

발 간 등 록 번 호

11-1541000-001047-01

## **근섬유단백질 특성을 이용한 돈육질예측기법 개발**

(Development of meat quality prediction technique  
by using properties of myofibrillar protein)

고 려 대 학 교

농 립 수 산 식 품 부

# 제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “근섬유단백질 특성을 이용한 돈육질예측기법 개발” 과제의 보고서로 제출합니다.

2011년 06월 24일

주관연구기관명 : 고려대학교

주관연구책임자 : 홍 기 창

세부연구책임자 : 김 병 철

연 구 원 : 김 준 모

연 구 원 : 임 규 상

연 구 원 : 최 영 민

연 구 원 : 최 지 환

협동연구기관명 : 코젠바이오텍

협동연구책임자 : 남 용 석

# 요 약 문

## I. 제 목

### 근섬유단백질 특성을 이용한 돈육질예측기법 개발

## II. 연구개발의 목적 및 필요성

### 1. 연구개발의 목적

돼지는 오랜기간 성장위주의 개량이 이루어져 왔다. 그 결과 적육생산능력은 향상되었으나, PSE 돈육(일명 물돼지) 등 이상육이 발생하는 등의 육질관련 문제점 발생이 증가하였다. 육질의 개량에 어려움이 따르는 이유는 기존의 선발형질들과 유전적으로 부의상관관계를 갖고 있으며, 낮은 유전력을 갖고 있기 때문이다. 따라서, 육질을 효율적이고 정확하게 개량하기 위해서는 종돈의 육질과 관련하여 환경적인 요인을 배제하고 유전적 능력을 정확히 예측할 수 있는 새로운 방법의 개발과, 이와 관련한 DNA 표지인자의 개발이 필요하다. 육질은 사후대사변이에 의해서 결정되고, 사후대사변이는 근섬유특성에 따라서 발생됨을 본 연구팀은 지난과제를 통해서 검증했다 (특허등록 1건, 출원 2건). 본 연구에서는 축적된 연구결과를 기반으로 근섬유를 결정짓는 근섬유 내 단백질과 관련한 아형(myofibrillar protein isoform)에 관한 연구를 통해서 육질예측인자를 새로이 개발하고, 이와 관련한 DNA 표지인자를 개발함으로써 정확한 육질예측기법을 마련한다. 또한, 개발된 육질예측기법의 실용화 연구를 통해서 실제 종돈업체 및 산업현장에서의 활용성을 제고 시킨다.

### 2. 연구개발의 필요성

기존의 육종방법으로 육질을 개량하는 것은 그 특성상 과정이 매우 복잡하며, 개량의 효과를 확인하기 까지 긴 시간을 필요로 한다. 또한 육질과 같은 복합적인 형질을 개선하는데 한계점이 있으며, 근내지방도(공개특허 10-2004-0105410)나 등지방 두께(공개특허 10-2006-0011287) 등 제한된 특정형질에만 국한되어 개량이 진행되고 있다. 그러나 육질은 광범위하고 복잡한 기작에 의해 결정되므로 정확성과 효율성 측면에서 다소 부족함이 있다. 따라서, 육질을 정확하고 빠르게 예측할 수 있는 새로운 기법의 개발이 절실히 요구된다.

최근 종돈개량 분야에서는 기존의 통계유전학적 방법과 분자유전학적 기법을 결합함으로써 전반적인 선발 효과를 높이는 한편 유전자형을 이용한 개체선발을 통해 과거에는 개량이 어렵거나 불가능했던 육질과 같은 도체형질의 개량도 실현할 수 있게 되었다. 특히, DNA 표지인자를 이용

한 선발은 선발의 정확도를 높여 선발의 효과를 높일 뿐만 아니라, 개량기간을 단축시킬 수 있어 종돈개량의 획기적인 기술로 부각되고 있다.

골격근의 성장과 발달을 이해하는 것은 육용가축의 적육생산량과 육질적 측면에서 매우 중요한 의미를 지니고 있다 (Karlsson 등, 1993). 근육은 사후에 진행되는 복잡한 요인들에 영향 받아 생화학, 물리, 구조적인 변화를 거치면서 식육으로 전환되며, 소비자가 접하는 최종 육질 형성은 사후에 진행되는 근육의 대사에 의해 결정되어진다. 이러한 근육의 생화학적 반응에 가장 많은 영향을 미치는 요인은 근육을 구성하는 근섬유와 근원섬유 단백질의 특성이며, 근원섬유 단백질의 조성과 특성이 최종 육질을 결정하는 주 요소이다.

Myosin은 근육 및 근육세포 특성에 가장 큰 영향을 주는 근원섬유 단백질로, 근육단백질의 25%, 근원섬유 단백질의 45% 차지하고 있다. 하나의 Myosin은 두개의 heavy chain(MHC)와 4개의 light chain(MLC)로 구성되어 있으며, MHC와 MLC는 각각 단백질 아형(isoform)이 존재한다.

MHC는 근섬유 특성에 영향을 가장 많은 영향을 미치는 인자로써, 성숙의 골격근에서 발견되는 MHC 아형은 I, IIA, IIX, IIB가 있으며, 각각 근원섬유 유형 I, IIa, IIx, IIb를 구성하고 있다. MLC 아형은 1s, 1f, 3f, 2s, 2f가 있으며, 근원섬유 유형 I(slow-twitch fiber)일 경우 MLC는 slow 아형인 1s, 2s가 주를 이루며, 유형 II(fast-twitch fiber)일 경우 fast 아형인 1f, 2f, 3f가 존재한다(Borttinnelli, 2001). MHC(Choi 등, 2006), MLC 아형(Choi 등, 2005)의 생화학적 능력 차이는 사후 대사능력 및 대사속도에 영향을 미치게 되며 단백질 변성정도(Choi 등, 2007) 및 최종 육질에 영향을 주게 된다(Choi 등 2006). 따라서 이 두 단백질 아형은 사후 대사속도 및 육질변이를 대변할 수 있다(Gil 등, 2003; Bowker 등, 2005; Choi 등, 2007).

근원섬유 단백질(myofibrillar protein) 형성에 관여하는 유전자는 40여가지로 탐색되어지며, 그 중에서도 myosin을 구성하는 MHC와 MLC의 아형을 코딩하는 유전자는 각각 9개 정도로 분석되어진다. 특히, 그 중에서도 근섬유형을 결정하는 주요유전자는 MHC- $\beta$ /slow 및 MHC-2A,2B,2X 등으로 분류되어진다.

이와 같이 근섬유 특성 및 myosin 아형은 생체 가축 고유의 특성이며, 근섬유 특성을 이용하여 육질 예측이 가능하다고 사료된다(Ryu 등, 2005). 현재까지 근원섬유의 단백질인 myosin 아형을 생체에서 분석하여 육질을 예측하는 방법은 도입된 사례가 없으며, 본 연구진의 축적된 기술을 적극 활용하면 육질예측인자를 원활히 개발할 수 있을 것으로 판단되어진다. 또한, 근원섬유 단백질인 myosin 아형과 관련한 분자유전학적인 연구를 통해서 DNA 표지인자를 개발한다면, 이를 이용한 가축의 조기선발을 통해 최종적으로 돼지의 육질을 효율적이고 정확하게 향상시킬 수 있을 것이다.

### Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

#### 1. 근섬유단백질 아형 예측인자 개발

##### 1) 근육 및 근섬유단백질 아형 특성 분석

- 조직학적 기법을 이용한 개체별 근육특성 분석
- 생체의 근섬유단백질 아형 특성 및 조성 분석
- 근육특성에 영향을 미치는 대사관련 물질 탐색 및 분석

##### 2) 단백질 아형의 최적 육질 예측인자 선정

- 실험군의 사후대사 및 육질변이 분석
- 단백질 아형 후보예측인자와 사후대사 특성의 연관성 분석
- 단백질 아형 후보예측인자와 육질특성의 연관성 분석

##### 3) 단백질 아형 예측인자의 검증

- 단백질 아형의 특성 분석을 통한 단백질체 능력 검증
- 단백질 아형 특성과 근육의 이화학적 특성간의 연관성 분석
- 상관도 분석을 통한 단백질 아형 예측인자 활용도 검증

#### 2. 근섬유단백질 관련 DNA 표지인자 개발

##### 1) 근섬유단백질 관련 후보유전자 분석

- 근섬유단백질 아형별 발현유전자 탐색
- 아형 유전자 간 아미노산 서열 비교분석
- 최적 단백질 아형 유전자 선정

##### 2) 최적 단백질 아형 유전자 변이에 따른 DNA 표지인자 탐색

- 발현조절영역에 대한 염기서열 분석
- 개체간 서열차이에 따른 다형성 탐색
- 유전자 다형성 분포도 조사
- 개체군에 대한 유전자형 분석

- 3) DNA 표지인자 선정 및 진단기법 마련
  - 유전자형과 육질관련형질과의 연관성 분석
  - 근섬유단백질아형관련 다수의 DNA마커 발굴
  - multiple DNA마커 진단기법 개발

### 3. 육질예측기법 실용화

- 1) 돈군 능력검정 및 육질평가
  - 기초축군의 적정 규모 및 구조 설정
  - 기초축군 조성
  - 성장 및 산육능력 검정
  - 도체의 육질평가
- 2) 선정된 예측인자 및 표지인자의 효과 검증
  - 인자들과 적육생산능력간 연관성 분석
  - 전문 패널테스트를 통한 육질 관능평가
  - 인자들과 관능평가결과간의 연관성 분석
- 3) 육질예측기법 실용화 방안 모색
  - 다양한 품종에서의 육질예측기법 적용
  - 현장적용시험을 통한 육질예측기법의 실효성 검증
  - 육질예측기법의 상품화 방안 제시

## IV. 연구개발결과

### 1. 근섬유단백질 아형 예측인자 개발

제 1 세부과제 “근섬유단백질 아형 예측인자 개발”의 연구결과를 요약하면, MHC isoform 조성은 사후대사 및 육질에 영향을 주는 근섬유 특성에 영향을 미치는 것으로 분석되었으며, 특히 MHC slow isoform 조성은 근섬유 type 조성과 높은 연관성이 있는 것으로 분석되었다. 사후 대사관련 물질 탐색 연구에서도 MHC slow isoform 조성은 사후대사 물질과 연관성이 있는 것으로 나타났으며, 사후대사 정도를 가늠하는데 중요한 ATP, glycogen, lactate와 밀접하게 관련되어 있었다. 여러 품종에서 MHC slow isoform의 조성을 분석한 결과, 품종 간 차이가 없었으며, MHC slow isoform의 조성이 높을수록 사후 초기 대사속도가 정상이며, 사후 대사 범위도 정상적인 것으로 나타났다. 또한 육질항목 중 보수력이 증가되는 것으로 분석되었

다. MHC slow isoform의 육질예측인자로서 기준을 설정하기 위해 군집분석을 실시하였고, 그 결과 MHC slow isoform 조성 7%를 기준으로 설정하였다. MHC slow isoform 조성 7% 초과 그룹에서 사후대사가 정상적인 속도와 정상적 범위 내에서 진행됨을 확인하였고, 보수력이 높음을 확인하였다. 또한 7% 미만 그룹에 비해 정상돈육의 출현율이 높고, 이상돈육의 출현율이 낮았다. 현행 축산물품질관리원의 육질등급과의 비교에서도 1+등급의 MHC slow isoform 조성이 유의적으로 높은 것으로 나타났다. 그러므로 MHC slow isoform은 육질예측인자로서 사용 가능하며, slow isoform 조성이 7% 초과일 경우, 정상적인 사후대사 진행되어 육질, 특히 보수력이 우수하며, 이상돈육의 출현 가능성을 낮추고, 정상돈육의 출현율을 높일 수 있다.

## 2. 근섬유단백질 관련 DNA 표지인자 개발

1차년 연구수행을 통해 근섬유단백질 관련 후보유전자를 탐색하여 myosin heavy chain (MHC) isoform을 코딩하는 구조유전자들을 최종 후보유전자로 선정했다. 돼지의 골격근에는 4개의 MHC isoform이 존재하며, 이들은 근육수축속도에 따라서 Slow form과 Fast form으로 크게 구분이 된다. Slow form은  $\beta$ -MyHC isoform 하나가 존재하고, Fast form은 MHC 2a, 2x 그리고 2b 3가지 isoform이 존재하며 각각 *MYH7*, *MYH2*, *MYH1*, *MYH4* 유전자에 의해 발현된다.

2차년 연구에서 MHC isoforms를 코딩하는 상기 4개 유전자의 조절영역(5'upstream region, 3'downstream region)에 대한 염기다형성을 발굴하고 유전자형 진단기법을 확립했다. 기존 문헌조사를 통해 이들 구조유전자의 cDNA영역에서 변이가 발견되지 않았으므로 분석대상을 유전자 발현에 영향을 줄 수 있는 조절영역으로 선정했다. 품종내, 품종간 변이를 확인하기 위해 4개의 돼지 주요 품종(Berkshire, Duroc, Landrace, Yorkshire)을 대상으로 직접염기서열분석을 실시하여, 9개의 SNP와 2개의 InDel을 발굴하고, 현장에서의 신속·정확한 유전자형 판별을 위해 PCR-RFLP (polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism)기법을 이용하여 3개 좌위에 대한 유전자형진단기법을 마련했다.

3차년 연구에서는 이를 바탕으로 실험돈군을 조성하고 타 세부과제와의 연계를 통해 유전자형과 근섬유단백질아형 및 육질관련 형질들과의 연관성을 구명했다. 실험축군에 대해 1, 2차년 연구를 통해 발굴한 근섬유단백질 유전자내 SNP뿐만아니라 본 연구팀이 보유하고 있는 근섬유특성관련 DNA마커에 대한 유전자형을 분석하여, MHC slow form에 영향을 줄 수 있는 다수의 마커를 발굴하고, 이를 동시에 진단할 수 있는 진단기법을 개발하여 현장활용도를 높였다. 연관성분석을 통한 기능구명 결과, 개발한 DNA마커를 통해 MHC slow form함량에 차이가 나는 집단을 구분할 수 있었으며, 특히 MHC slow form함량일 경우 5%미만일 때 육질이 저하되고 육질1+등급출현율이 매우 낮은 것을 확인하여 육질예측인자로서의 기준을 제시할 수 있었다. 따라서, 본 연구를 통해 개발한 DNA마커는 생체수준에서 MHC slow form함량을 예측하고 육질을 평가할 수 있는 지표로서 효용성이 있다고 판단된다.

## 3. 육질예측기법 실용화

협동연구과제 “육질예측기법 실용화”의 연구결과를 요약하면, 육질예측을 위한 인자설정 및 설정된 육질예측인자의 실효성을 검증하기 위해 버크셔, 듀록, 랜드레이스, 요크셔, 삼원교잡종

등 다양한 품종으로 구성된 실험군을 조성하였다. 이후 제 1 세부과제 및 제 2 세부과제에서 제시한 육질예측인자를 실험군에 적용하여 육질예측인자의 효과를 분석하였으며, 육질 및 관능 특성 평가도 실시하였다. 다양한 품종에 육질예측인자를 적용하여, 각 품종 내에서 MHC slow isoform 조성 7%를 기준으로 두 그룹으로 분류한 후 비교 분석을 한 결과, 버크셔 및 삼원교잡종 품종에서 육질예측인자에 의한 효과가 다른 품종에 비해 뚜렷하였으며, 사후 45분 및 24시 pH와 여과지흡수량, 육즙손실량에 영향을 주었다. 또한 버크셔 품종은 MHC slow isoform의 조성이 관능특성과도 관계있는 것으로 나타났다. 모든 품종의 MHC slow isoform 조성 7% 초과 그룹이 이상돈육인 RSE, PSE의 출현이 없거나 출현율이 낮았고, 1+등급도 듀록을 제외하고 7% 초과 그룹에서만 출현하였다. 또한 새로운 삼원교잡종에 육질예측인자를 적용하였을 경우, MHC slow isoform 조성 7% 초과 그룹의 사후 45분 및 24시 pH가 높고, 여과지흡수량 및 육즙손실량, 가열감량의 수치가 매우 낮아 보수력이 높은 것으로 나타났다. 따라서 MHC slow isoform의 조성은 육질예측인자로서 실효성이 있으며, 특히 버크셔 및 삼원교잡종에서 그 효과가 더 뚜렷하다. 이를 상품화하기 위한 방안으로 본 연구에서 육질예측을 위한 생체시료 채취 매뉴얼을 작성하였으며, 생체시료 채취 과정의 표준화 및 작업의 구체화를 통해 체계적이며 정확한 시료 채취로 육질예측의 실효성을 높일 것이라 판단된다.

## V. 연구성과 및 성과활용 계획

### 1. 기술적 연구성과

- 육질예측을 위한 MHC isoforms 조성 분석 방법 확립
- 고품질 돈육 생산을 위한 예측기법인자의 기준 설정
- 근섬유단백질 아형과 관련된 다수의 DNA 표지인자 탐색 및 발굴
- 고품질 돈육 생산을 위한 육질예측 DNA 진단기법 및 키트 개발
- 육질예측을 위한 생체시료의 정확하고 체계적 채취를 위한 생체시료 채취 매뉴얼 개발

### 2. 학술적 성과

#### 가. SCI 국외 학술지에 3편의 논문 게재

- Jeong, D. W., Y. M. Choi, S. H. Lee, J. H. Choe, K. C. Hong, H. C. Park, & B. C. Kim. 2010. Correlations of trained panel sensory values of cooked pork with fatty acid composition, muscle fiber type, and pork quality characteristics in Berkshire pigs. *Meat Science*, 86, 607-615.
- Lee, S. H., Y. M. Choi, J. H. Choe, J. M. Kim, K. C. Hong, H. C. Park, & B. C. Kim. 2010. Association between polymorphisms of the heart fatty-acid-binding protein gene and intramuscular fat content, fatty acid composition, and meat quality in



Berkshire breed. Meat Science, 86, 794-800.

- Kang, Y.K., Y.M.Choi, S.H. Lee, J.H. Choe, K.C. Hong, & B.C. Kim. 2011. Effects of myosin heavy chain isoforms on meat quality, fatty acid composition, and sensory evaluation in Berkshire pigs. Meat Science, In press.

#### 나. 국제학술대회 1편 발표

- Kang, Y.K., Y.M. Choi, S.H. Lee, J.H. Choe, K.C. Hong, & B.C. Kim. 2010. Meat quality and sensory evaluation of different pig breeds: relationships between MHC isoforms and sensory evaluation. 56th International Congress of Meat Science & Technology. Jeju, Korea.

### 3. 우수 인력의 양성

- 박사 2명
- 석사 4명
- 학사 2명

### 4. 성과활용 계획

#### 가. SCI 국외학술지에 1편의 논문 투고

- Lee, S. H., Choe, J. H., Choi, Y. M., Jung, K. C., Hong, K. C., Lee, S. K., Ryu, Y. C., & Kim, B. C. The influence of pork quality traits and muscle fiber characteristics on the eating quality of pork from various breeds.

#### 나. 국내 특허 출원 2건 준비

- 육질예측용 근섬유단백질 관련 DNA 표지인자에 관한 특허 출원 준비 중
- 육질예측용 돼지 생체시료 채취에 관한 기술의 특허 출원 준비 중

## SUMMARY

### I. Title

**Development of meat quality prediction technique  
by using properties of myofibrillar protein**

### II. Contents and scope of the project

#### **Section 1. Development of pork quality predictor using myofibrillar protein**

1. Analysis of muscle and myofibrillar protein isoforms
2. Selection of target protein isoform for pork quality prediction
3. Validation of myofibrillar protein isoform as pork quality predictor

#### **Section 2. Development of DNA marker associated with myofibrillar protein**

1. Analysis of candidate gene associated with myofibrillar protein
2. Searching of DNA marker in variation of target gene of protein isoform
3. Selection of DNA marker and development of analysis method

#### **Section 3. Commercialization of pork quality prediction technique**

1. Evaluation of experimental group
2. Validation of quality predictor and marker
3. Commercialization of pork quality prediction technique

### IV. Results of research and development

#### **Section 1. Development of pork quality predictor using myofibrillar protein**

Composition of myosin heavy chain (MHC) isoform influence on muscle fiber characteristics that affect postmortem metabolic traits and subsequently pork quality. Especially, composition of MHC slow isoform were closely related to composition of muscle fiber type. In metabolites, ATP, glycogen, and lactate that indicate the rate and extent of

postmortem metabolic traits were closely related to composition of MHC slow isoform. In the various pig breeds, there were no significant differences among various pig breeds. High composition of MHC slow isoform of muscle showed normal rate and extent of postmortem metabolism. Moreover, pork with high composition of MHC slow isoform had high water holding capacity. For criteria of MHC slow isoform for pork quality prediction, 7% of MHC slow isoform composition was set. The group with more than 7% of MHC slow isoform composition (High group) showed normal range of rate and extent of postmortem metabolism, and high water holding capacity. Compared to the group with less than 7% of MHC slow isoform composition (Low group), the High group showed more frequency of normal pork quality class and less frequency of abnormal pork quality. In addition, the High group had significantly higher frequency of quality grade. Therefore, composition of MHC slow isoform can be useful as the predictor of pork quality, and more than 7% composition of MHC slow isoform is associated with normal postmortem metabolic traits, higher quality such as water holding capacity, and finally, make it possible to reduce the frequency of abnormal pork quality, and increase the frequency of normal quality traits.

## **Section 2. Development of DNA marker associated with myofibrillar protein**

Candidate genes are previously identified genes with a known function coding myosin heavy chain (MYH) isoforms. MHC isoforms are classified of slow isoform including  $\beta$ -MyHC isoform and fast isoforms including MHC 2a, 2x, and 2b. MYH7, MYH2, MYH1 and MYH4 genes are coding those MHC isoforms, respectively.

It was reported that there is no polymorphic sites in cDNA region of the genes that are coding MHC isoforms. Therefore, regulatory region that include 5'upstream and 3'downstream region is selected to find polymorphic sites. Nine SNPs and two InDels were identified by direct sequencing using four breeds of pigs (Berkshire, Duroc, Landrace, Yorkshire). The PCR-RFLP assays were established for three of the nine identified SNPs.

For association study to evaluate the effects of SNPs on myofibrillar protein isoforms composition and meat quality traits, not only the three SNPs but also other SNPs involved in muscle fiber characteristics found previously were used. DNA markers that can be affect myofibrillar protein isoforms composition were developed and simultaneously analyzing methods of those SNPs were established. Significant differences among genotypes of DNA markers were in MHC slow form composition and when MHC slow form composition were less than 5%, pig had lower meat quality and reduced the frequency of 1st grade meat. Therefore, DNA markers developed in current study can be used as meaningful molecular markers to predict MHC slow isoform composition and evaluate meat quality

### **Section 3. Commercialization of pork quality prediction technique**

Experimental group was build including various pigs breeds such as Berkshire, Duroc, Landrace, Yorkshire, and LYD. For analysis of effect of pork quality predictor, pork quality predictor applied to the experimental group, and pork quality traits were measured and sensory characteristics were evaluated. In each breed, pigs were classified into two groups based on 7% composition of MHC slow isoform. In Berkshire and LYD breed, influence of MHC slow isoform composition was significant compared to other breeds, and muscle pH measured at postmortem 45 min and 24 h, and filter-paper fluid uptake and drip loss were influenced by MHC slow isoform composition. Moreover, MHC slow isoform composition was associated with sensory characteristics in Berkshire breed. In all pigs breed, group with more than 7% composition of MHC slow isoform (High group) had no or few frequency of abnormal pork quality such as RSE and PSE compared to group with less than 7% composition of MHC slow isoform. Especially, pigs with quality grade 1+ were only in the High group except Duroc breed. LYD breed showed also similar tendency to other breed. The High group showed high muscle pH45 min and pH24 h, low filter-paper fluid uptake, drip loss, and cooking loss. Therefore, composition of MHC slow isoform has the effectiveness as a pork quality predictor, especially in Berkshire and LYD breeds. Finally, manual for collection of antemortem muscle sample was developed. The effectiveness of MHC slow isoform composition can be improved by standardized procedure and systematic and accurate collection of muscle sample through this developed manual.

## CONTENTS

<b>Chapter 1. Overview of the project</b> .....	<b>17</b>
<b>Section 1. Goal of the project</b> .....	<b>18</b>
<b>Section 2. Necessity of the research and development</b> .....	<b>18</b>
1. Economic and industrial aspect .....	18
2. Technical aspect .....	19
<b>Section 3. Contents and scope of the project</b> .....	<b>21</b>
1. Goals and contents of the project .....	21
2. Scopes of the project .....	24
<b>Chapter 2. Status of research and development</b> .....	<b>31</b>
<b>Section 1. Current status of research and development</b> .....	<b>32</b>
1. Status of research and development of foreign countries .....	32
2. Status of research and development of Korea .....	32
3. Research level of the project team and results of previous studies .....	33
<b>Section 2. Future prospect of research and development</b> .....	<b>36</b>
1. Future prospect through patents, papers, and products .....	36
2. Expectation level of the research and development .....	37
<b>Chapter 3. Contents and results of research and development</b> .....	<b>38</b>
<b>Section 1. Development of pork quality predictor using myofibrillar</b> <b>protein</b> .....	<b>39</b>
1. Analysis of muscle and myofibrillar protein isoforms .....	39
2. Selection of target protein isoform for pork quality prediction .....	50
3. Validation of myofibrillar protein isoform as pork quality predictor .....	66

<b>Section 2. Development of DNA marker associated with myofibrillar protein .....</b>	<b>81</b>
1. Analysis of candidate gene associated with myofibrillar protein .....	81
2. Searching of DNA marker in variation of target gene of protein isoform .....	90
3. Selection of DNA marker and development of analysis method .....	107
<b>Section 3. Commercialization of pork quality prediction technique .....</b>	<b>142</b>
1. Evaluation of experimental group .....	142
2. Validation of quality predictor and marker .....	148
3. Commercialization of pork quality prediction technique .....	159
<b>Chapter 4. Achievement and contribution to related fields .....</b>	<b>192</b>
<b>Section 1. Goal achievement .....</b>	<b>193</b>
<b>Section 2. Contribution to related fields .....</b>	<b>196</b>
<b>Chapter 5. Application of the results .....</b>	<b>197</b>
<b>Chapter 6. Overseas technology collected during the research .....</b>	<b>200</b>
<b>Chapter 7. References .....</b>	<b>202</b>

# 목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요 .....	17
제 1 절 연구개발의 목표 .....	18
제 2 절 연구개발의 필요성 .....	18
1. 경제적·산업적 필요성 .....	18
2. 학술적 필요성 .....	19
제 3 절 연구개발의 내용 및 범위 .....	21
1. 연구개발의 목표 및 내용 .....	21
2. 연구개발의 범위 .....	24
제 2 장 국내외 기술개발 현황 .....	31
제 1 절 국내외 기술현황 .....	32
1. 국외수준 기술현황 .....	32
2. 국내수준 기술현황 .....	32
3. 신청연구팀의 연구수준 및 선행연구결과 .....	33
제 2 절 연구개발의 전망 및 수준 .....	36
1. 특허, 논문, 제품(시장) 분석을 통한 연구개발의 전망 .....	36
2. 연구개발의 목표수준 .....	37
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과 .....	38
제 1 절 근섬유단백질 아형 예측인자 개발 .....	39
1. 근육 및 근섬유단백질 아형 특성 분석 .....	39
가. 조직학적 기법을 이용한 개체별 근육특성 분석 .....	39
나. 생체의 근섬유단백질 아형 특성 및 조성 분석 .....	41
다. 근육 특성에 영향을 미치는 대사관련 물질 탐색 및 분석 .....	47

2. 단백질 아형의 최적 육질 예측인자 선정 .....	50
가. 실험군의 사후대사 및 육질변이 분석 .....	50
나. 단백질 아형 후보예측인자와 사후대사 특성의 연관성 분석 .....	59
다. 단백질 아형 후보예측인자와 육질 특성의 연관성 분석 .....	61
3. 단백질 아형 예측인자의 검증 .....	66
가. 단백질 아형의 특성 분석을 통한 단백질체 능력 검증 .....	66
나. 단백질 아형 특성과 근육의 이화학적 특성간의 연관성 분석 .....	75
다. 상관도 분석을 통한 단백질 아형 예측인자 활용도 검증 .....	78
<b>제 2 절 근섬유단백질 관련 DNA 표지인자 개발 .....</b>	<b>81</b>
1. 근섬유단백질관련 후보유전자 분석 .....	81
가. 근섬유단백질 관련 후보유전자 탐색 .....	81
나. 아형 유전자 간 아미노산 서열 비교분석 .....	86
다. 최적 단백질 아형 유전자 선정 .....	88
2. 최적 단백질 아형 유전자 변이에 따른 DNA 표지인자 탐색 .....	90
가. 발현조절영역에 대한 염기서열 분석 및 개체간 서열차이에 따른 다형성 탐색 .....	90
나. 후보유전자들의 다형성 분포도 조사 .....	100
다. 개체군에 대한 유전자형 분석 .....	101
3. DNA 표지인자 선정 및 진단기법 마련 .....	107
가. 유전자형과 육질관련형질과의 연관성 분석 .....	107
나. 근섬유단백질아형관련 다수의 DNA마커 발굴 .....	134
다. multiple DNA마커 진단기법 개발 .....	139
<b>제 3 절 육질예측기법 실용화 .....</b>	<b>142</b>
1. 돈군 능력검정 및 육질평가 .....	142
가. 기초축군의 적정 규모 및 구조 설정 .....	142
나. 성장 및 산육능력 검정 .....	142
다. 도체의 육질평가 .....	145
2. 선정된 예측인자 및 표지인자의 효과 검증 .....	148
가. 인자들과 적육생산능력간 연관성 분석 .....	148
나. 전문 패널테스트를 통한 육질 관능평가 .....	149
다. 인자들과 관능평가결과간의 연관성 분석 .....	152
3. 육질예측기법 실용화 방안 모색 .....	159
가. 다양한 품종에서의 육질예측기법 적용 .....	159



나. 현장적용시험을 통한 육질예측기법의 실효성 검증 .....	169
다. 육질예측기법의 상품화 방안 제시 .....	171
<b>제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 .....</b>	<b>192</b>
제 1 절 연구개발목표의 달성도 .....	193
제 2 절 관련분야 기술발전예의 기여도 .....	196
<b>제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획 .....</b>	<b>197</b>
제 1 절 연구개발 성과 .....	198
제 2 절 성과 활용계획 .....	199
<b>제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 .....</b>	<b>200</b>
<b>제 7 장 참고문헌 .....</b>	<b>202</b>

## 제 1 장 연구개발과제의 개요

## 제 1 절 연구개발의 목표

돼지는 오랜기간 성장위주의 개량이 이루어져 왔다. 그 결과 적육생산능력은 향상되었으나, PSE 돈육(일명 물돼지) 등 이상육이 발생하는 등의 육질관련 문제점 발생이 증가하였다. 육질의 개량에 어려움이 따르는 이유는 기존의 선발형질들과 유전적으로 부의상관관계를 갖고 있으며, 낮은 유전력을 갖고 있기 때문이다. 따라서, 육질을 효율적이고 정확하게 개량하기 위해서는 종돈의 육질과 관련하여 환경적인 요인을 배제하고 유전적 능력을 정확히 예측할 수 있는 새로운 방법의 개발과, 이와 관련한 DNA 표지인자의 개발이 필요하다. 육질은 사후대사변이에 의해서 결정되고, 사후대사변이는 근섬유특성에 따라서 발생됨을 본 연구팀은 지난과제를 통해서 검증했다(특허등록 1건, 출원 2건). 본 연구에서는 축적된 연구결과를 기반으로 근섬유를 결정짓는 근섬유 내 단백질과 관련한 아형(myofibrillar protein isoform)에 관한 연구를 통해서 육질예측인자를 새로이 개발하고, 이와 관련한 DNA 표지인자를 개발함으로써 정확한 육질예측기법을 마련한다. 또한, 개발된 육질예측기법의 실용화 연구를 통해서 실제 종돈업체 및 산업현장에서의 활용성을 제고 시킨다.

## 제 2 절 연구개발의 필요성

### 1. 경제적 · 산업적 필요성

기존의 생산량 위주의 종돈개량은 우리나라 국민에게 농산품에 비해 상대적으로 고가인 돈육을 저가에 다량 공급할 수 있게 해주었고, 양돈생산자에게도 효율적인 대량생산을 가능케해 경제적 이익을 안겨줄 수 있었다. 그러나 이러한 생산량을 증가시키기 위한 개량으로 인해서 스트레스에 민감한 돼지(PSS)가 발생하여 폐사율이 증가하고, 이상돈육(PSE) 발생비율이 증가하는 등, 돈육의 생산성과 품질에 복합적인 문제가 발생하게 되었다. 더욱이, 최근들어 국민의 경제능력향상에 따른 식생활개선이 이루어지면서, 단지 육량만 많은 고효율 돈육보다는 식감까지 향상된 고품질의 돈육생산이 요구되고 있는 시점이다. 따라서, 돼지의 육질을 향상시키는 것은 현재 양돈산업의 매우 중요하고 시급한 과제라고 할 수 있다.

2005년도 농림업생산액은 36.3조원으로, 농림업에서 축산의 비중은 지속적으로 증가하고 있으며, 축산 중에서도 양돈은 중요한 산업으로서 양돈이 차지하는 비율은 약 10%(약 3.8조원)에 달한다. 또한, 육류소비에서도 돈육이 차지하는 비율은 대체로 50%를 약간 상회하는 수준이었으나 2004년에는 이 비율이 57%로 증가하여 1인당 돈육 소비량은 17.9kg에 달하였다(농림부, 2006 농림업 주요통계자료). 이러한 통계수치를 통해서 우리나라 국민의 식생활 개선욕구가 고품질의 육류소비의 증가와 이어진다는 것을 확인할 수 있으며, 이를 근거로 양돈생산자는 소비자의 욕구를 충족시키기 위한 고품질 돈육생산의 필요성이 제기된다.

최근 FTA에 따른 자유무역시장체제에서 양돈산업은 큰 위기를 맞고 있다. 양돈제품의 경우 관세를 FTA 발효시점과 상관없이 2014년 1월 1일자로 폐지하기로 합의하면서, 현재 국내산

돼지고기 대비 50~70%인 미국산 돼지고기 가격은 더욱 낮아지게 되어 국내산 돼지고기는 가격경쟁력에서 뒤쳐질 수밖에 없는 상황이 예상되고 있다. 더욱이 옥수수 등의 사료가격까지 상승세를 보여 이미 생산성이 악화된 상태이다. 따라서 국내외의 악재에도 불구하고 국내 양돈 산업의 발전을 위해서는 단순한 수급조절이 아닌 양돈의 과학화와 선진화로 질적 향상을 이루어 침체 위기에 놓인 양돈산업을 진흥해야 한다.

따라서, 국내의 양돈 산업 부흥의 일환으로 고품질, 고수율의 돼지를 생산하여 차별화되고 안정적인 생산 기반을 마련해야 한다는 방안이 절실히 필요한 실정이며, 이러한 고품질 돈육을 생산을 위해서는 효율적이고 정확하게 육질을 예측할 수 있는 시스템의 구축이 반드시 선행되어야 한다. 또한, 근본적으로 육질을 향상시키기 위해서는 종돈의 개량이 필요하며, 육질과 같은 도체형질을 개량하고, 개량기간을 단축시켜 개량의 효율을 증대시키기 위해서는 육질예측인자와 관련된 DNA 표지인자의 개발이 연계되어야 할 것이다.

## 2. 학술적 필요성

기존의 육종방법으로 육질을 개량하는 것은 그 특성상 과정이 매우 복잡하며, 개량의 효과를 확인하기 까지 긴 시간을 필요로 한다. 또한 육질과 같은 복합적인 형질을 개선하는데 한계점이 있으며, 근내지방도(공개특허 10-2004-0105410)나 등지방 두께(공개특허 10-2006-0011287) 등 제한된 특정형질에만 국한되어 개량이 진행되고 있다. 그러나 육질은 광범위하고 복잡한 기작에 의해 결정되므로 정확성과 효율성 측면에서 다소 부족함이 있다. 따라서, 육질을 정확하고 빠르게 예측할 수 있는 새로운 기법의 개발이 절실히 요구된다.

최근 종돈개량 분야에서는 기존의 통계유전학적 방법과 분자유전학적 기법을 결합함으로써 전반적인 선발 효과를 높이는 한편 유전자형을 이용한 개체선발을 통해 과거에는 개량이 어렵거나 불가능했던 육질과 같은 도체형질의 개량도 실현할 수 있게 되었다. 특히, DNA 표지인자를 이용한 선발은 선발의 정확도를 높여 선발의 효과를 높일 뿐만 아니라, 개량기간을 단축시킬 수 있어 종돈개량의 획기적인 기술로 부각되고 있다.

골격근의 성장과 발달을 이해하는 것은 육용가축의 적육생산량과 육질적 측면에서 매우 중요한 의미를 지니고 있다 (Karlsson 등, 1993). 근육은 사후에 진행되는 복잡한 요인들에 영향 받아 생화학, 물리, 구조적인 변화를 거치면서 식육으로 전환되며, 소비자가 접하는 최종 육질 형성은 사후에 진행되는 근육의 대사에 의해 결정되어진다. 이러한 근육의 생화학적 반응에 가장 많은 영향을 미치는 요인은 근육을 구성하는 근섬유와 근원섬유 단백질의 특성이며, 근원섬유 단백질의 조성과 특성이 최종 육질을 결정하는 주 요소이다.

Myosin은 근육 및 근육세포 특성에 가장 큰 영향을 주는 근원섬유 단백질로, 근육단백질의 25%, 근원섬유 단백질의 45% 차지하고 있다. 하나의 Myosin은 두개의 heavy chain(MHC)와 4개의 light chain(MLC)로 구성되어 있으며, MHC와 MLC는 각각 단백질 아형(isoform)이 존재한다.

MHC는 근섬유 특성에 영향을 가장 많은 영향을 미치는 인자로서, 성숙의 골격근에서 발견되는 MHC 아형은 I, IIA, IIX, IIB가 있으며, 각각 근원섬유 유형 I, IIa, IIx, IIb를 구성하고 있다. MLC 아형은 1s, 1f, 3f, 2s, 2f가 있으며, 근원섬유 유형 I(slow-twitch fiber)일 경우 MLC는 slow 아형인 1s, 2s가 주를 이루며, 유형 II(fast-twitch fiber)일 경우 fast 아형인 1f, 2f, 3f

가 존재한다(Borttinelli, 2001). MHC(Choi 등, 2006), MLC 아형(Choi 등, 2005)의 생화학적 능력 차이는 사후 대사능력 및 대사속도에 영향을 미치게 되며 단백질 변성정도(Choi 등, 2007) 및 최종 육질에 영향을 주게 된다(Choi 등 2006). 따라서 이 두 단백질 아형은 사후 대사속도 및 육질변이를 대변할 수 있다(Gil 등, 2003; Bowker 등, 2005; Choi 등, 2007).

근원섬유 단백질(myofibrillar protein) 형성에 관여하는 유전자는 40여가지로 탐색되어지며, 그중에서도 myosin을 구성하는 MHC와 MLC의 아형을 코딩하는 유전자는 각각 9개 정도로 분석되어진다. 특히, 그 중에서도 근섬유형을 결정하는 주요유전자는 MHC- $\beta$ /slow 및 MHC-2A,2B,2X 등으로 분류되어진다.

이와 같이 근섬유 특성 및 myosin 아형은 생체 가축 고유의 특성이며, 근섬유 특성을 이용하여 육질 예측이 가능하다고 사료된다(Ryu 등, 2005). 현재까지 근원섬유의 단백질인 myosin 아형을 생체에서 분석하여 육질을 예측하는 방법은 도입된 사례가 없으며, 본 연구진의 축적된 기술을 적극 활용하면 육질예측인자를 원활히 개발할 수 있을 것으로 판단되어진다. 또한, 근원섬유 단백질인 myosin 아형과 관련한 분자유전학적인 연구를 통해서 DNA 표지인자를 개발한다면, 이를 이용한 가축의 조기선발을 통해 최종적으로 돼지의 육질을 효율적이고 정확하게 향상시킬 수 있을 것이다.

### 제 3 절 연구개발의 내용 및 범위

#### 1. 연구개발의 목표 및 내용

구분	연도	연구개발의 목표	연구개발의 내용
1차년도	2008	근육 및 근섬유단백질 아형 특성 분석	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 조직학적 기법을 이용한 개체별 근육특성 분석</li> <li>- 생체의 근섬유단백질 아형 특성 및 조성 분석</li> <li>- 근육특성에 영향을 미치는 대사관련 물질 탐색 및 분석</li> </ul>
		근섬유단백질 관련 후보유전자 분석	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 근섬유단백질 아형별 발현유전자 탐색</li> <li>- 아형 유전자 간 아미노산 서열 비교분석</li> <li>- 최적 단백질 아형 유전자 선정</li> </ul>
		돈군 능력검정 및 육질평가	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 기초축군의 적정 규모 및 구조 설정</li> <li>- 기초축군 조성</li> <li>- 성장 및 산육능력 검정</li> <li>- 도체의 육질평가</li> </ul>

구분	연도	연구개발의 목표	연구개발의 내용
2차년도	2009	<p style="text-align: center;"><b>단백질 아형의 최적 육질 예측인자 선정</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 실험군의 사후대사 및 육질변이 분석</li> <li>- 단백질 아형 후보예측인자와 사후대사 특성의 연관성 분석</li> <li>- 단백질 아형 후보예측인자와 육질특성의 연관성 분석</li> </ul>
		<p style="text-align: center;"><b>최적 단백질 아형 유전자 변이에 따른 DNA 표지인자 탐색</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 발현조절영역에 대한 염기서열 분석</li> <li>- 개체간 서열차이에 따른 다형성 탐색</li> <li>- 유전자 다형성 분포도 조사</li> <li>- 개체군에 대한 유전자형 분석</li> </ul>
		<p style="text-align: center;"><b>선정된 예측인자 및 표지인자의 효과 검증</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 인자들과 적육생산능력간 연관성 분석</li> <li>- 전문 패널테스트를 통한 육질 관능평가</li> <li>- 인자들과 관능평가결과간의 연관성 분석</li> </ul>

구분	연도	연구개발의 목표	연구개발의 내용
3차년도	2010	<p style="text-align: center;"><b>단백질 아형 예측인자의 검증</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 단백질 아형의 특성 분석을 통한 단백질체 능력 검증</li> <li>- 단백질 아형 특성과 근육의 이화학적 특성간의 연관성 분석</li> <li>- 상관도 분석을 통한 단백질 아형 예측인자 활용도 검증</li> </ul>
		<p style="text-align: center;"><b>DNA 표지인자 선정 및 진단기법 마련</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 유전자형과 육질관련형질과의 연관성 분석</li> <li>- 근섬유단백질아형관련 다수의 DNA마커 발굴</li> <li>- multiple DNA마커 진단기법 개발</li> </ul>
		<p style="text-align: center;"><b>육질예측기법 실용화 방안 모색</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 다양한 품종에서의 육질예측기법 적용</li> <li>- 현장적용시험을 통한 육질예측기법의 실효성 검증</li> <li>- 육질예측기법의 상품화 방안 제시</li> </ul>



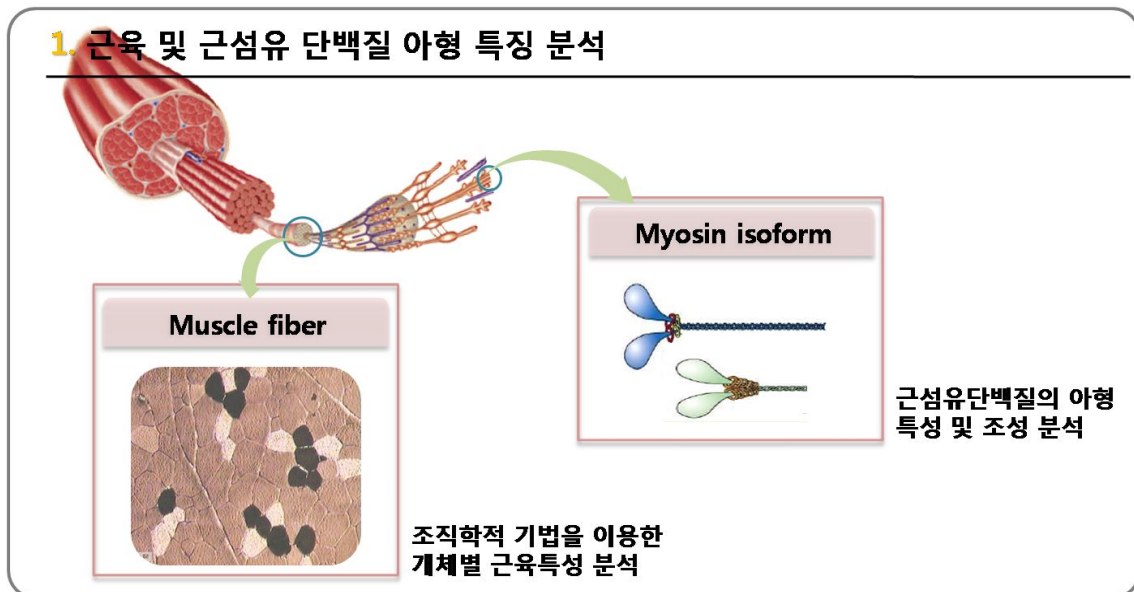
## 2. 연구개발의 범위

### 가. 제 1세부과제: 근섬유단백질 아형 예측인자 개발

#### (1) 근육 및 근섬유단백질 아형 특성 분석

육질 예측인자 설정을 위한 축군은 환경적·유전적 요인이 고정되어 있어야 예측인자만의 효과를 정확하게 검증할 수 있다. 따라서 돈군은 동일 농장, 동일 사료 등 동일조건하의 일반적인 삼원교잡종을 이용한다. 돈군의 생체 분석은 출하체중에 도달 한 실험돈을 이용하여 longissimus dorsi muscle(8th thoracic vertebra)에서 생체 biopsy를 실시한 뒤 근육특성 분석을 실시한다. 한편, 예측기법확립을 위한 최종육질은 사후 초기와 최종 근육(24시)의 pH, R-value, metabolite contents 등 측정으로 근육의 이화학적 특성 및 사후 대사속도를 분석하여 검증한다.

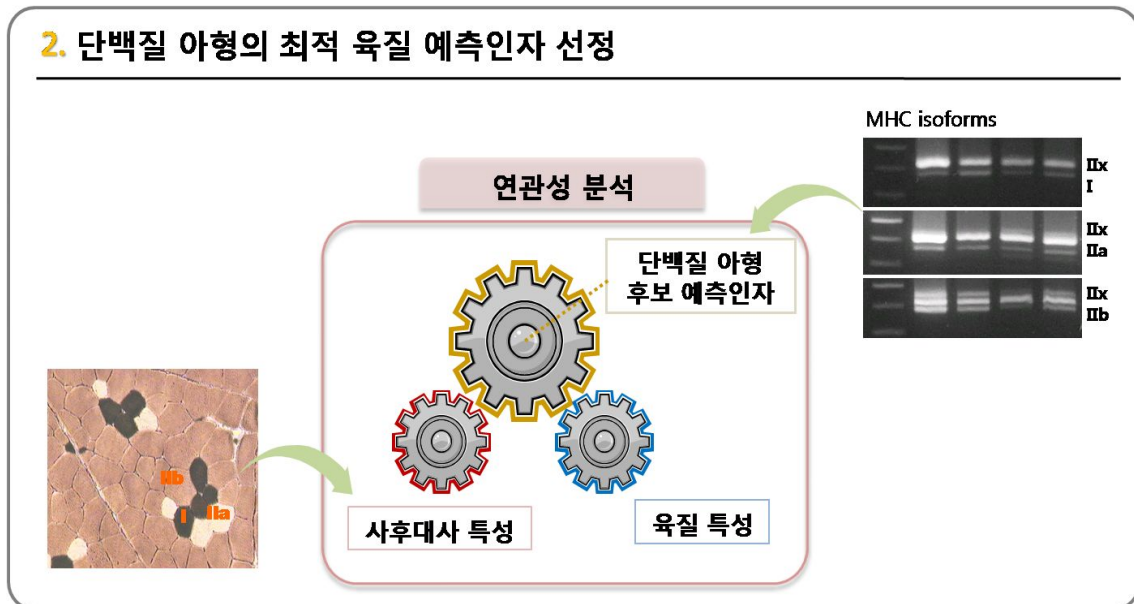
근원섬유 단백질 아형 분석은 근육특성에 가장 영향을 많이 미치는 단백질 아형 중심으로 분석하며 실험은 Talmage와 Roy(1993)의 단백질 전기영동 방법을 수정한 실험방법(Choi 등, 2006)을 이용하여 분석한다. MHC 아형과 MLC 아형의 경우 각각 I, IIA, IIX, IIB과 1s, 1f, 3f, 2s, 2f을 정성, 정량적인 분석방법 으로 분석하며 또한 근육 내 대사관련 물질을 측정하여 myosin 아형과의 연관성을 측정하며, 차후 myosin의 특성 설명 자료를 구축한다.



## (2) 단백질 아형의 최적 육질 예측인자 선정

근육단백질 아형 특성은 품종별 차이를 보이며, 유전적인 요인이 강하게 작용하는 것으로 알려져 있다. 따라서 제 2 세부과제에서 제시한 후보 유전자형 개체에서의 myosin 단백질 아형 특성을 분석 한다. 특정 유전자형 개체에 대한 단백질 아형을 품종별로 분류하여 품종, 유전자형, 단백질 아형이 육질의 미치는 영향을 종합적으로 분석한다. 이후 최종육질 및 경제형질에 미치는 결정적 요인을 선정하여 그에 따른 예측인자(DNA 표지인자 및 단백질 아형 분류표)를 선정한다.

단백질 아형의 특성에 따른 최종육질의 결정 양상은 개체의 경제형질 결정에 중요한 요인이 될 수 있으므로 개체별 생체 단백질 아형의 분석은 개체의 경제형질 결정 자료로 활용한다. 근원섬유 단백질 아형의 조성 분석 및 효소활성 분석을 통해 강한 호기적 대사능력을 가진 모돈을 선별 할 수 있으며 이를 선발의 근거자료로 활용한다.

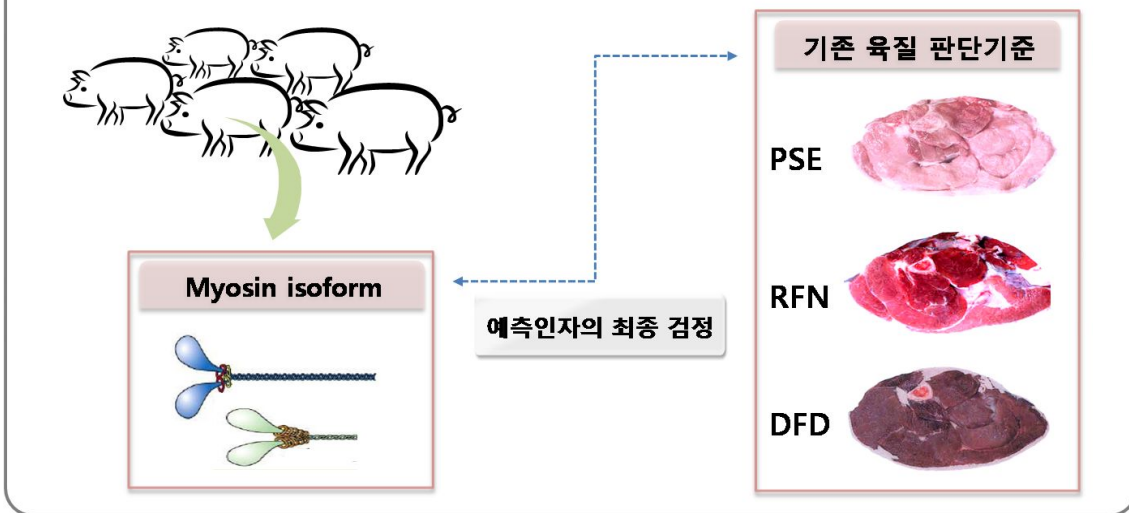


## (3) 단백질 아형 예측인자의 검증

육질예측기법로 선발되어 조성된 실험군의 최종 육질을 검증한다. 조성된 실험 축군의 myosin 단백질 아형의 분포 및 분석을 통해 실험군의 표지 인자에 의한 변이를 확인한다. 또한, 일반적으로 출하되는 축군과의 비교를 통해 예측인자로 선발된 축군의 육질 및 도체형질의 효과를 검증하며, 출하된 분석 시 예측인자의 장점 및 단점을 보완하여 예측인자를 최종 검증한다.

선정된 단백질 아형 예측인자와 DNA 표지인자를 종합한 육질예측기법은 복잡한 육질 형성 기작을 기존의 육질평가방법 보다 정확하게 설명할 수 있어야 한다. 따라서 근육의 이화학적인 특성으로 최종 육질을 설명하는 방법과 육질예측기법간의 연관성 및 상관성을 분석하여 육질 예측기법의 정확성을 제고 시킨다.

