지방두께)을 측정하여 우량 암소 선발 사업을 수행하고 있음

- 이 암소 검정사업의 문제점은 낮지 않은 친자 부정율, 즉 혈통 정보의 부정확성 및 초음파 측정값의 정확도의 오류로 인하여 추정된 육종가의 정확도가 높지 않은 문제점이 있음

- 따라서 본 연구에서 발굴되어진 육량육질 SNP 마커들을 활용하여 초음파 형질과 관련된 육종가와 조합한 선발지수식을 개발하여 우량 암소 선발에 적용할 경우 보다 높은 정확도를 가진 암소 선발 체계를 구축할 것으로 기대됨.

4. 브랜드, 생산 농가 맞춤형 최적 육량육질 프로그램 제공

○ 특정 브랜드, 조합 또는 농가에서 요구하는 특정 형질 (예: 도체중) 또는 형질 조합에 따른 적절한 육종/맞춤형 사양 조합 시스템을 제공

○ 특정 브랜드의 경우 마블링 성분이 많다는 것을 부각 시킬 경우 마블링과 관련된 SNP 마커를 근거로 선별하여 이에 맞춤형 사양관리 방법을 제시하여 줌

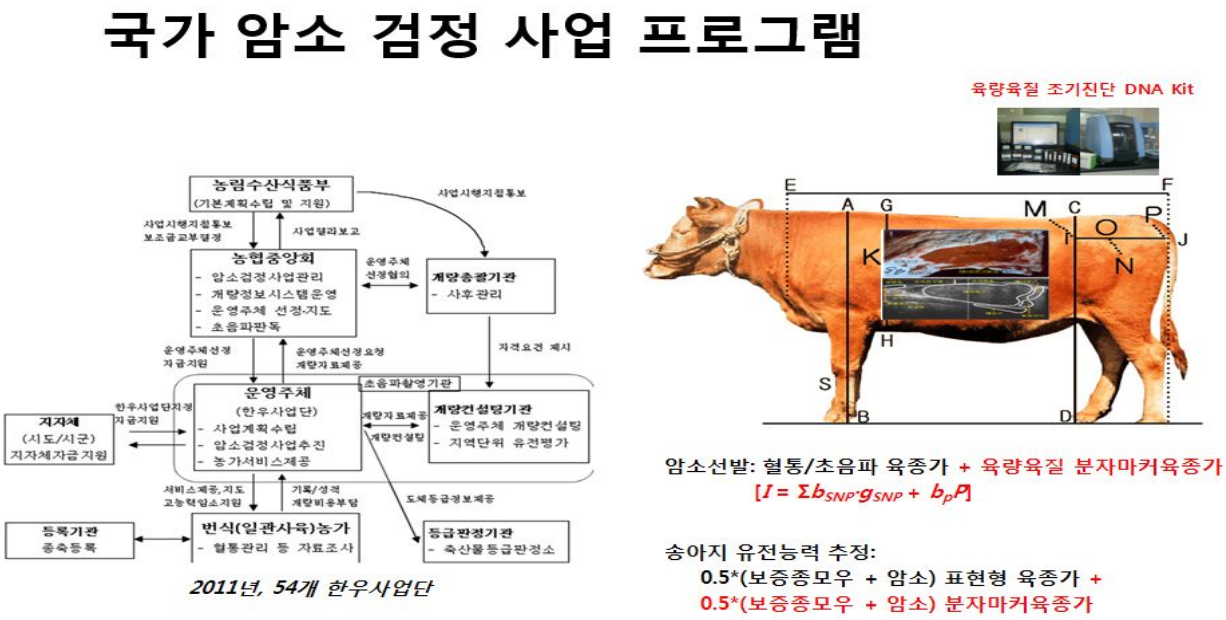
5. 한우 육량육질 SNP키트의 사업화 어려움

○ 본 연구결과가 국가 한우개량사업에 활용될 수 있기위한 비용을 부담해야할 주체가 명확하지 않은 상태이지만 농협중앙회 축산연구원에 기술이전을 통해 보급하고자 논의하고 있음

○ 농협중앙회 축산연구원에서는 무상으로 기술이전을 받을시, 기술사업화를 통해 농협중앙회에서 발생할 수 있는 수익에 대해서 기술제공자가 혜택을 받을 수 있는 제도가 미흡함