### 3. 단백질 아형 예측인자의 검정

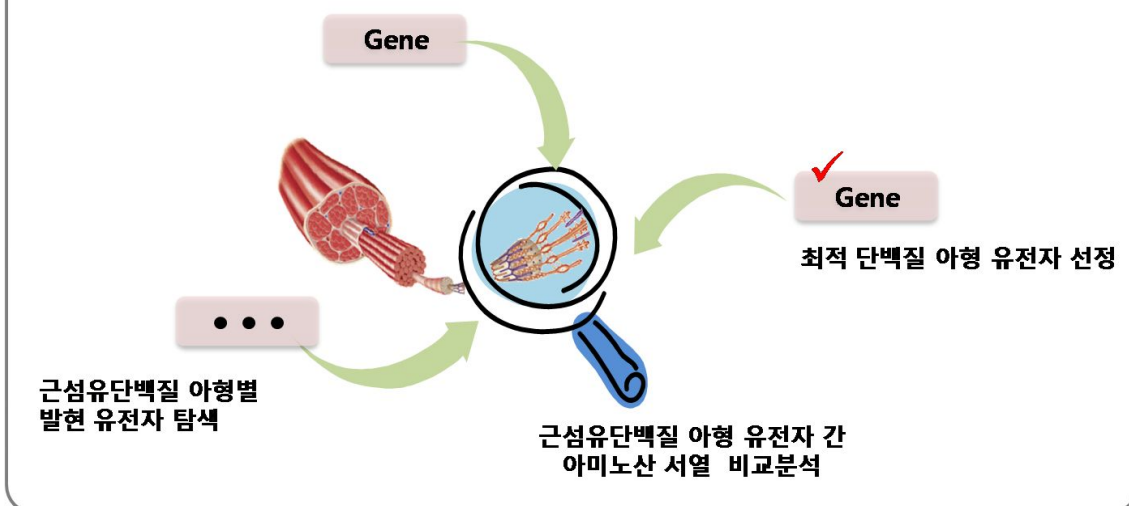


#### 나. 제 2세부과제: 근섬유단백질 관련 DNA 표지인자 개발

##### (1) 근섬유단백질 관련 후보유전자 분석

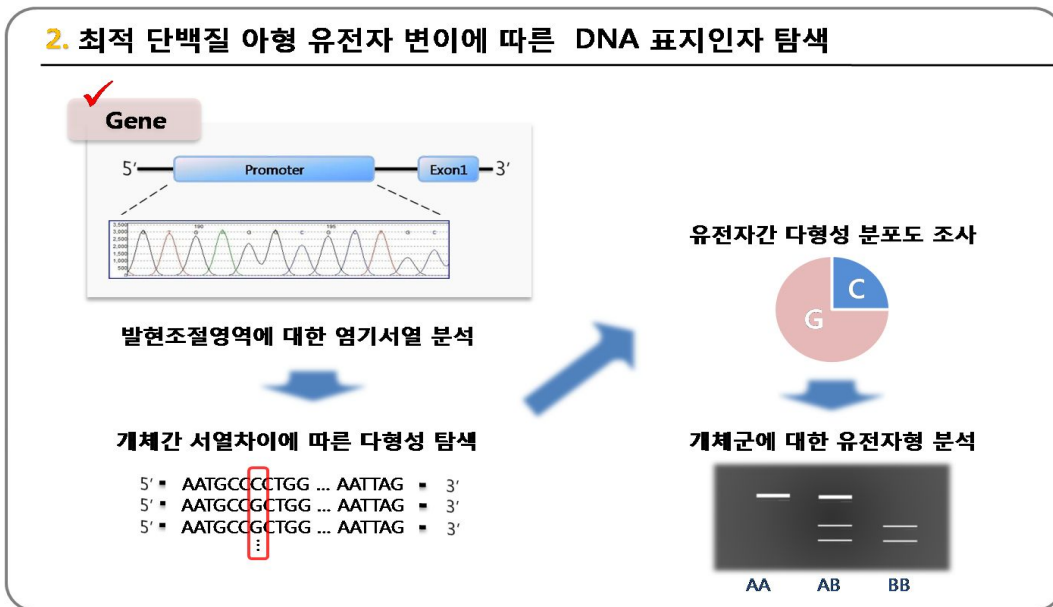
근원섬유 단백질 중 육질과 관련하여 가장 관계가 깊은 것으로 알려진 myosin 단백질 아형에 관한 전반적인 이해를 바탕으로, 관여하는 주요유전자를 탐색한다. 먼저, myosin을 구성하는 MHC와 MLC를 구분짓고, 이들의 발현을 관장하는 주요유전자인 MHC- $\beta$ /slow 및 MHC-2A, 2B, 2X 등의 유전자를 돼지의 genome 상에서 확인한다. 이를 위해 기존의 NCBI 및 ArkDB 등의 genome database를 활용하며, 생명정보학적인 분석기법을 활용하여, 현재까지 분석된 최신의 유전정보를 확인한다. 또한, 이들 유전자의 아미노산 서열 비교분석을 통해서 유전자간 발현 단백질의 차이를 관찰하며, 최적 아형 유전자를 선정하고, 그것을 대조군으로 육질에 최종적으로 영향을 줄 수 있는 영역에 대해서 이후 연구를 진행한다.

#### 1. 근섬유 단백질 관련 후보유전자 분석



(2) 최적 단백질 아형 유전자 변이에 따른 DNA 표지인자 탐색

1차년도 연구결과에 따라서 선정된 후보유전자의 주요 발현영역 및 발현조절부위에 대해서 유전자 내 다형성을 관찰한다. 다형성 부위를 DNA 수준에서 관찰하기 위해서 본 연구진이 보유한 다양한 품종(6개 품종)의 DNA에 대해서 염기서열 분석을 실시한다. 이 분석을 통해서 발견되는 단일염기서열에 따른 차이(single nucleotide polymorphism)는 유전자의 발현에 차이를 줄 수 있는 가능성이 있을 것으로 판단하고, 이러한 발현차이가 단백질의 활성에 영향을 미쳐, 최종적으로 돈육질에 변화를 줄 수 있는 요인이 된다. 따라서, 이들의 유전자형을 분석하고, 개체군 내에서의 유전자형 분석을 통한 전체 유전자형 빈도와 유전자 분포도를 예측하여, 후대의 빈도 변화여부를 판단한다.



(3) DNA 표지인자 선정 및 진단기법 마련

유전자형 분석의 결과를 토대로, 1세부과제 및 협동과제의 연구팀에서 분석한 개체군 전체의 육질관련형질 분석결과 얻어진 수치와의 연관성 분석을 통해서, 최적의 유전자형을 선정한다. 이렇게 얻어진 유전자형은 돈육의 육질을 향상시킬 수 있는 DNA 표지인자로서 활용되어질 수 있고, 따라서 이들의 활용성 여부를 후대의 표지인자 보유여부와 능력검정을 통해 판단한다. 또한 이렇게 얻어진 최적의 표지유전자를 손쉽게 탐색할 수 있는 표지유전자 특이 primer를 제조하거나, 표지유전자 변이 부위에 인식부위를 갖는 제한효소를 찾아내어, 절편의 길이로 그 차이를 측정하게 되는 RFLP(restriction fragment length polymorphism)방법 등을 통해서 최종적으로 분석이 용이한 진단기법을 마련한다. 또한 개발된 다수의 DNA마커들의 상호작용을 탐색하여 마커의 활용성 극대화한다.

### 3. DNA 표지인자 선정 및 진단기법 마련



#### 다. 협동과제: 육질예측기법 실용화

##### (1) 돈군 능력검정 및 육질평가

육질예측기법의 다양한 적용 및 정확성 제고를 위해 요크셔, 랜드레이스, 듀록, 버크셔 품종을 기초로 한 축군을 조성한다. 이를 위해서 먼저, 축군의 적절한 규모를 설정하고 연구진행을 위한 기본 시스템을 구축한다. 이렇게 조성된 기초축군에 대해서 번식능력을 평가하고, 성장형질을 지속적으로 측정한다. 측정된 자료들은 세부과제들의 연구를 위한 기초자료로 이용하며, 유전자형과의 상관관계분석 및 이화학적 육질분석에 이용된다. 또한, 도축 후 도체에 대해서 현장에서의 육질평가를 실시한다.

### 1. 돈군 능력검정 및 육질평가

#### 돈군 조성



## (2) 선정된 예측인자 및 표지인자의 효과 검증

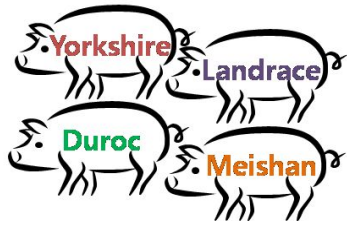
각 세부과제를 통해서 선정된 육질예측인자 및 DNA 표지인자를 토대로 돈군의 적육생산능력과의 연관성 분석을 실시하고, 이를 통해서 육질능력뿐 아니라 적육생산능력과의 관계를 확인한다. 또한, 육질예측인자의 효과를 검증하고 실효성을 제고시키기 위해서, 전문 패널테스트를 통한 육질 관능평가를 실시하며, 육질예측인자와 관능평가결과간의 상관성 분석을 실시한다. 관능평가는 일반인 및 훈련된 전문 패널이 참여하며, 크게 두 가지로 구분하여 실시한다. 먼저, NPPC(USA, National Pork Product Council, 2002) 기준에 의한 육색점수 및 근내지방도 점수를 평가하며, 다음으로 식육제품으로써의 육색, 풍미, 다즙성 항목에 대해서 측정하여, 마지막으로 기호도(식감)를 평가한다.



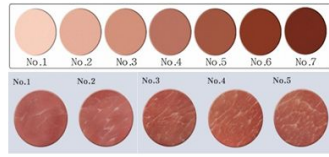
## (3) 육질예측기법 실용화 방안 모색

요크셔, 랜드레이스, 듀록, 버크셔 및 삼원교잡종의 품종에서 DNA 표지인자 및 단백질 아형에 따른 효과를 분석한다. 이를 통해서 최종 육질그룹과 예측기법으로 분류된 그룹과의 상관관계를 분석하여 예측인자의 효율성을 분석할 수 있다. 예측기법으로 검증된 삼원교잡종에 대해서 OECD에서 채택한 육질평가항목(Honikel, 1998) 기준에 의한 육질항목(보수력, 육색, 연도 등)과 최종 확인절차인 기호도 및 관능평가 결과를 모니터링한다. 또한 실제 육질관정등급과 개발한 육질예측기법의 연관성분석을 통해 실제 현장 적용 방안을 모색한다. 결과적으로, 기존의 품질분류체계 및 검증기법과의 연계성을 확인하고, 향상된 예측기법의 정확도 및 실용성을 검증할 수 있으며, 개발된 육질예측기법을 상품화하기 위한 실용화 방안을 모색한다.

### 3. 육질예측기법 실용화 방안 모색



육질예측기법 적용



⋮

품질 검증



상품화 방안 마련



## 제 2 장 국내외 기술개발 현황



# 제 1 절 국내외 기술현황

## 1. 국외수준 기술현황

개념정립 단계	O	기업화 단계		기술 안정화 단계	
---------	---	--------	--	-----------	--

근섬유 유형 I의 대표적인 특성은 근섬유의 수축·이완 속도는 느리지만 효율적이며, 호기적 대사능력이 우수. 근섬유 유형 II(IIa, IIx, IIb)는 수축·이완 속도가 빠르며 혐기적 대사능력이 우수한 특성을 가짐(Schiaffino와 Reggiani, 1996). 그러나 근섬유 유형 결정에 영향을 미치는 표현형 단백질인 MHC 및 MLC 등의 단백질 아형과 육질과의 상관관계에 대한 연구는 최근에서야 이루어지고 있을 정도로 미미하다.

MHC 아형(isoform)의 생체분석은 주로 사람(Fry 등, 1994; Talmadge, 2000)에서 이루어지고 있으며, 경주마의 MHC isoforms 생체분석 자료는 training의 monitoring 및 근육질병 검사 자료로 활용하는 수준이며(Rivero 등, 1997) 육질과 관련하여 최종육질에 영향을 미치는 요인으로 예상 하고 있으나 구체적인 실험 자료나 결과는 미미한 실정이다.

## 2. 국내수준 기술현황

육질 개선 프로그램의 경우, 동물체내 효소나 성장호르몬과 관련된 유전자를 표지인자로 설정하는 경우가 대부분임(공개특허 10-2004-0105410, 10-2006-0011287). 이와 같은 경우 육질과 같은 복잡한 형질을 한, 두 가지 요소로 개선시키기에는 한계가 있다.

근섬유 분화에 관여하는 특정 유전자를 표지인자로 설정한 기술이 있기도 하지만(본 연구진 보유, 특허번호: 10-0784166-0000), 보다 집중적으로 육질을 향상시키기 위해서는 근섬유 특성 중에서도 근섬유 조성에 영향을 주는 인자와 관련한 DNA 표지인자의 개발이 필요하며, 이를 위해서는 정확한 육질예측방법의 개발이 선행되어야한다.

국내 관련 연구 및 연구성과활용현황은 다음과 같다

연구수행 기관	연구개발의 내용	연구개발성과의 활용현황
고려대학교	돼지 근세포 수 증가 확인용 DNA표지유전자	특허등록 (10-0784166-0000)
농촌진흥청	성장호르몬 유전자를 이용한 한우 육질 관련 유전적표지인자	특허등록 (10-2006-0011287)
농촌진흥청	소 등심지방함량에 관여하는 표지인자	특허등록 (10-2004-0105410)
고려대학교	근세포 조직학적 특성을 이용한 육질 및 육량의 예측방법	특허출원 (10-2007-00058510)

### 3. 신청연구팀의 연구수준 및 선행연구결과

#### 가. 근세포분화관련 DNA 표지인자 개발 (특허등록: 10-0784166-0000)

본 연구팀은 근세포분화에 주요하게 작용하는 것으로 알려진 *MYOG* 유전자의 5'promotor region에서 새로운 단염기다형성(SNP)를 발견하였으며(Figure 1), 이의 유전자형 분석을 실시하여(Figure 2), 성장형질 및 육질관련 형질과의 연관성 분석(Table 1)을 통해서 새로운 DNA 표지유전자를 개발 및 진단기법에 관한 기술을 보유하고 있다.

```

Y-1 : AAGTAGTCCTCCTCCACCTGACATTTGAACTCAGCACAATATATATAAACTAAT
Y-2 : AAGTAGTCCTCCTCCACCTGACATTTGAACTCAGCACAATATATATAAACTAAT
Y-3 : AAGTAGTCCTCCTCCACCTGACATTTGAACTTAGCACAATATATATAAACTAAT
Y-4 : AAGTAGTCCTCCTCCACCTGACATTTGAACTCAGCACAATATATATAAACTAAT
Y-5 : AAGTAGTCCTCCTCCACCTGACATTTGAACTCAGCACAATATATATAAACTAAT
Y-6 : AAGTAGTCCTCCTCCACCTGACATTTGAACTTAGCACAATATATATAAACTAAT
Y-7 : AAGTAGTCCTCCTCCACCTGACATTTGAACTTAGCACAATATATATAAACTAAT

L-1 : AAGTAGTCCTCCTCCACCTGACATTTGAACTCAGCACAATATATATAAACTAAT
L-2 : AAGTAGTCCTCCTCCACCTGACATTTGAACTCAGCACAATATATATAAACTAAT
L-3 : AAGTAGTCCTCCTCCACCTGACATTTGAACTTAGCACAATATATATAAACTAAT
L-4 : AAGTAGTCCTCCTCCACCTGACATTTGAACTCAGCACAATATATATAAACTAAT
L-5 : AAGTAGTCCTCCTCCACCTGACATTTGAACTCAGCACAATATATATAAACTAAT
L-6 : AAGTAGTCCTCCTCCACCTGACATTTGAACTTAGCACAATATATATAAACTAAT
L-7 : AAGTAGTCCTCCTCCACCTGACATTTGAACTTAGCACAATATATATAAACTAAT
    
```

Figure 1. SNPs of the *myogenin* 5'promotor region in Yorkshire (Y) and Landrace (L) individuals.

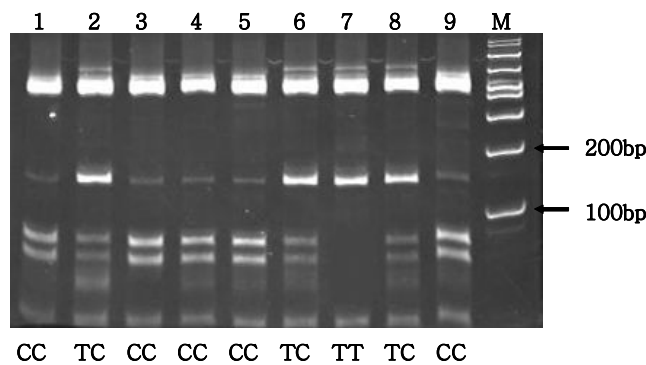


Figure 2. Results from the *myogenin* 5' promotor - *BspCNI* PCR-RFLP analysis.

T allele : 463bp + 158bp + 43bp  
 C allele : 463bp + 82bp + 76bp + 43bp

Table 1. Effects of MG5 genotypes on growth, carcass and meat quality measurements in Whole Pig

Trait	MG5	
	CC (n = 179)	TC (n = 70)
<b>Total fiber number (<math>\times 10^3</math>)</b>	1,356 <sup>B</sup> (26.8)	1,441 <sup>A</sup> (36.8)
<b>Lean meat production ability</b>		
Backfat thickness (mm)	19.60 <sup>b</sup> (0.60)	18.10 <sup>a</sup> (0.82)
Loin eye area (cm <sup>2</sup> )	53.19 <sup>b</sup> (0.80)	55.02 <sup>a</sup> (1.10)
<b>Meat quality</b>		
pH <sub>45min</sub>	5.84 (0.03)	5.91 (0.05)
Drip loss (%)	4.95 (0.27)	5.37 (0.38)
Lightness (L*)	47.62 (0.27)	47.84 (0.37)

Significant level: <sup>A,B</sup>  $P < 0.001$ , <sup>a,b</sup>  $P < 0.05$

#### 나. 육질변이 요인 탐색연구 (특허출원: 10-2007-00058510)

근육의 조직학적 특성을 이용한 근섬유 특성 분석을 실시하였으며(Figure 3-A), 이를 통해 사후 대사속도와의 연관성 연구(Ryu 등, 2005; Choe 등, 2008), 육질변이와의 연관성 연구(Ryu 등, 2006)를 실시하였음. 또한 energy metabolite content와 육질변이와의 연관성을 분석하였고(Ryu 등, 2005), 이를 통해 근육의 생화학적 특성이 육질에 미치는 영향에 대한 체계적이고 과학적인 이론을 정립하였음

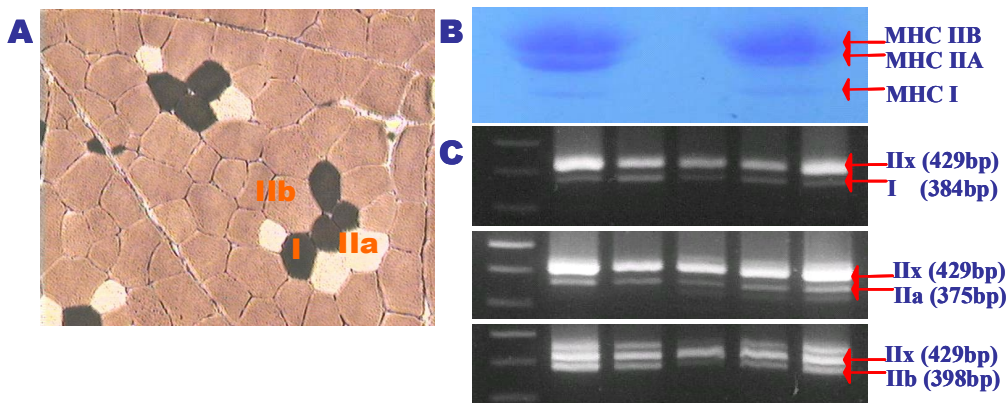


Figure 3. Analysis of muscle fiber characteristics using three different methods. (A) Serial sections of longissimus thoracis muscle, stained for mATPase activity after acidic preincubation at pH 4.7. Muscle fibers were identified as type I (slow-twitch, oxidative), IIa (fast-twitch, oxido-glycolytic), and IIb fiber (fast-twitch, glycolytic). (B) SDS-PAGE pattern of myosin heavy chain (MHC). SDS-PAGE was carried out using a 8% gel. (C) Analysis of the expression of MHC isoforms by RT-PCR with the use of multiplex PCR.

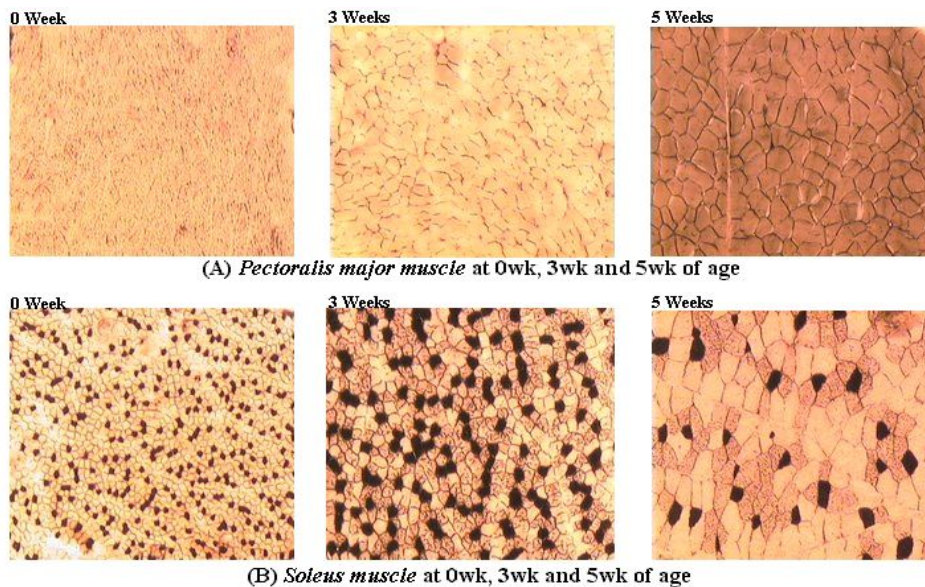
#### 다. 육량증대 연구

근육발달조절인자 및 내분비인자조절을 통한 근육성장능력 향상연구(Ryu 등, 2005, 2007)와 돼지의 근세포관련 DNA표지유전자 탐색을 통한 근육성장 및 이화학적 변이 연구를 실시하고 있으며, 오골계의 근육성장능력 향상연구(Nam 등, 2008)를 실시하였음(Figure 4).

#### 라. 근원섬유 단백질 특성 선행연구

근원섬유 특성 및 육질과의 연관성 연구: Myosin isoform 분석을 통해(Figure 3-B, 3-C), MHC, MLC isoforms와 근원섬유 특성간의 상관관계(Choi 등, 2005, 2006)를 분석하였으며, 이 두 isoform이 사후대사에 미치는 영향을 분석하였음(Choi 등, 2006, 2007).

사후대사와의 연관성 연구: Myosin isoforms와 사후 초기의 lactate, glucose-6-phosphate, glycogen, ATP와의 상관관계를 밝혀내, myosin isoforms가 생체는 물론 사후 초기 대사속도 및 단백질 변성에 관여한다는 것을 밝혀냄(Choi 등, 2007). 사후 대사물질과 근원섬유가 대사속도 및 최종육질에 미치는 영향에 대해 분석하였음(Choe 등, 2008).



**Figure 4.** Serial sections of fast-twitch (*pectoralis major*) (A) and slow-twitch(*soleus*) muscles (B) at hatch, 3 and 5 weeks of age stained for mATPase activity after acidic preincubation. Stained sections were examined by a computerized image analysis system. Muscle fibers were identified as type I, IIA, or IIB by dark, light, and intermediate staining, respectively.

## 제 2 절 연구개발의 전망 및 수준

### 1. 특허, 논문, 제품(시장) 분석을 통한 연구개발의 전망

#### 가. 특허분석 측면

축산 분야에서의 육질과 관련한 기존의 특허들은 특정 형질에 제한된 표지인자를 이용하여 육질을 예측, 평가하는 방법이거나, 육질이 향상된 축종을 육종하기 위해 이용하는 것이었다. 그러나 본 연구과제에서는 광범위하고 복잡한 육질에 영향을 주는 주요 요인인 근섬유단백질 아형의 특성을 분석함으로써 사후대사 변이와 최종 육질의 변이를 설명하고, 육질예측을 가능하게 될 것으로 전망된다.

국내특허는 DNA 표지인자와 관련하여 특허 자체가 국외와 비교하여 미비한 상태이다. 또한 육질과 관련되어 있는 특허 대부분은 소 연구 분야에 치중되어 있으며, 근섬유단백질 특성 분석을 통한 특허보다는 근내지방함량 증대와 관련되어 있는 것이 많다. 본 연구팀은 기존 연구를 통해 근섬유특성과 관련한 DNA 표지인자를 개발한 성과를 바탕으로 본 연구과제에서 근섬유단백질 아형의 특성에 영향을 주는 DNA 표지인자를 개발하는 방향으로 연구를 추진할 계획이다. 따라서, 개발될 DNA 표지인자에 대해서는 특허를 출원할 계획이며, 육종현장에 적극 활용할 수 있는 방안이 될 수 있을 것으로 전망된다.

#### 나. 논문분석 측면

기존의 논문들은 근섬유단백질의 아형과 근섬유 특성간의 연관성을 분석하거나, 근섬유특성이 육질에 미치는 영향에 대해 각각 연구하는데 치중되어있다. 따라서 본 연구를 통하여 근섬유단백질 아형이 갖는 근섬유 특성과의 연관성 연구와 더불어 실제 육질에 줄 수 있는 효과를 밝히려고 한다. 기존의 국부적인 연구에서 벗어나 근섬유와 관련된 전체적인 연구를 수행하는 방향으로 추진할 것이며, 나아가 DNA 표지인자와의 연계를 통해 유전자에서 단백질 발현, 최종 육질 형질까지의 연관성을 탐색하여, 이와 관련된 논문을 게재할 계획이다.

근섬유단백질에 영향을 주는 유전자에 대한 기존 논문은 주로 유전자의 변이 분석 및 다형성이 실제 근섬유단백질 아형과 어떠한 연관성이 있는지 확인하는 것에 국한되어 있다. 따라서 본 연구과제에서는 근섬유단백질 아형과 관련하여 실제 육질변이 및 관능평가에 의한 식감과의 연관성을 밝히는 방향으로 연구를 실시하고, 그 결과를 국외학술지 등에 등재할 계획이다.

#### 다. 제품 및 시장분석 측면

국내 및 국외시장 분석결과 축산식품의 육질이 향상된 제품의 생산량 증가를 위한 노력이 이어지고 있다. 그러나 육질 향상을 위한 방법으로 첨가제를 사용하거나, 특허 국내의 경우 사료에 의한 육질 변화가 주를 이루고 있는 상황이다. 이러한 방법들은 그 효과가 뚜렷이 검증되지 않았고, 객관적인 평가기준이 마련되어 있지 않다. 본 연구과제에서는 사후대사와 최종 육질에 영향을 줄 수 있는 근섬유단백질 특성과 관련된 육질예측인자를 개발하여, 정확하고 객관

적인 육질평가와 예측을 가능함으로써 소비자의 신뢰도를 증진시킬 수 있으며, 축산농가의 경제 활성화에 도움을 줄 것으로 기대된다. 또한 소비자의 신뢰도 증진은 돈육제품에 대한 소비자의 만족감을 높이고, 제품의 투명한 공급을 원활하게 할 수 있을 것이다.

국내 및 국외시장 분석결과 특정 유전자를 보유한 돼지의 생산 및 판매가 이루어지고 있으나, 여러 유전자의 영향을 받는 경제 형질의 특성상 보다 더 주요하고 다양한 유전자와의 연구가 필요하다. 따라서 본 연구과제에서는 기존에 국내에서 행하지 않았던 근섬유단백질의 특성을 이용한 DNA 표지인자 개발을 바탕으로, 육질 개량을 목표로 연구를 추진할 것이다. 따라서 기존 특정 유전자 보유 돼지의 부족한 점을 보완하고, 육질을 향상시켜서 국내 종돈 능력 향상을 꾀할 것이다.

## 2. 연구개발의 목표수준

핵심기술 또는 성과물의 내용	목표 수준			
	세계 유일	선진7개국	우리실정에 맞게 변경	기타
① 근섬유단백질 아형 예측인자 개발		○		
② 근섬유단백질 관련 DNA표지인자 개발		○		

## 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

## 제 1절 근섬유단백질 아형 예측인자 개발

### 1. 근육 및 근섬유단백질 아형 특성 분석

#### 가. 조직학적 기법을 이용한 개체별 근육특성 분석

포유동물은 430개 이상의 골격근으로 구성되어 있으며, 각 골격근은 존재하는 위치에 따라 다양한 특성을 보유하고 있다. 이러한 골격근의 다양한 특성은 근육을 이루고 있는 세포, 즉 근섬유(muscle cell or muscle fiber)의 다양한 특성 및 근섬유 type 조성에 기인한다. 따라서 근섬유는 골격근을 이루는 기본 단위로서 골격근의 수축과 이완의 단위이며 골격근의 주체라고 할 수 있다. 근섬유는 myoglobin 함량으로 red, white 및 intermediate type으로 구분될 수 있으며, 각각의 근섬유가 가진 대사적 특성 및 근수축 속도를 조합하여 type I, IIA 및 IIB로 구분할 수 있는데, 이 때 각 근섬유 type은 서로 다른 형태학적, 대사적, 구조적 특성을 나타낸다(Schiaffino & Reggiani, 1996). 근섬유 type I은 수축속도가 느리고 호기적인 대사능력이 우세하며, type IIB는 수축속도가 빠르고 혐기적인 대사능력이 우세한 근섬유이다. 또한 근섬유 type I은 type IIB에 비해 높은 myoglobin 함량, lipid 함량, 모세혈관 수, mitochondria 수를 나타내지만, glucose 및 glycogen의 함량은 적게 나타난다. 형태학적 특성으로는 근섬유 type I의 크기가 type IIB에 비해서 작게 형성되는데, 본 연구결과에서도 type I의 muscle fiber area가 type IIB에 비해 작았으며(2741 vs. 4490  $\mu\text{m}^2$ ), type IIA(2302  $\mu\text{m}^2$ )도 type IIB에 비해서 작게 분석되었다(Table 1-1). 단위면적 당 근섬유 수 및 등심근의 총 근섬유 분석에서는 근섬유 type IIB의 수가 가장 많은 것으로 분석되었다.

근육의 조직학적 특성은 유전적 요인과 환경적 요인에 의해 형성되는 형질이라고 할 수 있으며, 이러한 요인으로는 종, 품종, 성별, 근육 종류 등을 들 수 있다(Choi & Kim, 2009). 성별에 따라서 근섬유 크기 및 근섬유 type 조성 차이가 발생할 수 있다. 하지만, 일반적으로 돼지의 경우 거세돈과 암돈은 근섬유 크기 및 type 조성에서 큰 차이가 없으며, 본 연구에서도 일반적인 삼원교잡종을 이용하여 분석한 결과 성별의 효과는 미미한 것으로 분석되었다. 각 골격근은 서로 다른 근섬유 type 조성을 가지고 있는데, 예를 들어 다리 쪽 근육인 *vastus intermedius* muscle의 경우 근섬유 type I의 조성이 높은 근육이며(70-80%)이며, 배최장근(*longissimus* muscle)의 경우 근섬유 type IIB의 조성이 높은 근육(80-90%)이다(Klont et al., 1998). 본 연구결과에서도 이와 유사한 경향을 보였는데, 근섬유 type I은 1%에서 15%를 나타냈으며, type IIB는 68%에서 88%를 나타냈다(Table 1-2). 따라서 돼지 등심근은 type IIB 조성이 높은 fast twitch muscle(or white muscle)이라고 판단되며, 호기적 대사에 비해 혐기적 대사가 주된 대사양상이라고 분석된다.



Table 1-1. Muscle fiber characteristics in the porcine *longissimus dorsi* muscle

	<b>Mean ± SD</b>	<b>Minimum</b>	<b>Maximum</b>
<b><i>Muscle fiber area (<math>\mu\text{m}^2</math>)</i></b>			
Mean	4026 ± 772.5	2756	6629
Type I	2741 ± 506.6	1693	4077
Type IIA	2302 ± 503.0	1462	3562
Type IIB	4490 ± 994.0	2927	7584
<b><i>Muscle fiber numbers per <math>\text{mm}^2</math></i></b>			
Sum	256.4 ± 46.36	151.0	363.0
Type I	21.57 ± 11.51	4.00	60.00
Type IIA	33.68 ± 10.55	12.00	57.00
Type IIB	201.3 ± 44.36	114.0	289.0
<b><i>Muscle fiber total numbers (<math>\times 1,000</math>)</i></b>			
Sum	1116 ± 205.8	742.1	1789
Type I	94.50 ± 52.69	18.78	290.3
Type IIA	146.8 ± 46.52	48.73	250.5
Type IIB	874.9 ± 184.8	564.7	1557

Table 1-2. Composition of muscle fiber type in the porcine *longissimus dorsi* muscle

	Mean ± SD	Minimum	Maximum
<b>Muscle fiber number percentage (%)</b>			
Type I	5.71 ± 2.80	1.28	14.74
Type IIA	7.65 ± 2.65	3.30	15.90
Type IIB	86.64 ± 4.28	74.65	94.10
<b>Muscle fiber area percentage (%)</b>			
Type I	8.36 ± 4.15	1.76	20.26
Type IIA	13.42 ± 4.35	4.89	24.89
Type IIB	78.22 ± 5.91	67.79	88.08

#### 나. 생체의 근섬유단백질 아형 특성 및 조성 분석

근섬유 내 단백질은 골격근의 수축과 이완에 직접 또는 간접적으로 관여하며, 근육 및 근섬유 특성에 영향을 준다. 근육 수축 및 이완에 직접적으로 관여하는 단백질로는 myosin과 actin이 있으며, 수축 및 이완을 조절하는 단백질로는 troponin과 tropomyosin이 있다. 이 중 myosin은 molecular motor protein으로 생화학적 대사작용을 통해 화학에너지를 운동에너지로 바꾸는 역할을 한다. 골격근 myosin의 중요한 생물학적 기능으로는 근원섬유의 thick filament 구조를 형성하여 근섬유의 주축을 이루며, ATPase를 가지고 있으며 actin filament와 결합하여 근육의 자율적인 운동을 가능케 하는 것이다. Myosin의 형태학적 특성을 살펴보면, myosin은 hexamer이며 2개의 heavy chain(MHC)과 4개의 light chain(MLC)로 구성되어 있다. Isoform이란 같은 기능을 하는 단백질이지만, amino acid 조성의 작은 차이로 인해 구조적인 차이를 가지며, 이러한 구조적인 차이로 인해 특성이 다른 것을 말하며, 골격근에서 발견되는 대부분의 단백질은 isoforms를 가지고 있다. MHC와 MLC 또한 isoform이 존재한다. 포유동물의 MHC isoform은 mRNA 단위에서 9개의 MHC isoforms로 발견되며, 그 중 MHC 1, 2A, 2X 및 2B isoforms는 성숙 골격근에서 발견되는 isoform이다. 성숙 골격근에서 발견되는 MLC는 ELC 1s, 1f, 3f가 있으며, RLC 2s와 2f가 있다. 본 연구결과에서는 MHC를 slow(MHC 1)와 fast(MHC 2A, 2X, 2B) isoforms로 나누어 분석하였으며, MLC는 1s, 1f, 3f, 2f 및 ELC fast/slow ratio, 1f/3f ratio로 분석하였다(Table 1-3). RLC의 경우 돼지 골격근에서는 2s, 2f isoform이 발견되나, 등심근에서는 2s isoform의 발현량이 극히 소량이어서 분석에서 제외시켰다.

돼지 배최장근에서 MHC isoforms와 근섬유 형태학적인 특성간의 연관성을 분석한 결과 (Table 1-4), 근섬유 type IIA의 크기는 MHC slow isoform과 정의 상관관계를 나타냈으며( $r = 0.21, P < 0.05$ ), 근섬유 평균 크기는 MHC fast/slow ratio와 정의 상관관계를 나타냈다( $r = 0.30, P < 0.01$ ). 근섬유 type I의 단위면적당 수는 MHC slow isoform 조성과 높은 정의 상관관계를 나타냈으며( $r = 0.71, P < 0.001$ ), MHC fast isoform 조성과는 부의 상관관계를 나타냈다( $r = -0.71, P < 0.001$ ).

Table 1-3. Myosin isoform composition in the porcine *longissimus dorsi* muscle

	Mean $\pm$ SD	Minimum	Maximum
<b><i>Myosin heavy chain isoforms (%)</i></b>			
Slow isoform	6.57 $\pm$ 2.96	1.13	13.81
Fast isoform	93.37 $\pm$ 3.04	85.86	98.91
Fast/slow ratio	19.59 $\pm$ 16.28	6.24	90.93
<b><i>Myosin light chain isoforms (%)</i></b>			
1s isoform	4.86 $\pm$ 2.14	1.30	10.34
1f isoform	32.87 $\pm$ 2.41	26.05	39.20
3f isoform	10.59 $\pm$ 2.80	5.47	17.36
ELC isoform	48.32 $\pm$ 3.94	39.53	57.30
RLC isoform	51.68 $\pm$ 3.94	42.70	60.47
ELC fast/slow ratio	11.04 $\pm$ 5.69	3.48	31.29
1f/3f ratio	3.38 $\pm$ 1.17	1.56	7.12

Abbreviations: ELC, essential light chain; RLC, regulatory light chain.

Table 1-4. Correlation coefficients (*r*) between myosin heavy chain isoform content and muscle fiber characteristics in the porcine *longissimus dorsi* muscle

	Myosin heavy chain isoform		
	Slow isoform	fast isoform	fast/slow ratio
<b>Muscle fiber area (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b>			
Mean	-.07	.07	.30**
Type I	-.13	.12	.12
Type IIA	.21*	-.21*	.08
Type IIB	-.01	.01	.21*
<b>Muscle fiber numbers per <math>\text{mm}^2</math></b>			
Sum	.07	-.07	.26**
Type I	.71***	-.71***	-.51***
Type IIA	.01	-.01	-.19
Type IIB	-.12	.12	.07
<b>Muscle fiber total numbers (<math>\times 1,000</math>)</b>			
Sum	.19	-.18	-.26**
Type I	.73***	-.73***	-.56***
Type IIA	.07	-.07	-.21
Type IIB	.02	.02	-.08

근원섬유 단백질의 isoform 조성은 골격근의 수축 특성 및 이화학적 특성에 영향을 미치며, 그 중 myosin isoform은 근섬유의 수축 및 이화학적 특성에 가장 큰 영향을 미치는 isoform으로 근섬유 조성과의 연관성이 크다. 일반적으로 근섬유 type I에는 MHC 1 isoform이 존재하며, type IIA에는 MHC 2A, type IIX에는 2X isoform, type IIB에는 2B isoform이 존재한다. 따라서 근섬유 조성과의 연관성 분석 시 MHC isoform은 사람, 쥐, 말 등 여러 포유동물에서 높은 상관관계를 나타냈다(Fry et al., 1994; Talmadge et al., 1995; Rivero et al., 1997). 본 연구결과에서도 근섬유 type 조성과의 MHC isoform 조성간의 높은 연관성을 나타냈다. MHC slow

isoform은 근섬유 type I의 크기( $r = 0.74, P < 0.001$ ) 및 수( $r = 0.73, P < 0.001$ ) 조성과 높은 정의 상관관계를 나타냈으며, 근섬유 type IIB와는 부의 상관관계를 나타냈다( $r = -0.51$  to  $-0.54$ ). 이와 반대로 MHC fast isoform은 근섬유 type I 크기 조성과 부의 상관관계( $r = -0.73, P < 0.001$ ), IIB와는 정의 상관관계를 나타냈다( $r = 0.54, P < 0.001$ ).

이와 같이 MHC isoform 조성은 근섬유 특성, 특히 근섬유 type 조성에 큰 영향을 미치는 것으로 분석되는데, 이것은 MHC isoform의 ATPase activity 및 수축 능력에 기인된다. 따라서 근섬유 구분 시 type은 MHC isoform에 기준하여 명명하게 된다. 하지만, 근섬유 type 조성과 MHC isoform 조성은 일치되지 않는데 이러한 이유는 두 가지로 설명할 수 있다. 첫 번째는 근섬유의 존재 양상이다. 근섬유는 pure fiber와 hybrid fiber로 구분할 수 있으며, pure fiber에는 MHC isoform 한 가지 종류만 발현된다. 예를 들어 근섬유 type I에는 MHC 1 isoform만이 존재하는 경우이다. Hybrid fiber는 하나의 근섬유에 두 가지 또는 그 이상의 isoform이 존재하는 경우이며 hybrid fiber는 성장 중인 근육 및 어떤 요인에 의해 변화되는 근육에서 발견되는 근섬유이다. 따라서 이러한 근섬유 존재 양상에 의해 MHC isoform과 근섬유 type 조성 간의 불일치 현상이 발생된다. 두 번째로는 근섬유 type 특성에 영향을 미치는 단백질 isoform이 MHC isoform 이외에도 여러 가지가 존재하기 때문이다. 조절 단백질인 troponin과 tropomyosin 등 여러 단백질이 근섬유 특성에 영향을 미칠 수 있으며, 특히 MLC isoform가 근섬유 type의 수축 및 이화학적 특성에 영향을 미친다.

따라서 본 연구에서는 MLC isoform이 근섬유 특성에 미치는 영향을 분석하기 위해 연관성 분석을 실시하였다(Table 1-6과 Table 1-7). MLC 1s isoform 조성은 근섬유 평균 크기( $r = 0.26, P < 0.01$ ), type I 크기( $r = 0.31, P < 0.01$ ), IIB 크기( $r = 0.25, P < 0.01$ )와 정의 상관관계를 나타냈으며, 단위면적당 근섬유 수와는 부의 상관관계를 나타냈다( $r = -0.25, P < 0.01$ ). 이와 반대로 MLC fast/slow ratio는 근섬유 평균 크기( $r = -0.25, P < 0.01$ ) 및 type I의 크기( $r = -0.34, P < 0.01$ )와는 부의 상관관계, 단위면적당 근섬유 수( $r = 0.25, P < 0.01$ )와는 정의 상관관계를 나타냈다. 근섬유 type 조성과의 연관성 분석결과에서는 MLC 1s isoform이 근섬유 type I의 수 ( $r = 0.31, P < 0.01$ ) 및 크기 조성( $r = 0.25, P < 0.01$ )과 정의 상관관계를 나타냈으며, fast/slow ratio는 이와 반대 경향을 나타냈다( $r = -0.31$  and  $r = -0.24$ , respectively). 일반적으로 MLC slow isoform인 1s isoform은 slow twitch muscle fiber인 근섬유 type I에 존재하며, fast isoform인 1f와 3f isoform은 fast-twitch fiber인 type II에 존재한다. 따라서 본 연구결과에서도 slow isoform과 type I간에는 정의 상관관계가 형성되었다.

Table 1-5. Correlation coefficients ( $r$ ) between myosin heavy chain isoform content and muscle fiber composition in the porcine *longissimus dorsi* muscle

	Myosin heavy chain isoform		
	Slow isoform	fast isoform	fast/slow ratio
<i>Muscle fiber number percentage (%)</i>			
Type I	.73 <sup>***</sup>	-.73 <sup>***</sup>	-.60 <sup>***</sup>
Type IIA	.09	-.09	-.12
Type IIB	-.54 <sup>***</sup>	.54 <sup>***</sup>	.47 <sup>***</sup>
<i>Muscle fiber area percentage (%)</i>			
Type I	.74 <sup>***</sup>	-.74 <sup>***</sup>	-.59 <sup>***</sup>
Type IIA	.04	-.04	-.04
Type IIB	-.51 <sup>***</sup>	.50 <sup>***</sup>	.44 <sup>***</sup>

Table 1-6. Correlation coefficients ( $r$ ) between myosin light chain isoform content and muscle fiber characteristics in the porcine *longissimus dorsi* muscle

	Myosin light chain isoform				
	1s	1f	3f	fast/slow	1f/3f
<i>Muscle fiber area (<math>\mu\text{m}^2</math>)</i>					
Mean	.26**	.02	-.08	-.25**	.16
Type I	.31**	-.35**	.04	-.34**	-.10
Type IIA	.20	.03	-.05	-.18	.10
Type IIB	.25**	.08	-.07	-.23*	.17
<i>Muscle fiber numbers per <math>\text{mm}^2</math></i>					
Sum	-.26*	.02	.01	.25**	-.07
Type I	-.06	.21*	-.08	.05	.01
Type IIA	-.07	.14	.02	.11	.08
Type IIB	-.25*	-.08	.03	.24	-.10
<i>Muscle fiber total numbers (<math>\times 1,000</math>)</i>					
Sum	-.04	.01	.13	.24*	-.15
Type I	-.06	.11	-.07	.04	.01
Type IIA	-.03	.04	.06	.17	.08
Type IIB	-.18	-.08	.03	.18	-.10

Table 1-7. Correlation coefficients ( $r$ ) between myosin light chain isoform content and muscle fiber composition in the porcine *longissimus dorsi* muscle

	Myosin light chain isoform				
	1s	1f	3f	fast/slow	1f/3f
<b>Muscle fiber number percentage (%)</b>					
Type I	.31**	.11	-.05	-.31**	-.04
Type IIA	.12	.10	.01	.18	.11
Type IIB	-.11	-.14	.03	.19	-.04
<b>Muscle fiber area percentage (%)</b>					
Type I	.25*	.08	-.04	-.24*	-.09
Type IIA	.10	.10	.01	.18	.08
Type IIB	-.11	-.07	.03	.19	-.14

#### 다. 근육 특성에 영향을 미치는 대사관련 물질 탐색 및 분석

근육은 사후에 다양하고 복잡한 요인들에 영향 받아 생화학, 물리, 구조적인 변화를 거치면서 식육으로 전환하게 된다. 생체 근육의 주요 에너지는 ATP로 creatine phosphate, 호기적 대사 및 혐기적 대사를 이용하여 생산하지만, 도축 후 근육은 방혈에 의해 산소공급이 중단되기 때문에 주로 혐기적 대사에 의해 ATP를 보충 받게된다. 혐기적인 대사는 근섬유 내 glycogen 및 혈액에서 유입되는 free glucose를 주로 이용하게 되며 최종산물인 lactate를 생성하게 된다. 이러한 대사산물들의 변화, 특히 lactate의 축적은 사후 근육 pH의 저하를 가져오게 되며, 사후 pH 저하는 단백질 변성을 심화시켜 보수력, 육색 및 근육 조직특성에 영향을 미친다. 따라서 사후 진행되는 혐기적 대사를 이해하는 것은 육질 향상 및 육질 예측에 중요하며, 본 연구에서는 대사산물인 ATP, glycogen, glucose-6-phosphate (G6P), lactate 함량을 측정하였으며, 이를 이용하여 근육의 glycolytic potential를 분석하였다(Table 1-8). 또한 생체 근육에서 혐기적 대사에 관여하는 효소인 pyruvate kinase (PK)와 lactate dehydrogenase (LDH)를 측정하였다.

Table 1-9에서는 사후 초기 대사산물과 혐기적 대사 효소와의 연관성을 분석하였다. 사후 초기 ATP 함량은 G6P ( $r = 0.31, P < 0.01$ ), glycogen ( $r = 0.53, P < 0.001$ )과 정의 상관관계로 분석되었으며, lactate 함량( $r = -0.45, P < 0.001$ ), GP ( $r = -0.49, P < 0.001$ ), PK 활성도( $r = -0.36, P < 0.001$ )와는 부의 상관관계가 나타났다. Glycogen 함량은 lactate 함량( $r = -0.54, P < 0.001$ ) 및 GP ( $r = -0.32, P < 0.01$ )와 부의 상관관계를 나타냈다. 또한



Lactate 함량이 증가할수록 근육의 혐기적 능력은 유의적으로 증가되는 것으로 분석되었다.

본 연구결과를 종합해 보면, myosin isoform 조성은 근섬유 특성에 영향을 미치는 것으로 분석되었으며, 특히 MHC 1 isoform은 근섬유 type 조성과 높은 연관성이 있는 것으로 분석되어 근육 및 근섬유의 이화화적인 특성을 나타내는 molecular marker로서 합당하다고 판단된다. 사후 대사관련 물질 탐색 연구에서는 사후대사 물질 간 연관성이 분석되었으며, 특히 ATP, glycogen, lactate는 사후대사 정도를 가늠하는데 있어 중요한 물질로 판단되며, 향후 2차년 연구결과와 기초자료로 이용할 예정이다.

Table 1-8. Metabolic characteristics at the early postmortem period in the porcine *longissimus dorsi* muscle

	Mean ± SD	Minimum	Maximum
<b><i>Metabolite contents</i></b>			
ATP	6.53 ± 2.94	0.41	13.05
Glucose-6-phosphate	4.85 ± 1.28	0.67	7.70
Glycogen	36.96 ± 23.38	8.77	95.42.
Lactate	26.65 ± 6.87	15.48	43.45
Glycolytic potential	110.18 ± 46.02	47.74	227.53
<b><i>Glycolytic enzyme activities</i></b>			
PK (U/L)	47.13 ± 7.06	24.14	58.82
LDH (U/L)	712.9 ± 211.1	457.95	1409

Abbreviations: ATP, adenosine triphosphate; PK, private kinase; LDH, latate dehydrogenase.

Table 1-9. Correlation coefficients ( $r$ ) between metabolite contents and glycolytic enzymes at the early postmortem period in the porcine *longissimus dorsi* muscle

	<b>G6P</b>	<b>Glycogen</b>	<b>Lactate</b>	<b>GP</b>	<b>PK</b>	<b>LDH</b>
ATP	.31**	.53***	-.45***	-.49***	-.36***	-.10
G6P		.15	-.08	.19	.04	-.12
Glycogen			-.54***	-.32**	.11	-.06
Lactate				.87***	-.45***	.21*
GP					.21*	.09
PK						-.42

Abbreviations: ATP, adenosine triphosphate; G6P, glucose-6-phosphate; GP, glycolytic potential; PK, private kinase; LDH, lactate dehydrogenase.

## 2. 단백질 아형의 최적 육질 예측인자 선정

### 가. 실험군의 사후대사 및 육질변이 분석

제 1세부과제의 1차년 연구결과에 따르면 Myosin heavy chain(MHC) isoform은 근섬유 특성 및 사후대사 물질과 높은 상관성을 나타내어, 육질 예측인자로서의 가능성을 보여주었다. 1차년 연구에서는 육질 예측인자로서 MHC isoform의 가능성을 삼원교잡종을 통하여 확인하였으나, 일반적으로 myosin을 포함한 근섬유단백질 특성은 품종에 따라 차이가 있는 것으로 알려져 있다. 또한 사후대사 특성 및 육질특성도 품종, 환경, 그리고 유전적 영향을 받는 것으로 알려져 있다. 따라서 2차년 연구에서는 품종에 따른 MHC isoform의 조성 차이와 각 품종에서 MHC isoform이 사후대사 특성 및 육질에 미치는 영향을 분석하여 최적 육질 예측인자로서의 가능성을 알아보하고자 하였다. 이를 위하여 본 연구에서는 버크셔, 듀록, 랜드레이스, 요크셔 4가지 품종으로 구성된 실험군을 조성하고, 환경적 요인을 최대한 배제하기 위해 동일 농장, 동일 사료 등 동일조건하에서 사육하였으며, 도축 전후 조건을 동일하게 하였다. 출하체중에 도달한 실험군은 MHC isoform 분석을 위한 시료를 확보하고, 도축 후 사후대사 특성을 분석하고 육질을 측정하였다. 실험군의 사후대사 변이를 알아보기 위해 사후 45분 및 24시 pH와  $R$ -value( $R_{248}$ ,  $R_{250}$ ,  $R_{258}$ )를 측정하였으며, 육질은 육색, 보수력(drip loss, filter-paper fluid uptake, cooking loss), 연도(shear force)를 측정하였다.

생체근육에서는 creatine phosphate 및 호기적 대사와 혐기적 대사를 통하여 adenosine triphosphate (ATP)를 생산한다. 그러나 도축 시 방혈이 이루어지면, 혈액을 통한 산소공급이 불가능해져 호기적 대사는 제한을 받으며, 따라서 혐기적 대사에 의해 ATP를 생산하게 된다. 혐기적 대사는 최종 대사산물로 lactate를 생산하며, 사후에는 방혈로 인하여 lactate가 근육 밖으로 이동하지 못하고 근육 내 축적된다. 이로 인해 사후 근육의 pH는 약 7.4에서부터 저하하기 시작하여 사후대사가 종결되는 시점에는 약 5.3 ~ 5.7 정도의 pH를 나타나게 된다(Scheffler & Gerrard, 2007). 따라서 사후 근육의 pH는 사후대사의 지표로서 사용될 수 있으며, 사후 45분 pH는 사후 초기의 대사속도를 가늠할 수 있고, 사후 24시의 pH는 사후대사의 범위를 가늠할 수 있다.