제 3 절 육량육질 SNP마커를 한우 산업에 적용할 경우 경제적 파급효과

1. 국가암소검정사업



<그림 5-3-1>

○ 육량·육질 SNP 사업규모

- 현재 수행중인 국가암소검정 사업에 참여 한우사업단(축협)은 54개,
  - 한 사업단에서 연간 출하되는 거세우가 3천두로 산정했을 경우, 총 54*3,000두= 162,000두
  - 육량육질과 관련된 55 SNP set를 kit화 한 가격을 3만원으로 상정하면 48.6억 사업규모

○ 육량·육질 SNP kit 적용시 수익효과

- 본 연구결과에서 발굴되어진 55개 육량·육질 SNP들 중에서 한 SNP마커를 예시로 설명함

<표 5-3-1>

SNP 이름	seq-BTB-01280026
위치	BTA14번 25Mb
SNP type	C/T
minor allele 및 빈도	C, 0.12
유전자형 빈도	CC:CT:TT = 0 : 20 : 80
관여형질	도체중
대립인자대체 측정값	18.3kg(서산종모우집단) 및 12.4kg(상용집단)
효과크기	도체중표현형분산의 5.3%(서산집단) 및 1.2%(상용집단)

- 암소검정사업 참여 거세우 (다음세대집단) 규모를 162,000두로 간주할 경우, 암소와 종모우의 유전자형의 적절한 교배조합으로 태어난 거세우의 유전자형이 대체될 경우 (TT=>CT, CT=>CC) 대체비율에 따른 도체중 증가로(12.4kg) 얻은 부대수익(12.4kg*14,000원(1등급기준)) 효과 측정치는 아래와 같음

<표 5-3-2>

현재두수	CC	CT	TT	부대수익(원)
162,000	0	32,400	129,600	
1% 대체	324	1296		281,232,000
5% 대체	1620	6480		1,406,160,000
10% 대체	3240	12960		2,812,320,000
20% 대체	6480	25920		5,624,640,000
30% 대체	9720	38880		8,436,960,000
40% 대체	12960	51840		11,249,280,000

- 현재 암소검정사업에 참여하고 있는 한우사업단에 한우 거세우 집단중에서 1%가 도체중을 증가하는 유전자대립인자(C)로 대체되는 경우 2.8억의 부대수익이 기대되며, 20% 개체들이 C 대립인자로 대체돼면 56억의 부대수익으로 SNP kit 사용 투자비를 넘는 수익을 가져다 줄 것임.

2. 국가 후보종모우 선발에 적용 및 육량육질 SNP kit 적용전략

○ 육량육질 SNP kit 적용의 최종적인 목적은 고급육 한우 거세우를 생산하는 것임. 그러므로 앞선 예에서 예시하였듯이 고급육 한우를 생산하기 위해서는 (예: CC type) 먼저 종모우와 암소의 유전자형이 적합한, 즉 CC 또는 CT type을 가진 후보종모우와 종빈우를 선발해야 함.

○ 따라서 육량육질 SNP kit 사업은 국가가 주도하는 종모우 선발사업에 적용함과 동시에 암소검정사업에도 동시에 적용해야지 만이 최적 효과를 기대할 수 있음

3. 육량육질 SNP kit의 다용도성

○ 본 연구에서 발굴되어진 육량육질과 관련된 55개 SNP들은 경제형질의 유전적 개량효과를 가져다 줄뿐만 아니라 친자감별 및 생산이력체계이 쓰여지는 개체식별 용도로 동시에 사용될 수 있음.

○ 따라서 국가암소검정사업에서 친자감별 및 생산이력체계에서 개체식별로 사용되고 있는 초위성체마커(MS) 사용의 중복성을 지양하고 검정사업비의 절감효과를 기대할 수 있음.