사후 근육이 식육으로 변하는 과정에 있어서 중요한 변화 중 한 가지는 부드럽고 신전성이 있는 식육이 신전성이 낮아져 단단한 식육으로 바뀌는 것이며, 이를 사후강직이라 한다. 사후강직은 myosin과 actin 사이에 불가역적이고 영구적인 상호결합이 형성되기 때문이다. 생체에서 myosin과 actin 사이의 결합은 다시 이완되지만, 사후 근육은 결합을 해리시킬 수 있는 에너지인 ATP가 고갈되어 결합된 상태로 남아있게 되는 것이다. 사후강직이 이루어지는 동안 ATP는 adenosine diphosphate(ADP), adenosine monophosphate(AMP)로 탈인산화되며, 이는 다시 inosine monophosphate (IMP)로 탈아미노화된 후 최종적으로 inosine과 hypoxanthine이 된다(Koh 등, 1993). ATP, ADP, AMP의 최대 흡수파장은 258-260 nm이며, IMP와 inosine은 248-259 nm, hypoxanthine은 250 nm이다(Bendall & Davey, 1957; Newbold & Scopes, 1967; Khan & Frey, 1971; Honikel & Fischer, 1977). ATP가 최종 hypoxanthine으로 대사되는 과정과 이러한 물질들의 최대흡수파장을 이용하여 사후강직 정도 및 사후초기 대사속도를 가늠할 수 있다. 예를 들어 최종 산물인 hypoxanthine의 함량이 높을수록 사후대사 속도가 빠르다고 판단할 수 있으며, 이와 반대로 ATP 함량이 높다면 사

후대사 속도가 완만하게 진행되는 것을 의미한다. 따라서 hypoxanthine과 adenine의 비율 ( $R_{250}$ )은 이상육을 판별하는 지표로서 사용되기도 하며, 1.05 이상일 경우 이상육일 가능성이 높다(Honikel & Fischer, 1977). 본 과제에서 실험군의 pH 및  $R$ -value의 분석결과, 모든 항목의 평균값이 정상범위 안에 들었으며, 표준편차 및 최소값, 최대값이 실험군의 분포가 넓은 것을 잘 나타내고 있다(Table 2-1).

Table 2-1. Postmortem glycolytic characteristics in the porcine *longissimus dorsi* muscle

	Mean $\pm$ SD	Min.	Max.
<b>Muscle pH</b>			
pH <sub>45 min</sub>	6.25 $\pm$ 0.24	5.44	6.78
pH <sub>24 h</sub>	5.76 $\pm$ 0.25	5.34	6.61
<b><math>R</math>-value</b>			
$R_{248}$	0.85 $\pm$ 0.15	0.63	1.31
$R_{250}$	0.91 $\pm$ 0.14	0.71	1.34
$R_{258}$	1.13 $\pm$ 0.13	0.81	1.37

육질은 환경 및 유전적 요인에 영향을 받는 것으로 알려져 있다. 육질측정은 기기나 표준화된 기준 및 방법에 의해 측정하는 기계적 육질평가가 있으며, 사람의 감각기관에 의해 평가하는 관능적 육질평가가 있다. 따라서 본 연구에서는 실험군의 육질을 객관적으로 분석하기 위해 기계적 육질평가를 실시하였으며, 이를 위해 육색, 보수력, 연도를 분석하였다. 육색은 색도계(CR-300, Minolta Camera Co., Japan)를 이용하여 측정하고, 국제조명위원회(Commission Internationale de l'Éclairage)의 명도(lightness), 적색도(redness), 황색도(yellowness)로 나타내었다. 식육의 보수력을 가늠하기 위해 육즙손실량(drip loss), 가열감량(cooking loss; Honikel, 1998) 및 여과지흡수량(filter-paper fluid uptake; Kauffman 등, 1986)을 측정하였다. 마지막으로 Universal Testing Machine (Model 1011, Instron Co., USA)으로 전단력을 측정하여 연도를 예측하였다.

일반적으로 육질을 평가 시 기준이 되는 육질평가항목은 명도와 육즙손실량으로 명도가 50 이상, 육즙손실량이 6% 이상일 경우 이상육으로 판단한다. 본 실험군의 육질평가 결과 정상적인 육질부터 이상육질까지 다양하게 분포하는 것으로 나타났으며, 평균적으로는 정상육의 품질 범위에 속하는 것으로 분석되었다(Table 2-2).

Table 2-2. Meat quality characteristics in the porcine *longissimus dorsi* muscle

	Mean ± SD	Min.	Max.
<b><i>Meat color</i></b>			
Lightness	45.65 ± 3.56	32.72	57.63
Redness	6.83 ± 1.16	3.54	9.82
Yellowness	2.30 ± 0.78	0.73	5.52
<b><i>Water holding capacity</i></b>			
Drip loss (%)	2.93 ± 1.99	0.57	13.91
FFU (mg)	31.50 ± 23.3	3.50	141.60
Cooking loss (%)	28.65 ± 5.79	5.65	46.84
<b><i>Tenderness parameter</i></b>			
Shear force (N)	52.05 ± 15.6	23.71	113.79

Abbreviation: FFU, Filter paper fluid uptake.

일반적으로 골격근은 근섬유로 이루어져 있으며, 근섬유는 근수축 속도 및 대사적 특성에 의해 I IIA, IIB 세 가지 유형으로 구분된다(Schiaffino & Reggiani, 1996). 일반적으로 근섬유 유형 I의 단면적은 유형 IIB보다 작으며, myoglobin 함량 및 모세혈관 분포도가 높아 호기적 대사특성이 강하다. 반대로 근섬유 유형 IIB는 단면적이 크며, myoglobin 함량 및 모세혈관 분포도가 낮아 혐기적 대사특성이 강하며, 유형 IIA는 유형 I과 IIB의 중간적인 특성을 나타낸다(Lawrie, 1985).

근섬유 내 존재하고, 근육의 수축과 이완에 직접적으로 관여하며, 근육의 대사특성에 영향을 주는 대표적인 단백질로는 myosin이 있다. Myosin은 2개의 subunit로 구성되어 있으며(myosin heavy chain과 myosin light chain), 이 중 MHC는 크게 slow와 fast isoform으로 구분할 수 있으며, 세부적으로는 1, 2A, 2X, 2B로 나눌 수 있다. 본 실험군의 배최장근(*longissimus dorsi* muscle)을 분석한 결과 근섬유 유형 IIB의 단면적이 I과 IIA보다 큰 것으로 나타났으며, IIB의 조성이 I이나 IIA보다 매우 높은 것으로 나타났다(Table 2-3). 또한 MHC slow와 fast isoform의 조성도 근섬유 유형 조성 과 유사한 수치를 나타냈으며, 이는 기존 연구와 일치하는 결과이다(Ryu와 Kim, 2005; Choi와 Kim, 2009).

Table 2-3. Myosin heavy chain isoforms composition and muscle fiber characteristics in the porcine *longissimus dorsi* muscle

	<b>Mean ± SD</b>	<b>Min.</b>	<b>Max.</b>
<b><i>Myosin heavy chain isoforms</i></b>			
Slow isoform (%)	6.03 ± 2.87	0.40	16.46
Fast isoform (%)	93.97 ± 2.87	83.54	99.60
Fast/slow ratio	22.17 ± 22.5	5.07	249.07
<b><i>Cross-sectional area (μm<sup>2</sup>)</i></b>			
Mean	4515 ± 758	2745	7119
Type I	3340 ± 752	1078	6016
Type IIA	2967 ± 821	1550	11596
Type IIB	4952 ± 920	2771	8522
<b><i>Muscle fiber area composition (%)</i></b>			
Type I	6.88 ± 3.25	0.07	17.82
Type IIA	8.52 ± 2.92	0.58	19.51
Type IIB	84.60 ± 4.25	70.92	94.73
<b><i>Muscle fiber density (number/mm<sup>2</sup>)</i></b>			
Sum	227 ± 36.1	140	364
Type I	21 ± 9.94	1	56
Type IIA	30 ± 10.7	2	72
Type IIB	177 ± 33.9	92	319

Myosin을 포함한 근섬유 내 단백질들은 품종, 유전적 영향을 받는 것으로 알려져 있으며, 육질도 품종, 환경, 유전적 영향을 받는 것으로 알려져 있다. 따라서 Table 2-4에서는 품종 간 사후대사 특성, 육질 및 MHC 조성 비교를 통해 품종효과를 분석하였다. 사후대사 특성은 사후 45분 및 24시 pH를 제외하고 품종 간 유의적 차이가 없는 것으로 나타났다. 사후 45분 pH는 랜드레이스가 다른 품종에 비해 낮았으며( $P < 0.10$ ), 사후 24시 pH는 버크셔가 유의적으로 가장 높은 것으로 분석되었다( $P < 0.01$ ).

품종 간 육질비교 결과, 사후대사 특성과는 다르게 품종 간 육질차이가 뚜렷하였다(Table 2-5). 랜드레이스의 경우, 정상적인 범위의 명도를 나타내었으나, 육즙손실량, 여과지흡수량, 가열감량의 수치가 높아 보수력이 낮은 것으로 평가되었으며, 랜드레이스를 제외한 모든 품종은 명도(lightness  $< 50$ )와 육즙손실량(drip loss  $< 6.0$ ) 수치가 정상범위에 속해있는 것으로 나타났다. 특히 버크셔 품종은 보수력이 우수한 것으로 분석되었으며, 연도를 가늠할 수 있는 진단력의 경우 가장 낮은 수치를 나타내 연도가 우수한 것으로 판단된다( $P < 0.001$ ).

Table 2-6에서는 다양한 품종 간 MHC isoform 조성과 근섬유 특성을 비교하였다(Table 6). 품종 간 육질특성이 뚜렷한 차이를 보인 것과 다르게 MHC isoform의 조성은 유의적 차이가 없었다. 특히 명도가 높고, 보수력이 낮은 것으로 평가되었던 랜드레이스는 MHC slow isoform 조성에서 유의성은 없으나 다른 품종에 비해 다소 높은 수치를 나타내었다. 근섬유 특성에서는 근섬유 단면적을 제외하고, 품종 간 유의적 차이가 없는 것으로 나타났다. 근섬유 단면적에서는 랜드레이스의 근섬유 평균 단면적이 듀록 및 요크셔에 비해 큰 것으로 나타났으며( $P < 0.10$ ), 근섬유 유형 I의 단면적은 버크셔가 다른 품종에 비해 유의적으로 작았다( $P < 0.001$ ). 근섬유 유형 IIB의 단면적은 랜드레이스가 가장 큰 것으로 나타났으며( $P < 0.05$ ), 유형 IIA의 단면적은 품종 간 유의적 차이가 없었다.

MHC isoform의 조성과 근섬유 특성과의 연관성을 알아보기 위해 상관분석을 실시하였다(Table 2-7). 상관분석 결과 MHC isoform 조성은 근섬유 단면적 및 근섬유 밀도와 유의적 상관관계가 없는 것으로 나타났다. 그러나 근섬유 유형별 면적 조성과는 유의적 상관관계가 있는 것으로 나타났으며, MHC slow isoform은 근섬유 유형 I 면적 조성과의 상관계수( $r = 0.22$ ,  $P < 0.01$ )를, 유형 IIB와는 부의 상관계수( $r = 0.18$ ,  $P < 0.05$ )를 나타내었다. 또한 근섬유 유형 I의 밀도와 정의 상관계수( $r = 0.23$ ,  $P < 0.01$ )를 보였다. MHC fast isoform은 slow isoform의 반대 경향을 보이며, 근섬유 유형 I 면적 조성과의 부의 상관계수( $r = -0.22$ ,  $P < 0.01$ ), 유형 IIB와 정의 상관계수( $r = 0.18$ ,  $P < 0.05$ ), 근섬유 유형 I의 밀도와 부의 상관계수( $r = -0.23$ ,  $P < 0.01$ )를 나타냈다.

실험군의 사후대사 및 육질 변이분석 결과를 종합해보면, 실험군의 사후대사 및 육질특성은 정상적인 수치에서부터 이상육이라 판단되는 수치까지 다양하게 나타났으며, 평균적으로는 정상범위 내에 속하는 것으로 나타났다. 하지만 랜드레이스의 경우 보수력에서 이상적인 수치를 나타내었고, 반대로 버크셔는 보수력 및 연도가 높은 것으로 나타났다. 한편 MHC isoform의 조성은 품종 간 차이가 없었으나, 근섬유 유형별 면적 조성과의 유의적 상관관계를 나타내었다.

Table 2-4. Postmortem metabolic characteristics in various pig breeds

	Breeds				Level of significance
	Berkshire (n=204)	Duroc (n=38)	Landrace (n=60)	Yorkshire (n=29)	
<i>Muscle pH</i>					
pH <sub>45 min</sub>	6.19 <sup>a</sup> (0.05) <sup>1</sup>	6.22 <sup>a</sup> (0.07)	6.07 <sup>b</sup> (0.05)	6.19 <sup>a</sup> (0.06)	†
pH <sub>24 h</sub>	5.78 <sup>a</sup> (0.06)	5.68 <sup>b</sup> (0.07)	5.69 <sup>b</sup> (0.06)	5.64 <sup>b</sup> (0.07)	**
<i>R-value</i>					
R <sub>248</sub>	0.95 (0.03)	0.95 (0.05)	0.93 (0.04)	0.91 (0.04)	NS
R <sub>250</sub>	1.00 (0.03)	1.01 (0.04)	0.99 (0.03)	0.97 (0.04)	NS
R <sub>258</sub>	1.05 (0.03)	1.05 (0.04)	1.07 (0.03)	1.08 (0.04)	NS

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

<sup>1</sup> Standard error of least-square means.

<sup>a-b</sup> Least-square means with different superscripts in the same row differ significantly ( $P < 0.05$ ).



Table 2-5. Meat quality characteristics of *longissimus dorsi* muscle in various pig breeds

	Breeds				Level of significance
	Berkshire	Duroc	Landrace	Yorkshire	
<i>Meat color</i>					
Lightness	46.34 <sup>b</sup> (0.68) <sup>1</sup>	48.05 <sup>a</sup> (0.83)	47.53 <sup>a</sup> (0.75)	46.21 <sup>b</sup> (0.79)	***
Redness	6.84 <sup>b</sup> (0.37)	5.99 <sup>c</sup> (0.45)	6.62 <sup>bc</sup> (0.41)	7.54 <sup>a</sup> (0.43)	***
Yellowness	2.53 <sup>bc</sup> (0.22)	2.74 <sup>ab</sup> (0.27)	2.40 <sup>c</sup> (0.24)	2.94 <sup>a</sup> (0.25)	**
<i>Water holding capacity</i>					
Drip loss (%)	5.34 <sup>b</sup> (0.37)	5.80 <sup>ab</sup> (0.45)	6.10 <sup>a</sup> (0.41)	5.63 <sup>ab</sup> (0.43)	*
FFU (mg)	48.28 <sup>b</sup> (7.29)	52.43 <sup>b</sup> (8.86)	70.84 <sup>a</sup> (7.94)	46.25 <sup>b</sup> (8.38)	***
Cooking loss (%)	26.01 <sup>c</sup> (1.40)	27.87 <sup>c</sup> (1.17)	33.97 <sup>a</sup> (1.52)	30.60 <sup>b</sup> (1.61)	***
<i>Tenderness parameter</i>					
Shear force (N)	41.78 <sup>b</sup> (5.15)	53.78 <sup>a</sup> (6.27)	55.43 <sup>a</sup> (5.61)	51.97 <sup>a</sup> (5.93)	***

Abbreviation: FFU, Filter paper fluid uptake.

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

<sup>1</sup> Standard error of least-square means.

<sup>a-c</sup> Least-square means with different superscripts in the same row differ significantly ( $P < 0.05$ ).

Table 2-6. Myosin heavy chain isoform composition and muscle fiber characteristics of *longissimus dorsi* muscle in various pig breeds

	Breeds				Level of significance
	Berkshire	Duroc	Landrace	Yorkshire	
<b><i>Myosin heavy chain isoforms</i></b>					
Slow isoform (%)	5.65 (0.54) <sup>1</sup>	5.75 (0.87)	7.01 (0.68)	5.59 (0.79)	NS
Fast isoform (%)	94.35 (0.54)	94.25 (0.87)	92.99 (0.68)	94.41 (0.79)	NS
Fast/slow ratio	25.69 (5.31)	20.28 (8.57)	20.34 (6.69)	18.27 (7.77)	NS
<b><i>Cross-sectional area (<math>\mu\text{m}^2</math>)</i></b>					
Mean	4414 <sup>ab</sup> (177)	4148 <sup>b</sup> (265)	4666 <sup>a</sup> (210)	4267 <sup>b</sup> (213)	†
Type I	3696 <sup>a</sup> (174)	2744 <sup>b</sup> (260)	3110 <sup>b</sup> (206)	2978 <sup>b</sup> (209)	***
Type IIA	2963 (154)	2640 (230)	2905 (182)	2620 (184)	NS
Type IIB	4699 <sup>b</sup> (215)	4585 <sup>b</sup> (321)	5252 <sup>a</sup> (254)	4808 <sup>ab</sup> (258)	*
<b><i>Muscle fiber area composition (%)</i></b>					
Type I	7.69 (0.83)	6.48 (1.24)	7.22 (0.98)	7.71 (1.00)	NS
Type IIA	8.37 (0.75)	8.52 (1.12)	8.47 (0.88)	8.42 (0.90)	NS
Type IIB	83.94 (1.06)	85.01 (1.58)	84.31 (1.25)	83.87 (1.27)	NS
<b><i>Muscle fiber density (number/<math>\text{mm}^2</math>)</i></b>					
Sum	231 (7.99)	240 (11.9)	217 (9.45)	236 (9.59)	NS
Type I	20 (2.54)	23 (3.80)	24 (3.01)	26 (3.05)	NS
Type IIA	29 (2.69)	32 (4.01)	29 (3.18)	32 (3.23)	NS
Type IIB	182 (7.36)	185 (11.0)	164 (8.71)	178 (8.84)	NS

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

<sup>1</sup> Standard error of least-square means.

<sup>a-b</sup> Least-square means with different superscripts in the same row differ significantly ( $P < 0.05$ ).

Table 2-7. Correlation coefficient ( $r$ ) between myosin heavy chain isoform content and muscle fiber characteristics of *longissimus dorsi* muscle in various pig breeds

	Myosin heavy chain isoform		
	Slow isoform	fast isoform	fast/slow ratio
<b><i>Cross-sectional area (<math>\mu\text{m}^2</math>)</i></b>			
Mean	0.00	0.00	-0.08
Type I	0.02	-0.02	-0.01
Type IIA	0.07	-0.07	-0.10
Type IIB	0.01	-0.01	-0.10
<b><i>Muscle fiber area composition (%)</i></b>			
Type I	0.22**	-0.22**	-0.20*
Type IIA	0.01	-0.01	0.04
Type IIB	-0.18*	0.18*	0.13
<b><i>Muscle fiber density (number/mm<sup>2</sup>)</i></b>			
Sum	-0.02	0.02	0.08
Type I	0.23**	-0.23**	-0.21*
Type IIA	-0.05	0.05	0.12
Type IIB	-0.07	0.07	0.11

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ .

## 나. 단백질 아형 후보예측인자와 사후대사 특성의 연관성 분석

육질예측 인자인 MHC isoform의 조성과 사후대사 특성과의 연관성을 분석하기 위해 두 항목 간 상관분석을 실시하였다. 사후대사 특성을 나타내기 위해 사후 45분 및 24시 pH와  $R_{250}$ 을  $R$ -value의 대표값으로 선정하였으며, 품종의 영향을 고려하기 위해 전체 실험군 및 각 품종별로 나누어 분석을 하였다. 앞서 기술한 바와 같이 사후대사에 의해 생성되는 lactate는 근육 내에 축적되면서 근육의 pH를 저하시키기 때문에, 사후 pH는 사후대사 진행 정도를 가늠할 수 있는 지표로서 사용되기도 한다. 특히 사후 45분 pH를 이용하여 사후 초기의 사후대사 속도를 가늠해 볼 수 있다. 또한 사후 45분에 측정된  $R$ -value는 ATP의 탈인산화와 탈아미노화의 진행 정도를 가늠할 수 있으며, adenine 계열의 화합물과 inosine 계열의 화합물의 비율을 나타내는  $R_{250}$ 은 1.05를 기준으로 빠른 사후 초기 대사속도 및 이상육의 판별 지표로서 사용되기도 한다(Honikel & Fischer, 1977).

전체 실험군에서 MHC isoform 조성과 사후대사 항목 간 유의적 상관관계는 없는 것으로 분석되었다(Table 2-8). 각 품종별로 나누어 실시한 MHC isoform 조성과 사후대사 항목 간 분석결과, 버크셔에서 MHC slow isoform 조성은 사후 24시 pH와 정의 상관관계( $r = 0.26$ ,  $P < 0.01$ )를, 듀록에서는 사후 45분 pH와 정의 상관관계( $r = 0.49$ ,  $P < 0.01$ )를 나타내었다(Table 2-9). 랜드레이스에서는 MHC slow isoform과 사후대사 항목 간 유의적 상관관계가 나타나지 않았으나, 요크셔에서는 MHC fast isoform과 slow isoform의 비율이 사후 45분 pH와 부의 상관관계( $r = -0.25$ ,  $P < 0.05$ ),  $R$ -value와 정의 상관관계( $r = 0.30$ ,  $P < 0.05$ )가 있는 것으로 분석되었다.

MHC isoform 조성과 사후대사 특성 간 상관분석 결과를 종합해보면, 품종에 따라 유의적 상관관계의 유무가 달랐으나, MHC slow isoform 조성이 높을수록 사후 45분 및 24시 pH가 높고, slow isoform에 대한 fast isoform의 비율이 높을수록  $R_{250}$  수치가 높아, MHC fast isoform의 조성이 높을수록 사후대사 속도가 빠르게 진행되는 것으로 분석되었다.

Table 2-8. Correlation coefficient ( $r$ ) between myosin heavy chain isoform content and postmortem metabolic characteristics of *longissimus dorsi* muscle

	Myosin heavy chain isoform		
	Slow isoform	fast isoform	fast/slow ratio
pH <sub>45 min</sub>	0.08	-0.08	-0.15
pH <sub>24 h</sub>	0.05	-0.05	-0.08
$R_{250}$	-0.05	0.05	0.10

Table 2-9. Correlation coefficient ( $r$ ) between myosin heavy chain isoform content and postmortem metabolic characteristics of *longissimus dorsi* muscle in each pig breed

	Myosin heavy chain isoform		
	Slow isoform	fast isoform	fast/slow ratio
<b><i>Berkshire</i></b>			
pH <sub>45 min</sub>	-0.01	0.01	0.11
pH <sub>24 h</sub>	0.26**	-0.26**	-0.32***
$R_{250}$	0.14	-0.14	-0.18
<b><i>Duroc</i></b>			
pH <sub>45 min</sub>	0.49**	-0.49**	-0.49**
pH <sub>24 h</sub>	-0.13	0.13	0.12
$R_{250}$	-0.29	0.29	0.2
<b><i>Landrace</i></b>			
pH <sub>45 min</sub>	0.05	-0.05	-0.29
pH <sub>24 h</sub>	-0.10	0.10	0.06
$R_{250}$	-0.14	0.14	0.33
<b><i>Yorkshire</i></b>			
pH <sub>45 min</sub>	0.02	-0.02	-0.25*
pH <sub>24 h</sub>	-0.14	0.14	0.07
$R_{250}$	-0.11	0.11	0.30*

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ .

## 다. 단백질 아형 후보예측인자와 육질 특성의 연관성 분석

육질예측 인자인 MHC isoform와 육질특성 항목 간 연관성 알아보기 위하여, 사후대사 특성과 같은 방법으로 대표적 육질항목인 육색(명도, 적색도, 황색도)과 보수력(육즙손실량, 여과지흡수량)을 선정하여 MHC isoform 조성과의 상관분석을 실시하였다. 상관분석은 전체 실험군 및 각 품종별로 나누어 실시하였다. 돈육의 육질평가에서 중요시되는 항목은 명도와 육즙손실량으로, 명도가 높을수록 창백한 육색을 보이고, 육즙손실량이 높을수록 고기표면으로 수분이 많이 삼출된다. 특히 명도가 50이상이고, 육즙손실량이 6%이상인 경우, 육색이 창백하고, 조직이 흐물거리며, 육즙의 삼출이 많은 이상육(pale, soft, exudative; PSE)을 나타낸다(Ryu & Kim, 2006).

전체 실험군의 MHC isoform 조성과 육질항목간 상관관계 분석결과를 보면, fast isoform과 slow isoform의 비율이 여과지흡수량과 정의 상관관계( $r = 0.17, P < 0.05$ )를 나타내었고, 이를 제외하면 유의적 상관관계가 없는 것으로 나타났다(Table 2-10). 각 품종별로 살펴보면, 버크셔에서 MHC slow isoform의 조성은 적색도( $r = 0.21, P < 0.05$ ) 및 황색도( $r = 0.18, P < 0.05$ )와 정의 상관관계를 가지는 것으로 나타났으며, 육즙손실량( $r = -0.19, P < 0.05$ ) 및 여과지흡수량( $r = -0.21, P < 0.05$ )과는 부의 상관관계를 가지는 것으로 나타났다(Table 2-11). MHC fast isoform 조성과 fast/slow ratio는 slow isoform 조성과 반대 경향을 나타내었다. 요크셔에서는 fast/slow ratio가 여과지흡수량과 정의 상관관계( $r = 0.25, P < 0.05$ )를 나타내었다. 그러나 이를 제외하면 듀록, 랜드레이스, 요크셔에서는 MHC isoform 조성과 육질항목간 유의적 상관관계는 나타나지 않았다.

MHC isoform 조성과 육질항목간 상관분석 결과를 종합해보면, 버크셔 품종에서 MHC isoform 조성과 육질항목간 유의적 상관관계가 높은 것으로 나타났으며, 특히 MHC slow isoform의 조성이 높을수록 적색도가 높고 육즙손실량 및 여과지흡수량이 낮아지는 등 육질이 좋은 경향을 나타내는 것으로 분석되었다.

Table 2-10. Correlation coefficient ( $r$ ) between myosin heavy chain isoform content and meat quality characteristics of *longissimus dorsi* muscle in various pig breeds

	Myosin heavy chain isoform		
	Slow isoform	fast isoform	fast/slow ratio
Lightness	0.04	-0.04	0.01
Redness	0.02	-0.02	-0.05
Yellowness	0.03	-0.03	-0.11
Drip loss	-0.06	0.06	0.10
FFU	-0.02	0.02	0.17*

Abbreviation: FFU, Filter paper fluid uptake.

\*  $P < 0.05$ .

Table 2-11. Correlation coefficient ( $r$ ) between myosin heavy chain isoform content and meat quality characteristics of *longissimus dorsi* muscle in each pig breed

	Myosin heavy chain isoform		
	Slow isoform	fast isoform	fast/slow ratio
<b><i>Berkshire</i></b>			
Lightness	-0.01	0.01	0.05
Redness	0.21*	-0.21*	-0.24**
Yellowness	0.18*	-0.18*	-0.15
Drip loss	-0.19*	0.19*	0.20*
FFU	-0.21*	0.21*	0.19*
<b><i>Duroc</i></b>			
Lightness	-0.07	0.07	-0.01
Redness	0.18	-0.18	-0.10
Yellowness	0.08	-0.08	-0.12
Drip loss	-0.17	0.17	0.22
FFU	-0.02	0.02	0.05
<b><i>Landrace</i></b>			
Lightness	-0.08	0.08	0.09
Redness	-0.03	0.03	-0.01
Yellowness	-0.02	0.02	-0.11
Drip loss	0.04	-0.04	0.04
FFU	-0.24	0.24	0.29
<b><i>Yorkshire</i></b>			
Lightness	0.16	-0.16	0.04
Redness	-0.15	0.15	-0.01
Yellowness	-0.03	0.03	-0.11
Drip loss	0.09	-0.09	0.03
FFU	-0.06	0.06	0.25*

Abbreviation: FFU, Filter paper fluid uptake.

\*  $P < 0.05$ .



MHC isoform의 육질예측 인자로서의 가능성을 확인하기 위하여 현재 축산물품질관리원에서 실시하고 있는 돼지 냉도체 육질등급판정과 비교분석을 실시하였다. 분석은 냉도체 육질등급판정 기록이 있는 실험군을 육질등급에 따라 분류하고, 각 등급에서의 MHC slow isoform 조성을 분석하였다. 앞의 분석과 마찬가지로 전체 실험군 및 각 품종별로 나누어 분석을 실시하였다. 먼저 품종별로 살펴보면, 버크셔와 요크셔에서는 육질등급 간 MHC slow isoform 조성의 유의적 차이가 나타나지 않았다(Table 2-12). 요크셔에서는 1+ 등급을 받은 개체가 없었으며, 분석 가능한 실험군의 수가 적어 유의적 차이가 나타나지 않은 것으로 판단된다. 버크셔의 경우 1 등급과 2 등급을 받는 개체의 수가 충분히 높았지만, 1+ 등급을 받은 개체가 한 마리이기 때문에 등급 간 MHC slow isoform 조성의 유의적 차이가 나타나지 않은 것으로 판단된다. 그러나 버크셔의 경우 1+ 등급의 개체가 1 혹은 2 등급의 개체들보다 MHC slow isoform의 조성이 수치상 높은 것을 확인할 수 있다. 듀록과 랜드레이스에서는 육질등급 간 MHC slow isoform 조성의 유의적 차이가 나타났으며, 1+ 등급이 1 등급과 2 등급에 비해 유의적으로 높은 것으로 나타났다. 전체 실험군을 대상으로 분석을 실시하였을 경우, 듀록, 랜드레이스에서와 마찬가지로 1+ 등급이 1 등급과 2 등급보다 유의적으로 높은 것으로 나타났다( $P < 0.01$ ).

MHC isoform의 조성을 현행 축산물품질관리원의 돼지 냉도체 육질등급판정결과와 비교분석한 결과, MHC slow isoform 조성이 1 등급이나 2 등급보다 1+ 등급에서 높았으며, 따라서 MHC isoform의 육질예측인자로서의 가능성이 높은 것으로 판단된다.

2차년 연구결과를 종합해보면, MHC isoform 조성은 품종 간 차이가 없는 것으로 나타났으나, 육질은 품종에 의한 영향을 받는 것으로 나타났다. 또한 MHC slow isoform 조성이 높을수록 사후 초기 대사속도가 정상이며, 사후대사 범위도 정상적인 것으로 나타났고, 육질 항목 중 보수력이 증가되는 것으로 분석되었다. 현행 축산물품질관리원의 육질등급 판정과 비교 시, 1+ 등급에서 MHC slow isoform의 조성이 유의적으로 높은 것으로 나타났다. 따라서 MHC slow isoform의 조성은 육질 예측인자로서의 가능성이 충분한 것으로 판단된다.

Table 2-12. Myosin heavy chain slow isoform content of *longissimus dorsi* muscle in quality grades of cold pork carcass by Animal products grading service

	Quality grades of cold pork carcass			Level of significance
	1+	1	2	
<b>Total (n=225)</b>	9.41 <sup>a</sup> (n=8)	5.43 <sup>b</sup> (n=175)	4.96 <sup>b</sup> (n=42)	**
Berkshire (n=127)	7.83 (n=1)	5.82 (n=97)	5.40 (n=29)	NS
Duroc (n=32)	8.98 <sup>a</sup> (n=4)	4.87 <sup>b</sup> (n=27)	3.12 <sup>b</sup> (n=1)	†
Landrace (n=46)	11.3 <sup>a</sup> (n=3)	6.67 <sup>b</sup> (n=33)	5.86 <sup>b</sup> (n=10)	*
Yorkshire (n=20)	-	4.65 (n=18)	5.21 (n=2)	NS

Level of significance: NS, not significant; †  $P < 0.1$ ; \*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ .

<sup>a-b</sup> Least-square means with different superscripts in the same row differ significantly ( $P < 0.05$ ).

### 3. 단백질 아형 예측인자의 검증

#### 가. 단백질 아형의 특성 분석을 통한 단백질체 능력 검증

1차년과 2차년 연구결과를 통해 근섬유단백질 아형의 하나인 myosin heavy chain (MHC) 이 육질예측인자로서 가능성을 보여주었으며, 그 중에서도 slow isoform이 가장 적합한 것으로 나타났다. 본 세부연구의 최종 목표인 육질예측인자의 선정 및 검증을 위해 3차년에는 MHC slow isoform의 육질예측인자로서의 가능성을 검증한다. 3차년 연구기간동안 국내에 구제역이 발생하여 실험군의 확보 및 실험이 이루어지기 어려웠고, 제한적으로 이루어져 많은 수의 실험군을 확보하지 못 하였다.

MHC slow isoform의 육질예측인자로서의 가능성을 검증하기 위해, 첫째로 MHC slow isoform 조성을 기준변수로 군집분석을 실시하였으며, 군집분석에 의해 2그룹으로 분류하였다. 첫 번째로 실험군 전체의 기초통계량을 살펴보면, MHC slow isoform의 조성이  $6.03 \pm 2.80$ 으로 나타났다. 사후대사 특성에서도  $pH_{45 \text{ min}}$ 이 평균 6.0을 넘으며,  $pH_{24 \text{ h}}$  역시 평균 5.76이었으며,  $R$ -value 수치도 모두 정상범위 내 분포하는 것으로 나타났다(Table 3-1). 육질특성에서도 명도(lightness)가 평균 45.62, 여과지흡수량(filter-paper fluid uptake)이 31.20, 육즙손실량(drip loss)이 2.91로 나타나 육질도 우수한 편에 속하는 것으로 나타났다. 두 번째로 군집분석에 의해 분류된 두 그룹의 도체, 사후대사 및 육질특성을 비교해 보면, 도체특성에서는 두 그룹간 유의적 차이가 없는 것으로 나타났다(Table 3-2). 사후대사 특성에서는 MHC slow isoform의 조성이 높은 그룹이 낮은 그룹에 비해 사후 45 분 및 24시 pH가 유의적으로 높은 것으로 나타났다( $P < 0.05$ ). 그러나  $R$ -value 수치에서는 차이가 없었다. 육질특성에서는 여과지흡수량( $P < 0.05$ )과 육즙손실량( $P < 0.1$ )에서 유의적 차이가 있었으며, MHC slow isoform의 조성이 높은 그룹이 낮은 그룹에 비해 유의적으로 적은 여과지흡수량과 육즙손실량을 나타내어, 보수력이 다소 우수한 것으로 나타났다. 육색을 포함한 다른 육질항목에서는 유의적 차이가 없었다. 또한 환경적 요인에 의한 스트레스로 발생하는 육질저하를 알아보기 위해 cortisol 호르몬을 분석하였으나, 차이가 없는 것으로 나타났다(데이터는 나타내지 않음). 결론적으로 MHC slow isoform 조성이 높은 그룹이 낮은 그룹에 비해 사후초기 대사속도가 느리며, 사후대사가 적게 일어나 육질 중 보수력이 다소 우수하였다.

Table 3-1. Descriptive statistics of all pigs

Parameters	n	Mean $\pm$ SD	Min.	Max.
<i>Myosin heavy chain isoforms</i>				
Slow isoform (%)	244	6.03 $\pm$ 2.80	0.40	16.46
Fast isoform (%)	244	93.97 $\pm$ 2.80	83.54	99.60
<i>Carcass traits</i>				
Carcass weight (kg)	244	86.18 $\pm$ 7.60	70.00	119.0
Backfat thickness (mm)	244	23.13 $\pm$ 4.68	10.00	37.00
Loin eye area (cm <sup>2</sup> )	244	46.72 $\pm$ 10.45	24.59	81.48
<i>Postmortem metabolic traits</i>				
Muscle pH <sub>45 min</sub>	244	6.18 $\pm$ 0.28	5.44	6.81
Muscle pH <sub>24 h</sub>	244	5.76 $\pm$ 0.25	5.34	6.57
R <sub>248</sub>	244	0.94 $\pm$ 0.21	0.63	1.35
R <sub>250</sub>	244	1.00 $\pm$ 0.20	0.71	1.37
R <sub>258</sub>	244	1.06 $\pm$ 0.16	0.79	1.37
<i>Pork quality traits</i>				
Lightness	244	45.62 $\pm$ 3.58	32.72	57.63
Redness	244	6.86 $\pm$ 1.14	4.00	9.82
Yellowness	244	2.32 $\pm$ 0.77	0.86	5.52
Filter-paper fluid uptake (mg)	244	31.20 $\pm$ 24.12	3.50	141.6
Drip loss (%)	244	2.91 $\pm$ 1.89	0.83	9.80
Cooking loss (%)	244	29.25 $\pm$ 5.55	11.96	46.84
Shear force (N)	244	54.28 $\pm$ 16.34	23.71	108.0
NPPC color score	244	2.81 $\pm$ 0.73	1.00	5.25
NPPC marbling score	244	2.17 $\pm$ 0.77	1.00	4.70

Table 3-2. Comparison of carcass traits, postmortem metabolic traits, and pork quality traits between two groups categorized by myosin heavy chain slow isoform composition

	<b>Low (n=163)</b>	<b>High (n=81)</b>	<b>Level of significance</b>
<b>MHC slow isoform (%)</b>	4.51 <sup>b</sup> (0.17) <sup>1</sup>	9.06 <sup>a</sup> (0.23)	***
<i>Carcass traits</i>			
<b>Carcass weight (kg)</b>	86.44 (0.68)	87.58 (0.93)	NS
<b>Backfat thickness (mm)</b>	23.77 (0.39)	24.72 (0.53)	NS
<b>Loin eye area (cm<sup>2</sup>)</b>	44.97 (0.79)	43.75 (1.13)	NS
<i>Postmortem metabolic traits</i>			
<b>Muscle pH<sub>45 min</sub></b>	6.16 <sup>b</sup> (0.03)	6.25 <sup>a</sup> (0.04)	*
<b>Muscle pH<sub>24 h</sub></b>	5.68 <sup>b</sup> (0.02)	5.75 <sup>a</sup> (0.03)	*
<b>R<sub>248</sub></b>	0.84 (0.02)	0.84 (0.03)	NS
<b>R<sub>250</sub></b>	0.90 (0.02)	0.90 (0.03)	NS
<b>R<sub>258</sub></b>	1.14 (0.02)	1.14 (0.02)	NS
<i>Pork quality traits</i>			
<b>Lightness</b>	46.75 (0.27)	46.77 (0.37)	NS
<b>Redness</b>	6.59 (0.10)	6.60 (0.13)	NS
<b>Yellowness</b>	2.37 (0.07)	2.50 (0.09)	NS
<b>Filter-paper fluid uptake (mg)</b>	36.60 <sup>a</sup> (1.81)	29.82 <sup>b</sup> (2.44)	*
<b>Drip loss (%)</b>	3.41 <sup>a</sup> (0.15)	3.03 <sup>b</sup> (0.21)	‡
<b>Cooking loss (%)</b>	30.56 (0.40)	30.42 (0.54)	NS
<b>Shear force (N)</b>	59.33 (1.29)	60.24 (1.74)	NS
<b>NPPC color score</b>	2.57 (0.06)	2.64 (0.07)	NS
<b>NPPC marbling score</b>	2.19 (0.06)	2.24 (0.08)	NS

<sup>1</sup> Standard error of least square means.

Level of significance: NS=not significant; ‡  $P < 0.1$ ; \*  $P < 0.05$ ; \*\*\*  $P < 0.001$ .

<sup>a-b</sup> Least square means with different superscripts in the same row differ significantly ( $P < 0.05$ ).

MHC slow isoform을 기준변수로 실시한 군집분석의 결과를 통해 MHC slow isoform의 조성이 높은 그룹이 보수력이 우수하였음을 확인하였다. 이를 통해 육질예측인자로서의 기분을 설정하기 위해 MHC slow isoform 조성의 절대적 수치를 이용하여 비교분석을 실시하였다. MHC slow isoform 조성의 절대적 수치는 군집분석 결과에서 slow isoform의 조성이 높은 그룹의 분포를 통해 7%를 기준으로 설정하였으며, 7% 미만과 초과 두 그룹으로 분류하였다. 먼저 두 그룹의 도체, 사후대사 및 육질특성에 대한 기초통계량을 살펴보면, 7% 미만 그룹의 MHC slow isoform 조성은 평균 4.56, 7% 초과 그룹은 평균 9.21로 나타났다(Table 3-3와 Table 3-4). 도체중량, 등지방두께, 등심근단면적 등 도체특성은 큰 차이가 없었다. 사후 45분 및 24시 pH는 7% 초과 그룹이 7% 미만 그룹보다 다소 높은 것으로 나타났으며, 육질특성에서도 여과지흡수량 및 육즙손실량이 다소 적은 것으로 나타났다. 최대 및 최소값에서도 7% 초과 그룹이 pH<sub>45 min</sub> 및 pH<sub>24 h</sub>는 최소값이 더 큰 것으로 나타났고, 여과지흡수량 및 육즙손실량은 최대 또는 최소값이 더 작은 것으로 나타났다. 7% 미만과 초과 두 그룹의 비교 분석 결과, MHC slow isoform 조성의 큰 차이가 나타났으며(4.55 vs. 9.18 %,  $P < 0.001$ ), 도체특성 중 등지방 두께의 차이가 있는 것으로 나타났고, 7% 초과 그룹이 7% 미만 그룹에 비해 더 두꺼웠다(Table 3-5). 사후대사 및 육질특성에서는 군집분석의 결과와 유사한 결과가 나타났다. 사후대사특성을 나타내는 항목 중 사후 45분(6.17 vs. 6.24,  $P < 0.05$ ) 및 24시(5.68 vs. 5.74,  $P < 0.05$ ) pH가 7% 초과 그룹이 7% 미만 그룹에 비해 유의적으로 높은 것으로 나타났다. 육질 특성에서도 여과지흡수량(36.53 vs. 30.27 mg,  $P < 0.05$ )이 7%초과 그룹이 7% 미만 그룹에 비해 유의적으로 적은 것으로 나타났다. 그러나 육즙손실량에서는 유의적 차이는 없었으나, 수치상 7% 초과 그룹이 더 적은 경향을 나타내었다.

근육에서 고기로의 전환은 사후의 물리적, 생화학적 반응을 거치게 된다(Scheffler & Gerrard, 2007). 일반적으로 생체에서는 creatine phosphate, 혐기적 대사 및 호기적 대사에 의해 ATP를 합성하여 그 수준을 일정하게 유지한다. 사후에도 근육의 모든 생화학적 반응을 멈추는 것이 아니라, 항상성 유지, 특히 세포 내 ATP 수준을 일정하게 유지하기 위해 지속적인 반응을 통해 ATP를 합성한다. 그러나 도축 후 방혈과정을 거치게 되면 혈액 공급이 중단되어 근육조직에 산소를 공급할 수 없게 되어 근육이 혐기적 상태로 변한다. 따라서 사후에는 creatine phosphate 및 혐기적 대사에 의해 ATP를 합성하게 되며, creatine phosphate의 경우, 그 양이 제한적이기 때문에 혐기적 대사에 의해 ATP를 합성하게 된다. 혐기적 대사는 특이하게 최종 대사산물로서 젖산(lactic acid)을 생산하게 된다. 사후에 생산되어진 젖산은 방혈로 인한 노폐물의 배출 및 순환이 불가능하여 근육 조직 내 축적되며, 축적된 젖산은 근육의 pH를 저하시킨다. 이러한 근육의 pH 저하는 여러 요인에 의해 영향을 받으며, 그 중 MHC isoform의 조성도 pH 저하에 영향을 준다(Choi 등, 2007). 또한 근육의 pH 저하는 단백질의 변성 및 육질 형성에 영향을 준다. 특히, 사후 초기의 빠른 pH의 저하 또는 사후대사가 많이 일어나게 되면, 단백질의 과도한 변성을 초래하여 육질의 저하가 심한 것으로 알려져 있다. 이때, 사후 초기 대사의 속도를 가늠하기 위한 측정항목이 사후 45분 pH 및 *R*-value이며, 사후대사의 범위를 가늠하기 위한 측정항목이 사후 24시 pH이다. 사후 45분 및 24시의 pH는 육질특성이 영향을 많이 주며, 그 상관성 또한 높아서 학계에서는 매우 중요한 육질항목 중 하나이다.

본 연구의 실험군내에서 사후 45분 및 24시 pH와 명도, 여과지흡수량, 육즙손실량과 같은 주요 육질항목과의 상관분석을 실시한 결과, pH<sub>24 h</sub>와 육질항목 유의적 상관관계가 나타났다(Table 3-6). 명도, 여과지흡수량, 육즙손실량, 가열감량(cooking loss)와 부의 상관관계를 나타

내었고, NPPC color score 및 marbling score와는 정의 상관관계를 나타내었다. 육색은 소비자가 식육 구매 시 가장 쉽게 인식할 수 있는 요소로서, 명도가 높을수록 육색을 창백하게 인식하여 육질이 떨어진다고 판단하고, 선호하지 않는다. 보수력은 외부로부터 힘이 주어졌을 때, 식육 내 존재하는 수분을 유지하려는 힘 또는 외부로부터 수분이 주어졌을 때, 수분과 결합하려는 힘을 말한다. 보수력이 높을수록 식육 내 보유하고 있는 수분이 풍부하여, 식육 섭취 시 식육으로부터 분비되는 다량의 수분이 분비되어 저작을 부드럽게 하여, 연도에 영향을 준다. 또한 연도는 소비자의 식육 재구매 시 중요하게 고려되는 요소로서 소비품질의 초점이 되고 있다. 일반적으로 보수력은 여과지흡수량, 육즙손실량 및 가열감량에 의해 측정되며, 그 수치가 낮을수록 보수력이 높은 것이다. Table 3-5 및 Table 3-6의 결과를 종합해 보면, MHC slow isoform의 조성이 높을수록 pH<sub>24 h</sub>가 높았으며, 높은 pH<sub>24 h</sub>는 낮은 명도, 적은 여과지흡수량, 육즙손실량, 가열감량과 연관되어 있다.

Table 3-3. Descriptive statistics of group categorized by less than 7 % of myosin heavy chain slow isoform composition

Parameters	n	Mean $\pm$ SD	Min.	Max.
<i>Myosin heavy chain isoforms</i>				
Slow isoform (%)	167	4.56 $\pm$ 1.59	0.40	6.89
Fast isoform (%)	167	95.44 $\pm$ 1.59	93.11	99.60
<i>Carcass traits</i>				
Carcass weight (kg)	167	85.57 $\pm$ 7.59	70.00	119.0
Backfat thickness (mm)	167	23.01 $\pm$ 4.80	10.00	37.00
Loin eye area (cm <sup>2</sup> )	167	46.76 $\pm$ 10.78	24.59	81.48
<i>Postmortem metabolic traits</i>				
Muscle pH <sub>45 min</sub>	167	6.15 $\pm$ 0.29	5.44	6.81
Muscle pH <sub>24 h</sub>	167	5.75 $\pm$ 0.24	5.34	6.54
R <sub>248</sub>	167	0.95 $\pm$ 0.21	0.63	1.35
R <sub>250</sub>	167	1.00 $\pm$ 0.19	0.71	1.37
R <sub>258</sub>	167	1.06 $\pm$ 0.16	0.79	1.37
<i>Pork quality traits</i>				
Lightness	167	45.50 $\pm$ 3.75	32.72	57.63
Redness	167	6.86 $\pm$ 1.16	4.49	9.82
Yellowness	167	2.27 $\pm$ 0.75	0.86	5.02
Filter-paper fluid uptake (mg)	167	32.04 $\pm$ 24.91	4.90	141.6
Drip loss (%)	167	2.95 $\pm$ 1.89	0.83	9.80
Cooking loss (%)	167	29.13 $\pm$ 5.33	17.03	46.84
Shear force (N)	167	53.86 $\pm$ 16.42	23.71	104.0
NPPC color score	167	2.81 $\pm$ 0.74	1.00	5.25
NPPC marbling score	167	2.16 $\pm$ 0.75	1.00	4.70



Table 3-4. Descriptive statistics of group categorized by more than 7 % of myosin heavy chain slow isoform composition

<b>Parameters</b>	<b>n</b>	<b>Mean ± SD</b>	<b>Min.</b>	<b>Max.</b>
<i>Myosin heavy chain isoforms</i>				
<b>Slow isoform (%)</b>	77	9.21 ± 2.15	7.08	16.46
<b>Fast isoform (%)</b>	77	90.79 ± 2.15	83.54	92.92
<i>Carcass traits</i>				
<b>Carcass weight (kg)</b>	77	87.48 ± 7.49	74.00	115.00
<b>Backfat thickness (mm)</b>	77	23.40 ± 4.42	14.00	35.00
<b>Loin eye area (cm<sup>2</sup>)</b>	77	46.62 ± 9.71	25.58	68.88
<i>Postmortem metabolic traits</i>				
<b>Muscle pH<sub>45 min</sub></b>	77	6.23 ± 0.26	5.60	6.78
<b>Muscle pH<sub>24 h</sub></b>	77	5.79 ± 0.29	5.45	6.57
<b>R<sub>248</sub></b>	77	0.94 ± 0.22	0.63	1.33
<b>R<sub>250</sub></b>	77	0.99 ± 0.20	0.71	1.36
<b>R<sub>258</sub></b>	77	1.07 ± 0.17	0.80	1.37
<i>Pork quality traits</i>				
<b>Lightness</b>	77	45.86 ± 3.18	38.14	51.53
<b>Redness</b>	77	6.86 ± 1.09	4.00	9.14
<b>Yellowness</b>	77	2.42 ± 0.80	0.98	5.52
<b>Filter-paper fluid uptake (mg)</b>	77	29.38 ± 22.36	3.50	105.3
<b>Drip loss (%)</b>	77	2.81 ± 1.90	0.84	8.36
<b>Cooking loss (%)</b>	77	29.52 ± 6.04	11.96	40.07
<b>Shear force (N)</b>	77	55.19 ± 16.23	26.95	108.0
<b>NPPC color score</b>	77	2.81 ± 0.71	1.00	4.25
<b>NPPC marbling score</b>	77	2.18 ± 0.82	1.00	4.00

Table 3-5. Comparison between selection group and non-selection group classified by 7 % of myosin heavy chain slow isoform

	7% < (n=167)	> 7% (n=77)	Level of significance
<b>MHC slow isoform (%)</b>	4.55 <sup>b</sup> (0.17) <sup>1</sup>	9.18 <sup>a</sup> (0.23)	***
<i>Carcass traits</i>			
<b>Carcass weight (kg)</b>	86.40 (0.68)	87.12 (0.94)	NS
<b>Backfat thickness (mm)</b>	23.73 (0.39)	24.86 (0.54)	‡
<b>Loin eye area (cm<sup>2</sup>)</b>	44.97 (0.79)	43.69 (1.15)	NS
<i>Postmortem metabolic traits</i>			
<b>Muscle pH<sub>45 min</sub></b>	6.17 <sup>b</sup> (0.03)	6.24 <sup>a</sup> (0.04)	*
<b>Muscle pH<sub>24 h</sub></b>	5.68 <sup>b</sup> (0.02)	5.74 <sup>a</sup> (0.03)	*
<b>R<sub>248</sub></b>	0.84 (0.02)	0.84 (0.03)	NS
<b>R<sub>250</sub></b>	0.91 (0.02)	0.90 (0.03)	NS
<b>R<sub>258</sub></b>	1.13 (0.02)	1.14 (0.02)	NS
<i>Pork quality traits</i>			
<b>Lightness</b>	46.75 (0.27)	46.79 (0.38)	NS
<b>Redness</b>	6.59 (0.10)	6.61 (0.14)	NS
<b>Yellowness</b>	2.37 (0.07)	2.52 (0.09)	NS
<b>Filter-paper fluid uptake (mg)</b>	36.53 <sup>a</sup> (1.80)	29.67 <sup>b</sup> (2.49)	*
<b>Drip loss (%)</b>	3.39 (0.15)	3.06 (0.21)	NS
<b>Cooking loss (%)</b>	30.62 (0.39)	30.27 (0.55)	NS
<b>Shear force (N)</b>	59.30 (1.28)	60.36 (1.78)	NS
<b>NPPC color score</b>	2.57 (0.05)	2.64 (0.08)	NS
<b>NPPC marbling score</b>	2.19 (0.06)	2.26 (0.08)	NS

<sup>1</sup> Standard error of least square means.

Level of significance: NS=not significant; ‡  $P < 0.1$ ; \*  $P < 0.05$ ; \*\*\*  $P < 0.001$ .

<sup>a-b</sup> Least square means with different superscripts in the same row differ significantly ( $P < 0.05$ ).

Table 3-6. Correlation coefficients ( $r$ ) between muscle pH<sub>24 h</sub> and pork quality traits

	Lightness	FFU <sup>1</sup>	Drip loss	Cooking loss	Color score <sup>2</sup>	Marbling score <sup>3</sup>
<b>Muscle pH<sub>24 h</sub></b>	-0.49 <sup>***</sup>	-0.36 <sup>***</sup>	-0.48 <sup>***</sup>	-0.49 <sup>***</sup>	0.46 <sup>***</sup>	0.18 <sup>**</sup>

<sup>1</sup> Filter-paper fluid uptake

<sup>2</sup> NPPC color score

<sup>3</sup> NPPC marbling score

Level of significance: \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ .

## 나. 단백질 아형 특성과 근육의 이화학적 특성간의 연관성 분석

앞서 기술한 것과 같이 주요 육질항목은 사후 45분 및 24시 pH( $\text{pH}_{45 \text{ min}}$ ,  $\text{pH}_{24 \text{ h}}$ ), 육색(명도), 보수력(여과지흡수량, 육즙손실량) 등이다. 또한 기존의 육질등급은 사후 도체의 이화학적 특성을 기준으로 분류하였으며, 이때 기준변수로 사용되는 육질항목은 명도와 육즙손실량 이다. MHC slow isoform 조성의 육질예측인자로서의 정확성을 판단하기 위해 주요 육질항목과의 연관성을 분석하였다. 연관성 분석은 각 육질항목을 군집분석을 통해 두 그룹으로 분류하고, 각 그룹에서의 육질항목과 MHC slow isoform 조성을 비교하여 육질항목과 MHC slow isoform 조성 간 경향성을 알아보았다.

첫 번째 육질항목은  $\text{pH}_{45 \text{ min}}$  및  $\text{pH}_{24 \text{ h}}$ 이다. 사후초기 대사 속도를 가늠해볼 수 있는  $\text{pH}_{45 \text{ min}}$ 의 경우, High 그룹이 Low 그룹에 비해  $\text{pH}_{45 \text{ min}}$ 이 유의적으로 높았으나( $P < 0.001$ ), MHC slow isoform 조성의 유의적 차이는 없었다(Table 3-7). 사후대사의 범위를 가늠하는  $\text{pH}_{24 \text{ h}}$ 의 경우, High 그룹과 Low 그룹 간 pH ( $P < 0.001$ ) 및 MHC slow isoform 조성( $P < 0.01$ )의 유의적 차이가 나타났다(Table 3-8). 특히, MHC slow isoform의 조성이 7%가 넘는 High 그룹의 경우, 최종 pH가 6.0 이상으로 매우 우수한 육질이 나타날 수 있음을 보여주었다. 즉, MHC slow isoform의 조성이 높으면 낮을 때와 비교해서 사후대사가 적게 일어난다. 이는 단백질 변성이 상대적으로 적게 일어난다는 것을 의미하며, 과도한 단백질 변성으로 인한 육질 저하가 일어날 가능성이 적다는 것을 말한다.

두 번째는 육색 중 명도로, 소비자가 식육을 구매할 때 가장 먼저, 그리고 쉽게 인지할 수 있는 육질항목이다. 분석결과 High 그룹과 Low 그룹 간 MHC slow isoform의 차이는 없는 것으로 나타났다(Table 3-9). 이는 본 연구의 2차년 연구결과와 일치하는 것으로, 연구에 이용한 실험군에서 MHC slow isoform의 조성은 육색보다는 보수력에 영향을 주는 것으로 판단된다.

세 번째는 보수력과 관련된 육질항목으로 육즙손실량과 여과지흡수량이다. 높은 보수력에 의한 식육 내 다량의 수분 함유는 식육의 섭취 시 소비자에게 식육이 연한 것으로 인식하게 한다. 육즙손실량은 가장 일반적으로 쓰이는 보수력 측정 항목으로 이화학적 특성에 의한 돈육의 육질등급(pork quality class) 판정에 쓰이는 항목이다. 여과지흡수량의 경우, 육즙손실량 측정이 오래 걸리는(48시간 소요) 단점을 보완한 간편 측정법으로, 그 측정이 매우 신속하고 용이하여 현장에서 쓰이는 방법이다. 육즙손실량의 경우, 육즙손실량이 많은 그룹이 적은 그룹에 비해 MHC slow isoform의 조성이 낮았다(Table 3-10). 여과지흡수량의 경우에도 여과지흡수량이 많은 그룹이 MHC slow isoform의 조성이 낮았다(Table 3-11). 즉, MHC slow isoform의 조성이 높을수록 보수력이 높은 경향을 나타내었다. 이화학적 육질특성과 MHC slow isoform 간 경향성을 분석한 결과, MHC slow isoform의 조성을 7% 기준으로 두 그룹을 나누어 비교 분석했을 때와 유사하였으며, MHC slow isoform 조성이 높을수록, 정상적인 사후대사 특성과 높은 보수력을 가짐을 나타내었다.

Table 3-7. Myosin heavy chain slow isoform composition in two groups categorized by muscle pH measured at postmortem 45 min

	<b>Low (n=96)</b>	<b>High (n=148)</b>
<b>Muscle pH<sub>45 min</sub></b>	5.91 (0.02) <sup>1</sup>	6.37 (0.02)
<b>MHC slow isoform composition (%)</b>	5.83 (0.33)	5.95 (0.28)

<sup>1</sup> Standard error of least square means.

Table 3-8. Myosin heavy chain slow isoform composition in two groups categorized by muscle pH measured at postmortem 24 h

	<b>Low (n=190)</b>	<b>High (n=54)</b>
<b>Muscle pH<sub>24 h</sub></b>	5.63 (0.01) <sup>1</sup>	6.10 (0.02)
<b>MHC slow isoform composition (%)</b>	5.71 (0.24)	7.19 (0.47)

<sup>1</sup> Standard error of least square means.

Table 3-9. Myosin heavy chain slow isoform composition in two groups categorized by lightness

	<b>High</b> <b>(n=144)</b>	<b>Low</b> <b>(n=100)</b>
<b>Lightness</b>	48.06 (0.19) <sup>1</sup>	43.25 (0.29)
<b>MHC slow isoform composition (%)</b>	5.97 (0.26)	5.72 (0.39)

<sup>1</sup> Standard error of least square means.

Table 3-10. Myosin heavy chain slow isoform composition in two groups categorized by drip loss

	<b>High</b> <b>(n=54)</b>	<b>Low</b> <b>(n=190)</b>
<b>Drip loss (%)</b>	5.79 (0.15) <sup>1</sup>	2.27 (0.10)
<b>MHC slow isoform composition (%)</b>	5.54 (0.41)	6.05 (0.27)

<sup>1</sup> Standard error of least square means.

Table 3-11. Myosin heavy chain slow isoform composition in two groups categorized by filter-paper fluid uptake

	<b>High</b> <b>(n=46)</b>	<b>Low</b> <b>(n=198)</b>
<b>Filter-paper fluid uptake (mg)</b>	68.90 (2.18) <sup>1</sup>	25.70 (1.17)
<b>MHC slow isoform composition (%)</b>	5.33 (0.48)	6.05 (0.26)

<sup>1</sup> Standard error of least square means.

#### 다. 상관도 분석을 통한 단백질 아형 예측인자 활용도 검증

MHC slow isoform 조성의 육질예측인자로서의 정확성을 최종적으로 검증하기 위해 이화학적 특성에 의한 육질등급 판정과의 연관성 분석을 실시하였다. 이화학적 특성에 의한 육질등급은 명도 및 육즙손실량을 기준으로 판정되며, 그 기준은 pale, soft, exudative (PSE) 돈육은 명도 50 초과, 육즙손실량 6% 초과이며, reddish-pink, soft, exudative (RSE) 돈육은 명도 43 초과 50 이하, 육즙손실량 6% 초과, reddish-pink, firm, non-exudative (RFN) 돈육은 명도 43 초과 50 이하, 육즙손실량 2% 초과 6% 이하, 마지막으로 dark, firm, dry (DFD) 돈육은 명도 43 이하, 육즙손실량 2% 이하 이다. 일반적으로 돈육에서 RFN과 DFD를 정상육, PSE와 RSE를 이상돈육으로 본다. 본 실험군에서 이화학적 특성을 이용한 육질등급에 속하는 개체는 총 129두 였으며, 전체적으로 우수한 육질을 보여, DFD는 35두, RFN은 81두, RSE는 9두, PSE는 4두로 판정되었다(Table 3-12). 이상돈육의 대표적 형태인 PSE 및 경증의 이상돈육이라 판단되는 RSE가 매우 적게 나와 육질변이가 극히 제한적이어서 MHC isoforms과 육질항목 간 연관성 및 경향을 판단하는데 어려움이 있었으나, 그럼에도 불구하고 제한된 육질변이 내에서도 MHC slow isoform 조성을 이용한 육질등급과의 비교 분석에서 예상했던 경향성이 나타났다.

육질등급에 따른 MHC slow isoform 조성을 살펴보면, RSE 5.36%, RFN 5.82%, DFD 6.28%로 이화학적 특성에 의한 육질등급에서 정상육질일수록 MHC slow isoform 조성이 높은 것으로 나타났다. PSE의 경우, MHC slow isoform의 조성이 5.79%로 높은 것으로 나타났으나, 개체수가 4두이기 때문에 정확한 판단을 하기에는 무리가 있다.

다음으로 앞에서 설정한 MHC slow isoform의 조성 7%를 기준으로 두 그룹으로 분류하였을 때, 각 그룹 내에서의 육질등급 출현율을 비교하였다(Table 3-13). MHC slow isoform 조성이 7% 미만인 그룹에서는 DFD가 26.09%, RFN이 63.04%로 나타났고, RSE 6.52%, PSE 4.35%로 나타났다. 앞선 결과에서 PSE 돈육의 MHC slow isoform의 조성이 RSE에 비해 높은 것으로 나타났지만, 4두 모두 MHC slow isoform 조성이 7% 미만인 그룹에서 출현하였다. MHC slow isoform 조성이 7% 초과 그룹에서는 DFD 29.73%, RFN 62.16%, RSE는 8.11%, PSE 돈육은 없는 것으로 나타났다. 결과에서도 볼 수 있듯이 MHC slow isoform의 조성이 높은 그룹이 낮은 그룹에 비해 DFD, RFN과 같은 정상돈육의 비율이 높고, 대표적 이상돈육의 형태인 PSE는 없었으며, RSE를 포함한 이상돈육의 비율도 낮았다.

결론적으로 MHC slow isoform의 조성은 근육의 사후대사의 정도에 영향을 주며, 사후대사의 정도는 최종 육질, 특히 육색보다 보수력에 영향을 준다. 즉, MHC slow isoform의 조성이 7% 초과로 높을수록 사후대사가 적게 진행되며, 보수력이 높아 육질이 좋은 것으로 나타났다. 또한 육질등급과의 연관성에서도 MHC slow isoform의 조성이 7% 초과인 그룹에서 정상돈육의 출현율이 높은 것으로 분석되었다. 그러므로 MHC slow isoform의 조성은 육질예측인자로서 사용될 수 있으며, 특히 7% 초과일 경우, 육질이 우수하며, 정상돈육의 비율도 높일 수 있다.

Table 3-12. Myosin heavy chain slow isoform composition in pork quality classes

	<b>PSE (n=4)</b>	<b>RSE (n=9)</b>	<b>RFN (n=81)</b>	<b>DFD (n=35)</b>
<b>MHC slow isoform composition (%)</b>	5.79 (1.29) <sup>1</sup>	5.36 (0.86)	5.82 (0.29)	6.28 (0.43)

<sup>1</sup> Standard error of least square means.

Table 3-13. Frequency of pork quality classes in the two groups categorized by 7% of myosin heavy chain slow isoform composition

	<b>7% &lt; (n=92)</b>	<b>&gt; 7% (n=37)</b>
<b>DFD</b>	24 (26.09%) <sup>1</sup>	11 (29.73%)
<b>RFN</b>	58 (63.04%)	23 (62.16%)
<b>RSE</b>	6 (6.52%)	3 (8.11%)
<b>PSE</b>	4 (4.35%)	0 (0.00%)

<sup>1</sup> Percentage in the column

제 1 세부과제 “근섬유단백질 아형 예측인자 개발”의 연구결과를 요약하면, MHC isoform 조성은 사후대사 및 육질에 영향을 주는 근섬유 특성에 영향을 미치는 것으로 분석되었으며, 특히 MHC slow isoform 조성은 근섬유 type 조성과 높은 연관성이 있는 것으로 분석되었다. 사후 대사관련 물질 탐색 연구에서도 MHC slow isoform 조성은 사후대사 물질과 연관성이 있는 것으로 나타났으며, 사후대사 정도를 가늠하는데 중요한 ATP, glycogen, lactate와 밀접하게 관련되어 있었다. 여러 품종에서 MHC slow isoform의 조성을 분석한 결과, 품종 간 차이가 없었으며, MHC slow isoform의 조성이 높을수록 사후 초기 대사속도가 정상이며, 사후 대사 범위도 정상적인 것으로 나타났다. 또한 육질항목 중 보수력이 증가되는 것으로 분석되었다. MHC slow isoform의 육질예측인자로서 기준을 설정하기 위해 군집분석을 실시하였고, 그 결과 MHC slow isoform 조성 7%를 기준으로 설정하였다. MHC slow isoform 조성 7% 초과



그룹에서 사후대사가 정상적인 속도와 정상적 범위 내에서 진행됨을 확인하였고, 보수력이 높음을 확인하였다. 또한 7% 미만 그룹에 비해 정상돈육의 출현율이 높고, 이상돈육의 출현율이 낮았다. 현행 축산물품질관리원의 육질등급과의 비교에서도 1+등급의 MHC slow isoform 조성이 유의적으로 높은 것으로 나타났다. 그러므로 MHC slow isoform은 육질예측인자로서 사용 가능하며, slow isoform 조성이 7% 초과일 경우, 정상적인 사후대사 진행되어 육질, 특히 보수력이 우수하며, 이상돈육의 출현 가능성을 낮추고, 정상돈육의 출현율을 높일 수 있다.

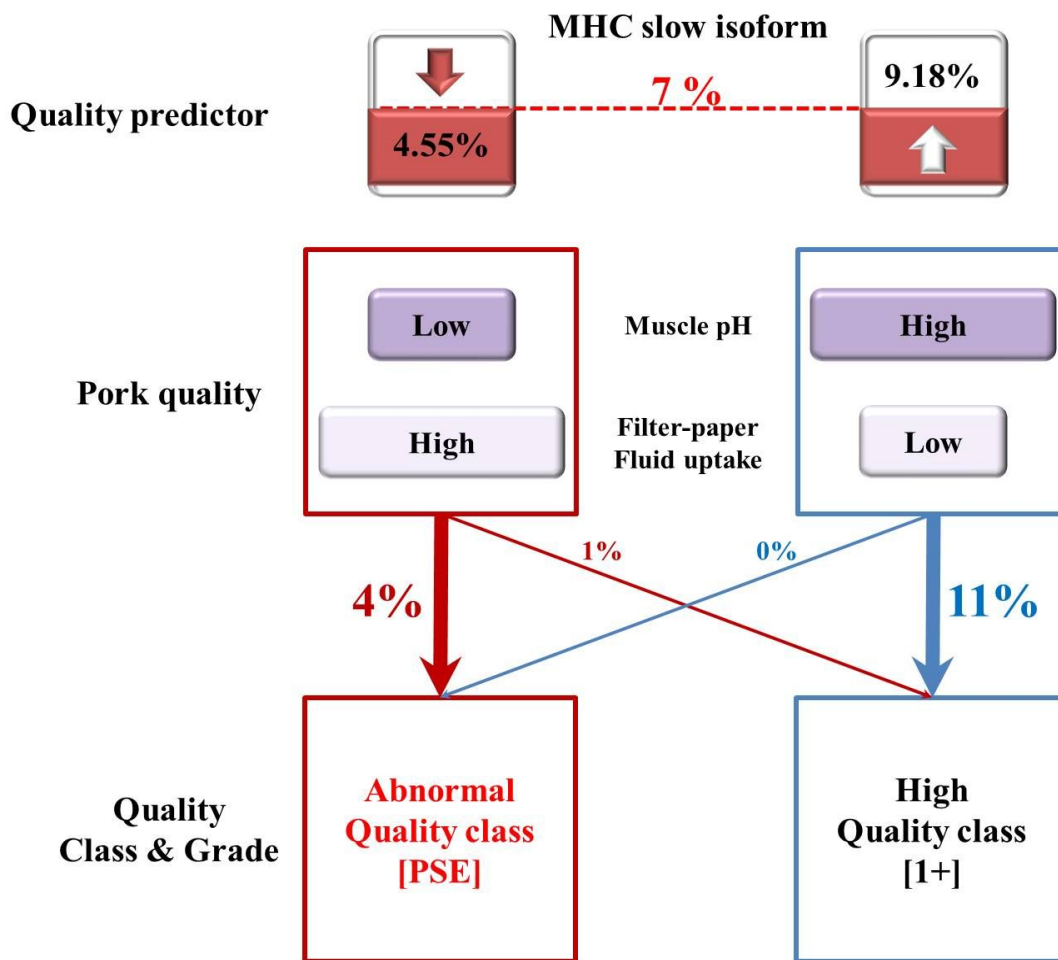


Figure 3-1. Summary of Development of pork quality predictor using myofibrillar protein isoform

## 제 2 절 근섬유단백질 관련 DNA 표지인자 개발

### 1. 근섬유단백질관련 후보유전자 분석

#### 가. 근섬유단백질 관련 후보유전자 탐색

본 세부과제에서는 제1세부과제에서 밝힌 바대로 돼지의 육질형성과 관련하여 중요한 요소로 작용할 수 있는 근원섬유를 이루는 가장 중요한 단백질인 myosin isoform들에 관하여 발현 유전자를 찾고 후보유전자로 선정하였다. 근원섬유내 myosin은 두 개의 heavy chain(HC)과 각각의 heavy chain head 부분에 두쌍의 light chain(LC)이 존재한다. 이들 두쌍의 light chain은 regulatory light chain(RLC)과 essential light chain(ELC)으로 각각 한 쌍씩 구분되어 진다. 또한, myosin heavy chain은 머리부분인 heavy-meromyosin(HMM)과 꼬리부분인 light-meromyosin(LMM)으로 구분되어 지며, HMM은 다시 actin 및 light chain, ATP 등의 결합 부위가 있는 S1 부위와 꼬리부분과 결합하게 되는 S2 부위로 구분되어 진다(Figure 1-1).

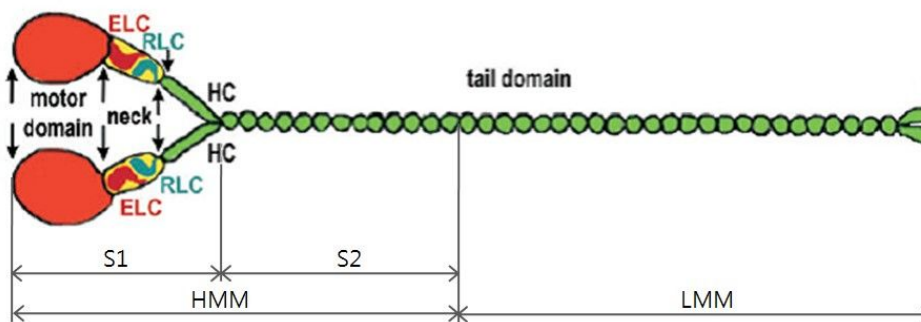


Figure 1-1. Structure of myosin in porcine skeletal muscle

Myosin isoform은 heavy chain과 light chain에서 각각 존재하는데, 본 과제에서는 1세부과제에서 밝힌 바대로 근 수축특성에 주요하게 작용하여 육질과 깊은 연관이 있을 것으로 기대되는 myosin heavy chain (MyHC 또는 MHC) isoform을 발현하는 유전자를 후보유전자군으로 선정하였다. 돼지의 골격근에서는 4개의 MyHC isoform이 존재하며, 이들은 근육수축속도에 따라서 slow form과 fast form으로 크게 구분이 된다. slow form은  $\beta$ -MyHC isoform 하나가 존재하고, fast form은 MyHC2a, 2x 그리고 2b 3가지 isoform이 존재한다. 이들은 각각 한 개의 유전자에 의해서 발현되는 것으로 알려져 있으며, 유전자의 이름 또한 isoform과 동일하다(Table 1-1).

Table 1-1. myosin heavy chain isoforms expressed in porcine skeletal muscle

Gene	Isoforms	Pattern of Expression
$\beta$ -MyHC	$\beta$ -MyHC (MHC- $\beta$ /slow)	Slow skeletal muscle, heart
MyHC2a	MyHC2a (MHC-2A)	Fast skeletal muscle
MyHC2x	MyHC2x (MHC-2X)	Fast skeletal muscle
MyHC2b	MyHC2b (MHC-2B)	Fast skeletal muscle

(Schiaffino and Reggiani, 1996)

본 과제에서는 돼지 골격근 내에 존재하는 4개의 myosin heavy chain isoforms를 각기 발현하는 4개의 유전자에 대해서 문헌조사를 실시하였다. 먼저 slow type인  $\beta$ -MyHC 유전자는 돼지 염색체 7번 q-arm 영역에 위치하고 있으며(Figure 1-2, Davoli 등, 1998), 현재까지 정확한 exon의 숫자는 파악되고 있지 않았지만, cDNA sequencing 분석결과 1935개의 아미노산으로 구성되어 있었다. 다른 포유동물의 유전자와도 높은 동질성을 보였으며(Table 1-2), 대부분의 아미노산 서열이 높은 보존성을 보였다.

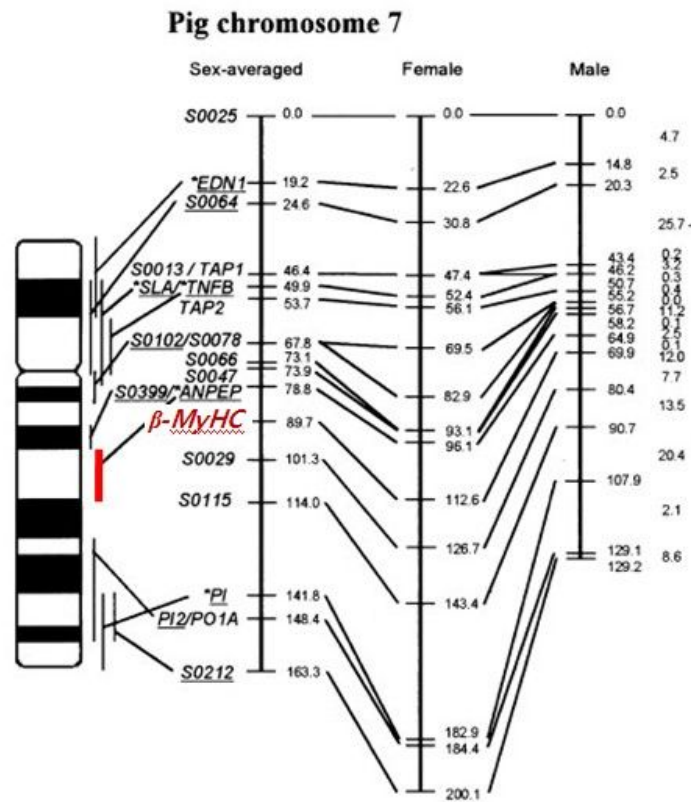


Figure 1-2.  $\beta$ -MyHC locus in linkage map

Table 1-2. Amino acid sequence homology analysis with other species

Species	ID(%)
<i>S. scrofa</i>	100.0
<i>M. musculus</i>	98.7
<i>H. sapiens</i>	98.6
<i>X. laevis</i>	91.0
<i>D. rerio</i>	88.9
<i>D. melanogaster</i>	60.5
<i>C. elegans</i>	52.2

Fast type인 MyHC2a, 2x, 2b 유전자는 모두 돼지 염색체 12번 q-arm 영역에 위치했으며 (Figure 1-3(a), Davoli 등, 1998, 2003), BAC clone screening 결과 2a, 2x, 2b 유전자가 순서대로 염색체 내에서 매우 가까운 위치에 존재하고 있음을 확인할 수 있었다(Figure 1-3(b), Costa 와 Chang, 2005). 이들도 모두 현재까지 정확한 exon의 숫자는 파악되지 않았고, cDNA sequencing 분석결과 2a와 2x 유전자는 1939개 그리고 2b 유전자는 1937개의 아미노산으로 구성되어 있었다. 이들 유전자도  $\beta$ -MyHC 유전자와 마찬가지로 다른 포유동물의 유전자와도 높은 동질성을 보였으며(Table 1-3), 대부분의 아미노산 서열이 높은 보존성을 보였다.

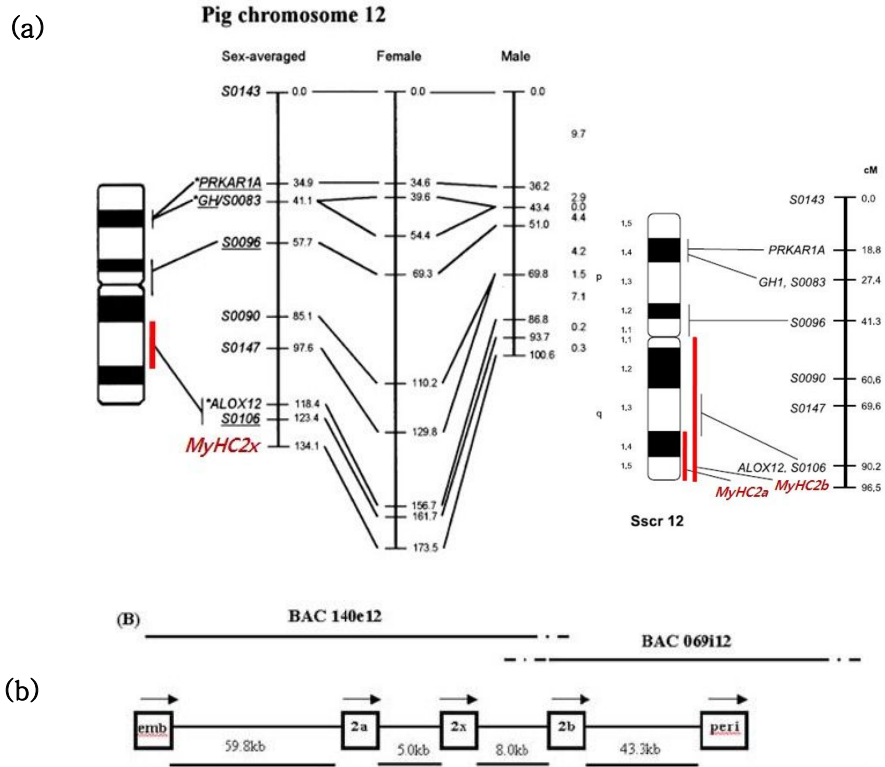


Figure 1-3. (a) Loci of MyHC fast type isoforms in linkage map and (b) Location and order in porcine BAC clone

Table 1-3. Amino acid sequence homology analysis with other species

(a) MyHC2a

Species	ID(%)MyHC2a
<i>S. scrofa</i>	100.0
<i>M. musculus</i>	97.7
<i>H. sapiens</i>	95.7
<i>X. laevis</i>	84.8
<i>D. rerio</i>	80.0
<i>D. melanogaster</i>	57.5
<i>C. elegans</i>	50.8

(b) MyHC2x

Species	
<i>S. scrofa</i>	100.0
<i>M. musculus</i>	97.9
<i>H. sapiens</i>	96.6
<i>X. laevis</i>	86.3
<i>D. rerio</i>	81.5
<i>D. melanogaster</i>	57.2
<i>C. elegans</i>	51.4

(c) MyHC2b

Species	MyHC2b
<i>S. scrofa</i>	97.5
<i>M. musculus</i>	96.5
<i>H. sapiens</i>	95.5
<i>X. laevis</i>	85.9
<i>D. rerio</i>	81.8
<i>D. melanogaster</i>	56.8
<i>C. elegans</i>	51.0

## 나. 아형 유전자 간 아미노산 서열 비교분석

돼지 골격근에서 발현하는 myosin isoform 유전자는 앞서 언급한 바와 같이 4개의 유전자로 구성되어 있고, cDNA 염기서열 분석을 통해서 아미노산 서열이 모두 밝혀졌다. 본 과제에서는 이들 4개 유전자의 아미노산 서열을 비교 분석하고(Figure 1-4), 이들을 각기 작용기별로 구분하여 동질성 분석을 실시하였다(Table 1-4). 네 개 유전자의 아미노산 서열은 각각 NCBI의 genome database를 통해 탐색하였으며(Accession number:  $\beta$ -MyHC, BAB20630; MyHC2a, BAA82144; MyHC2x, BAA82146; MyHC2b, BAA82145), 아미노산 서열 비교분석은 ClustalW program을 이용하였다. 아미노산 서열 비교 분석결과 역시  $\beta$ -MyHC 유전자가 다른 세 개의 fast type 발현 유전자들이 90%대의 동질성을 보인 것에 비해서, 80% 대의 낮은 동질성을 보였다. 그러나, 이는 타 표유동물종과의 동일 유전자와의 동질성 분석결과(Table 1-2) 보다도 낮은 결과로써, myosin isoform들이 같은 isoform끼리는 보전성이 매우 높고 타종끼리의 동질성도 높지만, isoform 간에는 아미노산 서열이 상대적으로 더 많은 차이가 있음을 알 수 있다. 특히, 작용기 별로 구분을 해서 동질성을 분석해 봤을 때, 아미노산 개수의 차이와 함께, 동질성도 S1 부위에서 isoform간에 가장 큰 차이를 보였다. 이러한 서열상의 차이로 인해 단백질의 구조와 기능에도 차이가 발생하게 되어, 결정적으로 isoform간의 근수축 기능에 차이가 생길 것으로 판단되어 지며, 실제로 myosin의 주요한 기능을 담당하게 되는 S1 부위 내 actin binding 부위인 loop 1, 2 영역과 ELC와 RLC binding 영역에서 isoform간 아미노산 서열이 다른 부위에 비해 큰 차이를 보였다. Chikuni 등(2001)은 이러한 차이가 isoform간에 기능적인 분류를 이룰 수 있다고 언급한 바 있다.

(aa)	I (1935)	IIa (1939)	IIb (1937)	IIx (1939)
I				
IIa	81.2			
IIb	81.7	94.1		
IIx	81.6	95.7	96.5	

(a)

(aa)	I (838)	IIa (842)	IIb (840)	IIx (842)
I				
IIa	80.5			
IIb	80.3	94.4		
IIx	80.3	95.7	97.8	

(b)

(aa)	I (441)	IIa (441)	IIb (441)	IIx (441)
I				
IIa	84.1			
IIb	83.8	94.8		
IIx	84.2	96.0	97.3	

(c)

(aa)	I (656)	IIa (656)	IIb (656)	IIx (656)
I				
IIa	80.4			
IIb	80.1	93.3		
IIx	79.3	96.5	94.2	

(d)

Table 1-4. The results of amino acid sequence homology analysis for genes MyHC isoforms. 총 아미노산 서열(a)과 작용부위별 아미노산 서열(순서대로 S1(b), S2(c), LMM(d))





#### 다. 최적 단백질 아형 유전자 선정

MyHC isoform 발현 유전자들의 아미노산 서열을 비교 분석한 결과, 앞서 언급한 바와 같이 slow type인  $\beta$ -MyHC 유전자가 다른 fast type에 비해서 상대적으로 큰 차이를 보였다. MyHC isoform은 개체별로 발현 비율이 다르며, 발현 비율에 따라서 근육의 기능적 특성이 결정되어진다고 보고된 바 있다(Wimmer 등, 2008). 그러나, 앞선 연구결과 모든 isoform의 cDNA 염기서열 내에서는 어떤 polymorphism도 관찰되지 않았다 (Chikuni 등, 2001). 이러한 결과는 isoform 간의 기능적 차이는 발현영역인 아미노산 서열의 차이에 의해서 설명할 수 있지만, 개체간에 발생하는 isoform들의 발현 비율의 차이는 아미노산 서열차이로 설명할 수 없다. 더욱이, 각각의 isoform들은 중간에도 동질성이 매우 높고 보존성 또한 매우 높다는 것은 발현영역 내에 polymorphism이 존재하지 않는다는 연구결과를 더욱 뒷받침 해줄 수 있다. 따라서, MyHC isoform은 개체별로 발현 비율이 다르며, 이들의 발현 비율에 차이를 줄 수 있는 유전적 요인은 발현영역내에 있지 않음을 유추할 수 있었다.

앞선 많은 연구결과들은 돼지의 골격근이 성장하면서 slow fiber의 비율은 감소하고, fast fiber의 비율을 증가한다고 보고하고 있다(Cooper 등, 1970; Hende 등, 1972; Szentkuti 등, 1978; Schlegel 등, 1982; Kiessling 등, 1982; Bader 등, 1983; Salomon 등, 1983; Lefaucheur 등, 1986; Wegner 등, 1990; Solomon 등, 1990). 일반적으로 MyHC 유전자 발현의 과정을 보면  $\beta$ -slow와 2a, 2x, 2b가 전환되면서, 근섬유(muscle fiber)의 형태가 slow type에서 fast type으로 전환된다고 알려져 있다(Schiaffino 등, 1994). 이를 통해서 slow type 위주의 근섬유가 fast type으로 전환될 때,  $\beta$ -slow MyHC isoform의 발현이 조절되어 fast isoform으로 전환됨을 유추해 볼 수 있으며,  $\beta$ -MyHC 유전자의 발현조절 영역이 MyHC isoform들간의 발현비율에 영향을 줄 수 있는 주요한 유전적 요인이 될 수 있을 것으로 판단된다. 따라서, 본 과제에서는  $\beta$ -MyHC 유전자를 최적 단백질 아형 유전자로 선정하고, 이 유전자의 발현조절 영역에 대해서 탐색해 보았다.

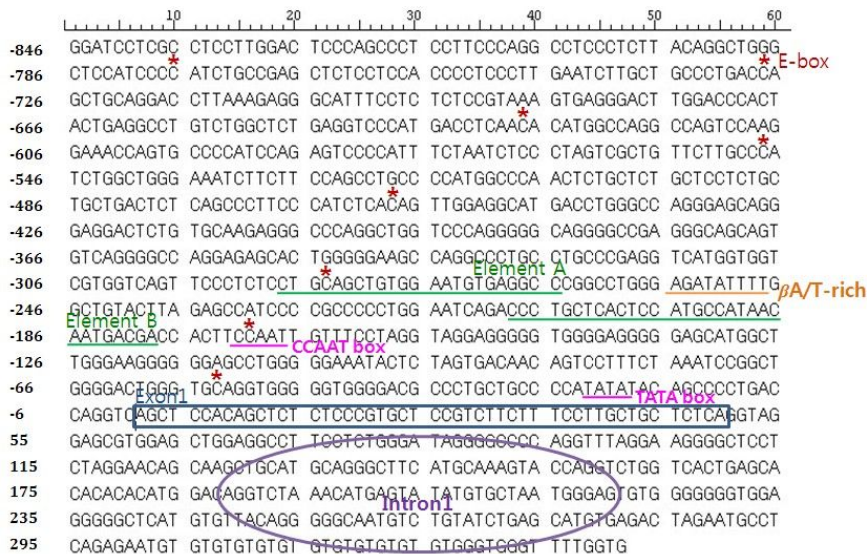


Figure1-5. 5' regulatory region of  $\beta$ -MyHC gene

Chang 등(1993)에 의해  $\beta$ -MyHC 유전자의 5' 발현조절 영역은 그 구조가 처음 밝혀졌으며, Figure1-5에서 보는 바와 같이 exon 1을 중심으로 상위 약 850bp가 밝혀졌다. 5' 발현조절 영역 또한 아미노산 서열과 마찬가지로 human(82%) 등 타종과 동질성이 매우 높은 편이다. 상위영역에는 TATA box와 CCAAT box가 존재하며, 8개의 E-box(CANNTG)가 존재했다. 또한, element A와 B라는 발현조절 부위가 밝혀졌으며,  $\beta$ A/T rich 라는 영역도 다른 연구에서 새로이 밝혀졌다(Dharmesh 등, 1999).

이들 발현조절 영역내에 존재하는 발현조절 부위들은 각기 서로다른 기능들을 담당하게 되는데, E-box의 경우는 basic helix-loop-helix(bHLH) binding domain으로써, myogenic regulatory factor이다. Element A와 B의 경우는 myotube 상태에서 특이적으로 작용하는 trans-acting factor로써 근섬유형성시 중요하게 작용할 것으로 예상되어 지며, intron 1 영역내에서는 각기 한 개씩의 positive regulatory element와 negative regulatory element가 존재하는 것으로 보고되었다. 특히,  $\beta$ A/T rich 영역은 물리적인 가중 상황(mechanical overload, MOV) 하에 특이적으로 nuclear protein과 결합하여 골격근 활성을 높여주는 기능을 담당하게 되어, type간의 전환을 유도하게 되는 것으로 보고된 바 있다(Dharmesh 등, 1999). 그러나, 현재까지 이들 발현조절영역 내에서 각각의 발현조절 부위에 대한 기능들은 몇몇 보고되었지만, SNP 등 polymorphism 탐색에 관한 연구결과는 보고된 바 없다.

본 과제에서는 근섬유 단백질 아형(isoform)에 관한 최적 유전자로써  $\beta$ -MyHC 유전자를 선정하였다. 또한, myosin isoform의 발현 비율을 조절할 수 있을 것으로 기대되는 부분인 5' 상위 발현조절 영역에 대해서 현재까지 연구보고된 기능들에 대해서 탐색하였다. 차년도에는 당해연도의 연구결과를 바탕으로 선정된  $\beta$ -MyHC 유전자의 5' 상위 발현조절 영역에 대해서 기초축군으로 조성될 4개 품종(버크셔, 듀록, 랜드레이스, 요크셔)의 각 개체별 염기서열분석을 실시하여, 영역 내에 존재하는 polymorphism을 탐색하고, 이 연구결과를 바탕으로 myosin isoform의 발현 비율에 변이를 줄 수 있는 유전적 요인을 밝히고자 한다.

## 2. 최적 단백질 아형 유전자 변이에 따른 DNA 표지인자 탐색

본 세부과제에서는 1차년도 연구를 통해서 돼지의 육질형성과 관련하여 중요한 요소로 작용할 수 있는 근원섬유를 이루는 가장 중요한 단백질인 myosin heavy chain (MHC) isoform들에 대한 발현 유전자를 찾고 후보유전자로 선정하였다. 돼지 골격근에서는 4개의 myosin heavy chain isoform이 존재하며, 이들은 근육수축속도에 따라서 slow type과 fast type으로 크게 구분된다. slow type에는 MHC isoform 1이 존재하고, fast type은 2A, 2X 그리고 2B의 3가지 isoform이 존재하며 이를 코딩하는 유전자는 각각 *MYH7*, *MYH2*, *MYH1*, *MYH4*이다.

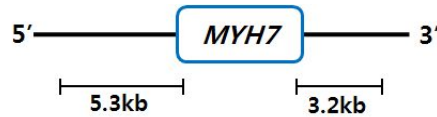
각 isoform별 아미노산 서열을 비교분석한 1차년도 결과를 통해 slow type isoform이 다른 fast type에 비해 상대적으로 차이가 나며, fast type isoform간에는 동질성이 높게 나타나고, 또한 종간에서도 isoform별 동질성이 매우 높게 나타남을 확인할 수 있었다. 이러한 MHC isoform은 개체별로 발현비율이 다르며, 그에 따라 근육의 기능적 특성이 결정된다고 보고된 바 있다(Wimmer 등, 2008). 그러나 앞선 연구결과, 모든 isoform의 cDNA염기서열 내에서 어떠한 변이도 발견되지 않았으며(Chikuni 등, 2001), 이는 개체별 MHC isoform 발현비율에 차이를 줄 수 있는 유전적 요인이 발현영역 내에 있지 않음을 유추할 수 있었다. 5'upstream 영역은 TATA box나 CAAT box 등 전사수준의 조절을 할 수 있는 서열들이 존재하는 중요한 발현조절 영역이며, 그 기능이 알려져있지 않았던 3'downstream 영역도 mRNA수준을 조절하는 siRNA등의 발견과 함께 중요한 조절영역으로 주목받고 있다. 따라서 본 연구팀은 각 myosin heavy chain isoform을 코딩하는 유전자들의 발현영역이 아닌, 5'upstream 영역과 3'downstream 영역에서 염기서열분석을 통한 다형성 탐색을 실시했다.

MHC 유전자 발현의 과정을 보면 MHC isoform 1에서 2A, 2X, 2B로 전환되면서, 근섬유(muscle fiber)의 형태가 slow type에서 fast type으로 전환된다고 알려져 있다(Schiaffino 등, 1994). 이를 통해서 slow type 위주의 근섬유가 fast type으로 전환될 때, MHC isoform 1의 발현이 조절되어 fast isoform으로 전환됨을 유추해 볼 수 있으며, 이를 코딩하는 *MYH7* 유전자의 발현조절 영역이 myosin heavy chain isoform들간의 발현비율에 영향을 줄 수 있는 주요한 유전적 요인이 될 수 있을 것으로 판단된다. 또한 2A, 2X, 2B의 MHC fast isoform들을 코딩하는 각각의 유전자가 돼지염색체 12번의 q-arm영역에 매우 가깝게 위치하고 있어 linear한 발현조절 패턴을 가질 수 있으므로, MHC fast isoform의 사이영역도 발현비율에 영향을 줄 수 있을 것으로 판단된다. 따라서 2차년도 연구는 MHC isoform 1을 코딩하는 *MYH7* 유전자 뿐만아니라 fast type isoform을 코딩하는 *MYH2*, *MYH1*, *MYH4* 유전자의 5'upstream 영역과 3'downstream 영역에 대해 염기서열분석을 통한 다형성 탐색을 실시했다.

### 가. 발현조절영역에 대한 염기서열 분석 및 개체간 서열차이에 따른 다형성 탐색

Myosin heavy chain slow isoform에는 하나의 isoform(MHC isoform 1)이 존재하며 돼지염색체 7번의q-arm영역에 위치한 *MYH7* 유전자에 의해서 발현된다. 본 연구에서는 발현조절영역의 염기서열구조와 변이를 탐색하기 위하여 *MYH7* 유전자의 5'upstream 영역에 대해 약 5.3 kb, 3' downstream 영역에 대해 약 3.2 kb를 염기서열분석을 실시했다(Figure 2-1). fast isoform에는 3개의 isoform (MHC isoform 2A, 2X, 2B)이 존재하며 각각 *MYH2*, *MYH1*, *MYH4* 유전자에 의해 발현되는데, 이 3개의 유전자는 모두 돼지염색체 12번의 q-arm영역에

연속적으로 위치하고 있는 특징이 있다(Figure 2-1). *MYH2* 유전자와 *MYH1* 유전자는 약 5kb만큼 떨어져 있으며, *MYH1* 유전자와 *MYH4* 유전자는 약 8kb만큼 떨어져있으며, 본 연구에서는 *MYH2* 유전자의 5'upstream영역 뿐만 아니라 세 유전자의 사이인 5 kb와 8 kb영역, 그리고 *MYH4* 유전자의 3'downstream 영역까지 염기서열분석을 실시했다.



(a) Myosin heavy chain slow isoform gene in SSC7



(b) Myosin heavy chain fast isoform genes in SSC12

Figure 2-1. Analysis regions of 4 genes coding Myosin heavy chain isoform to sequence and detect polymorphisms

### (1) Myosin heavy chain slow isoform 유전자에 대한 염기서열분석

Myosin heavy chain slow isoform을 코딩하는 *MYH7* 유전자는 NCBI의 Genbank에 mRNA염기서열(NM\_213855)만 보고되어 있기 때문에, 발현조절영역탐색용 primer제작을 위한 기초염기서열을 확보할 수 없었다. 따라서 다른 biological database인 'Ensemble genome browser'를 이용하여 *MYH7* 유전자의 5'upstream 영역 및 3'downstream 영역의 서열을 탐색하였다. 이 서열을 바탕으로 15개의 amplicon을 증폭할 수 있는 특이 프라이머 set(S1~S15)을 Primer3 program(<http://frodo.wi.mit.edu/primer3/>)을 이용하여 제작하였다(Table 2-1). 각각의 프라이머는 700 bp정도의 길이로 제한되었으며, annealing temperature는 60°C가 되도록 특이 제작했다. 프라이머 set S1~S9는 5'upstream의 약 5.3kb를 포함하며, 프라이머 set S10~15는 약 3.2kb의 3'downstream 영역을 포함하고 있다(Figure 2-2).

품종간 및 품종내 염기서열 변이를 탐색하기 위해서 4개 품종(Yorkshire, Landrace, Berkshire, Duroc)의 순종 돼지의 DNA를 이용하였으며, 같은 품종 돼지 10두의 DNA를 혼합한 pooling DNA sample을 각 품종별로 2개씩(즉, 총20두) 조성하여 염기서열 분석에 이용하였다. 각 돼지의 DNA는 EDTA를 처리한 혈액표본에서 Sambrook 등(1989)의 방법 또는 키트(G-DexTMIIIb, Intronbio. Korea)를 통해 추출하였다. PCR은 총 부피 50 $\mu$ l로 100ng의 돼지 DNA와 각 10pmol의 primer, 0.25mM의 dNTP, 1x PCR buffer 및 1.25U의 DNA polymerase (i-MaxTMIII, Intronbio., Korea)를 넣고 Mastercycler gradient (Eppendorf Co., Germany)를

이용하여 수행했다. 염기서열분석은 ABI PRISM®3730 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA)로 실시했으며, Seqman program (DNASTAR, USA)으로 최종 염기서열분석 및 polymorphisms을 확인하였다.

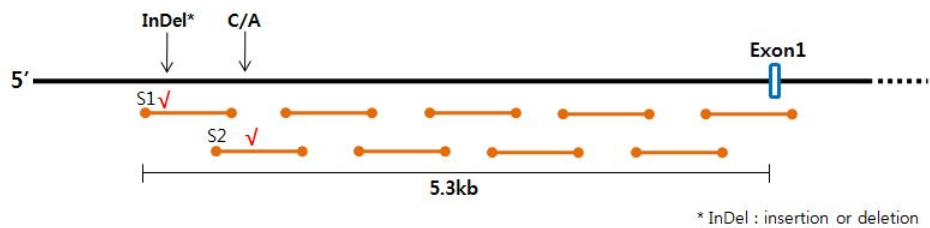
Table 2-1. Primer sequence for sequencing regulatory region of *MYH7* gene

<sup>1</sup> PCR annealing temperature.

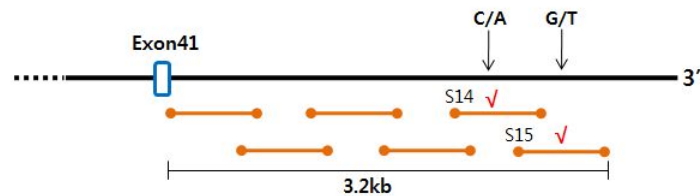
Primer	Region	Sequence (5' → 3')	Size (bp)	Ann. <sup>1</sup> (°C)
S1	5'upstream	F : ATGTATGTGTGGCGTGTGC R : GCACTTTGGTGTGGACCT	666	60
S2	5'upstream	F : TGCCAGTGAACAGAGCTGA R : ATCCAGTAGGCCTGTGGTCT	682	60
S3	5'upstream	F : GCCATATCGTGAGTGCAAGT R : TGCTCTCCGATAGACAGTGG	714	60
S4	5'upstream	F : TGTTCTCCACGGTCTGAATC R : CTTTGTCTGGGCTCTGTCAC	706	60
S5	5'upstream	F : CTCTCCCATTCCTGGTAGT R : GAACTCGTCTCTCTGCCTCA	665	60
S6	5'upstream	F : AGCTGCTCTGTCCTCAAACA R : GGTGAGGGCTCTTTGTAACC	725	60
S7	5'upstream	F : AGGGCTGTCCTATGGTCAAT R : AGCACTGCCACAGGTAGTA	621	60
S8	5'upstream	F : AGCAGTGTAGCAGGCACTGT R : AACTGACCACGACCACCAT	724	60
S9	5'upstream	F : CTCTCCATCTCACAGTTGGA R : CCACACTCCCATTAGCACAT	700	60
S10	3'downstream	F : GGAGGAAAGAGAGGGACACA R : TCTCACATCCATCCCTGCT	688	60
S11	3'downstream	F : GACTTGGAGGTAGGGAACCA R : GGTCAGCTTTTCTGGGTAGG	797	60
S12	3'downstream	F : AATGTGGGGTTGACTCAGGT R : GCAATCTAGGGGTGAGGAGA	726	60
S13	3'downstream	F : ATGTGAGCATGAGCCCTGT R : CTTTCCCTGTGGTCTTGTT	691	60
S14	3'downstream	F : CCTTCCCAGTTTGAGATGT R : TCAGCTCCTCCTCCTTTGAT	680	60
S15	3'downstream	F : CTCTTTGGAGGGCAGGAAT R : GGGAGTATGAGAGGCAGGAA	734	60

*MYH7* 유전자의 5'upstream 영역에서 insertion/deletion(InDel)과 단일염기다형성(Single nucleotide polymorphism, SNP)이 각각 1개씩(InDel1, SNP1) 발견되었다(Figure 2-2). InDel1은 S1 amplicon에 위치하며 'AAT' 서열이 insertion/deletion 되어있는 형태이다. Berkshire에서는 insertion이 나타나, Duroc에서는 deletion이 나타났으며, Landrace와 Yorkshire에서는 insertion과 deletion이 나타났다. SNP1은 S2 amplicon에 위치하고 있으며 다른 세 품종이 모두 C염기로 고정되어있는 반면 Yorkshire에서만 C/A transversion 변이가 나타났다.

*MYH7* 유전자의 3'downstream 영역에서 SNP2와 SNP3가 발견되었다(Figure 2-2). SNP2는 모든 품종에서 C/A transversion이 나타났다. SNP3은 Berkshire에서만 G/T transversion이 나타나며 다른 3품종은 G allele로 고정되어있는 것으로 나타났다. *MYH7* 유전자에 대한 염기서열분석결과 발견된 SNP 중 SNP1은 Yorkshire 특이적이며, SNP3는 Berkshire 특이적으로 나타났으며, SNP2만이 4가지 품종에서 고르게 변이를 나타냈다.



(a) 5'upstream region of *MYH7* gene



(b) 3'downstream region of *MYH7* gene

Figure 2-2. Primer set to analyze sequence of 5'upstream region and 3'downstream region of *MYH7* gene in porcine chromosome 7 and polymorphisms that were detected

## (2) Myosin heavy chain fast isoform 유전자에 대한 염기서열분석

앞서 언급한 바와 같이 myosin heavy chain fast isoform을 코딩하는 3개의 유전자는 모두 돼지 염색체 12번의 q-arm영역에 *MYH2*, *MYH1*, *MYH4* 순으로 위치하고 있다(Figure 2-1). 따라서 *MYH2* 유전자의 5'upstream 영역 3.2 kb와 세 유전자의 사이 5 kb, 8kb 그리고 *MYH4* 유전자의 3'downstream 영역 3.3 kb에 대해 염기서열분석 및 다형성 탐색을 실시했다. 이 유전자들 역시 Genebank에는 mRNA염기서열(각각 NM\_214136, NM\_001104951 그리고 NM\_001123141)만 알려져 있었고 Ensemble genome browser를 이용하여 *MYH7* 유전자의 염기서열분석시와 같은 방법으로 기초염기서열을 탐색하였다.

*MYH2* 유전자의 5'upstream 영역에 대한 염기서열분석을 위해 특이 프라이머 set F1~F6을 제작하였으며(Table 2-2), 사용된 pooling DNA는 *MYH7* 유전자 분석시 사용한 것과 동일하다. 이를 통해 6개의 amplicon을 증폭하였으며, 이는 약 3.2kb의 영역을 포함하고 있다(Figure 2- 3). 증폭한 PCR산물을 이용하여 전과 동일한 방법으로 염기서열분석을 실시했다.

Table 2-2. Primer sequence for analyzing sequence of 5'upstream region of *MYH2* gene

Primer	Region	Sequence (5' → 3')	Size (bp)	Ann <sup>1</sup> (°C)
F1	5'upstream	F : GCAGTCTACTGGGCAGGTTTA	667	60
		R : AATAGCGAGGGGTCTAGGGTA		
F2	5'upstream	F : CAGGTTCTTTTCTGCTGCAC	686	60
		R : TGGGCATTTTCTCTGTGCT		
F3	5'upstream	F : GAGTGAGGCTTTGCCTTTTC	713	60
		R : CTTCCACTCTGAGCTGTTTCC		
F4	5'upstream	F : ACATGCTGAGTGGAACCAAG	799	60
		R : TATATGAAGGCCACGGTGAG		
F5	5'upstream	F : TGTGTGCCCTTCTTCATCA	750	60
		R : AAGGAAGGTTTCAGGCTGGT		
F6	5'upstream	F : AGCCAGGAGGAATTTGTGAG	721	60
		R : TCTCCAGCACCTTTCCTGA		

<sup>1</sup> PCR annealing temperature.