제 4 절 유전체선발(Genome selection) 적용

○ 본 연구과제에서 Genomic Selcetion 결과에서 나타난 바와 같이 후대 검정우에 대하여 각 형질별로 추정된 SNP 마커 효과를 이용하여 보증 종모우의 유전체 육종가를 추정할 경우 혈연관계(relatedness)가 높으므로 유전체 육종가의 정확도 역시 높게 추정되었다. 그러므로 현재 보증 종모우를 선발하는 후대 검정 체계와 함께 후대 검정우들에 대한 SNP 마커의 효과를 추정하여 보증 종모우들에 대한 유전체 육종가를 추정하는 유전체 선발 기술 역시 동시에 수행하게 되면 더욱 정확한 보증 종모우의 선발이 이루어 질 것으로 사료된다. 또한 우리나라의 번식농가의 경우는 소수의 보증 종모우의 정액을 이용하여 번식을 하기 때문에 농가에서 태어날 개체들과 SNP 마커의 효과가 추정된 후대 검정우간의 혈연관계는 최소 반형매(r:0.25) 이상이 되므로 번식 농가의 정액으로 이용되는 보증 종모우의 유전체 육종가 역시 높은 신뢰성을 가질 것으로 사료된다.

○ 유전체 혈연 행렬로 추정된 유전체 육종가의 정확도 역시 기존의 혈연 기반의 육종가보다 각 형질별로 약 2%정도의 정확도가 상승된 결과로 나타났으며, 육종가간의 순위 상관은 각 형질별로 약 0.94 정도로 높게 추정되었다. 이는 기존의 혈연 기반의 유전 능력 평가 시스템을 유전체 정보를 이용함으로써 더욱 정확하게 평가되어질 수 있을 것으로 사료된다.

○ 그리하여 기존의 후대 검정사업에 유전체 선발 기술을 접목할 경우 보증 종모우에 대한 유전 능력 평가가 더욱 신뢰성을 가지고 활용될 수 있을 것으로 기대할 수 있다.

○ 한우 사육농가에서 우수한 품질의 한우를 사육하는데 밑거름이 될 수 있으며, 결국 한우 사육기반의 안정화에 기여하게 되고, 우수한 품질의 한우고기에 대한 신뢰도 향상에 의해 외국산 소고기에 효과적으로 대응할 수 있으며, 새로운 수요의 창출이 가능하게 될 것임

○ SNP 마커를 이용한 경제형질 판별 체계를 실용화함으로서 지역별 사육되고 있는 한우 및 재래가축의 유전자원의 보존, 활용을 위한 산업적 기반이 조성되므로 신기능, 고부가가치화 축산물 생산에 기여할 수 있을 것으로 예상됨

○ SNP를 이용한 경제형질 판별 체계 구축을 통해 고급육 사양관리 방법을 제시할 수 있고 전국 각 지역의 브랜드 한우의 경쟁력을 확보할 수 있음

○ 국민소득 증가에 따른 한우육 수요가 증가함에 따라 일반 한우의 개량과 품질개선 및 관리를 통해 몰락해 가는 한우산업을 부흥시키고 이를 통한 축산농가의 소득을 증대시킬 분만 아니라, 국내 축산업의 국제 경쟁력 제고에 크게 기여할 수 있음

○ IT 기술(전자 chip 내장 귀표와 web 기반기술)과 BT 기술(유전자 감식기법 등의 생체정보)를 연계 응용한 생산 유통의 전 단계에서의 통합된 정보 전달 및 판별 시스템 개발의 가능성을 제시할 수 있음

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

○ USDA 산하 ARS (Agricultural Research Service)에서는 2006년 1월 10,000개의 SNP를 1,200 Holstein에서 genotyping하는 project를 시작했으며 이어서 haplotype, holstein-specific HapMap project 등을 진행함.

○ Bovine Genome Project의 결과물인 다량의 sequence를 이용한 gene annotation 및 SNP discovery 등의 정보가 다수 확보되고 있음.

○ 본 연구팀은 한우의 염기서열을 92%해독함. 한우 유전체에서 310만개의 SNP를 발굴하였으며 이 가운데 72%의 SNP는 새롭게 발견된 것으로 한우 경제형질 유전자 발굴 등의 기초자료로 활용 가치가 높음.

○ 이스라엘의 Seroussi 등은 2009년 Animal Genetics에 발표한 논문에서 25개의 SNP를 multiplexing하여 single base extension 방법으로 생산이력제 유전자 분석법을 개발을 발표함. 이 25개의 SNP는 Holstein, Simmental, Limousin, Angus, Charolais 등의 우종을 대상으로 검증되었으며 power 99.9%, genotype의 정확도 99.8%로 실용화가 가능한 것으로 보고됨.