*MYH2* 유전자의 5'upstream 영역에서는 단 하나의 변이(SNP4, T/C transition)가 발견되었다. SNP4는 F5 amplicon에 위치하며 Landrace과 Duroc에서는 T allele로 고정되어있었지만 Berkshire, Duroc에서는 변이가 나타났다.

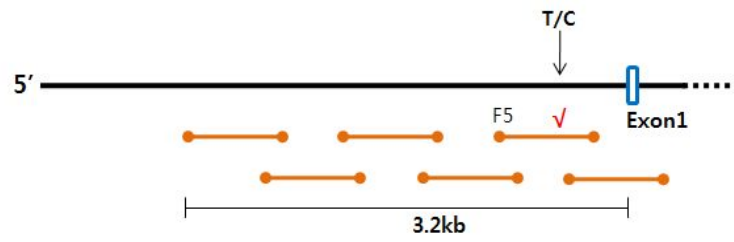


Figure 2-3. Amplicon structures of 5'upstream region of *MYH2* gene and information of polymorphisms detected by direct sequencing



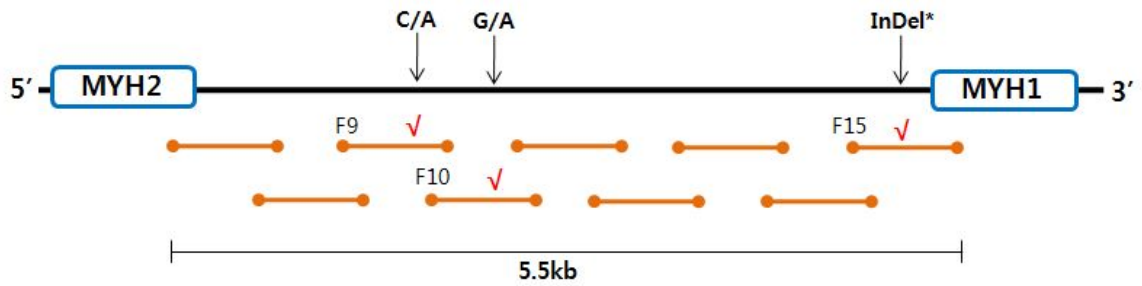
*MYH2* 유전자와 *MYH1* 유전자간 영역에 대한 염기서열분석을 위해 특이 프라이머 set F 7~F15을 제작하였으며(Table 2-3), 동일한 pooling DNA를 이용하였다. 이를 통해 증폭한 9개의 amplicon은 *MYH2* 유전자의 마지막 exon과 *MYH1* 유전자의 첫 번째 exon을 포함하는 약 5.5kb영역에 걸쳐있다(Figure 2-4). 증폭한 PCR산물을 이용하여 전과 동일한 방법으로 염기서열분석을 실시했다.

Table 2-3. Information of primers used for sequencing noncoding region between *MYH2* and *MYH1* genes

Primer	Region	Sequence (5' → 3')	Size (bp)	Ann. <sup>1</sup> (°C)
F7	<i>MYH2</i> ~ <i>MYH1</i>	F : ACAGTCATCATCTCCCAGCA R : AATTCTTAGCGGCAGGTCAC	721	60
F8	<i>MYH2</i> ~ <i>MYH1</i>	F : CGGGAGGTTACACAAAAG R : TCTGAGGTTGGGGATCAAAT	770	60
F9	<i>MYH2</i> ~ <i>MYH1</i>	F : CAGTGGAAACGAACCCAAC R : TCCTGAAGCCAGTGTGATGT	781	60
F10	<i>MYH2</i> ~ <i>MYH1</i>	F : AAATGGCCCTGTGAGAGAAC R : AATGGAAATAGGCTGCCTTG	668	60
F11	<i>MYH2</i> ~ <i>MYH1</i>	F : CCAGGTGATCAAGGTCAAGA R : TTTGCTCCTTACCGGAGACT	777	60
F12	<i>MYH2</i> ~ <i>MYH1</i>	F : TCAGTCTGTCTTTGGCTGCT R : CAGGATGTGTGGCATGTGT	630	60
F13	<i>MYH2</i> ~ <i>MYH1</i>	F : ACACATGCCACACATCCTG R : CAGGAAACTCAAAGCACTCG	798	60
F14	<i>MYH2</i> ~ <i>MYH1</i>	F : CCTGCATGTTGCTCCATACT R : GATGCTTCTCCAACGCTTTT	712	60
F15	<i>MYH2</i> ~ <i>MYH1</i>	F : GAAGGATGCTGCAGAAGGA R : GTCAAAGTCTGGGAGACAGGA	766	60

<sup>1</sup>PCR annealing temperature.

*MYH2* 유전자와 *MYH1* 유전자간 영역에서는 SNP5(C/A transversion), SNP6(G/A transition) 그리고 InDel2 가 발견되었다. F9 amplicon에서는 발견된 SNP5는 모든 품종에서 변이가 나타났으며, F10 amplicon에 있는 SNP6은 Yorkshire와 Landrace에서 나타나는 반면, Berkshire와 Duroc은 G allele로 고정되어 있었다. InDel은 F15 amplicon에서 나타났다.



\* InDel : insertion or deletion

Figure 2-4. Amplicon structures of noncoding region between *MYH2* and *MYH1* genes and information of polymorphisms detected by direct sequencing.

*MYH1* 유전자와 *MYH4* 유전자간 영역에 대한 특이 프라이머 set F16~F29를 제작하였으며(Table 2-4), 총 14개의 amplicon을 증폭하여 약 8kb에 이르는 영역에 대한 염기서열분석을 실시했다. 앞서 사용한 pooling DNA를 이용하였으며, *MYH1* 유전자의 마지막 exon과 *MYH4* 유전자의 첫 번째 exon을 포함하고 있다(Figure 2-5). 증폭한 PCR산물을 이용하여 전과 동일한 방법으로 염기서열분석을 실시했다.

Table 2-4. Sequences of primers used for sequencing noncoding region between *MYH1* and *MYH4* genes

Primer	Region	Sequence (5' → 3')	Size (bp)	Ann. <sup>1</sup> (°C)
F16	<i>MYH1</i> ~ <i>MYH4</i>	F : ATCCCGAAGTCGATGAACTC R : CACTGATGGACACTGCATGA	825	60
F17	<i>MYH1</i> ~ <i>MYH4</i>	F : TGAAAGGGTGTGGTTGACTC R : TGCACCTCGTGGAAGTGA	692	60
F18	<i>MYH1</i> ~ <i>MYH4</i>	F : CTTGCAAACCTCACCTCTGA R : ATGGGTGTCGTGGAATGAG	606	60
F19	<i>MYH1</i> ~ <i>MYH4</i>	F : CAAATGTGACCCATTCCTCA R : AAGAGAAGCGTGGACCAGAT	790	60
F20	<i>MYH1</i> ~ <i>MYH4</i>	F : GCCTGCTTCTCATCTCTCTGT R : CCAGAAACGAAGTACCAGGAG	716	60
F21	<i>MYH1</i> ~ <i>MYH4</i>	F : GCAAACAGGCAGGTACAGAA R : CCGCACACACGTAATTTTG	734	60
F22	<i>MYH1</i> ~ <i>MYH4</i>	F : ACTAGAAGAAAGCGGCAAGG R : CAGCCCTAGAAAAGGCAAAC	720	60
F23	<i>MYH1</i> ~ <i>MYH4</i>	F : GCACATGGCTCATAGCAGAT R : TCACCAGGGAGGTAATGGTT	500	60
F25	<i>MYH1</i> ~ <i>MYH4</i>	F : AACCATTACCTCCCTGGTGA R : CGCTGAATGAGGGAGAGATT	780	60
F26	<i>MYH1</i> ~ <i>MYH4</i>	F : TTGAAGCTCCTCCCATATC R : ACGCATGTGCTATCTTTGGA	583	60
F27	<i>MYH1</i> ~ <i>MYH4</i>	F : TATGCGTCTTGGTCTCATCC R : CAGGAGTCCGTGTGATGTTC	729	61
F28	<i>MYH1</i> ~ <i>MYH4</i>	F : GTCATGAGGATTTGCCTGTG R : GGCATCTCAGCTCCACTTTT	765	61
F29	<i>MYH1</i> ~ <i>MYH4</i>	F : ATCCATTCACAGCCACAGTC R : CGTGTGATCCTTGCAGTCTT	663	61

<sup>1</sup> PCR annealing temperature.

*MYH1* 유전자와 *MYH4* 유전자간 영역에서는 SNP7(G/A transition), SNP8(G/A transition) SNP8(A/T transversion)이 발견되었다(Figure 2-5). SNP7과 SNP8은 F16 amplicon에 위치한다. SNP7은 모든 품종에서 고르게 나타났으며, SNP8은 Landrace를 제외한 제품종에서 나타났다. SNP9은 F22 amplicon에 위치하며 Yorkshire, Landrace, Berkshire에서 나타났고, Duroc은 A allele로 고정되어 있었다.

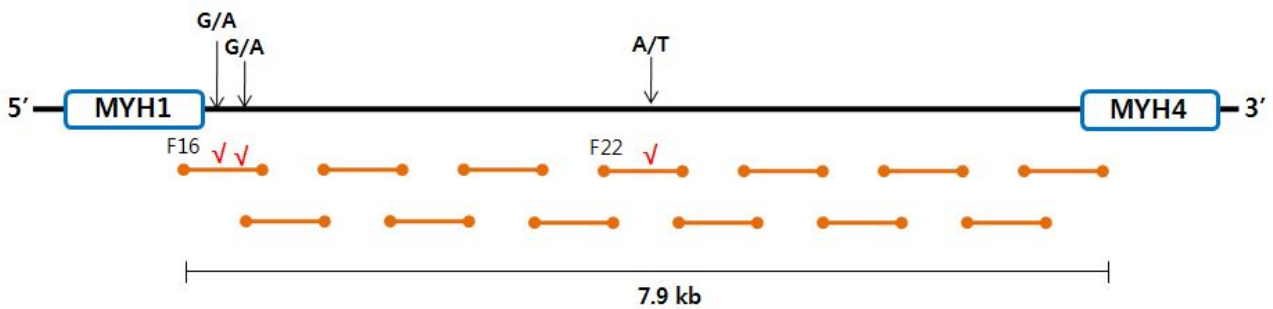


Figure 2-5. Amplicon structures of noncoding region between *MYH1* and *MYH4* genes and information of polymorphisms detected by direct sequencing

MHC fast isoform 유전자들의 제일 마지막 부분으로 *MYH4* 유전자의 3'downstream 영역에 대한 특이 프라이머 set F30~F35를 제작하였다(Table 2-5). 앞서 사용한 pooling DNA를 이용하여 6개의 amplicon을 증폭하여(Figure 2-6) 약 3.3 kb에 대해 염기서열분석을 실시했다. 그러나 다른 유전자부위와는 다르게 변이를 발견할 수 없었다(Figure 2-6).

Table 2-5. Sequences of primers used for sequencing 3'downstream region of *MYH4* gene

Primer	Region	Sequence (5' → 3')	Size (bp)	Ann. <sup>1</sup> (°C)
F30	3'downstream	F : AATCCAACGTCAACCTCTCC R : TGTGTTACTGCCTCACATGGT	633	61
F31	3'downstream	F : TGCTCTAAGAAGAGGCAAAGG R : ATGGGGTTTGAATGCTGTG	727	60
F32	3'downstream	F : ATCTGCAGGGTGAAGGAATC R : TTAGCAACACAGGACCCAAG	777	61
F33	3'downstream	F : AGTAGGGCAGGGTTCTTTTGT R : CAGTTGGCCAGTGCTTCTAA	650	60
F34	3'downstream	F : CCCAGTGTGGGAATCCTAAT R : AGCCTCTTGCTTTCTCCTTG	682	60
F35	3'downstream	F : ATGCGGGATCACTGAGATTT R : AACCTACACCCTCATGAATGC	784	60

<sup>1</sup> PCR annealing temperature.

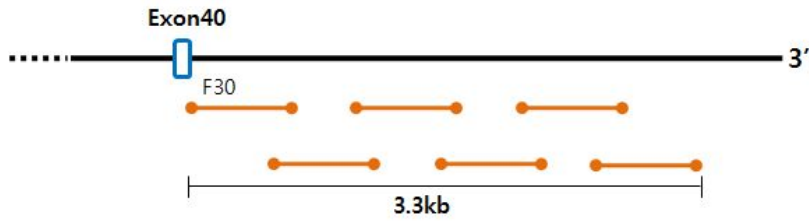


Figure 2-6. Amplicon structures of 3'downstream region of *MYH4* gene and information of polymorphisms detected by direct sequencing

### 나. 후보유전자들의 다형성 분포도 조사

염기서열분석을 통해 *MYH7*, *MYH2*, *MYH1*, *MYH4* 유전자의 발현조절영역에 대한 염기서열분석을 모두 실시하여 탐색한 유전자다형성은 Table 2-6과 같다. myosin heavy chain의 각 isoform들의 아미노산 서열이 개체, 축종에 관계없이 매우 높은 동질성을 보이는 것으로 알려져 있는데, 아미노산을 코딩하는 영역뿐만아니라 발현에 관계하는 5'upstream과 3'downstream 영역에서도 상당히 보존적인 경향을 보였다. 특히, *MYH4* 유전자에서 가까운 위치에서는 변이가 발견되지 않았다. 하지만 본 연구를 통해 총 11개의 변이를 발견했으며, 9개의 SNP와 2개의 InDel로 구성되어 있다. SNP는 transversion(SNP1, 2, 3, 5, 9)이 5개였으며, transition이 4개였다(SNP4, 6, 7, 8).

Table 2-6. Overview of polymorphisms found in genes coding porcine myosin heavy chain isoforms

Polymorphism	Gene	Region	Primer	Nucleotide	Restriction Enzyme
InDel1		5'upstream	S1	-/AAT	-
SNP1	<i>MYH7</i>	5'upstream	S2	C/A	-
SNP2		3'downstream	S14	C/A	<i>ApoI</i>
SNP3		3'downstream	S15	G/T	-
SNP4	<i>MYH2</i>	5'upstream	F5	T/C	<i>PstI</i>
SNP5			F9	C/A	<i>HpyCHAV</i>
SNP6	<i>MYH2</i> ~ <i>MYH1</i>	-	F10	G/A	-
InDel2			F15	-/A	-
SNP7			F16	G/A	-
SNP8	<i>MYH1</i> ~ <i>MYH4</i>	-	F16	G/A	-
SNP9			F22	A/T	-

#### 다. 개체군에 대한 유전자형 분석

유전자분석을 통한 SNP의 효과확인을 위해서는 적정규모의 개체군(실험돈군) 조성이 필요하다. 현재까지 조성한 축군은 Berkshire 204두, Duroc 38두, Landrace 60두, Yorkshire 29두로 총 331두이다. 암퇘지는 237두이고, 거세수퇘지는 94두로 구성되어있다. 4개의 품종으로부터 암수가 구분된 실험돈군을 구성함으로써 품종과 성별효과를 배제한 3차년도에서 수행되어질 표지유전자탐색을 위한 연관성분석에서 유전자형의 효과를 보다 더 정확하게 분석할 수 있을 것으로 판단되며, 품종별 유전자형의 효과도 알 수 있을 것으로 사료된다. 이렇게 조성된 각각 돼지별로 DNA는 EDTA를 처리한 혈액표본에서 Sambrook 등 (1989)의 방법 또는 키트(G-DexTMIIb, Intrnbio. korea)를 통해 추출하였다. 발견된 변이들에 대한 유전자형분석을 위해서는 진단기법개발이 필요하고 효율적인 방법중의 하나인 restriction fragment length polymorphism (RFLP) 방법을 개발하기 위해서 먼저 각 변이위치를 인지할 수 있는 제한효소를 탐색하였다. 추출한 DNA와 앞서 제작한 특이프라이머를 이용하여 PCR-RFLP방법으로 SNP2, SNP4, SNP5에 대해 개체군 집단에서 실제 유전자형분석을 실시했다.

*MYH7* 유전자의 3'downstream 영역에 존재하는 SNP2은 제한효소 *ApoI*에 의해 인식된다. SNP2는 S14 프라이머set에 의해 증폭된 680bp의 PCR산물을 RFLP에 이용한다. CC 유전자형을 가진 개체는 그대로 680bp의 단편이 생기지만, AA 유전자형을 가진 개체는 504bp와 176bp의 단편이 생성되어 구분된다. 또한 이형접합체인 AC 유전자형의 경우 세 단편(680, 504, 176 bp)이 모두 생성되기 때문에 3가지 유전자형을 모두 구분할 수 있다(Figure 2-7).

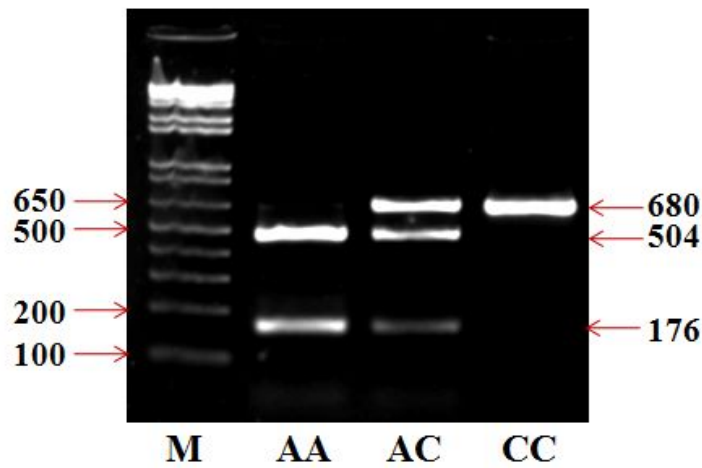


Figure 2-7. PCR-RFLP fragments of the SNP2 in 3'downstream of *MYH7* gene  
M, 1kb plus ladder size marker (Invitrogen, USA).

*MYH2* 유전자의 5'upstream 영역에 존재하는 SNP4은 제한효소 *PstI*에 의해 인식되며, 같은 원리를 이용하여 유전자형진단기법을 개발했다. F5 프라이머 set에 의해 증폭된 750bp의 PCR산물은 CC 유전자형에서 539bp와 211bp의 두 단편으로 절단된다. 반면 TT 유전자형에서는 절단되지 않고 그대로 750bp가 나오며, 이형접합체인 CT 유전자형의 경우 세가지 단편(750, 539, 211)이 모두 나타난다. 따라서 SNP4에 대한 유전자형 분석이 가능하다(Figure 2-8).

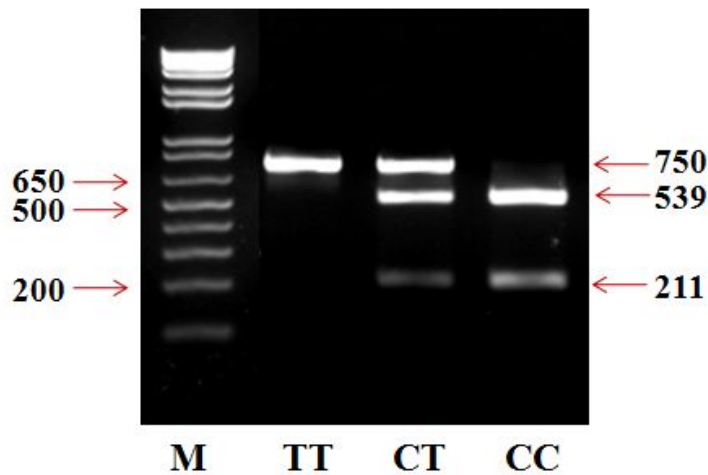


Figure 2-8. PCR-RFLP fragments of the SNP4 in 5'upstream of *MYH2* gene  
M, 1kb plus ladder size marker (Invitrogen, USA).

*MYH2* 유전자와 *MYH1*유전자 사이에 존재하는 SNP5는 제한효소 *HpyCH4V*에 의해 인식된다. SNP5는 F9 프라이머 set에 의해 증폭되는 781bp의 PCR산물 안에 포함되지만, 이 경우 제한효소 *HpyCH4V*에 의해 인식되어 절단되는 부분이 너무 많아서 유전자형분석에 어려움이 있다. 따라서 보다 효율적인 유전자형분석을 위해 새로운 프라이머 set을 제작했다(Table 2-7).

Table 2-7. The sequences of new primers used for genotyping SNP5

Polymorphism	Restriction Enzyme	Sequence (5' → 3')	Size (bp)
SNP5	<i>HpyCH4V</i>	F : GCCTATGCTTCCAGGTCTTC	279
		R : GCAGTCACCATTTCAGTTTCC	

새로 제작한 프라이머를 통해 증폭된 PCR 산물은 279bp이며. 이는 AA 유전자형에서 168bp, 57bp, 54bp의 세단편으로 나누어진다. 3% 아가로스겔에 전기영동을 했을 때는 57bp 54bp 단편이 구분되지 않고 하나로 나타나기 때문에, 겔 상에는 2개의 단편으로 보이며, 유전자형에 관계없이 항상 나타난다. 반면 CC 유전자형은 168bp 단편이 한번더 절단되어 135bp와 33bp가 추가로 생성된다. 33bp의 경우는 초기 반응 PCR산물의 양을 늘렸을 때에 관찰된다. 이형접합체인 AC 유전자형은 위의 모든 단편(168bp, 135bp, 57bp, 54bp, 33bp)이 나타난다. 따라서 새로 제작한 프라이머를 이용하면 SNP5의 3가지 유전자형이 모두 구분가능하다(Figure 2-8).

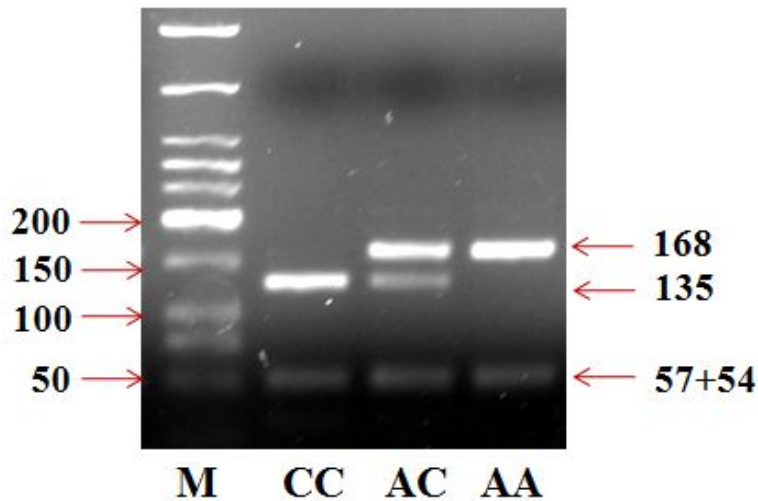


Figure 2-8. PCR-RFLP fragments of the SNP5 in noncoding region between *MYH2* and *MYH1* genes. M, low molucular ladder size marker (New England Biolab, UK).

SNP2에 대한 유전자형 분석결과는 Table 2-8에 있다. SNP2는 327두에 대해 분석이 완료되었고, CC 유전자형이 다른 두 유전자형에 비해 높은 빈도(54%)로 나타났다. AA 유전자형은 이형접합체인 AC유전자형보다도 더 낮은 빈도로 나타났고, 이는 유전자빈도가 C allele(68%)이 A allele에 비해 높게 나타났다. 그러나 전체적인 빈도와 다르게 각 품종별로는 특이한 경향을 보였다. Berkshire에서는 AA 유전자형의 빈도가 AC 빈도만큼 나왔지만 CC 유전자형이 많은 유사한 경향이 나타났다. 하지만 Duroc과 Ladrace에서는 CC 유전자형이 매우 높은 빈도로 나타났고, AA 유전자형을 가진 개체는 없었다. 또한 Yorkshire는 다른 세 품종과 확연히 다르게 AA와 AC 유전자형이 CC 유전자형보다 매우 높게 나타났다.



Table 2-8. Frequency of gene and genotype of SNP2 recognized by *ApoI* restriction enzyme

Breed	N	Genotype			Gene	
		AA	AC	CC	A	C
Berkshrie	200	0.24 (49)	0.29 (58)	0.47 (93)	0.39	0.61
Duroc	38	0 (0)	0.05 (2)	0.95 (36)	0.03	0.91
Landrace	60	0 (0)	0.25 (15)	0.75 (45)	0.13	0.87
Yorkshire	29	0.38 (11)	0.55 (16)	0.07 (2)	0.66	0.34
Total	327	0.18 (60)	0.28 (91)	0.54 (176)	0.32	0.68

SNP4에 대한 유전자형 분석결과는 Table 2-9에 있다. SNP10는 331두에 대해 모두 분석이 완료되었다. Berkshire에서만 세 가지 유전자형이 모두 관찰되었으며 이형접합체인 CT 유전자형이 가장 높은 빈도를 보였다. Landrace는 60두 모두 TT 유전자형으로 고정되어 있었다. Duroc과 Yorkshire는 CC 유전자형이 관찰되지 않았고, TT 유전자형빈도가 각각 89%, 97%로 높게 나왔다. 유전자빈도에 있어서도 Berkshire에서만 고르게 나타났으며, 나머지 세 품종의 경우 T allele 각각 95%, 100%, 98%로 치우쳐 있었다.

Table 2-9. Frequency of gene and genotype of SNP4 recognized by *PstI* restriction enzyme

Breed	N	Genotype			Gene	
		CC	CT	TT	C	T
Berkshrie	204	0.21 (42)	0.54 (110)	0.25 (52)	0.48	0.52
Duroc	38	0.00 (0)	0.11 (4)	0.89 (34)	0.05	0.95
Landrace	60	0.00 (0)	0.00 (0)	1.00 (60)	0.00	1.00
Yorkshire	29	0.00 (0)	0.03 (1)	0.97 (28)	0.02	0.98
Total	331	0.13 (42)	0.35 (115)	0.53 (174)	0.30	0.70

SNP5에 대한 유전자형 분석결과는 Table 2-10에 있다. SNP5는 Duroc, Landrace, Yorkshire에 대해서는 완료되었다. Berkshires는 157두 분석했고, 추가유전자형을 진행 중에 있다. SNP5의 유전자형빈도도 다른 SNP와 같이 품종별로 특이하게 나타났다. Berkshire와 Duroc에서는 CC 유전자형빈도가 높게 나타난 반면 Landrace와 Yorkshire는 AA type빈도가 높게 나타났다. 전체적인 빈도로 보았을 때는 CC 유전자형빈도가 높게 나오지만, 이는 유전자형분석 두수가 Berkshire에서 많아서 그러한 것으로 판단된다.

Table 2-10. Frequency of gene and genotype of SNP5 recognized by *HpyCHAV* restriction enzyme.

Breed	N	Genotype			Gene	
		CC	CT	TT	C	T
Berkshrie	204	0.21 (42)	0.54 (110)	0.25 (52)	0.48	0.52
Duroc	38	0.00 (0)	0.11 (4)	0.89 (34)	0.05	0.95
Landrace	60	0.00 (0)	0.00 (0)	1.00 (60)	0.00	1.00
Yorkshire	29	0.00 (0)	0.03 (1)	0.97 (28)	0.02	0.98
Total	331	0.13 (42)	0.35 (115)	0.53 (174)	0.30	0.70

본 세부과제의 목적은 육질예측인자로서의 DNA마커 개발에 있다. 이를 위해 2차년도 연구에서는 1차년도 연구수행 결과 선정된 후보유전자들에 대해서 주요유전자조절영역의 염기서열 분석 및 다형성 탐색연구를 수행하였다. 포유동물의 myosin heavy chain isoform은 mRNA 단위에서 9개의 MHC isoforms로 발현되며, 그 중 MHC isoform 1, 2A, 2X 및 2B isoforms는 성숙 skeletal muscle(골격근)에서 발현되는 isoform이다. 이 isoform들은 호기적 대사작용을 하는 slow type(MHC isoform 1)과 혐기적 대사작용을 하는 fast type(MHC isoform 2A, 2B, 2X)로 나누어지며, 그 구성에 따라 근육의 수축 및 이화학적 특성에 영향을 미치게 된다. 본 연구에서는 이들 4개의 myosin heavy chain isoform을 coding하는 각각의 4개 유전자(*MYH7*, *MYH2*, *MYH1*, *MYH4*)의 5'upstream과 3'downstream 영역을 포함하는 조절영역에 대하여 총 28 kb의 염기서열구조를 파악할 수 있었고 총 11개의 변이(SNP 9개, InDel 2개)를 발굴하였다. 이들에 대한 유전자형분석기법을 마련하여 기초돈군으로 확보한 4개품종(Berkshire 204두, Duroc 38두, Landrace 60두, Yorkshire 29두) 331두의 개체군내에서 유전자 및 유전자형 빈도를 확인할 수 있었다.

현재까지 본 연구과제를 제외하고 포유류의 skeletal MHC isoform 유전자의 5'flanking영역이나 3'flanking 영역에 대해 많은 연구가 진행되지 않은 상태이다. 다른 축종에서는 mouse adult IIB 유전자(Takeda 등, 1992)와 rat embryonic 유전자(Bouvagenet 등, 1987; Yu 등, 1989)에서 분석된 바 있으며 돼지에서는 *MYH2* 유전자(MHC isoform 2A)의 5'flanking 영역이

Chang 등(1995)에 의해 분석된 바 있다. 이 보고에 따르면 MYH2 gene의 전사개시부위로부터 -31 위치의 5'flanking 영역에 TATA box가 있지만, CCAAT box motif는 없었다. 그리고 muscle-specific regulatory element인 E box, MEF2-like binding 좌위가 발견되었다. 본 세부과제수행을 통해 MYH2 유전자의 5'upstream 영역에서 발견한 SNP4는 전사개시부위로부터 -702 위치에 있으며, 3개의 MEF2-like binding 좌위(-911~-901, -863~-853, -164~-154)들 사이에 해당한다. SNP4이 5'upstream 영역에서 regulatory element들과 매우 가깝게 위치하고 있다는 점에서 MYH2 유전자의 발현에 영향을 줄 수 있을 것으로 기대된다.

폐지에서 MYH4 유전자(MHC isoform 2B)에 대해서도 3'-UTR (EMBL accession no. AJ493461) 영역에서 하나의 SNP가 보고된 바 있다(Davoli, 2003). MYH4 유전자의 3'-UTR이 시작지점에서 +26위치에 있으며, Meishan을 제외한 나머지 품종에서 모두 A allele 빈도가 높게 나타났다. 그러나 본 세부과제연구의 Berkshire, Duroc, Landrace, Yorkshire에 대한 염기서열분석을 통한 변이탐색과정에서는 어떠한 변이도 발견되지않았다. Davoli 등 (2003)의 연구에서도 Duroc, Landrace, Yorkshire에 대해 allele frequency를 보고 하였다. A allele 빈도가 각각 0.981, 0.830, 0.767로 높게 나타났는데, 이는 변이빈도자체가 매우 적음을 알 수 있으며, 본 연구에서 사용된 pooling DNA에 대한 염기서열분석에서 탐색되지 않은 것으로 판단된다. 이는 DNA pooling시의 DNA표본추출과정에서 다양한 유전자풀을 가지지 못했을 가능성과 함께, 각 집단별 특성으로도 판단해볼 수 있다.

Myosin heavy chain isoform 유전자들의 5'upstream 또는 3'downstream에 대한 연구들이 현재까지 잘 이루어지지 않았다. 일부 연구들도 단순히 구조분석에만 그치는 한계가 있었으며, 변이탐색을 통한 조절영역의 기작의 변화에 대한 연구가 부족한 상태이다. 따라서 2차년과제수행을 통해 Myosin heavy chain isoform 유전자들의 조절영역에서 신규로 발견한 SNP들과 이에 대한 유전자분석기법의 개발은 근섬유단백질 아형을 coding 하는 유전자들을 이해하는데 매우 유용할 것으로 판단된다. 그러나 이를 더욱 적극적으로 활용하기 위해서는 2차년도의 다형성 탐색 연구결과를 바탕으로 실제로 측정된 표현형 형질들과의 연관성을 규명하여 그 기능을 밝혀내야한다. 따라서 본 세부과제의 3차년도 연구에서는 이러한 연구성과를 바탕으로 각 SNP의 유전자형과 myosin heavy chain isoform과의 관계를 규명하고 나아가 육질관련 형질들의 연관성분석을 통해 최종적으로 육질예측용 DNA마커 및 그 최적조합을 탐색하여 DNA 수준에서의 육질예측방안을 마련하고자 한다.

### 3. DNA 표지인자 선정 및 진단기법 마련

#### 가. 유전자형과 육질관련형질과의 연관성 분석

##### (1) 근섬유단백질아형 유전자내 DNA마커

근섬유단백질아형 및 육질과의 연관성분석대상으로, 본 연구에서 신규하게 발견한 근섬유단백질아형을 코딩하는 유전자내 SNP와 기존 선행연구를 통해 보유하고 있는 근섬유특성관련 유전자내 SNP를 선정했다(Figure 3-1).

Myosin heavy chain (MHC)은 근육 및 근육세포 특성에 가장 큰 영향을 주는 근원섬유 단백질로서 호기적 혹은 혐기적 대사특징을 가지는 아형들이 존재한다. 이러한 근섬유단백질 아형의 특징들은 사후 대사속도 및 육질변이를 대변할 수 있다. 또한 근섬유단백질아형은 근섬유를 구성하고 있다. 즉 근섬유단백질 아형은 근섬유특성에 결정적인 영향을 미치게 되며, 이 근섬유가 모여 최종적으로 근육의 특성을 결정하게 된다. 따라서 기존 본 연구팀에서 보유중인 근섬유특성관련 DNA마커의 기능이 근섬유단백질특성에 의하여 나타난 것일 수도 있다. 따라서 근섬유단백질아형과 관련하여 새로이 발굴한 DNA마커와 함께 기존 근섬유특성관련 DNA마커를 동일한 집단에서 분석하는 것은 큰 의미가 있다고 판단된다.



Figure 3-1. Candidate gene for myosin heavy chain isoforms

본 과제의 1, 2차년 연구를 통해 근섬유단백질 아형별 발현유전자군(*MYH7*, *MYH2*, *MYH1*, *MYH4*)의 발현조절영역에 대한 염기서열분석을 실시했다(Figure 3-2). 이를 통해 총 9개의 SNP와 2개의 InDel을 발굴하고, 이 중 염기다형성 위치를 인식할 수 있는 제한효소(restriction enzyme)가 존재하는 3개의 SNP에 대해 PCR-RFLP기법을 이용한 유전자형진단기법을 마련했다. 실험돈의 DNA는 EDTA를 처리한 혈액표본에서 Sambrook 등(1989)의 방법 또는 키트(G-DexTMIIb, Intronbio. korea)를 통해 추출하고, 각각 SNP를 포함하는 영역을 PCR하기 위해 특이 프라이머를 제작하였다(Table 3-1). PCR은 총 부피 20 $\mu$ l로 100ng의 돼지DNA와 각 10pmol의 primer, 0.25mM의 dNTP, 10x PCR buffer 및 1.25U의 DNA polymerase (i-Max<sup>TM</sup> II, Intronbio., Korea)를 넣고 Mastercycler gradient (Eppendorf Co., Germany)를 이용하여 수행했다. PCR 반응조건은 94 $^{\circ}$ C에서 10분간 pre-denaturation 한 후, 94 $^{\circ}$ C에서 denaturation 1분, 각 프라이머의 최적온도(Table 3-1)에서 annealing 1분, extension 72 $^{\circ}$ C 1분을 한 cycle로 하여 30 cycle을 반복한 후, 마지막으로 72 $^{\circ}$ C에서 10분으로 PCR 반응을 종료하였다. 이 PCR산물들을 SNP별로 제한효소 *ApoI*, *PstI*, *HpyCH4V*를 처리하여 RFLP기법을 이용하여 유전자형분석을 실시하였으며, 이에 따른 밴드패턴이 Table 3-2에 나타나있다.

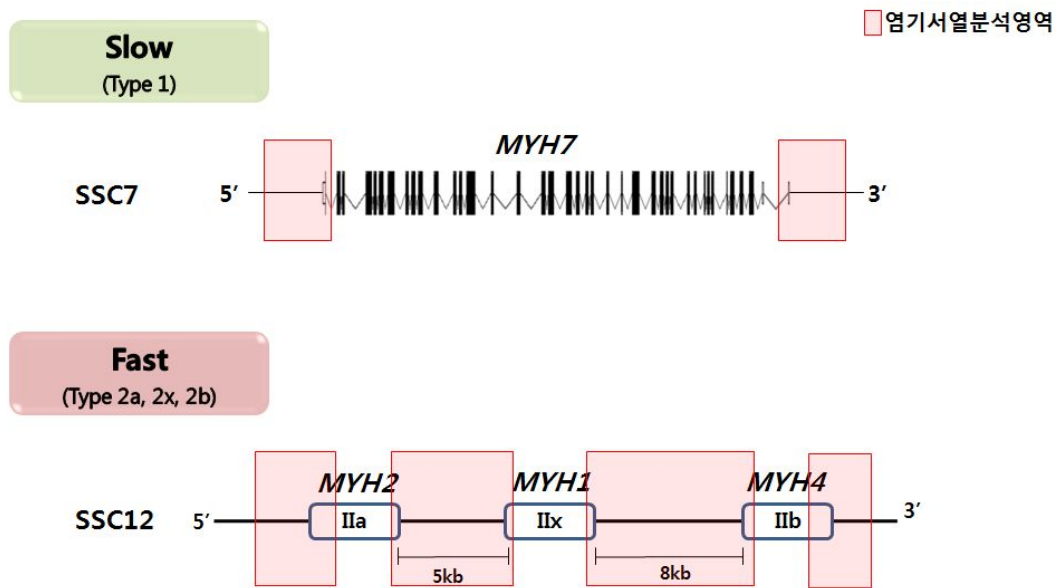


Figure 3-2. Sequence analysis about genes coding porcine myosin heavy chain isoforms

Table 3-1. Overview of polymorphisms found in genes coding porcine myosin heavy chain isoforms by direct sequencing

Gene (Region)	Primer (5'→3')	Annealing temperature	Nucleotide	Restriction enzyme
<i>MYH7</i> (3'downstream)	F: CCTTCCCCAGTTTGAGATGT R: TCAGCTCCTCCTCCTTTGAT	60°C	C/A	<i>ApoI</i>
<i>MYH2</i> (5'upstream)	F: TGTGTGCCCTTCTTCATCA R: AAGGAAGGTTTCAGGCTGGT	60°C	T/C	<i>PstI</i>
<i>MYH2</i> (3'downstream)	F: GCCTATGCTTCCAGGTCTTC R: GCAGTCACCATTTCAGTTTCC	62°C	C/A	<i>HpyCH4V</i>

Table 3-2. Methods of genotyping each polymorphisms in genes coding porcine myosin heavy chain isoforms

Gene (Region)	Enzyme	Allele size (bp)	Figure of electrophoresis
<i>MYH7</i> (3'downstream)	<i>ApoI</i>	C allele : 680 A allele : 504+176	
<i>MYH2</i> (5'upstream)	<i>PstI</i>	T allele : 750 C allele : 539+211	
<i>MYH2</i> (3'upstream)	<i>HpyCH4V</i>	A allele : 168+57+54 C allele : 135+57+54+33	

발굴한 SNP가 근섬유단백질특성 및 육질에 미치는 영향을 확인하기 위해 타세부과제와 연계하여 축군조성 및 형질측정을 실시했다. 근섬유단백질 및 육질형질들은 품종, 성별 등의 유전적인 요인과 함께 환경적인 요인에 영향을 받는다. 따라서 실험돈군은 유전적 다양성을 확보하기 위해 국내에서 주요하게 이용되고 있는 Berkshire, Duroc, Landrace, Yorkshire의 4개 품종으로 조성되었으며, 암퇘지 159두와 거세수퇘지 72두로 총 231두로 구성되어 있다(Table. 3-3). 또한 환경적 요인을 최대한 배제하기 위해 동일 농장, 동일 사료 등 동일조건하에서 사육하였으며, 도축 전후 조건을 동일하게 유지했다. 출하체중에 도달한 실험군은 MHC isoform 분석을 위해 도축후 45분내 등심근 시료를 급속냉각하여 확보하고, 도축후 24시간후 등심근 시료를 이용하여 육질을 측정하였다.

Table 3-3. The structure of experimented pigs

Breed	Female	Castrated male	Total
Berkshire	68 <sup>1</sup>	52	120
Duroc	0	30	30
Landrace	2	42	44
Yorkshire	19	18	37
Total	159	72	231

<sup>1</sup> number of pigs

Table 3-4는 실험돈군에 대해 근섬유단백질특성 및 육질을 측정된 결과이다. 근육의 수축과 이완에 직접적으로 관여하며, 근육의 대사특성에 영향을 주는 대표적인 근섬유단백질로 myosin이 있다. Myosin은 2개의 subunit로 구성되어 있으며(myosin heavy chain과 myosin light chain), 이 중 MHC (myosin heavy chain)는 대사적 특성에 따라 slow와 fast isoform으로 구분할 수 있다. 본 실험돈군은 MHC slow isoform비율이 평균 5.90%으로 MHC fast isoform(94.1%)에 비해 낮게 나타났으며, 이는 백색근의 돈육특성과 같다. MHC slow isoform비율은 최소 0.4%에서 최대 16.46%로 개체별 다양한 변이를 나타내고 있었다.

본 연구에서 측정된 육질형질은 크게 근육pH, 보수력, 육색, 근내지방량, 연도로 구분된다. 근육pH는 사후초기 대사속도를 알기위해 도축후 45분 후(pH<sub>45min</sub>), 그리고 최종 pH변화를 알기 위해 도축후 24시간 후(pH<sub>24h</sub>) 2차례에 걸쳐 측정했다. 보수력은 육즙손실량(Drip loss) 가열감량(Cooking loss), 여과지흡수량(Filter-paper fluid uptake, FFU)의 3가지 방법으로 확인했다. 육색은 색도계(CR-300, Minolta Camera Co., Japan)를 이용하여 측정하고, 국제조명위원회(Commission Internationale de l'Eclairage)의 명도(lightness)로 나타내었으며, 이와 함께 NPPC의 기준에 따른 육색을 분석하였다. 근내지방량은 NPPC기준에 따라 분석되었으며, 끝으로 Universal Testing Machine(Model 1011, Instron Co., USA)으로 전단력을 측정하여 연도를 예측하였다.

사후 근육의 pH는 약 7.4에서부터 저하하기 시작하여 사후대사가 종결되는 시점에는 약 5.3~5.7정도의 pH를 나타나게 된다(Scheffler & Gerrard, 2007). 실험축군의 평균 pH<sub>45min</sub>는 6.17, pH<sub>24h</sub>는 5.76으로 전반적으로 우수한 육질을 나타내고 있음을 알 수 있다. 명도(lightness)가 50 미만, 육즙손실량(drip loss)이 6.0%미만일 때 정상육으로 평가하는데, 실험돈군의 경우 각각 45.60, 2.92% 로 정상범위에 포함되었다. Cooking loss 및 FFU의경우도 각각 29.26%, 31.08%으로 정상적인 보수력을 나타내고 있다.

MHC isoform 및 육질형질 측정결과 실험돈군은 정상범위의 육질특성을 가지고 있음을 알 수 있으며, 개체별로 다양한 변이를 나타내고 있으므로 유전자형의 효과를 추정하기에 적합한 집단이라고 판단된다.



Table 3-4. Myosin heavy chain isoform and meat quality traits of *longissimus dorsi* muscle

Traits	N	Mean	SD	Min	Max
<b>Myosin heavy chain</b>					
Slow isoform (%)	231	5.90	2.70	0.40	16.46
<b>Meat quality traits</b>					
pH <sub>45min</sub>	231	6.17	0.28	5.44	6.81
pH <sub>24h</sub>	231	5.76	0.25	5.40	6.57
Drip loss (%)	231	2.92	1.91	0.83	9.80
Lightness ( <i>L</i> <sup>*</sup> )	231	45.60	3.58	32.72	57.63
NPPC Color score	231	2.81	0.72	1.00	5.25
NPPC Marbling score	231	2.17	0.78	1.00	4.70
Cooking loss (%)	229	29.26	5.54	11.96	46.84
FFU (mg)	231	31.08	23.95	3.50	141.60
Shear force (N)	231	54.34	16.57	23.71	108.04

Abbreviation: SD, standard deviation; Min, minimum; Max, maximum.;

NPPC, National Pork Producers Council; FFU, Filter-paper fluid uptake.

MYH isoform을 코딩하는 유전자의 SNP들에 대한 유전자형분석결과로 유전자형빈도 및 유전자빈도는 Table 3-5, Table 3-6, Table 3-7에 나타나있다.

MYH slow isoform을 코딩하고 있는 *MYH7* 유전자의 3'downstream region에서 발견된 SNP (*ApoI* 좌위)에 대한 유전자형 및 유전자빈도는 Table 3-5와 같다. 전체적으로 CC 유전자형이 가장 높은 빈도를 나타냈으며(54%), 유전자빈도에서도 C allele이 68%로 높았다. Duroc 및 Landrace에서는 AA 유전자형이 나타나지 않아 C allele 빈도가 매우 높았으며, Yorkshire에서는 다른 품종과 다르게 CC 유전자형이 가장 적어 A allele빈도가 높게 나타나는 특성을 나타냈다.

Table 3-5. Frequency of gene and genotype of *ApoI* site in 3'downstream of *MYH7* gene

Breed	N	Genotype			Allele	
		AA	AC	CC	A	C
Berkshire	120	0.23 (27) <sup>1</sup>	0.33 (39)	0.45 (54)	0.39	0.61
Duroc	30	0 (0)	0.03 (1)	0.97 (29)	0.02	0.98
Landrace	44	0 (0)	0.16 (7)	0.84 (37)	0.08	0.92
Yorkshire	37	0.38 (14)	0.51 (19)	0.11 (4)	0.64	0.36
Total	231	0.18 (41)	0.29 (66)	0.54 (124)	0.32	0.68

<sup>1</sup>number of pigs

MYH fast isoform을 코딩하고 있는 *MYH2* 유전자의 5'upstream region에서 발견된 SNP (*PstI* 좌위)에 대한 유전자형 및 유전자빈도는 Table 3-6와 같다. 전체적으로 TT 유전자형이 가장 높은 빈도를 나타냈으며(59%), CC 유전자형이 가장 적게 나타났다(8%). Berkshire에서는 세 유전자형이 모두 나타났지만, 다른 세 품종에서는 CC 유전자형이 나타나지 않았으며 Landrace의 경우 44두 모두 TT 유전자형을 가지고 있었다. 이에 따라 유전자빈도에서도 T allele(75%)이 C allele(25%)보다 월등히 높게 나타났다.

Table 3-6. Frequency of gene and genotype of *PstI* site in 5'upstream of *MYH2* gene

Breed	N	Genotype			Allele	
		CC	TC	TT	C	T
Berkshire	120	0.16 (19) <sup>1</sup>	0.60 (72)	0.24 (29)	0.46	0.54
Duroc	30	0 (0)	0.10 (3)	0.90 (27)	0.05	0.95
Landrace	44	0 (0)	0 (0)	1.00 (44)	0.00	1.00
Yorkshire	37	0 (0)	0.03 (1)	0.97 (36)	0.01	0.99
Total	231	0.08 (19)	0.33 (76)	0.59 (136)	0.25	0.75

<sup>1</sup>number of pigs

또다른 MYH fast isoform을 코딩하고 있는 *MYH1* 유전자의 3'downstream region에서 발견된 SNP (*HpyCHAV* 좌위)에 대한 유전자형 및 유전자빈도는 Table 3-7와 같다. Berkshire와 Duroc에서는 CC 유전자형이 많았지만 Landrace와 Yorkshire에서는 반대로 AA 유전자형 비율이 높게 나타났다. 전체적으로 CC 유전자형은 55%의 빈도를 나타냈으며, C allele이 69%로 높게 나타났다.

Table 3-7. Frequency of gene and genotype of *HpyCHAV* site in 3'downstream of *MYH1* gene

Breed	N	Genotype			Allele	
		AA	AC	CC	A	C
Berkshire	120	0 (0) <sup>1</sup>	0.14 (17)	0.86 (29)	0.07	0.93
Duroc	30	0.03 (1)	0.33 (10)	0.63 (27)	0.20	0.80
Landrace	44	0.55 (24)	0.39 (17)	0.07 (44)	0.74	0.26
Yorkshire	37	0.43 (16)	0.51 (19)	0.05 (36)	0.69	0.31
Total	231	0.18 (41)	0.27 (63)	0.55 (136)	0.31	0.69

<sup>1</sup>number of pigs

위와 같이 근점유를 코딩하고 있는 유전자의 발현조절영역에서 발견한 세 SNP에 대해 MHC slow isoform 및 육질과의 연관성 분석을 실시했다. 통계패키지 프로그램 SAS 9.2의 general linear model procedure를 이용하였다. 분석모델은  $y_{ijkl} = \mu + G_i + B_j + S_k + e_{ijkl}$  이며,  $y_{ijkl}$ 는 관측치,  $\mu$ 는 평균,  $G_i$ 는 유전자형효과,  $B_j$ 는 품종에 따른 고정효과,  $S_k$ 는 성별에 따른 고정효과,  $e_{ijkl}$ 는 잔차이다. 또한 probability difference (PDIFF) option을 이용하여 유전자형간의 통계적으로 유의한 차이가 유무를 구분하였다. 이러한 통계적 연관성분석을 통하여 유전자형에 따른 효과를 분석하였으며 이를 통해 각 SNP들의 기능을 확인했다.

Table 3-8에 *MYH7* 유전자의 3'downstream region내 *ApoI* 좌위에 대한 연관성분석결과가 나타나 있다. MHC slow isoform비율은 AA 유전자형은 5.62%, AC 유전자형은 5.84%, CC 유전자형은 5.82%로, AA 유전자형이 수치적으로 가장 낮았지만 통계적인 유의성은 나타나지 않았다. 육질항목에서는 명도(Lightness,  $L^*$ )가 AA 유전자형이 10% 유의수준에서 다른 유전자형에 비해 낮게 나타났다( $P < 0.10$ ). 그 외 다른 형질에서는 유전자형간에 유의적인 차이가 나타나지 않았다. MHC slow isoform 함량에서 유전자형간에 유의적인 차이는 없었지만 가장 낮게 나타났던 AA 유전자형이 명도(Lightness,  $L^*$ )에서도 다른 유전자형보다 높게 나타나는 경향을 확인할 수 있었다.

Table 3-8. Association of *ApoI* site in 3'downstream of *MYH7* gene and myosin heavy chain isoform and meat quality traits

Traits	Genotype			P-value
	AA (n=41)	AC (n=66)	CC (n=124)	
<b>Myosin heavy chain</b>				
Slow isoform (%)	5.62 (0.50) <sup>1</sup>	5.84 (0.39)	5.82 (0.29)	0.9127
<b>Meat quality traits</b>				
pH <sub>45min</sub>	6.16 (0.05)	6.22 (0.04)	6.18 (0.03)	0.4781
pH <sub>24h</sub>	5.65 (0.04)	5.67 (0.03)	5.72 (0.02)	0.1951
Drip loss (%)	3.30 (0.31)	3.62 (0.24)	3.17 (0.18)	0.2799
Lightness ( <i>L</i> <sup>*</sup> )	47.84 <sup>a</sup> (0.54)	46.60 <sup>b</sup> (0.42)	46.57 <sup>b</sup> (0.31)	0.0681
NPPC Color score	2.53 (0.11)	2.62 (0.09)	2.60 (0.06)	0.7477
NPPC Marbling score	2.06 (0.12)	2.22 (0.09)	2.25 (0.07)	0.3383
Cooking loss (%)	30.33 (0.76)	31.17 (0.60)	30.25 (0.45)	0.3805
FFU (mg)	40.19 (3.59)	32.69 (2.81)	33.78 (2.10)	0.1456
Shear force (N)	60.71 (2.56)	58.84 (2.00)	59.86 (1.50)	0.7887

Abbreviation: NPPC, National Pork Producers Council; FFU, Filter-paper fluid uptake.

<sup>1</sup>Standard error of least-square means

<sup>a,b</sup>Different superscripts indicate significance levels within rows of each SNP locus.

*MYH7* 유전자의 5'upstream region내 *PstI* 좌위가 형질에 미치는 영향은 Table 3-9에 나타나 있다. 앞선 *ApoI* sit와 다르게 *PstI* 좌위에서는 Myosin heavy chain slow isoform 함량에서 유의적인 차이가 나타났다( $P < 0.05$ ). CC 유전자형이 11%로 TC (5.83%), TT (5.83%) 유전자형보다 낮은 MHC slowform 함량을 보였다. 또한 CC 유전자형과 TC 유전자형은 pH<sub>45min</sub>가 TT 유전자형보다 낮게 나타났다( $P < 0.01$ ). pH<sub>45min</sub>는 사후 초기대사속도를 가늠할 수 있는 지표로서 수치가 낮을수록 사후대사속도가 빠르고 단백질변성이 급속도로 일어남을 의미한다. 따라서 CC 유전자형과 TC 유전자형에 비해 TT 유전자형이 육질이 우수하다고 할 수 있다. pH<sub>45min</sub>를 제외한 다른 육질항목에서는 유전자형간에 유의적인 차이가 나타나지 않았다.

*PstI* 좌위에 대한 연관성분석결과 MHC slow isoform 함량이 낮게 나타난 CC 유전자형이 육질도 낮게 나타났다는 것을 알 수 있다. 특이할만한 점은 TT 유전자형과 함께 MHC slow isoform이 높게 나타난 TC 유전자형이 CC 유전자형과 함께 pH<sub>45min</sub>가 낮게 나왔다는 점이다. 이를 통해 유추해볼 수 있는 것은 MHC slow isoform 함량이 높다고 항상 육질이 우수하지 않으며, 반대로 일정수준이하의 MHC slow isoform 함량은 육질저하의 척도가 될 수 있다는 점이다. 따라서, 본 연구에 이용된 실험돈군의 평균 MHC slow isoform 함량인 5.90%보다 현저하게 낮게 나타난 CC 유전자형이 육질감소와 연관이 있다고 할 수 있다.

Table 3-9. Association of *PstI* site in 5'upstream of *MYH2* gene and myosin heavy chain isoform and meat quality traits

Traits	Genotype			P-value
	CC (n=19)	TC (n=76)	TT (n=136)	
<b>Myosin heavy chain</b>				
Slow isoform (%)	4.11 <sup>b</sup> (0.52) <sup>1</sup>	5.83 <sup>a</sup> (0.35)	5.83 <sup>a</sup> (0.41)	0.0406
<b>Meat quality traits</b>				
pH <sub>45min</sub>	6.00 <sup>b</sup> (0.08)	6.07 <sup>b</sup> (0.05)	6.22 <sup>a</sup> (0.03)	0.0071
pH <sub>24h</sub>	5.68 (0.06)	5.74 (0.04)	5.69 (0.02)	0.3400
Drip loss (%)	3.23 (0.47)	3.47 (0.30)	3.28 (0.16)	0.7725
Lightness ( <i>L</i> <sup>*</sup> )	46.44 (0.83)	46.49 (0.54)	46.82 (0.28)	0.8471
NPPC Color score	2.55 (0.17)	2.64 (0.11)	2.58 (0.06)	0.7885
NPPC Marbling score	2.38 (0.19)	2.28 (0.12)	2.19 (0.06)	0.6188
Cooking loss (%)	30.19 (1.17)	30.38 (0.76)	30.56 (0.40)	0.2375
FFU (mg)	34.78(5.53)	35.14(3.58)	34.14(1.89)	0.9686
Shear force (N)	61.46(3.91)	61.99(2.53)	59.08(1.33)	0.5857

Abbreviation: NPPC, National Pork Producers Council; FFU, Filter-paper fluid uptake.

<sup>1</sup>Standard error of least-square means

<sup>a,b</sup>Different superscripts indicate significance levels within rows of each SNP locus.

Table 3-10에 *MYH1* 유전자의 3'upstream region *HpyCH4V* 좌위와 형질과의 연관성분석결과를 보여주고 있다. MHC slow isoform 함량에서 AA 유전자형이 다른 두 유전자형에 비해 낮게 나타났으며 ( $P < 0.05$ ), 육질항목 중 여과지 흡수량(Filter-paper uptake, FFU)이 CC 유전자형보다 높게 나타났다 ( $P < 0.10$ ). 즉, AA 유전자형이 CC 유전자형보다 보수력이 나쁘며, 이는 육질이 상대적으로 낮음을 의미한다. FFU와 다른 육질항목에서는 유전자형간에 유의적인 차이가 나타나지 않았다. *HpyCH4V* 좌위의 연관성분석결과에서도 MHC slow isoform 함량이 가장 적게 나타난 AA 유전자형은 4.59%로 집단평균(5.90%)보다 현저히 낮았다. 이 FFU에서도 AA 유전자형이 CC 유전자형과 통계적으로 유의적인 차이는 없었지만, 수치적으로는 각각 40.25%와 34.43%로 큰 차이를 보였다. 이는 실험돈군내 AA 유전자형을 개체가 적어서 나타난 현상으로 풀이된다.

근섬유단백질 아형 유전자내 존재하는 SNP에 대한 연관성분석결과를 종합해보면 MHC slow isoform 함량이 일정 수준(5%) 미만일 때 육질이 저하된다는 것을 알 수 있다. 이와 함께 이러한 일정수준미만은 나타내는 집단을 DNA 마커를 통해 구별해낼 수 있다는 점이다. DNA 마커는 생체수준에서 측정이 가능하기 때문에 돼지 생애단계에서 근섬유단백질 아형 수준을 예측하여 육질이 감소된 개체를 선별할 수 있다는 중요한 의미를 가진다.

Table 3-10. Association of *HpyCH4V* site in 3'downstream of *MYH2* gene and myosin heavy chain isoform and meat quality traits

Traits	Genotype			P-value
	AA (n=41)	AC (n=63)	CC (n=127)	
<b>Myosin heavy chain</b>				
Slow isoform (%)	4.59 <sup>b</sup> (0.52) <sup>1</sup>	5.87 <sup>a</sup> (0.35)	6.46 <sup>a</sup> (0.41)	0.0366
<b>Meat quality traits</b>				
pH <sub>45min</sub>	6.27 (0.05)	6.17 (0.04)	6.16 (0.04)	0.2518
pH <sub>24h</sub>	5.70 (0.04)	5.72 (0.03)	5.68 (0.03)	0.6899
Drip loss (%)	3.25 (0.33)	3.40 (0.22)	3.26 (0.25)	0.8659
Lightness ( <i>L</i> <sup>*</sup> )	46.60 (0.58)	46.52 (0.39)	47.06 (0.45)	0.6535
NPPC Color score	2.61 (0.12)	2.60 (0.08)	2.58 (0.09)	0.9816
NPPC Marbling score	2.26 (0.13)	2.13 (0.09)	2.27 (0.10)	0.4215
Cooking loss (%)	30.93 (0.81)	31.08 (0.54)	29.68 (0.64)	0.2375
FFU (mg)	40.25 <sup>a</sup> (3.81)	30.61 <sup>b</sup> (2.54)	34.43 <sup>ab</sup> (2.95)	0.0682
Shear force (N)	60.01 (2.73)	59.81 (1.82)	59.39 (2.12)	0.9847

Abbreviation: NPPC, National Pork Producers Council; FFU, Filter-paper fluid uptake.

<sup>1</sup>Standard error of least-square means

<sup>a,b</sup>Different superscripts indicate significance levels within rows of each SNP locus.

## (2) 근섬유수관련 Myogenin 유전자의 5'upstream region내 DNA마커

근섬유단백질은 근섬유를 이루고 있는 구성성분이기 때문에 근섬유수준에서 기능이 확인된 DNA마커에 대한 분석이 큰 의미를 갖는다고 할 수 있다. 따라서 본 연구에서는 선행연구를 통해 보유중인 DNA마커분석을 통해 MHC isoform 및 육질과의 관계구명을 실시했다.

포유동물에 있어 근섬유특성은 발생초기 근섬유발달과정(myogenesis)에서 대부분 형성되어지며, 근섬유발달과정은 *MyoD* 유전자군에 의해 조절되어지는 것으로 잘 알려져 있다(Olson 등, 1990; Weintraub 등 1993). 돼지 *MyoD* 유전자군은 *myogenin*, *MYF3*, *MYF5*, *MRF4* 등의 4개 유전자들로 구성되어지며, *MYF5*, *MYF3* 유전자는 myoblast의 proliferation에 관여하고, *MRF4* 와 *myogenin* 유전자는 myoblast differentiation에 관여한다(Buckingham, 1994; Figure 3-3). 근섬유발달과정(myogenesis)에서 이들 유전자군은 전사발현 단계뿐만 아니라 출생 후에도 지속적으로 근세포분화 및 근섬유형성에 관여하기 때문에 돼지 근섬유특성과 관련한 가장 주요한 후보유전자군으로 볼 수 있다(Te Pas and Visscher, 1994; McPherron 등. 1997). 본 연구팀은 선행연구를 통해 *myogenin* 유전자의 5'upstream region내에서 SNP를 발굴하고 근섬유특성과의 기능을 구명했다(그림 3-3).

PCR반응시 Forward (5'-ACCTTCCCCACAATGACAAG-3'), Reverse(5'-TGGACTGAGAAGCCCAAAGT-3') primer를 1 $\mu$ l(10pmol/ $\mu$ l)씩 첨가하고 그 외 100ng의 돼지DNA와 0.25mM의 dNTP, 10x PCR buffer 및 1.25U의 DNA polymerase (i-Max<sup>TM</sup> II, Intronbio., Korea)를 넣고 Mastercycler gradient (Eppendorf Co., Germany)를 이용하여 총 부피 20 $\mu$ l로 수행했다. PCR 반응조건은 94 $^{\circ}$ C에서 10분간 pre-denaturation 한 후, 94 $^{\circ}$ C에서 denaturation 1분, 61 $^{\circ}$ C에서 annealing 1분, extension 72 $^{\circ}$ C 1분을 한 cycle로 하여 30 cycle을 반복한 후, 마지막으로 72 $^{\circ}$ C에서 10분으로 PCR 반응을 종료하였다. 그리고 제한효소 *BspCNI*을 처리하여 RFLP방법으로 유전자형을 확인한다(Table 3-11).

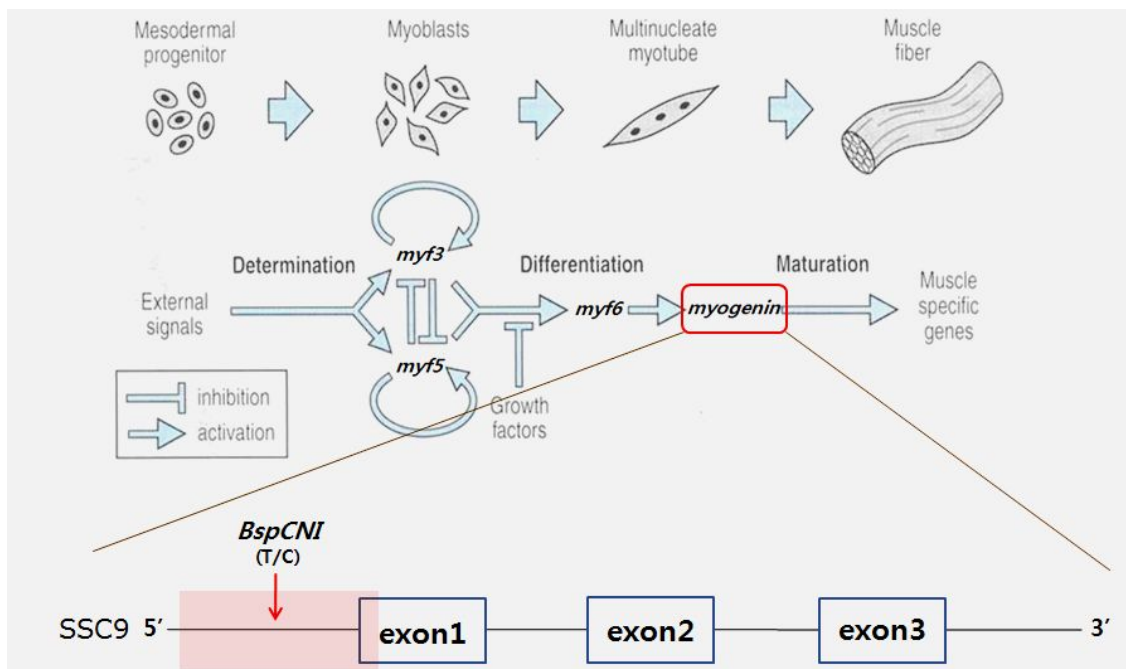


Figure 3-3. *BspCNI* site in 5'upstream of *myogenin* involved in myogenesis (Kim 등, 2010)

Table 3-11. Method of genotyping *BspCNI* site in 5'upstream of *myogenin*

Enzyme (Region)	Allele size (bp)	Figure of electrophoresis
<i>BspCNI</i> (5'upstream)	T allele: 463+158+43 C allele: 463+82+76+43	

본 연관성분석에 이용된 231두 집단에 대해 유전자형 분석을 실시했으며, 유전자형 및 유전자 빈도는 Table 3-12와 같다. 전체적으로 CC 유전자형의 비율이 89%로 매우 높았으며, TC 유전자형(9%), TT 유전자형(2%)순으로 나타났다. 이는 Yorkshire에서만 3가지 유전자형이 모두 나타났으며, Berkshire와 Duroc은 모두 CC 유전자형으로 고정되어 있었고, Landrace는 단 2마리를 제외한 나머지가 모두 CC 유전자형을 가지고 있었기 때문이다. 이에 따라 유전자빈도도 T allele이 0.94로 C allele (0.06)에 비해 매우 높게 나타났다.

Table 3-12. Frequency of gene and genotype of *BspCNI* site in 5'upstream of *myogenin*

Breed	N	Genotype			Allele	
		CC	TC	TT	C	T
Berkshire	120	1.00 (120) <sup>1</sup>	0 (0)	0 (0)	1.00	0.00
Duroc	30	1.00 (30)	0 (0)	0 (0)	1.00	0.00
Landrace	44	0.95 (42)	0.05 (2)	0 (0)	0.98	0.02
Yorkshire	37	0.38 (14)	0.51 (19)	0.11 (4)	0.64	0.36
Total	231	0.89 (206)	0.09 (21)	0.02 (4)	0.94	0.06

<sup>1</sup>number of pigs

Myogenin유전자의 5'upstream region내 *BspCNI* 좌위에서 TT 유전자형을 가진 개체는 231두중 단 4두(2%)에 불과하므로 형질과의 연관성 분석에서 제외하고 CC 유전자형(206두)과 TC 유전자형(21두)간 비교를 실시했다(Table 3-13). 분석결과 근섬유단백질아형 함량 및 육질형질들에서 유전자형간 유의적인 차이를 관찰할 수 없었다. 그러나 MHC slow isoform과 FFU항목에서 앞선 연관성분석결과들과 유사한 경향을 확인할 수 있었다. TC 유전자형의 MHC slow isoform함량은 6.73%로 CC 유전자형(5.63%)에 비해 1%이상 높은 경향을 나타냈으며, 보수력의 지표인 FFU에서도 29.21%로 CC 유전자형(35.86%)에 비해 낮게 나타나 우수한 보수력을 나타냈다. 비록 TC유전자형의 빈도가 9%에 불과하여 큰 표준오차로 인해 유의적인 차이가 나지 않았지만 충분한 경향성은 확인할 수 있었으며 향후 더 큰 집단에 대한 분석이 필요할 것으로 판단된다. 또한 다른 농장의 Berkshire 및 Duroc 집단을 확보하여 *BspCNI* 좌위의 C allele고정여부를 확인하여, 품종보편적으로 활용할 수 있는 DNA마커로서의 가치를 확인할 필요가 있다.



Table 3-13. Association of *BspCNI* site in 5'upstream of *myogenin* and myosin heavy chain isoform and meat quality traits

Traits	Genotype		P-value
	CC (n=206)	TC (n=21)	
<b>Myosin heavy chain</b>			
Slow isoform (%)	5.63 (0.27) <sup>1</sup>	6.73 (0.77)	0.2001
<b>Meat quality traits</b>			
pH <sub>45min</sub>	6.22 (0.03)	6.15 (0.07)	0.4243
pH <sub>24h</sub>	5.59 (0.02)	5.76 (0.06)	0.2451
Drip loss (%)	3.49 (0.17)	2.83 (0.47)	0.2131
Lightness ( <i>L</i> <sup>*</sup> )	46.73 (0.30)	46.57 (0.84)	0.8653
NPPC Color score	2.59 (0.06)	2.68 (0.17)	0.6424
NPPC Marbling score	2.22 (0.07)	2.25 (0.19)	0.8978
Cooking loss (%)	30.57 (0.43)	30.24 (1.18)	0.8052
FFU (mg)	35.86 (1.99)	29.21 (5.56)	0.2882
Shear force (N)	60.37 (1.40)	57.01 (3.91)	0.4465

Abbreviation: NPPC, National Pork Producers Council; FFU, Filter-paper fluid uptake.

<sup>1</sup>Standard error of least-square means

<sup>a,b</sup>Different superscripts indicate significance levels within rows of each SNP locus.

### (3) 근섬유조성관련 PPARGC1A 유전자의 발현조절영역내 DNA마커

돼지 근육내 근섬유는 3가지 형태로 구분이 되며(Brooke and Kaiser, 1970), 이들 근섬유형에 따라서 근섬유조성이 결정된다. 근섬유 type I의 경우는 slow-oxidative한 성질을 띠어 사후대사속도를 지연시켜 함량이 높을 경우 육질에 긍정적인 영향을 미치게 되며, 이와는 반대로 type IIb의 경우는 fast-glycolytic한 성질을 갖게 되어 빠른 사후대사속도로 인해 함량이 많을 경우 돈육질이 pale, soft, exudative(PSE)한 이상육으로 판정될 가능성이 높아진다(Klont 등, 1998). 나머지 하나인 type IIa는 이들 둘과 중간의 성질인 slow-glycolytic한 성질을 갖는다.

*Peroxisome proliferator-activated receptor- gamma coactivator-1 (PPARGC1A)* 유전자는 PGC1의 전구체로써 적응대사량(adaptive thermogenesis)과 지방세포 분화(adipocyte differentiation)에 주요한 작용을 하고, 동물의 에너지대사와 깊은 관련이 있으며(Puigserver 등, 1998) 근섬유 type I 형성을 유도하는 역할(Lin 등, 2002)을 한다고 보고되었다(그림 3-4).

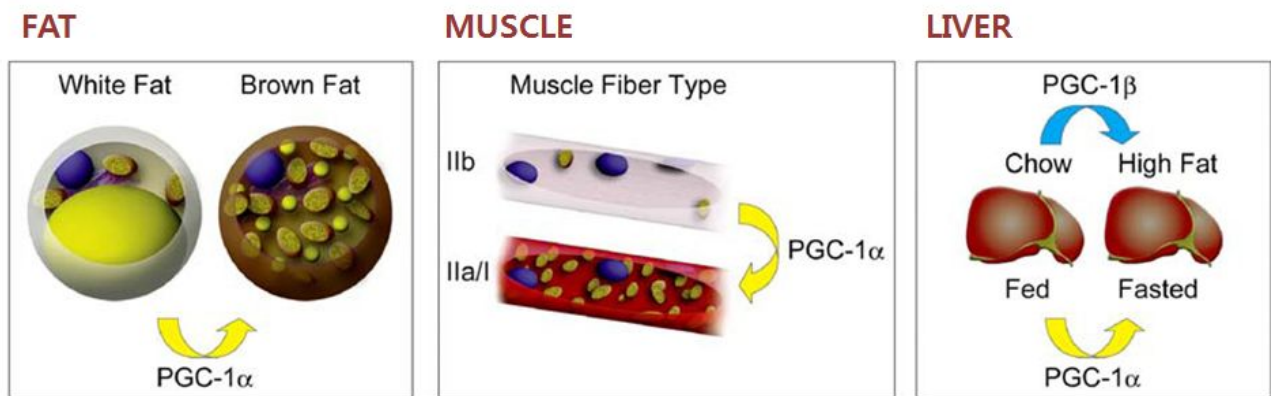


Figure 3-4. Functions of *PPARGC1A* gene (Jiandie, 2002)

본 연구팀은 선행연구를 통해서 돼지 *PPARGC1A* 유전자의 exon8에 위치한 SNP의 기능을 밝히고(그림 3-5), 5'upstream 및 3'downstream region에 대한 염기서열분석을 통해 다수의 SNP를 신규 발굴(그림 3-6)하여 보유하고 있다.

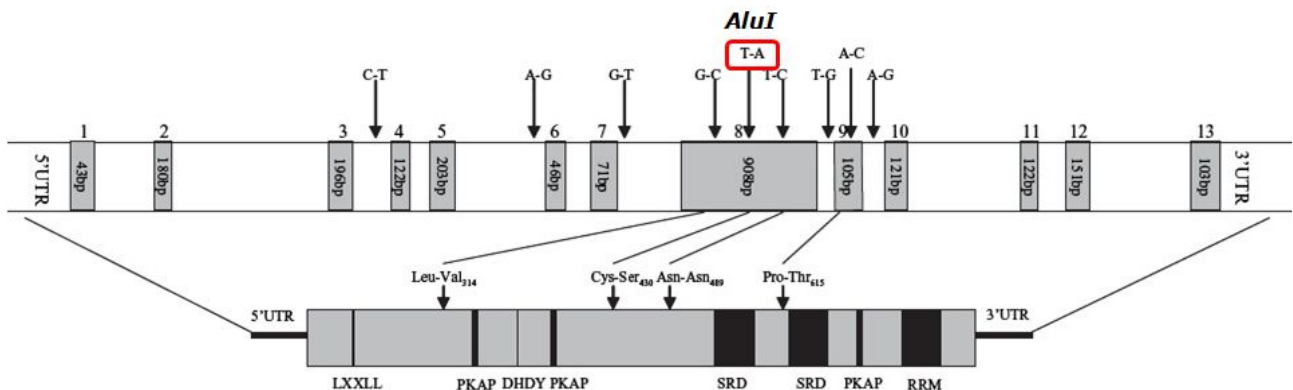


Figure 3-5. Genomic structure of *PPARGC1A* gene and SNP recognized by *AluI* restriction enzyme

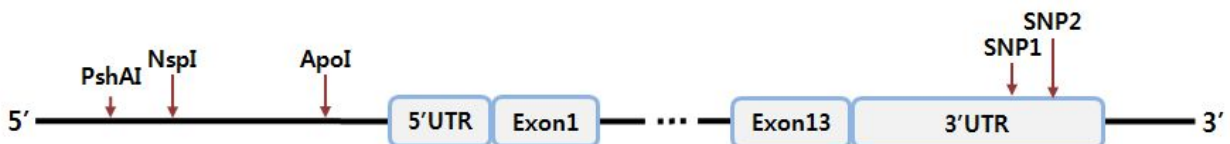


Figure 3-6. Polymorphisms in 5'upstream and 3'downstream of *PPARGC1A* gene

각각 SNP를 포함하는 영역을 PCR하기 위해 특이 프라이머를 제작하였다(Table 3-14). PCR은 총 부피 20 $\mu$ l로 100ng의 웨지DNA와 각 10pmol의 primer, 0.25mM의 dNTP, 10x PCR buffer 및 1.25U의 DNA polymerase (i-Max™ II, Intronbio., Korea)를 넣고 Mastercycler gradient (Eppendorf Co., Germany)를 이용하여 수행했다. PCR 반응조건은 94°C에서 10분간 pre-denaturation 한 후, 94°C에서 denaturation 1분, 각 프라이머의 최적온도(Table 3-14)에서 annealing 1분, extension 72°C 1분을 한 cycle로 하여 30 cycle을 반복한 후, 마지막으로 72°C에서 10분으로 PCR 반응을 종료하였다. 이 PCR산물들을 SNP별로 제한효소 *PshAI*, *NspI*, *ApoI*, *AluI*를 처리하여 RFLP기법을 이용하여 유전자형분석을 실시하였다(Table 3-15). 단, 3'UTR영역의 SNP를 인지하는 제한효소가 없는 관계로 direct sequencing을 통해 유전자형을 분석했다.

Table 3-14. Information of polymorphisms in *PPARGC1A* gene and PCR condition

Region (Enzyme)	Primer (5'→3')	Annealing temperature	Nucleotide	Restriction enzyme
5'upstream	F: TGGAACATTATGGGCACTCA R: AACCTGTTTGCTCTATGTCGTG	62°C	A/G	<i>PshAI</i>
			G/T	<i>NspI</i>
Exon8	F: TCTTTCACCTTTAGCATTTGAGCA R: TGCCAGATCAGCTTAGTTTC	61°C	A/T	<i>ApoI</i>
	F: TAAAGATGCCGCCTCTGACT R: CTGCTTCGTCGTCAAAAACA		62°C	A/T
3'UTR	F: CACAGGTTCTGCGTTACGAC R: AAAGCACCAGTTCGGGTTAC	60°C	C/T	no enzyme
			C/T	no enzyme

Table 3-15. Methods of genotyping polymorphisms in *PPARGC1A* gene

Enzyme (Region)	Allele size (bp)	Figure of electrophoresis
<i>PshAI</i> (5'upstream)	A allele : <u>943</u> G allele : <u>596+346</u>	
<i>NspI</i> (5'upstream)	T allele : <u>942</u> G allele : <u>584+358</u>	
<i>ApoI</i> (5'upstream)	A allele : <u>601+81</u> T allele : <u>476+125+81</u>	
<i>AluI</i> (Exon8)	T allele : <u>121+31+27+21</u> A allele : <u>61+60+31+27+21</u>	

Table 3-16에 *PPARGCIA* 유전자의 exon8에 있는 *AluI* 좌위에 대한 유전자형 및 유전자빈도가 나타나있다. Berkshire는 10두(AT 유전자형)를 제외한 모든 개체가 TT 유전자를 나타낸 반면(90%), Yorkshire는 TT 유전자형을 가진 개체는 단 1두만 나타났다(3%). 전체 유전자빈도는 T allele (0.67)이 A allele (0.33) 보다 높게 나타났다.

Table 3-16. Frequency of gene and genotype of *AluI* site in exon8 of *PPARGCIA* gene

Breed	N	Genotype			Allele	
		AA	AT	TT	A	T
Berkshire	120	0 (0) <sup>1</sup>	0.10 (17)	0.90 (108)	0.05	0.95
Duroc	30	0.43 (13)	0.43 (10)	0.13 (4)	0.65	0.35
Landrace	44	0.20 (9)	0.55 (17)	0.25 (11)	0.48	0.52
Yorkshire	37	0.59 (22)	0.38 (14)	0.03 (1)	0.78	0.22
Total	231	0.19 (44)	0.27 (63)	0.54 (124)	0.33	0.67

<sup>1</sup>number of pigs

Table 3-17, 18, 19는 *PPARGCIA* 유전자의 5'upstream region에 있는 세 SNP 좌위에 한 유전자형 및 유전자빈도를 보여주고 있다. *PshAI* 좌위의 경우 Berkshire가 다른 품종과 비교하여 상이한 유전자형 및 유전자 빈도를 나타내고 있다. Berkshire는 A allele빈도가 0.70으로 높게 나타난 반면, 나머지품종들은 G allele이 높게 나타났다. 따라서 전체 유전자빈도는 비슷 수준으로 나타났다(A allele:0.44, G allele:0.56). *NspI* 좌위에서는 모든 품종에서 T allele이 높게 나타났으며, 특히 Duroc에서는 모든 개체가 TT로 고정되어 있었다. Berkshire는 이형접합체인 GT 유전자형이 51%로 가장 많았고 다른 품종과 다르게 GG유전자형이 19%를 차지하고 있었다. *ApoI* 좌위에서는 모든 품종에서 AA 유전자형비율이 다른 유전자형에 비해 높게 관찰되었으며, Duroc(100%)과 Landrace(95%)에서 매우 높았다. Berkshire와 Yorkshire에서는 AT 유전자형도 각각 33%, 35% 나타났지만 TT 유전자형은 Berkshire에서만 5두 관찰되었다.

Table 3-17. Frequency of gene and genotype of *PshAI* site in 5'upstream of *PPARGCIA* gene

Breed	N	Genotype			Allele	
		AA	AG	GG	A	G
Berkshire	120	0.49 (59) <sup>1</sup>	0.41 (49)	0.10 (12)	0.70	0.30
Duroc	30	0.07 (2)	0.30 (9)	0.63 (19)	0.22	0.78
Landrace	44	0 (0)	0.14 (6)	0.86 (38)	0.07	0.93
Yorkshire	37	0 (0)	0.41 (15)	0.59 (22)	0.20	0.80
Total	231	0.26 (61)	0.34 (79)	0.39 (91)	0.44	0.56

<sup>1</sup>number of pigsTable 3-18. Frequency of gene and genotype of *NspI* site in 5'upstream of *PPARGCIA* gene

Breed	N	Genotype			Allele	
		GG	GT	TT	G	T
Berkshire	120	0.19 (23) <sup>1</sup>	0.51 (61)	0.30 (36)	0.45	0.55
Duroc	30	0 (0)	0 (0)	1.00 (30)	0.00	1.00
Landrace	44	0 (0)	0.05 (2)	0.95 (42)	0.02	0.98
Yorkshire	37	0.03 (1)	0.32 (12)	0.65 (24)	0.19	0.81
Total	231	0.10 (24)	0.32 (75)	0.57 (132)	0.27	0.73

<sup>1</sup>number of pigs

Table 3-19. Frequency of gene and genotype of *ApoI* site in 5'upstream of *PPARGC1A* gene

Breed	N	Genotype			Allele	
		AA	AT	TT	A	T
Berkshire	120	0.63 (75) <sup>1</sup>	0.33 (40)	0.04 (5)	0.79	0.21
Duroc	30	1.00 (30)	0 (0)	0 (0)	1.00	0.00
Landrace	44	0.95 (42)	0.05 (2)	0 (0)	0.98	0.02
Yorkshire	37	0.65 (24)	0.35 (13)	0 (0)	0.82	0.18
Total	231	0.74 (171)	0.24 (55)	0.02 (5)	0.86	0.14

<sup>1</sup>number of pigs

*PPARGC1A* 유전자의 3'UTR에 존재하는 SNP1, SNP2에 대한 유전자형 빈도 및 유전자빈도는 각각 Table 3-20과 Table 3-21에 나타나있다. SNP1에서는 TT 유전자형의 빈도가 68%로 가장 높게 나타났으며, T allele 빈도가 0.80으로 C allele(0.20)보다 높게 나타났다. 또한 SNP2의 경우 Berkshire, Landrace, Yorkshire에서 T allele의 빈도가 각각 0.74, 0.81, 0.65로 C allele에 비해 높게 나타났는데, Duroc에서는 반대로 C allele빈도가 0.67로 높게 나타났다. 이에 따라 전체 유전자빈도는 T allele이 0.68, C allele이 0.32로 나타났다

Table 3-20. Frequency of gene and genotype of SNP1 in 3'downstream of *PPARGC1A* gene

Breed	N	Genotype			Allele	
		CC	TC	TT	C	T
Berkshire	111	0.04 (4) <sup>1</sup>	0.17 (19)	0.79 (88)	0.12	0.88
Duroc	30	0 (0)	0.03 (1)	0.97 (29)	0.02	0.98
Landrace	45	0.16 (7)	0.42 (19)	0.42 (19)	0.37	0.63
Yorkshire	20	0.15 (3)	0.70 (14)	0.15 (3)	0.50	0.50
Total	206	0.07 (14)	0.26 (53)	0.68 (140)	0.20	0.80

<sup>1</sup>number of pigs

Table 3-21. Frequency of gene and genotype of SNP2 in 3'downstream of *PPARGCIA* gene

Breed	N	Genotype			Allele	
		CC	TC	TT	C	T
Berkshire	111	0.09 (10) <sup>1</sup>	0.34 (38)	0.57 (63)	0.26	0.74
Duroc	30	0.47 (14)	0.40 (12)	0.13 (4)	0.67	0.33
Landrace	45	0.02 (1)	0.33 (15)	0.64 (29)	0.19	0.81
Yorkshire	20	0.05 (1)	0.60 (12)	0.35 (7)	0.35	0.65
Total	206	0.13 (26)	0.37 (77)	0.50 (103)	0.32	0.68

<sup>1</sup>number of pigs

Table 3-22는 *PPARGCIA* 유전자의 exon8에 위치한 *AluI* 좌위의 유전자형과 형질과의 연관 성분 분석 결과이다. 육질형질에서는 유의적인 차이가 관찰되지 않았지만 유전자형에 따라 MHC slow isoform 함량이 차이를 보였다( $P < 0.05$ ). TT 유전자형은 4.90%로 AA 유전자형(6.15%), AT 유전자형(6.34%)보다 낮게 나타났다. 육질형질에서는 통계적으로 유의적인 차이가 나타나지 않았지만 MHC slow isoform 함량과 관련하여 다음과 같은 경향을 확인할 수 있었다. MHC slow isoform 함량이 낮게 나타난 TT 유전자형은 유리육즙량(Drip loss)이 3.76%로 다른 두 유전자형(AA 유전자형: 3.05%; AT 유전자형: 3.12%)에 비해 수치상으로는 높게 나왔으며, 또 다른 보수력의 지표인 FFU도 37.70%로 높게 나타남에 따라 보수력이 다소 좋지 않은 것으로 판단된다. 따라서 품종별로 유전자형의 변이가 고르지 않았고, 집단이 충분히 크지 않다는 한계라 있었지만 근섬유단백질 관련 기능과 함께 이에 따른 육질의 변화 경향을 알 수 있다.



Table 3-22. Association of *AluI* site in exon8 of *PPARGC1A* gene and myosin heavy chain isoform and meat quality traits

Traits	Genotype			P-value
	AA (n=44)	AT (n=63)	TT (n=124)	
<b>Myosin heavy chain</b>				
Slow isoform (%)	6.15 <sup>a</sup> (0.46) <sup>1</sup>	6.34 <sup>a</sup> (0.36)	4.90 <sup>b</sup> (0.44)	0.0386
<b>Meat quality traits</b>				
pH <sub>45min</sub>	6.20 (0.05)	6.23 (0.04)	6.14 (0.05)	0.3061
pH <sub>24h</sub>	5.72 (0.04)	5.68 (0.03)	5.70 (0.03)	0.5493
Drip loss (%)	3.05 (0.28)	3.12 (0.23)	3.76 (0.28)	0.1568
Lightness ( <i>L</i> <sup>*</sup> )	46.26 (0.51)	46.95 (0.40)	46.99 (0.49)	0.5263
NPPC Color score	2.59 (0.10)	2.51 (0.08)	2.68 (0.10)	0.3714
NPPC Marbling score	2.06 (0.11)	2.23 (0.09)	2.34 (0.11)	0.2745
Cooking loss (%)	30.49 (0.72)	30.43 (0.57)	30.63 (0.71)	0.9739
FFU (mg)	33.24 (3.36)	32.12 (2.67)	37.70 (3.27)	0.4027
Shear force (N)	60.99 (2.38)	58.35 (1.89)	59.89 (2.31)	0.6265

Abbreviation: NPPC, National Pork Producers Council; FFU, Filter-paper fluid uptake.

<sup>1</sup>Standard error of least-square means

<sup>a,b</sup>Different superscripts indicate significance levels within rows of each SNP locus.

Table 3-23, Table 3-24, Table 3-25에는 *PPARGC1A* 유전자의 5'upstream region내 위치한 3개의 SNP (*PshAI*, *NspI*, *ApoI* 좌위)에 대한 연관성분석결과가 나타나있다. 이 세 SNP의 유전자형에 따라 MHC slow isoform함량의 유의적인 차이는 관찰되지 않았다. 그러나 육질항목에서는 세 SNP 모두 NPPC marbling score에 영향을 주고 있었다. NPPC marbling score는 *PshAI* 좌위의 경우 AA 유전자형이 다른 두 유전자형보다 높았고 ( $P < 0.10$ ), *NspI* 좌위에서는 GT 유전자형이 TT 유전자형보다 높게 나타났으며( $P < 0.05$ ), *ApoI* 좌위에서는 AT, TT 유전자형이 AA에 비해 높게 나타났다( $P < 0.05$ ). 이를 통해 *PPARGC1A* 유전자의 5'upstream region내 위치한 3개의 DNA마커는 MHC slow isoform함량에 영향을 미치지 않으며, 근내지방과 관련하여 영향을 주고 있는 것을 알 수 있다.

끝으로, *PPARGC1A* 유전자의 3'UTR내 위치한 SNP1과 SNP2가 형질에 미치는 효과는 Table 3-26, Table 3-27에 나타나있다. SNP1에서 MHC slow isoform함량은 CC 유전자형이 5.98%, TC 유전형이 5.87%, TT 유전자형이 5.67%로 유의적인 차이가 관찰되지 않았다. 반면, 육질항목중 보수력에서 유전자형간에 차이가 있었다. TT 유전자형의 유리육즙량은 3.44%로

CC 유전자형(4.65%), TC유전자형(4.09%)과 비교하여 낮게 나타나 보수력이 우수했다( $P < 0.05$ ). 또한 FFU에서도 유리육즙과 같이 TT 유전자형이 다른 유전자형들에 비해 낮게 나타나 우수한 보수력을 나타냈다 ( $P < 0.01$ ). 육색(NPPC Color score)에서는 CC 유전자형이 TC유전자형에 비해 높게 나타났으며, TT 유전자형은 중간으로 나타났다( $P < 0.05$ ). SNP1에 대한 연관성분석 결과를 종합해보면 TT 유전자형이 다른 유전자형보다 육질이 우수하다고 할 수 있다.

SNP2에서는 MHC slow form과 육질에서 유의적인 차이가 관찰되었다. CC 유전자형의 MHC slow form함량은 4.41%로 다른 유전형(TC 유전자형: 5.70%, TT 유전자형: 6.38%)에 비해 매우 낮게 나타났다( $P < 0.05$ ). 또한 육질에서도 사후 초기대사 속도의 척도라 할 수 있는 pH<sub>45min</sub>가 다른 유전자형과 비교하여 낮게 나타났다( $P < 0.05$ ). 연도(Shear force)에서는 반대로 CC 유전자형이 더 연하게 나타났다 ( $P < 0.10$ ). SNP2에 대한 연관성분석을 통해 앞서 얻은 결과와 유사한 경향을 확인할 수 있었다. 특정 유전자형의 MHC slow form함량이 5%미만으로 나타났다는 점이며 나아가 pH<sub>45min</sub>이나 FFU 등의 육질형질이 저하되는 특징을 나타냈다는 점이다. 따라서, 본 연구의 DNA마커는 MHC slow form 및 육질과 관련하여 유용할 것으로 판단된다.

Table 3-23. Association of *PshAI* site in 5'upstream of *PPARGCIA* gene and myosin heavy chain isoform and meat quality traits

Traits	Genotype			P-value
	AA (n=61)	AG (n=79)	GG (n=91)	
<b>Myosin heavy chain</b>				
Slow isoform (%)	5.84 (0.51) <sup>1</sup>	5.91 (0.37)	5.72 (0.32)	0.9260
<b>Meat quality traits</b>				
pH <sub>45min</sub>	6.20 (0.05)	6.23 (0.04)	6.16 (0.03)	0.3095
pH <sub>24h</sub>	5.74 (0.04)	5.69 (0.03)	5.70 (0.02)	0.4491
Drip loss (%)	3.06 (0.31)	3.62 (0.23)	3.19 (0.19)	0.1127
Lightness ( <i>L</i> <sup>*</sup> )	46.85 (0.56)	46.85 (0.41)	46.67 (0.35)	0.9419
NPPC Color score	2.60 (0.11)	2.59 (0.08)	2.60 (0.07)	0.9969
NPPC Marbling score	2.47 <sup>a</sup> (0.12)	2.22 <sup>b</sup> (0.09)	2.15 <sup>b</sup> (0.08)	0.0628
Cooking loss (%)	31.21 (0.80)	30.88 (0.57)	30.15 (0.49)	0.5157
FFU (mg)	30.82 (3.70)	36.43 (2.69)	33.90 (2.29)	0.2750
Shear force (N)	60.27 (2.63)	59.82 (1.92)	59.49 (1.63)	0.9697

Abbreviation: NPPC, National Pork Producers Council; FFU, Filter-paper fluid uptake.

<sup>1</sup>Standard error of least-square means

<sup>a,b</sup>Different superscripts indicate significance levels within rows of each SNP locus.

Table 3-24. Association of *NspI* site in 5'upstream of *PPARGCIA* gene and myosin heavy chain isoform and meat quality traits

Traits	Genotype			P-value
	GG (n=24)	GT (n=75)	TT (n=132)	
<b>Myosin heavy chain</b>				
Slow isoform (%)	5.73 (0.65) <sup>1</sup>	6.18 (0.42)	5.67 (0.27)	0.5220
<b>Meat quality traits</b>				
pH <sub>45min</sub>	6.09 (0.07)	6.17 (0.04)	6.20 (0.03)	0.2673
pH <sub>24h</sub>	5.72 (0.05)	5.72 (0.03)	5.69 (0.02)	0.6935
Drip loss (%)	3.08 (0.41)	3.19 (0.26)	3.37 (0.16)	0.7453
Lightness ( <i>L</i> <sup>*</sup> )	45.46 (0.71)	46.83 (0.46)	46.79 (0.29)	0.1313
NPPC Color score	2.63 (0.14)	2.63 (0.09)	2.58 (0.06)	0.9037
NPPC Marbling score	2.35 <sup>ab</sup> (0.16)	2.44 <sup>a</sup> (0.10)	2.13 <sup>b</sup> (0.06)	0.0314
Cooking loss (%)	31.18 (1.01)	31.09 (0.65)	30.28 (0.41)	0.4950
FFU (mg)	31.00 (4.76)	33.32 (3.05)	34.88 (1.93)	0.7288
Shear force (N)	58.29 (3.37)	60.46 (2.16)	59.51 (1.37)	0.7885

Abbreviation: NPPC, National Pork Producers Council; FFU, Filter-paper fluid uptake.

<sup>1</sup>Standard error of least-square means

<sup>a,b</sup>Different superscripts indicate significance levels within rows of each SNP locus.

Table 3-25. Association of *ApoI* site in 5'upstream of *PPARGCIA* gene and myosin heavy chain isoform and meat quality traits

Traits	Genotype			P-value
	AA (n=171)	AT (n=55)	TT (n=5)	
<b>Myosin heavy chain</b>				
Slow isoform (%)	5.72 (0.25) <sup>1</sup>	6.09 (0.43)	6.49 (1.25)	0.6238
<b>Meat quality traits</b>				
pH <sub>45min</sub>	6.20 (0.03)	6.15 (0.04)	6.07 (0.13)	0.3891
pH <sub>24h</sub>	5.70 (0.02)	5.70 (0.03)	5.70 (0.10)	0.9999
Drip loss (%)	3.29 (0.15)	3.43 (0.27)	3.00 (0.77)	0.7755
Lightness ( <i>L</i> <sup>*</sup> )	46.77 (0.27)	46.54 (0.47)	49.13 (1.36)	0.1761
NPPC Color score	2.61 (0.05)	2.56 (0.09)	2.29 (0.27)	0.4714
NPPC Marbling score	2.17 <sup>b</sup> (0.06)	2.40 <sup>a</sup> (0.10)	2.67 <sup>a</sup> (0.30)	0.0379
Cooking loss (%)	30.53 (0.38)	30.60 (0.66)	27.92 (1.91)	0.3809
FFU (mg)	34.40 (1.80)	34.16 (3.15)	33.43 (9.09)	0.9925
Shear force (N)	60.23 (1.26)	57.81 (2.21)	50.14 (6.39)	0.1984

Abbreviation: NPPC, National Pork Producers Council; FFU, Filter-paper fluid uptake.

<sup>1</sup>Standard error of least-square means

<sup>a,b</sup>Different superscripts indicate significance levels within rows of each SNP locus.

Table 3-26. Association of SNP1 in 3'downstream of *PPARGCIA* gene and myosin heavy chain isoform and meat quality traits

Traits	Genotype			P-value
	CC (n=14)	TC (n=53)	TT (n=139)	
<b>Myosin heavy chain</b>				
Slow isoform (%)	5.98 (0.82) <sup>1</sup>	5.87 (0.47)	5.64 (0.37)	0.8693
<b>Meat quality traits</b>				
pH <sub>45min</sub>	6.26 (0.07)	6.28 (0.04)	6.21 (0.03)	0.3500
pH <sub>24h</sub>	5.61 (0.06)	5.65 (0.04)	5.69 (0.03)	0.4229
Drip loss (%)	4.65 <sup>a</sup> (0.45)	4.09 <sup>a</sup> (0.26)	3.44 <sup>b</sup> (0.20)	0.0115
Lightness ( <i>L</i> <sup>*</sup> )	47.02 (0.77)	47.46 (0.44)	46.69 (0.35)	0.3030
NPPC Color score	2.90 <sup>a</sup> (0.16)	2.41 <sup>b</sup> (0.09)	2.58 <sup>ab</sup> (0.07)	0.0141
NPPC Marbling score	2.21 (0.19)	2.22 (0.11)	2.35 (0.08)	0.5089
Cooking loss (%)	32.08 (1.18)	30.56 (0.68)	31.05 (0.54)	0.4600
FFU (mg)	40.30 <sup>a</sup> (4.91)	35.69 <sup>a</sup> (2.81)	24.54 <sup>b</sup> (2.22)	0.0098
Sheare force (N)	56.74 (3.84)	55.65 (2.20)	58.44 (1.74)	0.5296

Abbreviation: NPPC, National Pork Producers Council; FFU, Filter-paper fluid uptake.

<sup>1</sup>Standard error of least-square means

<sup>a,b</sup>Different superscripts indicate significance levels within rows of each SNP locus.

Table 3-27. Association of SNP2 in 3'downstream of *PPARGCIA* gene and myosin heavy chain isoform and meat quality traits

Traits	Genotype			P-value
	CC (n=26)	TC (n=77)	TT (n=103)	
<b>Myosin heavy chain</b>				
Slow isoform (%)	4.41 <sup>b</sup> (0.62) <sup>1</sup>	5.70 <sup>a</sup> (0.39)	6.38 <sup>a</sup> (0.40)	0.0155
<b>Meat quality traits</b>				
pH <sub>45min</sub>	6.09 <sup>b</sup> (0.06)	6.27 <sup>a</sup> (0.04)	6.26 <sup>a</sup> (0.04)	0.0158
pH <sub>24h</sub>	5.61 (0.04)	5.68 (0.03)	5.68 (0.03)	0.4527
Drip loss (%)	3.54 (0.35)	5.87 (0.22)	3.67 (0.23)	0.5392
Lightness ( <i>L</i> <sup>*</sup> )	46.54 (0.59)	47.25 (0.37)	46.84 (0.38)	0.4342
NPPC Color score	2.48 (0.13)	2.49 (0.08)	2.65 (0.08)	0.1636
NPPC Marbling score	2.21 (0.15)	2.28 (0.09)	2.36 (0.09)	0.6016
Cooking loss (%)	30.97 (0.91)	30.53 (0.57)	31.48 (0.60)	0.3408
FFU (mg)	35.87 (3.84)	40.24 (2.41)	35.31 (2.48)	0.1661
Shear force (N)	51.42 (2.92)	58.58 (1.84)	58.88 (1.89)	0.0626

Abbreviation: NPPC, National Pork Producers Council; FFU, Filter-paper fluid uptake.

<sup>1</sup>Standard error of least-square means

<sup>a,b</sup>Different superscripts indicate significance levels within rows of each SNP locus.

#### 나. 근섬유단백질아형관련 다수의 DNA마커 발굴

본 연구에서는 총 10개의 DNA마커에 대해 근섬유단백질아형 및 육질과의 연관성분석을 실시했다. 이 중에서 근섬유단백질아형 즉 MHC slow form에 영향을 미치고 있는 DNA마커는 Table 3-28에 요약되어 있다. 이 4개 DNA마커에 대한 연관성분석결과 특징적인 부분은 MHC slow form이 다른 유전자형에 비해 작게 나온 유전자형의 MHC slow form함량은 모두 5%미만으로 나타났다는 점이다. 이는 집단평균 MHC slow form함량인 5.9%보다 낮은 수준이다. 특히 MHC slow form함량이 4.6%이하 일 때 사후초기대사속도(pH<sub>45min</sub>) 및 보수력(FFU)에 영향을 미치고 있었다. *PPARGCIA* 유전자의 Exon8영역내 *AluI* 좌위의 경우 TT 유전자형의 MHC slow form함량이 4.90%로 육질에 유의적인 차이는 없었지만 pH<sub>45min</sub>와 보수력이 낮은 경향을 확인할 수 있었다. 따라서 MHC slow form함량에 영향을 주고 최종적으로 육질에 영향을 미치는 DNA마커를 확인할 수 있었으며, 특히 낮은 MHC slow form함량(4.6%)을 가지고 있을 경우 육질이 저하된다는 것을 알 수 있었다.

Table 3-28. SNPs that affect myosin heavy chain isoforms in the current study

Gene	Region	Variation	Restriction enzyme	Meat quality
<i>MYH2</i>	5'upstream	T/C	<i>PstI</i>	pH <sub>45min</sub>
<i>MYH1</i>	5'upstream	C/A	<i>HpyCH4V</i>	FFU
<i>PPARGC1A</i>	Exon8	A/T	<i>AluI</i>	-
<i>PPARGC1A</i>	3'UTR	C/T (SNP2)	no enzyme	pH <sub>45min</sub>

이와 더불어, 근섬유단백질아형에는 영향을 주지 않았지만 육질에 영향을 미치는 DNA마커도 다수 확인되었다. *MYH7* 유전자의 3'downstream region내 *ApoI* 좌위 AA유전자형이 다른 유전자형보다 Lightness가 높게 나타났으며, 이 유전자형의 MHC slow form함량이 다른 유전자형보다 낮은 경향을 보이기는 했으나 유의적인 차이는 없었다. 또한 *PPARGC1A* 유전자의 5'upstream region내 세 SNP들은 모두 NPPC marbling score에 영향을 주고 있었다. *PPARGC1A* 유전자의 3'UTR내 SNP1은 보수력에 영향을 주고 있었다.

결과를 종합하면, MHC isoform을 코딩하는 유전자들의 변이가 실제 MHC isoform함량에 영향을 주고 이어 육질에도 있음을 확인할 수 있었다. 또한 기존 근섬유특성과 관련되어 있는 보유마커에 대한 추가분석을 통해 MHC isoform 및 육질관련 기능을 확인했다.

특히, 다수의 DNA마커에 대한 연관성분석을 통해 MHC slow isoform이 5%미만일 때 육질 저하로 이어진다는 것을 확인하였으며, 이는 생체수준에서 육질을 예측할 수 있는 하나의 지표로서 의미가 있다고 판단된다. 따라서 유용 유전자형 및 MHC slow isoform함량 기준을 통해 정확한 육질을 예측할 수 있을 것으로 기대된다.



Table 3-29. SNPs that affect meat quality traits in the current study

Gene (Region)	Variation	Enzyme	Meat quality
<i>MYH7</i> (3'downstream)	C/A	<i>ApoI</i>	Lightness
<i>PPARGCIA</i> (5'upstream)	A/G	<i>PshAI</i>	NPPC marbling
	G/T	<i>NspI</i>	
	A/T	<i>ApoI</i>	
<i>PPARGCIA</i> (3'UTR)	C/T	no enzyme (SNP1)	Drip loss, FFU

MHC slow form에 영향을 주는 DNA마커의 유전자형에 따른 육질1+등급 출현율을 비교하였다(Table 3-00). 국내에서 도축되는 모든 돼지들은 온도체와 냉도체에 대해 축산물품질평가원의 평가를 받게 되어 있으며, 최종 육질등급은 1+, 1, 2 등급으로 나누어진다. 따라서 개발한 DNA마커에 따른 1+출현율 분석을 통해 현장저용 가능성을 가늠해 볼 수 있다. 실험돈군의 집단 특성으로 1+등급을 받은 개체는 7두로 약 3%에 불과하다. 그럼에도 불구하고 MHC slow isoform이 5%미만으로 낮게 나타난 유전자형에서 최종육질 1+등급이 출현하지 않거나(*PstI*, *HpyCH4V* locus), 단 1두만 출현(*AluI*, SNP2 locus)했다. 이는 Table 3-30에 나타나 있으며 이를 통해 앞서 언급한 5%미만의 MHC slow isoform 수준은 육질을 예측하는데 주요한 기준이 될 수 있음을 다시 한번 확인할 수 있다.