○ 또한 최근 다양한 DNA 분석기술의 개발로 single base extension 뿐만 아니라 real-time PCR, mass spectrometry, veracode technology, Taqman 등의 분석법이 향후 경제형질 판별을 위한 시험법을 위해 적용 가능하며 보다 경제적이고 정확도 높은 분석법이 실용화 될 것으로 예상됨.

○ 외국에서 한우가 아닌 외국종을 대상으로 개발된 SNP 마커는 한우와 유전적 특성이 크게 다르기 때문에 국내에서 이용할 수 없으며, 같은 이유로 많은 국가들은 자체적인 생산이력제 시스템 구축에 많은 투자를 하고 있음. 이런 측면에서 본 연구과제는 시기 적절하게 한우 경제형질 판별 마커을 시작하였으며 국내 경제형질 판별 및 우수한 경제형질을 지닌 한우의 개발 및 유지 관리 시스템의 과학적 우수성을 국외에 알릴 수 있을 것임.

제 7 장 참고문헌

Abe, T., Saburi, J., Hasebe, H., Nakagawa, T., Misumi, S., Nade, T., Nakajima, H., Shoji, N., Kobayashi, M. and Kobayashi, E. 2009. Novel Mutations of the FASN Gene and Their Effect on Fatty Acid Composition in Japanese Black Beef. Biochem. Genet. 47:397-411.

Aguilar, I., I. Misztal, D. L. Johnson, A. Legarra, S. Tsuruta and T. J. Lawlor. Hot topic: A unified approach to utilize phenotypic, full pedigree, and genomic information for genetic evaluation of Holstein final score. J. Dairy Sci. 93:743-752.

Blott, S., J. J. Kim, et al. 2003. Molecular dissection of a QTL: a phenylalanine to tyrosine substitution in the transmembrane domain of the bovine growth hormone receptor is associated with a major effect on milk yield and compositioin. Genetics 163:253-266.

De Roos. 2009. Genomic selection at CRV. Interbull Bull. 39:47-50.

Druet, T. and M. Georges. 2010. A hidden markov model combining linkage and linkage disequilibrium information for haplotype reconstruction and quantitative trait locus fine mapping. Genetics 184:789-798.

Forni, S., I. Aguilar and I. Misztal. 2011. Different genomic relationship matrices for single-step analysis using phenotypic, pedigree and genomic information. Genetics. 43:1.

Garrick, D. J. 2007. Equivalent mixed model equations for genomic selection. J. Dairy Sci. 90:376.

Gengler, N., P. Mayeres and M. Szydlowski. 2007. A simple method to approximate gene content in large pedigree populations: application to the myostatin gene in dual-purpose Belgian Blu cattle. Animal. 1:21-28.

Harris, B. L., D. L. Johnson and R. J. Spelman. 2008. Genomic selection in New Zealand and the implications for national genetic evaluation. Proc. Interbull Meeting, Niagara Falls, Canada.

Hayes, B. J., P. J. Bowman, A. C. Chamberlain. and M. E. Goddard. 2009a. Invited review:

Genomic selection in dairy: Progress and challenges. J. Dairy Sci. 92:433-443.

Hayes, B. J., P. J. Bowman, A. C. Chamberlain. K. Verbyla and M. E. Goddard. 2009b. Accuracy of genomic breeding values in multi-breed dairy cattle popilations. Genetics Selection Evolution. 41:51.

Karim L, Takeda H, Lin L, Druet T, Arias JA, Baurain D, Cambisano N, Davis SR, Farnir F, Grisart B, Harris BL, Keehan MD, Littlejohn MD, Spelman RJ, Georges M, Coppieters W. (2011) Variants modulating the expression of a chromosome domain encompassing PLAG1 influence bovine stature. Nat Genet. 43(5):405-13.

Kim, J. J., F. Farnir, J. Savell, and J. F. Taylor. 2003. Detection of quantitative trait loci for growth and beef carcass fatness traits in a cross between Bos taurus (Angus) and Bos indicus (Brahman) cattle. J. Anim. Sci. 81:1933-1942.

Legarra, A., I. Aguilar and I. Misztal. 2009. A relationship matrix including full pedigree and genomic information. J. Dairy. Sci. 92:4656-4663.