Table 3-30. Relation between each locus and meat quality grade 1+

<i>MYH2</i> gene		Genotype of <i>PstI</i> locus			P-value
Traits	CC (n=19)	TC (n=76)	TT (n=136)		
MHC slow isoform (%)	4.11 <sup>b</sup> (0.75) <sup>1</sup>	5.83 <sup>a</sup> (0.49)	5.83 <sup>a</sup> (0.26)	0.0406	
Meat quality grade 1+	0	0	7		

<i>MYH1</i> gene		Genotype of <i>HpyCH4V</i> locus			P-value
Traits	AA (n=41)	AC (n=63)	CC (n=127)		
MHC slow isoform (%)	4.59 <sup>b</sup> (0.52)	5.87 <sup>a</sup> (0.35)	6.46 <sup>a</sup> (0.41)	0.0366	
Meat quality grade 1+	0	5	2		

<i>PPARGCIA</i> gene		Genotype of <i>AluI</i> locus			P-value
Traits	AA (n=44)	AT (n=63)	TT (n=124)		
MHC slow isoform (%)	6.15 <sup>a</sup> (0.46)	6.34 <sup>a</sup> (0.36)	4.90 <sup>b</sup> (0.44)	0.0386	
Meat quality grade 1+	3	3	1		

<i>PPARGCIA</i> gene		Genotype of SNP2 in 3'UTR			P-value
Traits	CC (n=26)	TC (n=77)	TT (n=103)		
MHC slow isoform (%)	4.41 <sup>b</sup> (0.62)	5.70 <sup>a</sup> (0.39)	6.38 <sup>a</sup> (0.40)	0.0155	
Meat quality grade 1+	1	2	4		

Abbreviation: MHC, myosin heavy chain

<sup>1</sup>Standard error of least-square means<sup>a,b</sup>Different superscripts indicate significance levels within rows of each SNP locus.

위의 결과를 바탕으로 MHC isoform을 코딩하는 유전자내 DNA마커인 *PstI* 좌위와 *HpyCH4V* 좌위에 대해 diplotype 분석을 실시하여 그 효과를 확인했다(Table. 3-31). 출연두 수가 매우 적게 나온 CCAC (1두), TCAC (11두) diplotype은 제외하고 나머지 유전형조합에 대해 연관성 분석을 실시했다. 그 결과 CCCC 유전자조합과 TTAA유전자 조합이 각각 4.87%, 4.53%로 다른 조합형에 비해 낮은 MHC slow isoform함량을 나타냈으며( $P < 0.01$ ), 육질1+등급은 단 1두도 나타나지 않았다. 이러한 결과를 통해 *PstI* 좌위와 *HpyCH4V* 좌위에서 MHC slow isoform함량이 적게 나타났던 CC 유전자형 및 AA유전자형을 하나라도 가지고 있다면, MHC slow isoform함량이 5%미만으로 다른 조합형에 비해 낮게 나타나고 육질 1+등급도 출연하지 않는다는 사실을 확인할 수 있다. 따라서 앞선 연구결과들과 종합해볼 때, MHC slow isoform (%) 함량이 5%미만일 경우 육질저하가 일어나며, 이를 DNA마커를 통해 생체수준에서 선별할 수 있다는 사실을 유추할 수 있다.

Table 3-31. Diplotype analysis for *PstI* and *HpyCH4V* locus.

Traits	Diplotype					P-value
	CCCC (n=18)	TCCC (n=65)	TTAA (n=41)	TTAC (n=51)	TTCC (n=44)	
MHC slow isoform (%)	4.87 <sup>bc</sup> (0.81) <sup>1</sup>	6.58 <sup>a</sup> (0.59)	4.53 <sup>c</sup> (0.55)	5.73 <sup>ab</sup> (0.40)	6.82 <sup>a</sup> (0.49)	0.0083
Meat quality grade 1+	0	0	0	5	2	

Abbreviation: MHC, myosin heavy chain

<sup>1</sup>Standard error of least-square means

<sup>a,b,c</sup>Different superscripts indicate significance levels within rows of each SNP locus.

#### 다. multiple DNA마커 진단기법 개발

지금까지의 연구를 통해 근섬유단백질 및 육질관련 DNA마커를 다수 발굴하였으며, 현장적 용을 간소화하기 위해 다수의 유전자형을 동시에 진단할 수 있는 방법에 대한 연구를 실시했다. 이를 통해 근섬유단백질유전자내 염기다형성 중 MHC slow isoform에 영향을 주고 있는 *PstI* 좌위와 *HpyCH4V* 좌위에 대해 multiple DNA마커를 개발했다. 두 SNP 좌위에 대한 multiplex PCR을 위해 2가지 primer set (Table 3-32)을 제작하고 각 primer를  $1\mu\text{l}$ (10pmol/ $\mu\text{l}$ ) 씩 첨가하고 그 외 100ng의 돼지DNA와 0.25mM의 dNTP, 10x PCR buffer 및 1.25U의 DNA polymerase (i-*Max*™ II, Intronbio., Korea)를 넣고 Mastercycler gradient (Eppendorf Co., Germany)를 이용하여 총 부피 50 $\mu\text{l}$ 로 수행했다. PCR 반응조건은 94°C에서 10분간 pre-denaturation 한 후, 94°C에서 denaturation 1분, 60°C에서 annealing 1분, extension 72°C 1분을 한 cycle로 하여 30 cycle을 반복한 후, 마지막으로 72°C에서 10분으로 PCR 반응을 종료 하였다. PCR을 수행하면 Table 3-33에 나타나있는 바와 같이 전기영동을 통해 750bp, 279bp 두 개의 밴드를 확인할 수 있다.

Table 3-32. Condition for multiplex PCR

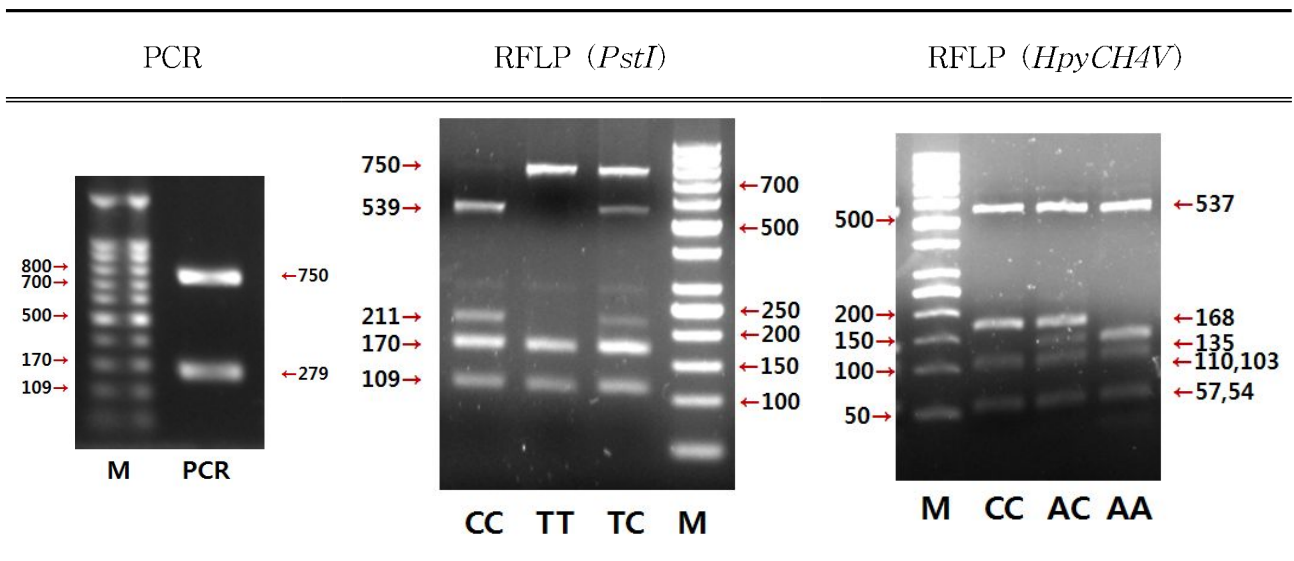
Target	Primer (5'→3')	Annealing temperature	Cycle
<i>PstI</i> 좌위 & <i>HpyCH4V</i> 좌위	1 F: TGTGTGCCCTTCTTCATCA R: AAGGAAGGTTTCAGGCTGGT	60°C	30
	2 F: GCCTATGCTTCCAGGTCTTC R: GCAGTCACCATTTCAGTTTTCC		

여기에 제한효소 *PstI*, *HpyCH4V*를 각각 처리하면 Table 3-31과 같이 각각의 유전자형을 구분할 수 있다. *PstI*의 경우 T allele일 때, 750bp의 PCR밴드크기 잘리지 않고 그대로 나타나지만, C allele일 때, 539bp + 211bp로 나누어진다. 또한 *HpyCH4V* 좌위의 PCR산물이 *PstI*에 의해 항상 잘리므로 170bp 와 108bp는 항상 나타나게 된다. 즉, 539bp 및 211bp 밴드로 유전자형을 확인할 수 있다.

*HpyCH4V*의 경우에는 C allele일 때, 168bp, 57bp, 54bp로 잘리며 A allele일 때에는 168bp 밴드가 135bp와 33bp의 두 밴드로 한번 더 나누어진다. 이와함께 *PstI*에 의행 537bp, 110bp, 103bp는 항상 나타난다. 즉 168bp와 135bp의 유무로 유전자형을 진단할 수 있다.

따라서 본 연구에서 개발한 multiple DNA마커 진단기법을 이용하여 양돈현장에서 보다더 용이하게 개체의 유전자형을 파악하고, 육질을 예측할 수 있을 것으로 판단된다.

Table 3-33. The figures of PCR product and bands digested by each enzyme



제2세부과제는 ‘근섬유단백질 관련 DNA 표지인자 개발’에 그 목표가 있다.

1차년 연구수행을 통해 근섬유단백질 관련 후보유전자를 탐색하여 **myosin heavy chain (MHC) isoform**을 코딩하는 구조유전자들을 최종 후보유전자로 선정했다. 돼지의 골격근에는 4개의 MHC isoform이 존재하며, 이들은 근육수축속도에 따라서 Slow form과 Fast form으로 크게 구분이 된다. Slow form은  $\beta$ -MyHC isoform 하나가 존재하고, Fast form은 MHC 2a, 2x 그리고 2b 3가지 isoform이 존재하며 각각 *MYH7*, *MYH2*, *MYH1*, *MYH4* 유전자에 의해 발현된다.

2차년 연구에서 MHC isoforms를 코딩하는 상기 4개 유전자의 조절영역(5'upstream region, 3'downstream region)에 대한 염기다형성을 발굴하고 유전자형 진단기법을 확립했다. 기존 문헌조사를 통해 이들 구조유전자의 cDNA 영역에서 변이가 발견되지 않았으므로 분석대상을 유전자 발현에 영향을 줄 수 있는 조절영역으로 선정했다. 품종내, 품종간 변이를 확인하기 위해 4개의 돼지 주요 품종(Berkshire, Duroc, Landrace, Yorkshire)을 대상으로 직접 염기서열분석을 실시하여, 9개의 SNP와 2개의 InDel을 발굴하고, 현장에서의 신속·정확한 유전자형 판별을 위해 PCR-RFLP (polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism)기법을 이용하여 3개 좌위에 대한 유전자형진단기법을 마련했다.

3차년 연구에서는 이를 바탕으로 실험돈군을 조성하고 타 세부과제와의 연계를 통해 **유전자형과 근섬유단백질아형 및 육질관련 형질들과의 연관성을 구명**했다. 실험축군에 대해 1, 2차년 연구를 통해 발굴한 근섬유단백질 유전자내 SNP뿐만아니라 본 연구팀이 보유하고 있는 근섬유특성관련 DNA마커에 대한 유전자형을 분석하여, MHC slow form에 영향을 줄 수 있는 다수의 마커를 발굴하고, 이를 동시에 진단할 수 있는 진단기법을 개발하여 현장활용도를 높였다. 연관성분석을 통한 기능구명 결과, 개발한 DNA마커를 통해 MHC slow form함량에 차이가 나는 집단을 구분할 수 있었으며, 특히 **MHC slow form함량일 경우 5%미만일 때 육질이 저하되고 육질1+등급출현율이 매우 낮은 것**을 확인하여 육질예측인자로서의 기준을 제시할 수 있었다. 따라서, 본 연구를 통해 개발한 DNA마커는 생체수준에서 MHC slow form 함량을 예측하고 육질을 평가할 수 있는 지표로서 효용성이 있다고 판단된다.

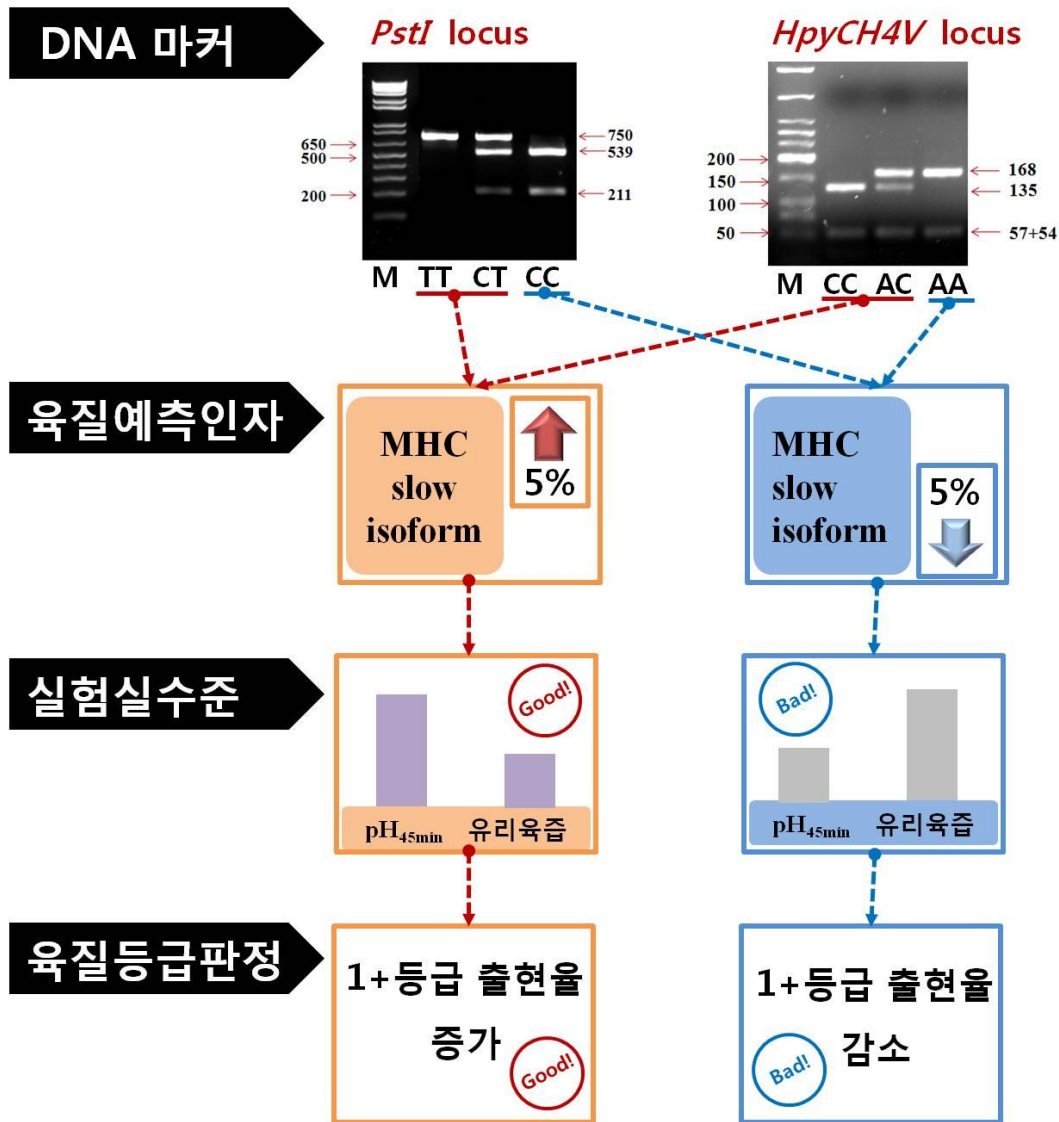


Figure 3-7. Summary of Development of DNA marker associated with myofibrillar protein

### 제 3 절 육질예측기법 실용화

#### 1. 돈군 능력검정 및 육질평가

##### 가. 기초축군의 적정 규모 및 구조 설정

근섬유특성 및 근섬유단백질의 특성관련 측정자료를 얻고 이와 더불어 품종에 따른 유전적 다양성을 확인하기 위해서 다양한 품종을 기초로 기초돈군을 조성한다. 국내 양돈산업에서 현재 주요하게 이용되고 있는 네 개의 품종(Landrace, Yorkshire, Duroc, Berkshire)을 본 연구에서 기초축군 대상 품종으로 선정하였다. 성장, 산육 및 육질 관련 형질이 평가되는 능력검정돈을 대상으로 기초돈군을 조성하며, 실험돈군 선정에 따른 편기 및 측정에 따른 오차 등을 줄이기 위해 돈군 규모는 각 품종당 100두 이상 규모로 설정하였다. 또한 품종효과와 함께 성별효과를 고려하기 위해서, 각 품종별로 동일한 성비로 조성하여 성별효과도 같이 검증하였다. 환경적 요인에 의한 개체군 내의 변이를 조절하기 위하여 품종별 기초돈군은 동일 농장에서 동일한 급여를 통해 키워진 개체들로 구성하였다. 육질과 근섬유특성 및 근섬유단백질관련 형질의 보다 정확한 측정을 위해 1회 도축규모는 30두 내외로 설정했다. 기초축군의 설정규모 및 구조는 다음 Table 1-1과 같다.

Table 1-1. Design of experimental group

Breed	Female	Male	Total
Landrace	50	50	100
Yorkshire	50	50	100
Duroc	50	50	100
Berkshire	50	50	100
	Total		400

##### 나 .성장 및 산육능력 검정

기초축군에 대한 성장 및 산육 형질을 크게 두 단계로 나누어 측정하였다. 첫 째, 생애단계에서 개체별 품종과 성별 및 생일을 기록하며, 능력검정(이유체중/일령, 검정종료체중/일령)을 실시하고 출하시 체중과 일령을 기록하였다. 둘째, 도축단계에서는 생체중 및 도체중과 등지방층두께를 측정하고 등급판정소 기준에 따른 육량등급 및 육질등급을 평가하였다.

본 과제를 통해서 설정된 네 개 품종에 대한 400두 규모의 기초돈군 중 현재 Berkshire 127두에 대한 4회의 도축 및 능력검정을 완료하였고, Yorkshire와 Duroc, Landrace 품종은 각

각 30두씩 1회에 걸쳐 도축을 실시했고, 능력검정은 진행중에 있다. 기 조성한 Berkshire 127 두에 대한 성장에 따른 특성은 다음과 같다(Table 1-2). 실험축군은 생체중(Live weight)이 평균 107.91kg이며, 도체중(Carcass weight)은 평균 84.13kg로 도체율(Carcass percent)이 평균 77.82%로 분석되었다. 적육생산능력의 지표가 되는 등지방층두께(Back fat thickness)와 등심근단면적(Loin eye area)는 각각 평균 23.36 mm와 27cm<sup>2</sup>로 나타났다. 등심근 단면적의 경우 배최장근(*longissimus muscle*) 적출과정에서 등심근모양이 상하지 않게 해야하는 어려움이 있었으며, 총 27두(암돼지 6, 수돼지 20)에 대해서 현재 측정되었다.

Table 1-2. Growth and carcass traits of Berkshire pigs

	<b>n</b>	<b>Mean</b>	<b>SD</b>	<b>Min.</b>	<b>Max.</b>
Live weight (kg)	127	107.91	6.30	94.87	120.51
Carcass weight (kg)	127	84.13	5.04	73.00	94.00
Carcass percent (%)	127	77.82	1.24	74.31	83.16
Back fat thickness (mm)	127	23.36	4.46	10.00	34.00
Loin eye area (cm <sup>2</sup> )	27	48.49	7.42	32.23	64.12

실험축군 Berkshire 127두는 암돼지 65두와 거세한 수돼지 62두로 구성이 되어있다. 성별은 개체의 형질에 영향을 주는 주요 요인 중 하나이므로 성별에 따른 성장 및 산육 형질의 특성을 비교하였다(Table 1-3). 생체중과 도체중에서는 성별에 따른 유의적인 차이를 보이지 않았지만 도체율에서는 수돼지가 더 높게 나타났다( $P < 0.1$ ). 등지방층두께에서는 암돼지가 수돼지보다 얇게 나타났으며 ( $P < 0.05$ ), 등심근 단면적에서도 유의적인 차이는 없었지만 암돼지가 수돼지에 비해 다소 넓은 경향을 보였다. 이를 통하여 본 실험의 기초축군 중 하나인 Berkshire의 경우 암돼지가 수돼지에 비해 산육관련 능력이 우수하게 나타났다는 것을 알 수 있다. 향후 조성될 다른 품종과의 비교를 통해 품종간 특성 및 성별특성을 분석할 필요가 있을 것으로 판단된다.



Table 1-3. Effect of sex on growth and carcass traits of Berkshire pig

	Sex		Significance
	Female (n=65)	Male (n=62)	
Live weight (kg)	108.24 ± 0.85 <sup>1</sup>	107.40 ± 0.80	NS
Carcass weight (kg)	84.12 ± 0.67	83.81 ± 0.63	NS
Carcass percent(%)	77.53 ± 0.15	77.89 ± 0.14	†
Back fat thickness (mm)	21.20 ± 0.54	25.34 ± 0.50	*
Loin eye area (cm <sup>2</sup> )	49.18 ± 1.67	46.20 ± 3.04	NS

<sup>1</sup> Standard error of least square means.

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

<sup>a,b,c</sup> Least square means with different superscripts in the same row differ.

돼지등급판정기준(2007)에 따른 육량등급 분포는 Figure 1-1과 같다. Berkshire 축군은 A등급 46.5%, B등급 33.9%, C등급 12.6%, D등급 7.0%를 나타냈다. 2009년 2월 현재 국내 등급판정두수는 1,116,871두이며, 이중 등급별 출현비율은 A등급 38.0%, B등급 30.0%, C등급 15.6%, D등급 12.7%이다. 실험축군은 일반적인 출현비율과 유사한 경향을 나타냈으며, 특히 A, B등급이 더 많이 나타나 전체적으로 육량이 우수한 것으로 사료된다.

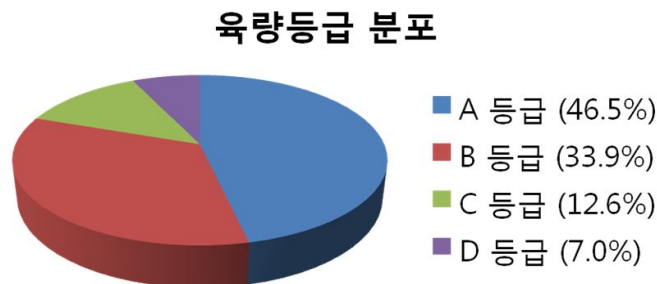


Figure 1-1. Distribution of quantity grade

## 다. 도체의 육질평가

도체의 육질평가는 사후 초기 pH(pH<sub>45 min</sub>), 보수력(Drip loss), 명도(Lightness)의 3가지 항목에 대해 실시했다(Table 1-4). 사후 초기 대사속도에 주요한 지표인 pH<sub>45 min</sub>은 도축후 45분이 지난 도체에서 측정하였으며, 나머지 형질은 도축 후 24시간이 지난 도체에서 측정하였다. 사후대사속도는 육질에 주요한 영향을 주며, 급격한 사후대사가 일어날 경우 lactate의 증가로 pH 급격한 감소를 초래하여 육질의 저하로 이어진다. Berkshire축군은 pH<sub>45 min</sub>이 6.26으로 높게 나왔으며, 이는 사후대사속도가 늦게 진행됨을 알 수 있다. 일반적인 pH<sub>45 min</sub>는 6이하이며, 이 실험군에서 특히 높게 나온 것은 Berkshire품종의 특성으로 사료된다. 또한 실험축군내에서 육질에 대한 성별간의 차이는 유의하지 않을 것으로 분석되었다(Table 1-5).

Table 1-4. Descriptive statistics of pork quality traits in Berkshire pigs

	n	Mean	SD	Min.	Max.
pH <sub>45 min</sub>	127	6.26	0.22	5.44	6.78
Drip loss (%)	127	2.09	1.32	0.87	8.79
Lightness	127	44.65	2.19	38.61	49.24

Table 1-5. Effect of sex on pork quality traits in Berkshire pigs

	Sex		Significance
	Female (n=65)	Male (n=62)	
pH 45min	6.23 ± 0.03 <sup>1</sup>	6.27 ± 0.03	NS
Drip loss (%)	1.94 ± 0.17	2.29 ± 0.16	NS
Lightness	44.56 ± 0.28	44.66 ± 0.30	NS

<sup>1</sup> Standard error of least square means.

Levels of significance: NS, not significant.

<sup>a,b,c</sup> Least square means with different superscripts in the same row differ.

돼지등급판정기준(2007)에 따른 육질등급 분포는 Figure 1-2와 같다. Berkshire축군은 1+등급 0.8%, 1등급 76.4%, 2등급 22.8%로 나타났다. 2009년 2월 현재 등급별 출현비율은 1+등급 1.8%, 1등급 70.4%, 2등급 22.4%, 3등급 1.7%으로, 실험축군은 이와 유사한 경향을 나타냈다. 특히 1등급이상인 총 77.6%로 일반적인 출현율 72.2%보다 많아 육질면에서 Berkshre 품종이 국내 전체돈군에 비해 우수한 것으로 판단된다.

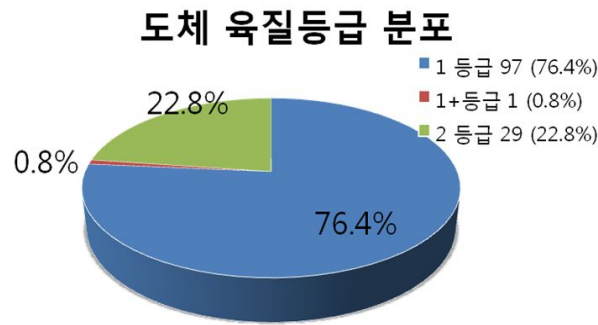


Figure 1-2. Distribution of quality grade

식육의 보수력과 명도를 이용한 또 다른 돈육육질등급은 다음 기준에 의해 PSE(pale, soft exudative), RFN(red, firm, normal), DFD(dark, firm, dry)의 3가지로 분류된다(Table 1-6). 이 중 PSE돈육은 이상육으로 분류되며 본 Berkshire축군에서는 나타나지 않았다. 이러한 두가지 육질등급평가를 종합하여 볼 때, 본 실험에 이용된 Berkshire집단은 일반집단보다 육질도 우수한 것으로 판단된다.

Table 1-6. Classification of pork quality classes

	PSE	RFN	DFD
Lightness	> 50	42 ~ 50	< 42-43
Drip loss(%)	> 6%	< 6%	< 1~2%

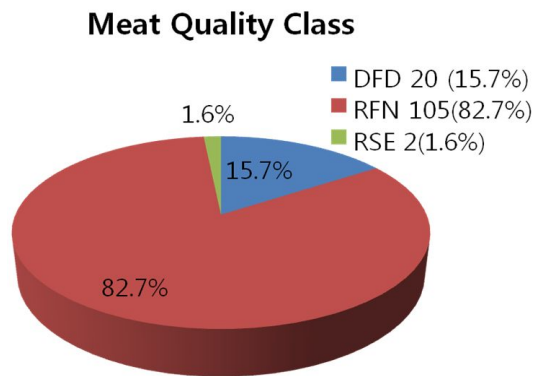


Figure 1-3. Distribution of pork quality classes

현재 Landrace와 Duroc, Yorkshire 세 개의 품종에 대해서 각각 농장검정이 이루어지고 있으며, 품종별로 3회씩의 도축이 계획되고 있어 기초축군으로 설정한 규모에 대해서 당해연도에 모두 완료할 수 있을 것으로 예상된다. 당해연도 연구결과를 토대로 기초축군으로 설정한 네 개의 품종에 대해서 품종별, 성별간 성장능력과 산육능력 및 육질능력에 대한 비교분석이 이루어질 수 있으며, 이를 토대로 1, 2세부과제에 돈군의 기초데이터 제공 및 향후 차년도에 이루어질 근섬유 단백질 아형 예측인자와 관련 DNA표지유전자의 효과검증에 활용될 수 있을 것이다.

## 2. 선정된 예측인자 및 표지인자의 효과 검증

### 가. 인자들과 적육생산능력간 연관성 분석

이전의 양돈 생산은 육질 측면보다 육량 측면에 초점을 맞추었으며, 그로인해 적육생산량에서는 괄목할만한 성장을 나타냈으나, 육질이 저하되는 문제를 야기시켰다. 향후 양돈 산업은 육량 저해없이 육질이 향상되는 방법을 강구하여야 하며, 따라서 본 과제에서 개발하는 육질 예측인자는 육질특성 뿐만 아니라 육량 측면과도 연관성이 있어야 육질 예측인자로서의 실효성을 높일 수 있다.

제 1 세부과제 연구결과 myosin heavy chain(MHC) isoform 조성, 특히 MHC slow isoform 조성이 육질 예측인자로서 가능성을 나타냈다. 본 협동과제는 육질 예측인자로서 가능성을 확인한 MHC isoform 조성과의 관계 및 관능평가와의 관계를 분석함으로써 그 효과를 검증하고 실효성을 제고시키자 하였다. MHC isoform 조성과의 연관성 분석을 위하여 실험군의 MHC isoform 조성을 분석하였으며, 적육생산능력 항목으로 돼지 배최장근(*longissimus dorsi* muscle)의 단면적과 등지방 두께를 선정하여 측정하였다. 돼지 배최장근은 근육 내 육질변이가 다른 근육에 비해 적기 때문에 개체 간 육질변이 연구에 적합하며, 일반적으로 배최장근의 단면적은 성장능력 및 도체중과 정의 상관관계를 보인다(Ryu 등, 2004). 등지방 두께는 배최장근 단면적과 함께 돼지 및 소 도체의 육량등급 판정기준으로 이용되며, 도체 및 생체에서 쉽게 측정이 가능하며, 일반적으로 두께가 클수록 적육량이 줄어드는 것으로 알려져 있다.

MHC isoform 조성과의 배최장근 단면적, 등지방 두께 간 상관분석 결과, 전체 실험군의 MHC fast/slow ratio는 배최장근 단면적과 유의적 상관관계( $r = 0.24, P < 0.001$ )를 가지는 것으로 나타났으며(Table 2-1), 버크셔와 랜드레이스에서 MHC fast/slow ratio는 배최장근 단면적과 정의 상관관계( $r = 0.23, r = 0.41, P < 0.05$ )를 나타내었다. 그러나 MHC isoform 조성은 등지방 두께와는 유의적 상관관계가 없는 것으로 나타났다(Table 2-2).

Table 2-1. Correlation coefficient ( $r$ ) between myosin heavy chain isoform content and loin eye area, backfat thickness

	Myosin heavy chain isoform		
	Slow isoform	fast isoform	fast/slow ratio
<i>All pigs</i>			
Loin eye area	-0.02	0.02	0.24***
Backfat Thickness	0.07	-0.07	-0.10

\*\*\*  $P < 0.001$ .

Table 2-2. Correlation coefficient ( $r$ ) between myosin heavy chain isoform content and loin eye area, backfat thickness in each pig breed

	Myosin heavy chain isoform		
	Slow isoform	fast isoform	fast/slow ratio
<b><i>Berkshire</i></b>			
Loin eye area	-0.13	0.13	0.23*
Backfat Thickness	0.12	-0.12	-0.10
<b><i>Duroc</i></b>			
Loin eye area	0.05	-0.05	-0.12
Backfat Thickness	-0.15	0.15	0.07
<b><i>Landrace</i></b>			
Loin eye area	-0.12	0.12	0.41*
Backfat Thickness	0.22	-0.22	-0.18
<b><i>Yorkshire</i></b>			
Loin eye area	0.20	-0.20	-0.27
Backfat Thickness	-0.02	0.02	0.00

\*  $P < 0.05$ .

#### 나. 전문 패널테스트를 통한 육질 관능평가

육질평가는 크게 기계적(technological) 육질평가와 관능평가로 구분할 수 있다. 기계적 육질평가의 경우 기기 혹은 표준화된 기준 및 방법에 의해 육질을 평가한다. 관능평가를 통한 육질평가는 사람이 인지하게 되는 감각을 수치로 표현한 것으로, 차이식별검사나 묘사관능평가와 같은 분석적인 실험실 검사와 선호도 혹은 기호도와 같은 소비자 검사로 나눌 수 있다(van der Wal 등, 1997; Maltin 등, 1997). 소비자 검사는 제품 혹은 식품에 대한 소비자의 기호정도, 수용가능성을 알아보기 위한 목적으로 사용된다. 실험실 검사 중 묘사관능평가는 제품 혹은 식품의 특성을 항목화하고 평가하여 수치로서 정량화하는 방법이다. 최근에는 관능평가를 통한 품질평가가 소비자들이 인지하게 되는 품질과 밀접한 관련이 있어, 관능평가를 중요시하는 경향이 있다. 따라서 본 연구에서는 육질 예측인자인 MHC isoform 조성의 실효성을 제고시키기 위해, 관능평가를 실시하고 MHC isoform 조성과 관능평가 항목간 연관성을 분석하였다. 그러나 관능평가를 통한 육질평가의 경우, 관능평가에 사용되는 시료의 부위, 패널들 간 평가기준, 관능 시료의 준비 방법 및 절차가 일정하지 않으면 변이가 크게 나타나 일정한 결과를 얻기가

힘들다. 이에 관능평가를 실시하기에 앞서 패널을 훈련시켰으며, 관능 시료의 준비 방법 및 절차, 그리고 평가 기준 및 방법을 표준화하였다.

### (1) 패널의 훈련

묘사적 관능평가를 위해 훈련을 통한 전문 패널을 선정하였다(Meilgaard 등, 1991). 패널은 관능평가 경험이 있는 10명을 선발하고, 훈련을 실시하였다. 훈련은 패널을 통솔할 수 있는 패널지도자를 두어 패널에게 관능평가 목적 및 방법에 대해 예비교육을 실시하여 본 연구의 관능평가에 대한 이해를 도왔으며, 육질특성, 관능평가 요령 및 평가방법을 숙지하도록 교육하였다. 또한 훈련을 통하여 패널 간 차이를 줄이고, 시료 간 차이식별 능력과 육질 인지 능력을 향상시켰으며, 개인적 선호를 배제하고 보다 객관적인 결정을 할 수 있도록 하였다. 훈련은 여러 시료를 대상으로 매주 2시간씩, 4주 이상 실시하였다.

### (2) 관능 시료의 준비 방법 및 절차

관능평가를 위해 버크셔(n=90), 듀록(n=32), 랜드레이스(n=46), 요크셔(n=20) 등 네 가지 품종의 돼지를 이용하였다. 시료는 사후 24시에 채취하였으며, 각 개체의 동일 부위를 이용하기 위해 2분 도체 중 왼쪽도체의 배최장근을 사용하였고, 흉추(thoracic vertebra) 10-13번째 부위를 채취하였다. 채취한 시료는 관능평가가 이루어질 때까지  $-20^{\circ}\text{C}$ 에서 냉동하였으며, 냉동기간은 일주일을 넘기지 않도록 하였다.

관능평가 하루 전, 냉동된 시료는 해동에 의한 변성을 방지하기 위해 냉장조건( $4^{\circ}\text{C}$ )에서 해동시켰다. 해동된 시료는 2 cm 두께로 자른 후, 예열을 통해  $180^{\circ}\text{C}$ 로 온도가 유지된 오븐(HQ-Z365AS, Samsung, Korea)에서 조리하였다. 조리 중 수분 손실을 방지하기 위해 스팀을 사용하였으며, 시료의 온도를 일정하게 맞추기 위해 온도계(TE5-1300, TES Electrical Electronic Co., Taiwan)를 이용하여 시료의 심부온도를 측정하였다. 시료의 양쪽면을 골고루 익히기 위해 시료 심부온도가 약  $37^{\circ}\text{C}$ 에 도달하였을 때 시료를 뒤집어 주었으며, 심부온도가 약  $72^{\circ}\text{C}$ 에 도달할 때까지 가열하였다. 조리된 시료는 약 1분간 실온에서 냉각 후, 약  $1.3 \times 1.3 \times 1.3 \text{ cm}^3$ 의 정육면체로 준비하고, 패널들에게 제공되기 전까지 약  $55^{\circ}\text{C}$ 의 수조에서 보관하여 온도를 유지하도록 하였다(Fortin 등, 2005).

오전과 오후로 나누어 관능평가를 진행하였으며, 패널의 감각 둔화와 정신적 피로를 방지하기 위해 각 관능평가 시간에 제공되는 시료의 개수는 10개로 제한하였고, 1시간 이상 진행되지 않도록 하였다. 관능평가 장소는 소음이 적고, 온도가 적당하여 패널들이 추위나 더위를 느끼지 않는 곳을 선택했으며, 조명을 너무 어둡거나 밝지 않도록 조절하였다. 관능평가 시, 시료에 대한 사전정보를 차단하기 위해 시료는 무작위로 선정된 세 자리 수가 부착된 접시에 제공되었으며, 시료 간 맛과 향 등의 혼합을 방지하기 위해 물과 무염 크래커를 제공하였다. 패널들은 하나의 시료를 평가한 후 물과 무염 크래커를 이용하여 남아있는 맛과 향 등을 제거하였으며, 감각의 회복을 위해 약 5분 정도의 시간을 두어 최대한 시료 간 맛의 혼입 및 객관적 평가가 가능하도록 하였다. 각 개체에 대한 관능평가는 2회 반복 실시하였다.

### (3) 관능평가 척도, 항목 및 평가방법

각 시료에 대한 관능평가는 9가지 항목으로 평가하였으며, 5점 척도법을 이용하였다. 9가지 평가항목은 미국식육과학협회의 지침서(American Meat Science Association guideline, 1995)를 참고로 하였으며, 견고성(Sofrness, 1 = 매우 부드러움; 5 = 매우 딱딱함), 초기연도(initial tenderness, 1 = 매우 연함; 5 = 매우 질김), 다즙성(juiciness, 1 = 매우 다즙함; 5 = 매우 건조함), 풍미(flavor, 1 = 매우 강함; 5 = 매우 약함), 이상취(off-flavor, 1 = 매우 약함; 5 = 매우 강함), 씹힘성(chewiness, 1 = 매우 부드럽게 씹힘; 5 = 매우 씹기 힘들), 삼킴의 용이도(rate of breakdown, 1 = 씹는 횟수가 매우 적음; 5 = 씹는 횟수가 매우 많음), 입안코팅(mouth coating, 1 = 매우 적음; 5 = 매우 많음), 잔여물의 양(Amount of perceptible residues, 1 = 매우 적음; 5 = 매우 많음)으로 구성하였다. 견고성은 시료를 처음 저작 시 들어가는 힘의 정도이고, 초기연도는 시료를 최초 3번 저작하는 동안 들어가는 힘의 정도이다. 씹힘성은 일정한 속도로 시료를 저작하는 동안 들어가는 힘의 정도를 말하며, 삼킴의 용이도는 시료를 삼키기 적당할 때까지 분해하기 위해 필요한 저작 횟수를 의미한다. 따라서, 견고성, 초기연도, 씹힘성, 삼킴의 용이도는 시료의 연도와 관련된 항목들이다. 다즙성은 시료를 5번 씹은 후 유리되는 수분의 양이고, 풍미는 시료를 8번 저작한 후 느껴지는 풍미의 강도를 말하며, 이상취는 시료를 저작하는 동안 풍미를 제외한 좋지 않은 풍미 혹은 맛을 의미한다. 입안코팅은 시료를 저작하는 동안 입 표면에서 인지되는 지방이나 기름의 양을 말하고, 잔여물의 양은 시료를 삼킨 후 입안에서 인지되는 결체조직 및 잔여물의 양을 의미한다(Figure 2-1과 Table 2-3).

샘플:				날짜:
1. 견고성: 첫 번째 샘플을 씹었을 때 들어가는 힘	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
매우 부드러움	약간 부드러움	보통임	약간 딱딱함	매우 딱딱함
2. 초기연도: 샘플을 3번 씹었을 때 들어가는 힘	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
매우 연함	약간 연함	보통임	약간 질김	매우 질김
3. 다즙성: 샘플을 5번 씹은 후에 방출되는 수분의 양	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
매우 다즙함	약간 다즙함	보통임	약간 건조함	매우 건조함
4. 풍미: 샘플을 8번 씹은 후에 느껴지는 풍미 (씹고 난 후 코로 숨쉬기)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
매우 강함	약간 강함	보통임	약간 약함	매우 약함
5. 이상취: 샘플을 8번 씹은 후나 시료 소화 후 느껴지는 (4) 이외의 풍미 (씹고 난 후 코로 숨쉬기)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
매우 약함	약간 약함	보통임	약간 강함	매우 강함
6. 씹힘성: 일정한 속도로 샘플을 씹었을 때 요구되는 에너지	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
매우 부드럽게 씹힘	약간 부드럽게 씹힘	보통임	약간 씹기 힘들	매우 씹기 힘들
7. 삼킴의 용이도: 샘플을 삼키는데 요구되는 횟수	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
있는 횟수가 매우 적음	있는 횟수가 약간 적음	보통임	있는 횟수가 약간 많음	있는 횟수가 매우 많음
8. 입안코팅: 씹는 과정 중에 입안에서 느껴지는 oil이나 fat의 양	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
매우 적음	약간 적음	보통임	약간 많음	매우 많음
9. 잔여물의 양: 샘플을 삼킨 직후에 입안에 남은 잔여물의 양	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
매우 적음	약간 적음	보통임	약간 많음	매우 많음

Figure 2-1. Sensory evaluation form for cooked pork loin



Table 2-3. Definition for sensory quality parameters used to characterize the pork loin roasts

<b>Parameters</b>	<b>Definition</b>
<b>Softness</b>	Force required to compress (biting across the fibers) the meat sample between the molar teeth: soft to hard
<b>Initial tenderness</b>	Force required to chew 3 times after the initial compression: tender to tough
<b>Chewiness</b>	Energy required at the 9th chew to swallow at a constant rate: tender to chewy
<b>Rate of breakdown</b>	Number of chews required for the sample to disintegrate during the mastication process in preparation for swallowing: fast to slow
<b>Juiciness</b>	Amount of moisture released after 5 chews: not juicy to extremely juicy
<b>Flavor intensity</b>	Intensity of pork flavor after 8 chews: no pork flavor to full pork flavor
<b>Off-flavor</b>	Intensity of any flavor or after-taste perceived as inappropriate to cooked pork: none to strong off-flavor
<b>Mouth coating</b>	Amount of oil/fat left in the mouth surface: none to very much
<b>Amount of perceptible residues</b>	Amount of connective tissue remaining upon complete disintegration of meat sample: none to abundant

Cited from American Meat Science Association guidelines (1995)

#### 다. 인자들과 관능평가결과간의 연관성 분석

Table 2-4에서는 MHC isoform 조성과 관능평가결과와의 연관성을 분석하였다. 관능평가는 가열 전 및 가열 후 특성으로 구분하여 실시하였다. 첫 번째, 가열 전 신선육의 품질 특성은 미국양돈협회(National Pork Product Council, NPPC)에서 마련한 돈육의 육색 및 근내지방도 기준에 의거하여 실험군의 NPPC 육색 점수(NPPC color score)와 근내지방도 점수(NPPC marbling score)를 평가하였다. 두 번째, 가열 후 품질 특성은 앞서 기술한 관능평가 분석방법에 의거하여 평가하였다. NPPC 육색 및 근내지방도 평가는 사후 24시 신선육을 이용하였으며, 평가전 30분간 표면이 공기와 접촉하여 bloom이 이루어 질 수 있도록 하였다. NPPC 육색 점수는 1점에서부터 6점까지 있으며, 점수가 낮을수록 창백한 육색을 나타내며, 점수가 높을수록 어둡고 진한 육색을 나타낸다. NPPC 근내지방도 점수는 1점에서부터 10점까지 있으며, 점수가 낮을수록 근내지방도가 낮고, 점수가 높을수록 근내지방도가 높다. 또한 각 점수는 근내지방 함량과 일치한다(예를 들어 NPPC 근내지방도 점수 1점은 근내지방 함량 1%를 의미하며, NPPC 근내지방도 10점은 근내지방 함량 10%를 의미). 전체 실험군의 MHC isoform 조성과

관능평가항목 간 상관관계 분석결과 모든 항목에서 유의적 상관관계가 나타나지 않았다. 이러한 결과는 품종의 영향을 받은 것으로 판단된다.

Table 2-4. Correlation coefficient ( $r$ ) between myosin heavy chain isoform content and sensory evaluation of cooked pork loin in various pig breeds

	Myosin heavy chain isoform		
	Slow isoform	fast isoform	fast/slow ratio
NPPC score			
Color score	0.00	0.00	-0.13
Marbling score	0.03	-0.03	-0.12
Sensory evaluation			
Softness	-0.05	0.05	0.13
Initial tenderness	-0.07	0.07	0.14
Juiciness	-0.05	0.05	0.12
Flavor	-0.05	0.05	0.06
Off-flavor	-0.10	0.10	0.13
Chewiness	-0.06	0.06	0.12
Rate of breakdown	-0.05	0.05	0.11
Mouth coating	-0.06	0.06	-0.04
Amount of perceptible residues	-0.11	0.11	0.19

Softness: soft to hard, initial tenderness: tender to tough, chewiness: tender to chewy, rate of breakdown: fast to slow, juiciness: not juicy to extremely juicy, flavor intensity: no pork flavor to full pork flavor, off-flavor: none to strong off-flavor, mouth coating: none to very much, and amount of perceptible connective tissue: none to abundant.

전체 실험군에서 MHC isoform 조성과 관능평가결과 간 상관관계가 없는 것으로 나타나, 각 품종별로 나누어 상관분석을 실시하였다. 버크셔의 경우 MHC isoform 조성은 NPPC 육색 및 근내지방도 점수와 상관관계가 없는 것으로 나타났으나, 관능평가항목 중 견고성, 초기연도, 이상취, 잔여물의 양과 유의적 상관관계가 있는 것으로 나타났다(Table 5). MHC slow isoform 조성은 연도와 관련된 견고성( $r = -0.28, P < 0.05$ ) 및 초기연도( $r = -0.28, P < 0.05$ )와 부의 상관관계를 나타내어, slow isoform의 조성이 높을수록 연도가 좋은 것으로 분석되었다. 또한 MHC slow isoform이 증가할수록 이상취는 약하고 잔여물의 양도 적은 것으로 나타났다. 특히 MHC fast/slow ratio의 경우, 견고성, 초기연도, 씹힘성, 삼킴의 용이도 항목 등과 정의 상관관계를 나타내어 연도와 관련이 있는 것으로 나타났으며, 다즙성, 이상취, 잔여물의 양과도 관계가 있었다. 듀록에서는 fast/slow ratio가 이상취와 부의 상관관계( $r = -0.36, P < 0.05$ )가 있는 것으로 나타났고, 다른 항목에서는 유의적 상관관계가 나타나지 않았다. 그러나 버크셔와 듀록은 MHC fast/slow ratio와 이상취간 상관관계가 반대로 나타났다. 랜드레이스에서는 관능평가항목과 유의적 상관관계가 없었으나, fast/slow ratio가 NPPC 육색 점수와 부의 상관관계( $r = -0.33, P < 0.05$ )를 나타내었다. 요크셔에서는 MHC isoform 조성과 관능평가결과 간 유의적 상관관계가 없었다.

본 연구결과를 종합해보면, 버크셔에서 MHC isoform 조성, 특히 MHC fast/slow ratio는 돼지의 배최장근 단면적과 유의적 상관관계를 나타내었고, 연도 및 다즙성을 나타내는 관능평가항목들과 관련이 있는 것으로 나타나 육질 예측인자로서의 실효성이 높을 것으로 기대된다.

Table 2-5. Correlation coefficient ( $r$ ) between myosin heavy chain isoform content and sensory evaluation of cooked pork in Berkshire breed

	Myosin heavy chain isoform		
	Slow isoform	fast isoform	fast/slow ratio
NPPC score			
Color score	0.15	-0.15	-0.16
Marbling score	0.06	-0.06	-0.06
Sensory evaluation			
Softness	-0.28*	0.28*	0.47***
Initial tenderness	-0.28*	0.28*	0.45***
Juiciness	-0.14	0.14	0.28*
Flavor	-0.25	0.25	0.20
Off-flavor	-0.29*	0.29*	0.33*
Chewiness	-0.21	0.21	0.42**
Rate of breakdown	-0.25	0.25	0.47***
Mouth coating	0.05	-0.05	-0.25
Amount of perceptible residues	-0.32*	0.32*	0.46***

Levels of significance: \*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ ; \*\*\*  $P < 0.001$ .

Softness: soft to hard, initial tenderness: tender to tough, chewiness: tender to chewy, rate of breakdown: fast to slow, juiciness: not juicy to extremely juicy, flavor intensity: no pork flavor to full pork flavor, off-flavor: none to strong off-flavor, mouth coating: none to very much, and amount of perceptible connective tissue: none to abundant.

Table 2-6. Correlation coefficient ( $r$ ) between myosin heavy chain isoform content and sensory evaluation of cooked pork in Duroc breed

	Myosin heavy chain isoform		
	Slow isoform	fast isoform	fast/slow ratio
NPPC score			
Color score	-0.14	0.14	0.03
Marbling score	0.18	-0.18	-0.21
Sensory evaluation			
Softness	0.08	-0.08	-0.10
Initial tenderness	0.07	-0.07	-0.14
Juiciness	-0.20	0.20	0.32
Flavor	-0.05	0.05	0.02
Off-flavor	0.15	-0.15	-0.36*
Chewiness	-0.03	0.03	-0.06
Rate of breakdown	0.04	-0.04	-0.18
Mouth coating	0.21	-0.21	-0.28
Amount of perceptible residues	0.12	-0.12	-0.14

Levels of significance: \*  $P < 0.05$ .

Softness: soft to hard, initial tenderness: tender to tough, chewiness: tender to chewy, rate of breakdown: fast to slow, juiciness: not juicy to extremely juicy, flavor intensity: no pork flavor to full pork flavor, off-flavor: none to strong off-flavor, mouth coating: none to very much, and amount of perceptible connective tissue: none to abundant.

Table 2-7. Correlation coefficient ( $r$ ) between myosin heavy chain isoform content and sensory evaluation of cooked pork in Landrace breed

	Myosin heavy chain isoform		
	Slow isoform	fast isoform	fast/slow ratio
NPPC score			
Color score	0.25	-0.25	-0.33*
Marbling score	0.21	-0.21	-0.18
Sensory evaluation			
Softness	-0.07	0.07	0.01
Initial tenderness	-0.12	0.12	0.07
Juiciness	0.07	-0.07	0.04
Flavor	0.25	-0.25	-0.05
Off-flavor	0.12	-0.12	0.00
Chewiness	-0.02	0.02	-0.03
Rate of breakdown	0.04	-0.04	-0.07
Mouth coating	-0.17	0.17	0.00
Amount of perceptible residues	0.10	-0.10	-0.03

Levels of significance: \*  $P < 0.05$ .

Softness: soft to hard, initial tenderness: tender to tough, chewiness: tender to chewy, rate of breakdown: fast to slow, juiciness: not juicy to extremely juicy, flavor intensity: no pork flavor to full pork flavor, off-flavor: none to strong off-flavor, mouth coating: none to very much, and amount of perceptible connective tissue: none to abundant.

Table 2-8. Correlation coefficient ( $r$ ) between myosin heavy chain isoform content and sensory evaluation of cooked pork in Yorkshire breed

	Myosin heavy chain isoform		
	Slow isoform	fast isoform	fast/slow ratio
NPPC score			
Color score	0.02	-0.02	-0.24
Marbling score	0.10	-0.10	-0.15
Sensory evaluation			
Softness	0.21	-0.21	-0.16
Initial tenderness	0.10	-0.10	-0.06
Juiciness	-0.14	0.14	0.23
Flavor	-0.24	0.24	0.15
Off-flavor	-0.18	0.18	0.13
Chewiness	0.06	-0.06	0.01
Rate of breakdown	-0.10	0.10	0.05
Mouth coating	0.17	-0.17	-0.22
Amount of perceptible residues	-0.07	0.07	0.13

Softness: soft to hard, initial tenderness: tender to tough, chewiness: tender to chewy, rate of breakdown: fast to slow, juiciness: not juicy to extremely juicy, flavor intensity: no pork flavor to full pork flavor, off-flavor: none to strong off-flavor, mouth coating: none to very much, and amount of perceptible connective tissue: none to abundant.

### 3. 육질예측기법 실용화 방안 모색

#### 가. 다양한 품종에서의 육질예측기법 적용

제 1 세부과제 및 제 2 세부과제에서 제안된 육질예측기법의 효과를 확인하기 위해 다양한 품종에 적용하여 분석하였다. 품종은 버크셔, 듀록, 랜드레이스, 요크셔이며, 각 품종에서 Myosin heavy chain (MHC) slow isoform의 7% 조성을 기준으로 두 그룹으로 분류하여 비교 분석을 실시하였다.