Meuwissen, T. H. E., B. J. Hayes and M. E. Goddard. 2001. Prediction of Total Genetic Value Using Genome-Wide Dense Marker Maps. Genetics. 157: 1819-1829.

Misztal, I., A. Legarra and I. Aguilar. 2009. Computing procedures for genetic evaluation including phenotypic, full pedigree, and genomic information. J. Dairy Sci. 92:4648-4655.

Oh D, Lee Y, La B, Yeo J, Chung E, Kim Y. and Lee C. 2011. Fatty acid composition of beef is associated with exonic nucleotide variants of the gene encoding FASN.Mol. Biol. Rep. 10:1190-1197.

Rolf, M. M., J. F. Taylor, R. D. Schnabel, S. D. Mckay, M. C. Mcclure, S. L. Northcutt, M. S. Kerley and R. L. Weaber. 2010. Impact of reduced marker set estimation of genomic relationship matrices on genomic selection for feed efficiency in Angus cattle. BMC. Genetics 11, 24.

Shin, S. C., Heo, J. P. and Chung, E. R. 2011. Effect of Single Nucleotide Polymorphisms of Acetyl-CoA Carboxylase α (ACACA) Gene on Carcass Traits in Hanwoo (Korean Cattle).

Asian-Aust. J. Anim. Sci. 24:744-751.

Sukegawa S, Miyake T, Takahagi Y, Murakami H, Morimatsu F, Yamada T, Sasaki Y. 2010. Replicated association of the single nucleotide polymorphism in EDG1 with marbling in three general populations of Japanese Black beef cattle. BMC Res Notes 3:66.

Takasuga A, Watanabe T, Mizoguchi Y, Hirano T, Ihara N, Takano A, Yokouchi K, Fujikawa A, Chiba K, Kobayashi N, Tatsuda K, Oe T, Furukawa-Kuroiwa M,Nishimura-Abe A, Fujita T, Inoue K, Mizoshita K, Ogino A, Sugimoto Y. 2007. Identification of bovine QTL for growth and carcass traits in Japanese Black cattle by replication and identical-by-descent mapping. Mamm Genome. 18(2):125-136.

VanRaden, P. M. 2007. Genomic measures relationship and inbreeding. interbull Bull. 37:33-36.

VanRaden, P. M. 2008. Efficient methods to compute genomic predictions. J. Dairy Sci. 91:4414-4423.

VanRaden, P. M. 2009. Future Animal Improvement Programs Applied to Global Populations. Animal Improvement Programs, USDA Agricultural Research Service, Beltsville, MD, USA.

Verbyla, K. L., B. J. Hayes, P. J. Bowman and M. E. Goddard. 2009. Accuracy of genomic selection using stochastic search variable selection in Australian Holstein Friesian dairy cattle. Genet Res. 91:307-311.

Yamada T, Itoh M, Nishimura S, Taniguchi Y, Miyake T, Sasaki S, Yoshioka S, Fujita T, Shiga K, Morita Met al: Association of single nucleotide polymorphisms in the endothelial differentiation sphingolipid G-protein-coupled receptor 1 gene with marbling in Japanese Black beef cattle. Anim Genet 2009, 40(2):209-216.

Yamada T, Watanabe N, Yoshioka S, Itoh M, Satoh Y, Furuta M, Komatsu S, Sumio Y, Fujita T, Sasaki Y: The T allele at the g.1471620G > T in the EDG1 gene associated with high marbling in Japanese Black cattle is at a low frequency in breeds not selected for marbling. Anim Sci J 2010, 81(1):142-144

Zhang, Z., R. J. Todhunter, E. S. Buckler and L. D. Van Vleck. 2007. Technical note: Use of marker-based relationships with multiple-trait derivative-free restricted maximal likelihood. J. Anim. Sci. 85:881-885.

Zhang, S., Knight, T. J., Reecy, J. M. and Beitz, D. C. 2008. DNA polymorphisms in bovine fatty acid synthase are associated with beef fatty acid composition. Anim. Genet. 39:62-70.

Zhang, S., Knight, T. J., Reecy, J. M., Wheeler, T. L., Shackelford, S. D., Cundiff, L. V. and Beitz, D. C. 2010. Association of polymorphisms in the promoter I of bovine acetyl-CoA carboxylase-α gene with beef fatty acid composition. Anim. Genet. 41:471-420.