버크셔의 경우, MHC slow isoform 조성에 의한 효과가 다른 품종에 비해 뚜렷하였다 (Table 3-1). MHC slow isoform의 조성은 4.39%와 9.49%로 뚜렷한 차이를 보였으며, 사후 45분(6.11 vs. 6.23,  $P < 0.05$ ) 및 24시(5.85 vs. 6.00,  $P < 0.05$ ) pH 역시 유의적 차이를 보였다. 여과지흡수량(filter-paper fluid uptake) (23.31 vs. 17.51,  $P < 0.1$ ) 및 육즙손실량(drip loss) (2.32 vs. 1.58,  $P < 0.01$ )도 유의적인 차이를 나타내었다. 제 1 세부과제의 연구결과와 같이 MHC slow isoform의 조성이 7% 초과인 그룹에서 pH<sub>45 min</sub> 및 pH<sub>24 h</sub>가 모두 높았으며, 보수력을 나타내는 여과지흡수량 및 육즙손실량도 적었다. 그러나 도체특성 및 pH와 여과지흡수량, 육즙손실량을 제외한 육질항목에서는 유의적 차이가 없는 것으로 나타났다.

듀록(Table 3-2), 랜드레이스(Table 3-3), 요크셔(Table 3-4) 모두 MHC slow isoform의 유의적 차이는 있었으나, 육질특성에서의 유의적 차이가 나타나지 않았다. 그러나 MHC slow isoform 조성 7% 초과 그룹에서 여과지흡수량, 육즙손실량의 수치가 낮게 나와 앞선 결과의 경향을 확인할 수 있었다. 랜드레이스에서는 등지방 두께(backfat thickness)의 유의적 차이가 나타났으며, 7% 초과 그룹의 등지방 두께가 더 두꺼운 것으로 나타났다.



Table 3-1. Comparison of carcass traits and pork quality traits between two groups categorized by 7% of myosin heavy chain slow isoform composition in Berkshire pigs

	7% < (n=89)	> 7% (n=38)	Level of significance
MHC slow isoform composition (%)	4.39 <sup>b</sup> (0.20)	9.49 <sup>a</sup> (0.31)	***
<i>Carcass traits</i>			
Carcass weight (kg)	84.24 (0.59)	84.71 (0.90)	NS
Backfat Thickness (mm)	23.47 (0.49)	24.00 (0.75)	NS
Loin eye area (cm <sup>2</sup> )	47.73 (0.96)	46.23 (1.41)	NS
<i>Pork quality traits</i>			
Muscle pH <sub>45 min</sub>	6.11 <sup>b</sup> (0.03)	6.23 <sup>a</sup> (0.04)	*
Muscle pH <sub>24 h</sub>	5.85 <sup>b</sup> (0.03)	6.00 <sup>a</sup> (0.04)	**
Lightness	43.80 (0.36)	44.01 (0.56)	NS
Redness	7.09 (0.11)	7.18 (0.17)	NS
Yellowness	2.06 (0.07)	2.28 (0.11)	NS
Filter-paper fluid uptake (mg)	23.31 <sup>a</sup> (1.82)	17.51 <sup>b</sup> (2.79)	†
Drip loss (%)	2.32 <sup>a</sup> (0.15)	1.58 <sup>b</sup> (0.23)	**
Cooking loss (%)	26.39 (0.52)	25.75 (0.80)	NS
Shear force (N)	45.64 (1.27)	46.46 (1.95)	NS
NPPC color score	3.12 (0.07)	3.20 (0.10)	NS
NPPC marbling score	2.31 (0.07)	2.36 (0.11)	NS

Levels of significance: NS, not significant; †  $P < 0.1$ ; \*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ ; \*\*\*  $P < 0.001$ .

Table 3-2. Comparison of carcass traits and pork quality traits between two groups categorized by 7% of myosin heavy chain slow isoform composition in Duroc pigs

	7% < (n=22)	> 7% (n=10)	Level of significance
MHC slow isoform composition (%)	4.16 <sup>b</sup> (0.34)	8.47 <sup>a</sup> (0.50)	***
<i>Carcass traits</i>			
Carcass weight (kg)	87.68 (1.00)	87.30 (1.48)	NS
Backfat Thickness (mm)	23.27 (0.48)	22.30 (0.71)	NS
Loin eye area (cm <sup>2</sup> )	41.37 (1.28)	40.94 (1.89)	NS
<i>Pork quality traits</i>			
Muscle pH <sub>45 min</sub>	6.27 (0.05)	6.42 (0.08)	NS
Muscle pH <sub>24 h</sub>	5.61 (0.01)	5.57 (0.02)	NS
Lightness	49.10 (0.39)	49.29 (0.58)	NS
Redness	5.92 (0.17)	6.03 (0.26)	NS
Yellowness	2.82 (0.14)	3.07 (0.21)	NS
Filter-paper fluid uptake (mg)	33.45 (2.07)	31.93 (3.08)	NS
Drip loss (%)	3.60 (0.31)	3.16 (0.45)	NS
Cooking loss (%)	30.03 (0.97)	28.46 (1.48)	NS
Shear force (N)	59.13 (3.67)	58.18 (5.45)	NS
NPPC color score	2.86 (0.09)	2.64 (0.13)	NS
NPPC marbling score	2.78 (0.15)	3.00 (0.22)	NS

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

Table 3-3. Comparison of carcass traits and pork quality traits between two groups categorized by 7% of myosin heavy chain slow isoform composition in Landrace pigs

	7% < (n=27)	> 7% (n=21)	Level of significance
MHC slow isoform composition (%)	4.96 <sup>b</sup> (0.35)	9.35 <sup>a</sup> (0.40)	***
<i>Carcass traits</i>			
Carcass weight (kg)	88.26 (2.29)	93.05 (2.59)	NS
Backfat Thickness (mm)	19.44 <sup>b</sup> (0.82)	22.33 <sup>a</sup> (0.93)	*
Loin eye area (cm <sup>2</sup> )	57.57 (2.52)	60.17 (3.84)	NS
<i>Pork quality traits</i>			
Muscle pH <sub>45 min</sub>	6.19 (0.05)	6.16 (0.06)	NS
Muscle pH <sub>24 h</sub>	5.58 (0.02)	5.60 (0.02)	NS
Lightness	48.29 (0.43)	47.76 (0.49)	NS
Redness	6.65 (0.23)	6.48 (0.26)	NS
Yellowness	2.33 (0.14)	2.26 (0.16)	NS
Filter-paper fluid uptake (mg)	64.80 (5.81)	52.38 (6.58)	NS
Drip loss (%)	4.20 (0.41)	4.89 (0.46)	NS
Cooking loss (%)	35.30 (0.34)	36.02 (0.39)	NS
Shear force (N)	62.58 (3.12)	65.50 (3.54)	NS
NPPC color score	1.94 (0.12)	2.18 (0.13)	NS
NPPC marbling score	1.67 (0.13)	1.66 (0.15)	NS

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

Table 3-4. Comparison of carcass traits and pork quality traits between two groups categorized by 7% of myosin heavy chain slow isoform composition in Yorkshire pigs

	7% < (n=29)	> 7% (n=8)	Level of significance
MHC slow isoform composition (%)	5.03 <sup>b</sup> (0.22)	8.38 <sup>a</sup> (0.43)	***
<i>Carcass traits</i>			
Carcass weight (kg)	85.59 (1.16)	86.25 (2.22)	NS
Backfat Thickness (mm)	24.69 (1.07)	24.75 (2.05)	NS
Loin eye area (cm <sup>2</sup> )	40.41 (1.92)	40.20 (3.65)	NS
<i>Pork quality traits</i>			
Muscle pH <sub>45 min</sub>	6.15 (0.06)	6.21 (0.12)	NS
Muscle pH <sub>24 h</sub>	5.69 (0.03)	5.57 (0.07)	NS
Lightness	45.42 (0.46)	45.37 (0.88)	NS
Redness	7.10 (0.23)	7.32 (0.44)	NS
Yellowness	2.46 (0.16)	2.67 (0.30)	NS
Filter-paper fluid uptake (mg)	27.27 (2.44)	22.16 (4.64)	NS
Drip loss (%)	3.20 (0.32)	2.80 (0.61)	NS
Cooking loss (%)	31.12 (0.63)	31.55 (1.21)	NS
Shear force (N)	67.00 (2.41)	65.84 (4.60)	NS
NPPC color score	2.61 (0.10)	2.79 (0.20)	NS
NPPC marbling score	1.70 (0.09)	1.65 (0.18)	NS

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

다음으로 각 품종에서 MHC slow isoform의 조성에 따른 육질등급 결과를 살펴보기 위해, MHC slow isoform의 7% 조성을 기준으로 두 그룹으로 분류한 후, 각 그룹에서의 육질등급 출현율을 비교해 보았다. 육질등급은 이화학적 특성을 기준으로 하며, 학계에서 널리 쓰이는 육질등급과 현재 축산물등급판정소에서 시행하고 있는 냉도체 육질등급, 두 가지를 이용하였다.

버크셔의 경우, 이화학적 특성을 기준으로 한 육질등급에서 MHC slow isoform 조성 7% 미만 그룹은 dark, firm, dry (DFD) 51.22%, reddish-pink, firm, non-exudative (RFN) 43.9%, reddish-pink, soft, exudative (RSE) 2.44%, pale, soft, exudative (PSE) 2.44%로 나타났고, 7% 초과 그룹에서는 DFD 68.75%, RFN 31.25%, 이상돈육으로 판단되는 RSE 및 PSE는 나타나지 않았다(Table 3-5). 축산물등급판정소에서 판정 육질등급에서도 7% 미만 그룹에서는 1+등급은 나타나지 않았고, 1등급 77.53%, 2등급 22.47%로 나타났지만, 7% 초과 그룹에서는 1+등급 2.63%, 1등급 71.05%, 2등급 26.32%로 나타났다(Table 3-6). 1+등급에 해당되는 개체수가 1두이기 때문에 단정짓기는 어렵지만, 등급에 따른 출현율을 살펴본다면 MHC slow isoform 조성이 높은 그룹에서 상위 육질등급이 출현하는 경향을 확인할 수 있다.

듀록의 경우도 버크셔와 유사하였으며, MHC slow isoform 조성이 7% 초과인 그룹에서는 이상돈육인 RSE, PSE가 출현하지 않았으며(Table 3-7), 1+등급의 출현율도 30%로 나타났다(Table 3-8). MHC slow isoform 조성 7% 미만 그룹에서는 PSE의 출현은 없었으나, RSE (7.69%)가 나타났으며, 2등급의 출현(4.55%)도 있는 것으로 나타났다.

랜드레이스의 경우, DFD 돈육의 출현은 없어지만, MHC slow isoform 조성 7% 초과 그룹에서 PSE 돈육의 출현도 없었다(Table 3-9). 그러나 MHC slow isoform 조성 7% 미만 그룹에서는 RSE (10.53%) 및 PSE (10.53%)가 나타났다. 축산물품질평가원의 냉도체 육질등급에서도 MHC slow isoform 조성 7% 초과 그룹에서는 1+등급의 출현(14.29%)이 있었으나, 7% 미만 그룹에서는 1+등급의 출현이 없었다(Table 3-10).

요크셔의 경우에는 다소 다른 경향을 나타냈다(Table 3-11). MHC slow isoform 조성 7% 미만 그룹에서 DFD 돈육(15.79%)이 나타났으나, 7% 초과 그룹에서는 DFD가 출현하지 않았다. 그러나 7% 초과 그룹에서는 RSE 및 PSE의 출현도 없었다. MHC slow isoform 조성에 상관없이 1+등급의 출현이 없었지만, MHC slow isoform 조성 7% 초과 그룹에서 2등급 출현율이 7% 미만 그룹에 비해 다소 낮은 것으로 나타났다(Table 3-12).

결론적으로 품종에 따라 MHC slow isoform 조성에 따른 육질특성과 육질등급에서의 경향성에 차이가 있었으나, 대체적으로 MHC slow isoform의 조성이 높은 그룹에서 사후 45분 및 24시 pH가 높은 경향을 나타내었고, 육질항목 중 보수력 항목인 여과지흡수량 및 육집손실량이 적은 것으로 나타났으며, DFD나 1+등급의 출현율이 높았다.

Table 3-5. Frequency and myosin heavy chain slow isoform composition in pork quality classes in Berkshire pigs

	7% < (n=41)	> 7% (n=16)
DFD	21 (51.22%)	11 (68.75%)
RFN	18 (43.9%)	5 (31.25%)
RSE	1 (2.44%)	0 (0.00%)
PSE	1 (2.44%)	0 (0.00%)

Table 3-6. Frequency and myosin heavy chain slow isoform composition in quality grades of cold pork carcass by Animal products grading service in Berkshire pigs

	7% < (n=89)	> 7% (n=38)
1+	0 (0.00%)	1 (2.63%)
1	69 (77.53%)	27 (71.05%)
2	20 (22.47%)	10 (26.32%)

Table 3-7. Frequency and myosin heavy chain slow isoform composition in pork quality classes in Duroc pigs

	7% < (n=13)	> 7% (n=5)
DFD	0 (0.00%)	0 (0.00%)
RFN	12 (92.31%)	5 (100%)
RSE	1 (7.69%)	0 (0.00%)
PSE	0 (0.00%)	0 (0.00%)

Table 3-8. Frequency and myosin heavy chain slow isoform composition in quality grades of cold pork carcass by Animal products grading service in Duroc pigs

	7% < (n=22)	> 7% (n=10)
1+	1 (4.55%)	3 (30.0%)
1	20 (90.91%)	7 (70.0%)
2	1 (4.55%)	0 (0.00%)

Table 3-9. Frequency and myosin heavy chain slow isoform composition in pork quality classes in Landrace pigs

	7% < (n=19)	> 7% (n=11)
DFD	0 (0.00%)	0 (0.00%)
RFN	15 (78.95%)	8 (72.73%)
RSE	2 (10.53%)	3 (27.27%)
PSE	2 (10.53%)	0 (0.00%)

Table 3-10. Frequency and myosin heavy chain slow isoform composition in quality grades of cold pork carcass by Animal products grading service in Landrace pigs

	7% < (n=27)	> 7% (n=21)
1+	0 (0.00%)	3 (14.29%)
1	21 (77.78%)	14 (66.67%)
2	6 (22.22%)	4 (19.05%)



Table 3-11. Frequency and myosin heavy chain slow isoform composition in pork quality classes in Yorkshire pigs

	7% < (n=19)	> 7% (n=5)
DFD	3 15.79	0 (0.00%)
RFN	13 68.42	5 100
RSE	2 10.53	0 (0.00%)
PSE	1 5.26	0 (0.00%)

Table 3-12. Frequency and myosin heavy chain slow isoform composition in quality grades of cold pork carcass by Animal products grading service in Yorkshire pigs

	7% < (n=29)	> 7% (n=8)
1+	0 (0.00%)	0 (0.00%)
1	21 (72.41%)	6 (75.0%)
2	8 (27.59%)	2 (25.0%)

## 나. 현장적용시험을 통한 육질예측기법의 실효성 검증

육질예측기법의 실효성을 검증하기 위해 현장적용시험을 실시하였다. 국내에서 가장 많이 판매되는 삼원교잡종(LYD) 30두를 새로운 실험군으로 조성하고, 실험군의 생체 및 도체 배최장근에서 시료를 채취하여 MHC slow isoform의 조성을 분석하였다. 이후 사후 돈육의 육색, 보수력, 연도와 같은 육질특성 및 NPPC color score, NPPC marbling score 등 관능평가를 실시하였다. 또한 현행 육질등급판정결과와 비교 분석을 통해 육질예측기법의 실효성을 검증하였다. 다만 3차년 연구기간동안 국내에 구제역이 발생하여 실험군의 확보 및 실험이 이루어지기 어려웠고, 제한적으로 이루어져 많은 수의 실험군을 확보하지 못 하였다.

### (1) 생체 및 도체의 MHC slow isoform 조성 비교 분석

첫 번째로 본 연구의 가정인 MHC slow isoform 조성은 생체 및 도체에서 차이가 없다는 것을 다시 검증하기 위해 생체 및 도체의 배최장근 동일부위에서 시료를 채취하여 MHC 조성을 분석하였다. 생체 및 도체의 MHC를 slow와 fast isoform으로 분류하여 조성을 분석하고, 생체와 도체의 조성 차이를 구하여 paired t-test를 실시하였다. 통계분석의 결과는 Table 3-13과 같다. Paired t-test의 검정 통계량인 스튜던트 t의 유의확률이 0.2034로 유의수준 0.05보다 크므로 귀무가설인 “생체와 도체의 MHC isoform 조성의 차이가 없다.”는 귀무가설을 기각하지 못한다. 따라서 귀무가설을 채택한다. 즉, MHC isoform 조성의 생체와 도체 간 차이는 없다.

### (2) 삼원교잡종 선발축군의 육질 및 관능특성 모니터링

구성된 삼원교잡종 중 MHC slow isoform 조성이 7% 초과인 개체를 선별하여 육질 및 관능특성 평가를 실시하였다. 30두의 삼원교잡종 중 MHC slow isoform의 조성이 7%가 넘는 개체는 5두로 였으며, 이 5두에 대한 육질측정 및 관능평가 결과는 Table 3-14에 나타났다.

육질특성의 경우, 사후 45분 pH가 매우 높아 사후대사가 정상적인 속도로 진행되었음을 나타내었고, 사후 24시 pH도 정상 범위에 속하였으며, 명도도 정상을 나타내었다. 보수력을 나타내는 여과지흡수량, 육즙손실량, 가열감량(cooking loss)은 매우 낮은 수치를 나타내었다. 여과지흡수량의 경우, 10.04 mg을 육즙손실량은 1.38%, 가열감량도 18.74%를 나타내 보수력이 매우 높은 것으로 나타났다. 이는 제 1 세부과제 및 앞선 결과에서 MHC slow isoform의 조성이 육질항목 중 사후 24시 pH 및 보수력에 가장 영향이 크며, slow isoform의 조성이 높을수록 pH<sub>24 h</sub>가 높고 여과지흡수량, 육즙손실량과 같은 보수력 항목의 수치가 낮다는 결과와 일치하였다.

### (3) 삼원교잡종 육질등급판정과의 연관성 분석

삼원교잡종 중 MHC slow isoform의 조성이 7% 초과 그룹의 냉도체 육질등급판정 분포를 분석하였다(Table 3-15). 예상과는 달리 1+등급이 나타나지 않았으며, 2등급의 출현도 있었다. 그러나 개체수가 5두로 MHC slow isoform의 육질예측인자로서 정확도 및 실효성을 단정짓기

어렵다고 판단된다.

Table 3-13. Results of paired t-test for differences of MHC isoforms composition between antemortem and postmortem with SAS software

검정	위치모수    검정: $\mu_0=0$		-----p-값-----	
	--통계량---			
스튜던트의 t	t	1.518852	Pr >  t	0.2034
부호	M	1.5	Pr >=  M	0.3750
부호 순위	S	5.5	Pr >=  S	0.1875

Table 3-14. Pork quality traits in the group selected by more than 7% of myosin heavy chain slow isoform composition in LYD pigs

	> 7% (n=5)
MHC slow isoform composition (%)	10.12 (1.13)
<i>Pork quality traits</i>	
Muscle pH <sub>45 min</sub>	6.43 (0.08)
Muscle pH <sub>24 h</sub>	5.73 (0.03)
Lightness	47.56 (0.64)
Redness	6.15 (0.36)
Yellowness	2.00 (0.23)
Filter-paper fluid uptake (mg)	10.04 (2.66)
Drip loss (%)	1.38 (0.17)
Cooking loss (%)	18.74 (1.11)
Shear force (N)	39.56 (5.84)
NPPC color score	2.60 (0.24)
NPPC marbling score	2.20 (0.25)

Table 3-15. Frequency and myosin heavy chain slow isoform composition in quality grades of cold pork carcass by Animal products grading service in LYD pigs

	> 7% (n=5)
1+	0 (0.00%)
1	4 (80.0%)
2	1 (20.0%)

#### 다. 육질예측기법의 상품화 방안 제시

본 연구를 통해 MHC isoforms를 분석하여 slow isoform의 조성으로 돈육의 최종 육질을 예측할 수 있음을 밝혔다. 개발된 육질예측기법의 상품화를 위해 본 연구팀에서는 생체에서 MHC isoform 분석을 위한 시료채취 매뉴얼을 만들었다.

시료채취는 분석을 위한 가장 선행 작업이며, 시료채취가 정확하게 이루어지지 않을 경우, 분석에 의한 결과 자체를 신뢰할 수 없다. 또한 동물의 생체에서 시료를 채취하는 것은 사후 도체에서 시료를 채취하는 것과는 다르며, 그 채취 또한 어렵다. 생체에서는 시료 채취할 대상이 움직일 수 있으며, 피부 및 지방에 의해 둘러싸여 시료채취 부위를 정확하게 파악하기가 어려워 동일 부위에서 시료 채취가 어렵다. 국내에서는 동물의 생체에서 시료를 채취하는, 특히 근육 조직을 채취하는 연구는 많이 이루어지지 않아, 동물의 생체에서 근육 조직을 채취하는 표준화된 작업 매뉴얼이 필요하다. 그러므로 본 연구에서는 동물의 생체에서 근육 조직을 채취하는 표준화된 작업 매뉴얼을 만들어 상품화하고자 한다.

##### (1) 생체시료 채취 매뉴얼의 구성

본 연구에서 개발한 생체시료 채취 매뉴얼은 크게 세 부분으로 구성되어 있다. 첫 번째는 매뉴얼에 대한 소개로 매뉴얼의 목적 및 내용에 대한 간략한 소개로 이루어져 있다. 두 번째는 생체시료 채취를 위해 준비해야 할 사항, 동물 및 물품 등이다. 세 번째는 실제 시료채취 과정과 과정 중 주의해야 할 사항에 대한 설명으로 이루어져 있다.

##### (2) 시료 채취 전 준비사항

시료채취를 위해 실험실 및 현장에서 준비해야 할 사항에 대해 설명하였다.

첫 번째로 시료채취를 위한 돼지와 관계자들과의 협의가 이루어져야 한다. 동물은 도축 전

의 살아있는 돼지를 이용하며, 농장 및 채취를 위한 기관의 관계자들과 협의를 통해 시료채취에 대한 허가를 받는다. 생체시료 채취를 위한 매뉴얼이므로, 돼지의 일령과 같은 요인에 관계없이 살아있는 돼지에서 모두 적용이 가능하다.

두 번째는 시료채취를 위한 실험실에서의 물품 준비과정이다. 실험실에서 준비해야 할 물품은 시료채취를 위한 coaxial needle과 core needle을 준비한다. Coaxial needle은 시료채취 전 채취부위에 삽입하는 needle로, 동일한 부위에서 여러 번 채취가 가능하도록 설계된 needle이다. Coaxial needle은 두 개의 부분으로 구성되어 있으며, 삽입을 위한 needle부분과 core needle이 들어갈 수 있는 방향 역할을 하는 부분이다(Figure 3-1). 처음에는 두 부분을 합친 후에 삽입을 하고, needle 부분을 돌려서 빼내면 된다.

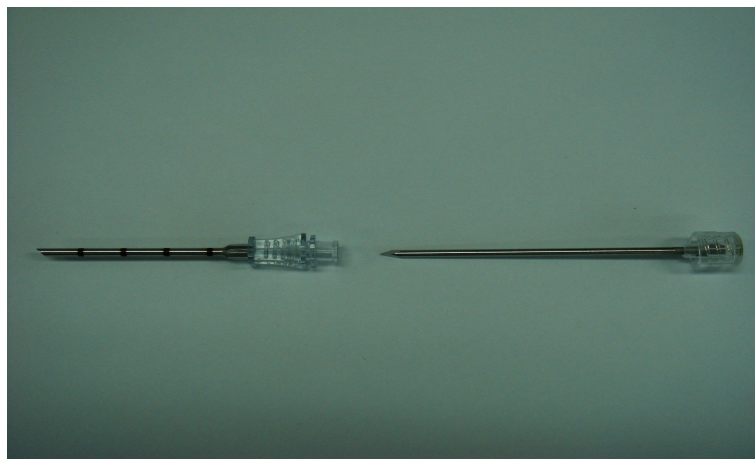


Figure 3-1. Coaxial needle

Core needle은 coaxial needle 부분을 통해 생체에 직접 삽입하여 시료를 채취하는 물품이다 (Figure 3-2). Core needle의 손잡이에 있는 버튼은 2단계로 이루어진 버튼과 시료채취 버튼으로 이루어져 있다. 2단계로 이루어진 버튼의 1단계는 시료채취 부위를 여는 동작이며, 2단계는 시료채취를 위한 준비 동작이다. 2단계로 맞추어 놓고, 시료채취 버튼을 누르면 needle이 빠르게 나가면서 시료를 채취하는 방식이다. 시료채취 후 1단계로 버튼을 맞추면 시료채취 부위가 열리면서 채취된 시료를 얻을 수 있다.

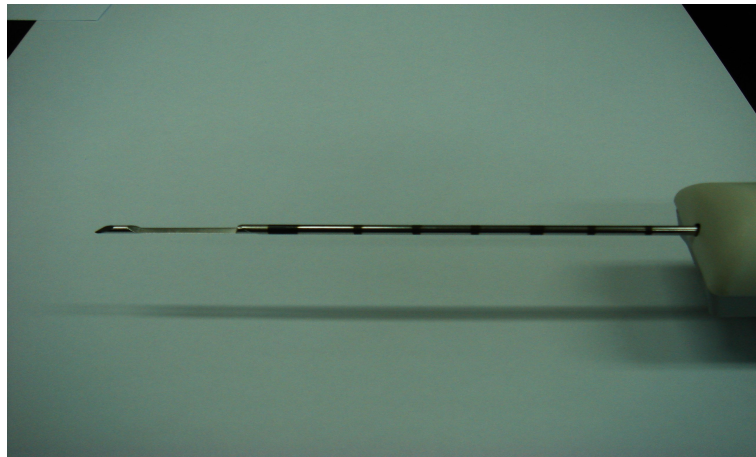
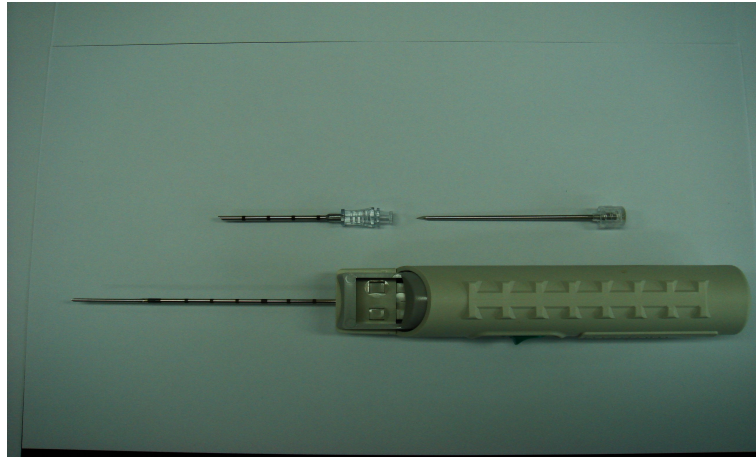


Figure 3-2. Core needle

Coaxial needle과 core needle 외에 시료의 변성을 최소화하기 위해 급속냉각과 보관을 위한 액체질소 및 비커, 채취된 시료를 다루기 위한 핀셋, 동물의 시료채취 부위의 소독을 위한 알코올 등을 준비한다.

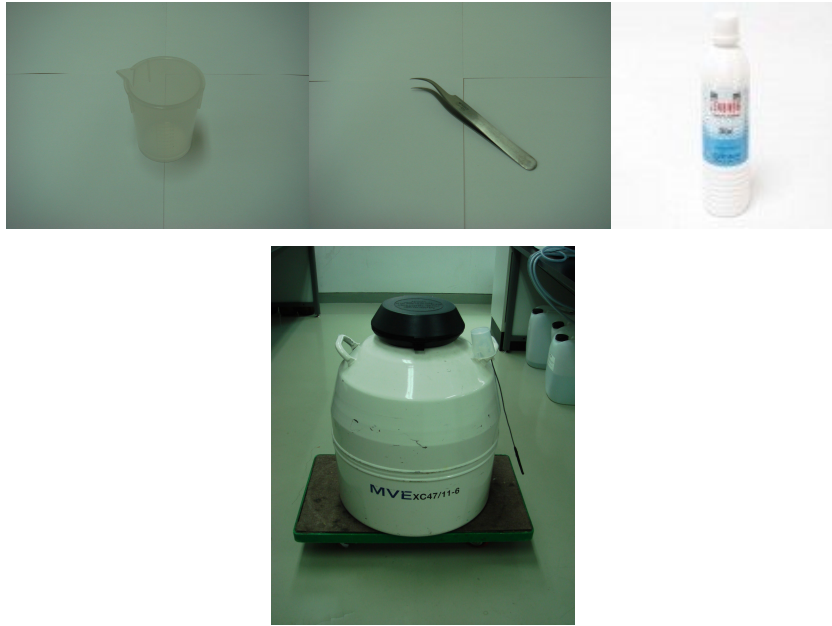


Figure 3-3. Beaker, pincette, alcohol and liquid nitrogen storage tank

세 번째는 현장에서 채취 전 준비하고 있어야 할 물품으로 철골구조물이다. 생체에서의 시료채취는 채취 대상이 움직일 수 있기 때문에 움직임을 최소화 할 수 있도록 철골 안에서 채취를 실시하는 것을 권장한다. 철골구조는 돼지 한마리가 들어가고, 자유롭게 움직이지 못할 정도의 크기여야 하며, 약 700 x 2200 (mm) 정도의 크기가 적당하다.



Figure 3-4. Steel cage

### (3) 생체시료 채취 과정 및 주의사항

생체시료 채취 과정은 다음과 같이 6단계로 이루어진다.

- 돼지의 고정
- 시료 채취 위치 선정
- Coaxial needle 삽입
- Core needle 삽입 후 시료 채취
- 채취한 시료의 급속냉각
- 시료 채취 부위의 소독

#### (가) 돼지의 고정

생체시료 채취 시, 돼지의 움직임으로 시료 채취가 원활하지 않을 수 있다. 따라서 출골에 돼지를 넣어 돼지가 가능한 움직이지 못 하도록 돼지를 고정시킨다. 철골은 앞서 설명한 것처럼 약 700 x 2200 (mm) 크기이며, 돼지 한 마리가 들어가서 자유롭게 움직이지 못 할 정도의 크기이다.

#### (나) 시료 채취 위치 선정

채취하고자 하는 부위의 시료를 정확하게 하기 위해 채취 전 위치를 선정한다. 본 연구의 경우, 돼지의 배최장근 시료를 채취하기 위한 것이었으므로, 돼지의 척추와 앞다리를 척추방향으로 일직선으로 올렸을 때 만나는 부위에서 오른쪽 대각선 아래 방향으로 약 2 ~ 4 cm 되는 곳을 시료 채취 위치로 선정하였다. 선정한 위치의 확실한 표시를 위해 락카나 다른 물품을 이용하여 표시하는 방법도 권장된다.

#### (다) Coaxial needle의 삽입

선정된 부위의 동일한 위치에서 시료를 채취하고, core needle에 의한 시료 채취를 원활하게 하기 위해 coaxial needle을 삽입한다. Coaxial needle은 core needle의 지지대 역할을 하며, core needle을 동일한 위치에 삽입될 수 있도록 도와주는 역할을 한다. Coaxial needle 삽입 후, needle 부분을 돌려서 분리한다. Coaxial needle이 삽입된 상태에서 돼지가 움직일 경우, coaxial needle이 휘어지거나 부러질 수 있으므로, 삽입으로 인해 돼지가 스트레스를 받거나 놀라서 움직이지 않도록 신속하게 삽입한다.

#### (라) Core needle 삽입 후 시료 채취

Coaxial needle에 core needle을 삽입한 후, 시료를 채취한다. 한번 시료 채취 시 약 10~20 mg의 시료가 채취되므로, 분석에 필요한 양을 미리 알고 필요한 양을 채취하도록 한다. 본 연구에서는 시료의 전처리 과정에서의 손실을 감안하여 약 5회 정도의 채취를 시행하였다.



### (마) 채취한 시료의 급속냉각

채취한 시료의 변성을 막고, 보관기간 동안의 변성을 최소화하기 위해 액체질소를 이용하여 급속냉각 시키고, 액체질소에 넣어 보관한다. 또한 시료를 다룰 때에는 핀셋을 이용하여 손에 의한 변성 및 오염을 최소화하도록 한다.

### (바) 시료 채취 부위의 소독

시료를 채취하고 난 후, 시료 채취 부위의 지혈 및 감염을 방지하기 위해 알코올을 이용하여 소독한다.

위의 내용을 토대로 “육질예측을 위한 돼지 생체시료 채취 매뉴얼”을 개발하였고, 매뉴얼은 다음과 같다.

육질예측을 위한

# 돼지 생체시료 채취 매뉴얼



고려대학교  
KOREA UNIVERSITY

 kogenebiotech



농림수산식품기술기획평가원  
Korea Institute of Planning & Evaluation for Technology in Food, Agriculture, Forestry & Fisheries

# 목 차

---

## 1. 매뉴얼 소개

▪ 목적	.....	3
▪ 내용	.....	3

## 2. 시료 채취 전 준비사항

▪ 동물	.....	4
▪ 실험실에서의 준비사항	.....	5
▪ 현장에서의 준비사항	.....	6

## 3. 생체시료 채취

▪ 돼지의 고정	.....	7
▪ 시료 채취 위치 선정	.....	8
▪ Coaxial needle 삽입	.....	9
▪ Core needle 삽입 후 시료 채취	.....	10
▪ 채취한 시료의 급속냉각	.....	11
▪ 시료 채취 부위의 소독	.....	13

# 매뉴얼 소개

---

## ● 목적

본 매뉴얼은 “근섬유단백질을 이용한 돈육질 예측”을 위한 연구의 일환으로 제작되었다. 육질예측을 위한 근섬유단백질 특성 분석을 위해 정밀하고, 정확한 생체시료 채취가 필요하다. 따라서 본 매뉴얼의 목적은 과정의 표준화 및 작업의 구체화를 통해 체계적이며 정확한 생체시료 채취로 육질예측기법의 실효성을 높이는 것이다.

## ● 내용

본 매뉴얼은 다음의 내용을 포함하고 있다.

### ① 시료 채취 전 준비사항

- 동물 및 관계자와의 협의
- 시료채취를 위한 실험실 및 현장에서의 준비사항

### ② 생체시료 채취

- 생체시료 채취 과정 및 각 과정에서의 주의사항

# 시료 채취 전 준비사항

---

- 동물

- 축종: 돼지 (일령에 관계없이 모든 생체에서 채취 가능)
- 시료 채취를 위해 농장 및 관련기관의 관계자들과의 협의

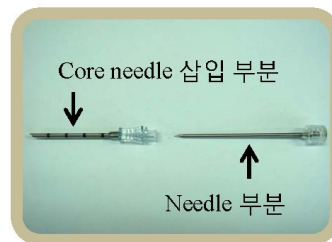
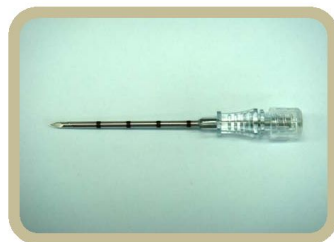


※ 반드시 관계자들과 협의를 통해 시료 채취에 대한 허가를 받아야 함

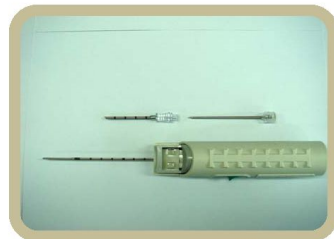
# 시료 채취 전 준비사항

## 1) 실험실

- Biopsy needle

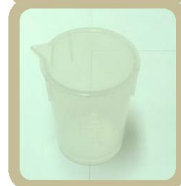


Coaxial needle



Core needle

- 액체질소, 핀셋, 비커, 소독용 알코올



# 시료 채취 전 준비사항

## 2) 현장

- 철골구조물
- 크기: 700 x 2200 (mm)

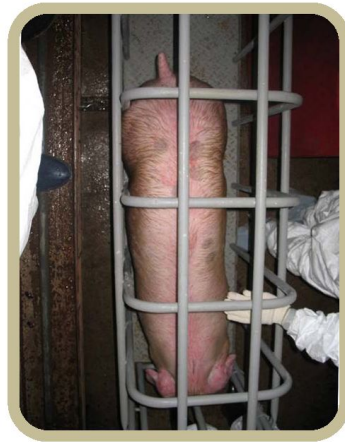


※ 생체시료 채취 시 돼지의 움직임을 최소화하기 위한 구조물

# 생체시료 채취

## ● 돼지의 고정

- 돼지를 철골에 넣어 돼지의 움직임을 최소화  
→ Needle의 삽입을 용이하게 함



- ※ 돼지를 철골에 넣을 때 강한 물리적 충격에 의한 스트레스 유발을 최소화 하도록 주의

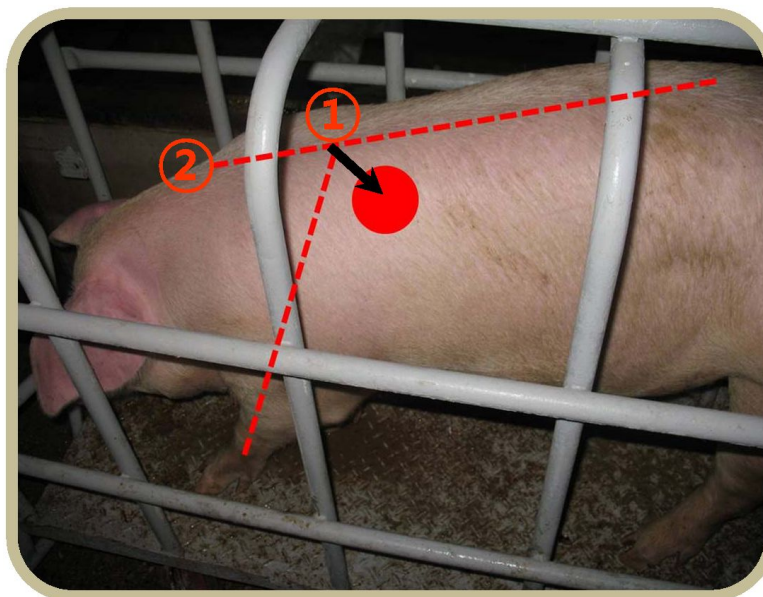
- ※ 돼지의 움직임을 최소화하여 needle 삽입 시 상처가 커지지 않도록 함



# 생체시료 채취

## ● 시료 채취 위치 선정

- 돼지의 배최장근 (*longissimus dorsi* muscle) 중 일정한 부위를 채취하기 위해 채취 부위를 선정
- 돼지머리에서 척추를 기준으로 좌/우측을 구분하여 동일한 부분에서 채취할 수 있도록 함  
(도체 육질등급판정을 위해 좌측에서 채취하기를 권장)
- 앞다리 부위를 직선으로 올린 선(①)과 척추의 직선(②)이 만나는 지점에서 오른쪽 대각선 아래 방향으로 2~4cm 지점



※ 락카 및 다른 물품을 이용하여 표시할 것을 권장

# 생체시료 채취

## ● Coaxial needle 삽입

- 동일 위치의 시료를 반복적으로 채취하기 위해 coaxial needle을 삽입



- 삽입 후, needle 부분을 분리함



※ Needle을 신속하게 삽입

※ Needle 삽입 후 돼지가 격렬하게 움직일 경우,  
coaxial needle이 휘거나 부러질 수 있음

# 생체시료 채취

## ● Core needle 삽입 후 시료 채취

- 삽입된 coaxial needle에 core needle을 삽입 후,  
약 5회 반복 채취 (한번 채취 시 약 10~20 mg을 채취 가능)



- Core needle로 시료 채취 시, needle의 움직임을 최소화 해야  
정확한 시료 채취 가능

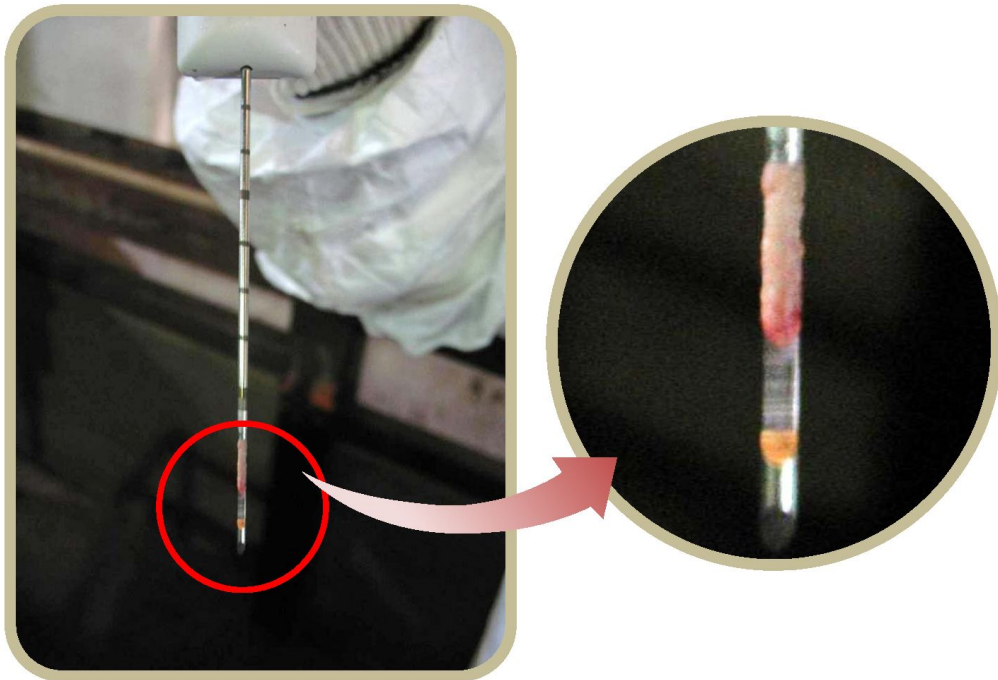


※ Needle 삽입에 의한 스트레스 유발 최소화 및 움직임 예방을 위해  
core needle 삽입부터 채취까지 신속하게 진행

# 생체시료 채취

- 채취한 시료의 급속냉각

- 채취한 시료의 변성을 막고, 보관기관에 동안의 변성을 최소화 하기 위해 핀셋을 이용하여 액체질소에 급속냉각 후 보관



# 생체시료 채취



12

# 생체시료 채취

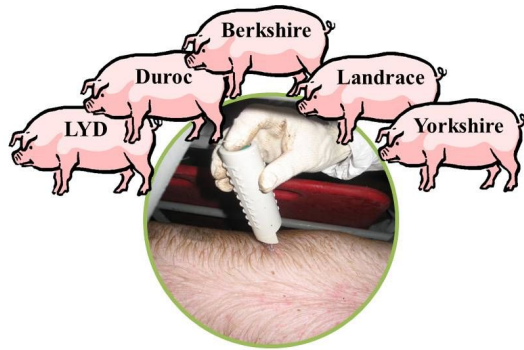
---

- 시료 채취 부위의 소독

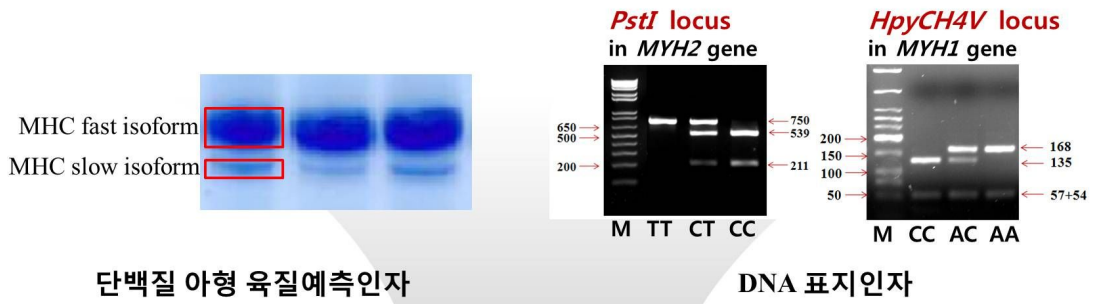
- 시료 채취 부위를 압박하여 지혈
- 채취 부위의 감염을 방지하기 위해 알코올로 소독



협동연구과제 “육질예측기법 실용화”의 연구결과를 요약하면, 육질예측을 위한 인자설정 및 설정된 육질예측인자의 실효성을 검증하기 위해 버크셔, 듀록, 랜드레이스, 요크셔, 삼원교잡종 등 다양한 품종으로 구성된 실험군을 조성하였다. 이후 제 1 세부과제 및 제 2 세부과제에서 제시한 육질예측인자를 실험군에 적용하여 육질예측인자의 효과를 분석하였으며, 육질 및 관능 특성 평가도 실시하였다. 다양한 품종에 육질예측인자를 적용하여, 각 품종 내에서 MHC slow isoform 조성 7%를 기준으로 두 그룹으로 분류한 후 비교 분석을 한 결과, 버크셔 및 삼원교잡종 품종에서 육질예측인자에 의한 효과가 다른 품종에 비해 뚜렷하였으며, 사후 45분 및 24시 pH와 여과지흡수량, 육즙손실량에 영향을 주었다. 또한 버크셔 품종은 MHC slow isoform의 조성이 관능특성과도 관계있는 것으로 나타났다. 모든 품종의 MHC slow isoform 조성 7% 초과 그룹이 이상돈육인 RSE, PSE의 출현이 없거나 출현율이 낮았고, 1+등급도 듀록을 제외하고 7% 초과 그룹에서만 출현하였다. 또한 새로운 삼원교잡종에 육질예측인자를 적용하였을 경우, MHC slow isoform 조성 7% 초과 그룹의 사후 45분 및 24시 pH가 높고, 여과지흡수량 및 육즙손실량, 가열감량의 수치가 매우 낮아 보수력이 높은 것으로 나타났다. 따라서 MHC slow isoform의 조성은 육질예측인자로서 실효성이 있으며, 특히 버크셔 및 삼원교잡종에서 그 효과가 더 뚜렷하다. 이를 상품화하기 위한 방안으로 본 연구에서 육질예측을 위한 생체시료 채취 매뉴얼을 작성하였으며, 생체시료 채취 과정의 표준화 및 작업의 구체화를 통해 체계적이며 정확한 시료 채취로 육질예측의 실효성을 높일 것이라 판단된다.

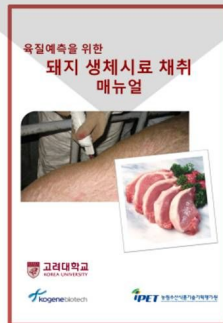


생체시료 채취



단백질 아형 육질예측인자

DNA 표지인자



육질예측기법의 실용화

Figure 3-5. Summary of commercialization of prediction technique



## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

## 제 1 절 연구개발목표의 달성도

### 1. 근섬유단백질 아형 예측인자 개발

구분	연구개발 목표 및 평가착안점	연구목표 달성도	기술발전 기여도
최종 목표	근섬유단백질 아형 예측인자 개발	100	매우 크다
1차 년도	<ul style="list-style-type: none"> <li>● 연구목표: 근육 및 근섬유 단백질 아형 특성 분석</li> <li>● 평가착안점                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 조직학적 기법을 이용한 개체별 근육특성 분석</li> <li>- 생체의 근섬유단백질 아형 특성 및 조성 분석</li> <li>- 근육특성에 영향을 미치는 대사관련 물질 탐색 및 분석</li> </ul> </li> </ul>	100	크다
2차 년도	<ul style="list-style-type: none"> <li>● 연구목표: 단백질 아형의 최적 육질 예측인자 선정</li> <li>● 평가착안점                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 실험군의 사후대사 및 육질변이 분석</li> <li>- 단백질 아형 후보예측인자와 사후대사 특성의 연관성 분석</li> <li>- 단백질 아형 후보예측인자와 육질특성의 연관성 분석</li> </ul> </li> </ul>	100	매우 크다
3차 년도	<ul style="list-style-type: none"> <li>● 연구목표: 단백질 아형 예측인자의 검증</li> <li>● 평가착안점                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 단백질 아형의 특성 분석을 통한 단백질체 능력 검증</li> <li>- 단백질 아형 특성과 근육의 이화학적 특성간의 연관성 분석</li> <li>- 상관도 분석을 통한 단백질 아형 예측인자 활용도 검증</li> </ul> </li> </ul>	100	매우 크다

## 2. 근섬유단백질 관련 DNA 표지인자 개발

구분	연구개발 목표 및 평가착안점	연구목표 달성도	기술발전 기여도
최종 목표	근섬유단백질 관련 DNA 표지인자 개발	100	매우 크다
1차 년도	<ul style="list-style-type: none"> <li>● 연구목표: 근섬유단백질 관련 후보유전자 분석</li> <li>● 평가착안점                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 근섬유단백질 아형별 발현유전자 탐색</li> <li>- 아형 유전자 간 아미노산 서열 비교분석</li> <li>- 최적 단백질 아형 유전자 선정</li> </ul> </li> </ul>	100	크다
2차 년도	<ul style="list-style-type: none"> <li>● 연구목표: 최적 단백질 아형 유전자 변이에 따른 DNA 표지인자 탐색</li> <li>● 평가착안점                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 발현조절영역에 대한 염기서열 분석</li> <li>- 개체간 서열차이에 따른 다형성 탐색</li> <li>- 유전자 다형성 분포도 조사</li> <li>- 개체군에 대한 유전자형 분석</li> </ul> </li> </ul>	100	크다
3차 년도	<ul style="list-style-type: none"> <li>● 연구목표: DNA 표지인자 선정 및 진단기법 마련</li> <li>● 평가착안점                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 유전자형과 육질관련형질과의 연관성 분석</li> <li>- 근섬유단백질아형관련 다수의 DNA마커 발굴</li> <li>- multiple DNA마커 진단기법 개발</li> </ul> </li> </ul>	100	매우 크다

### 3. 육질예측기법 실용화

구분	연구개발 목표 및 평가착안점	연구목표 달성도	기술발전 기여도
최종 목표	육질예측기법 실용화	100	매우 크다
1차 년도	<ul style="list-style-type: none"> <li>● 연구목표: 돈군 능력검정 및 육질평가</li> <li>● 평가착안점               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 기초축군의 적정 규모 및 구조 설정</li> <li>- 기초축군 조성</li> <li>- 성장 및 산육능력 검정</li> <li>- 도체의 육질평가</li> </ul> </li> </ul>	100	보통
2차 년도	<ul style="list-style-type: none"> <li>● 연구목표: 선정된 예측인자 및 표지인자의 효과 검증</li> <li>● 평가착안점               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 인자들과 적육생산능력간 연관성 분석</li> <li>- 전문 패널테스트를 통한 육질 관능평가</li> <li>- 인자들과 관능평가결과간의 연관성 분석</li> </ul> </li> </ul>	100	크다
3차 년도	<ul style="list-style-type: none"> <li>● 연구목표: 육질예측기법 실용화 방안 모색</li> <li>● 평가착안점               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 다양한 품종에서의 육질예측기법 적용</li> <li>- 현장적용시험을 통한 육질예측기법의 실효성 검증</li> <li>- 육질예측기법의 상품화 방안 제시</li> </ul> </li> </ul>	100	매우 크다

## 제 2 절 관련분야 기술발전의 기여도

### 1. 기술적 측면

- 분석 시 소량의 생체 시료만으로도 정확한 분석 가능 (유용성 증가)
- 복잡한 육질형성과정을 설명해줄 수 있으며, 간편하게 육질예측 가능
- 근육 단백질 생산의 질적 향상을 통한 사양관리효율 증대
- 생체 근육특성의 분석기법 확립
- 육질변이요인 구명을 위한 단백질 아형 이용성 검증
- 육질예측인자 개발로 인한 육축의 질적 형질 육종방법 정립
- 학·연·산간 협동체제의 확립에 의한 연구의 질적 향상

### 2. 경제적·산업적 측면

- 독점지식 및 기술력 확보에 의한 국내 식육산업의 부가가치 제고
- 고품질 돈육 생산 기반 및 지적 know-how 축적
- 우수 비육돈 선발로 인한 농가의 수익성 증대
- 축적 연구결과물을 국제전문학술지에 투고하여 학술 경쟁력 이바지
- 한우 및 기타 축종에의 고품질 식육생산 응용방안 제시
- 연관 산업의 창조 및 고용 창출

## 제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

# 제 1 절 연구개발 성과

## 1. 기술적 연구성과

- 육질예측을 위한 MHC isoforms 조성 분석 방법 확립
- 고품질 돈육 생산을 위한 예측기법인자의 기준 설정
- 근섬유단백질 아형과 관련된 다수의 DNA 표지인자 탐색 및 발굴
- 고품질 돈육 생산을 위한 육질예측 DNA 진단기법 및 키트 개발
- 육질예측을 위한 생체시료의 정확하고 체계적 채취를 위한 생체시료 채취 매뉴얼 개발

## 2. 학술적 성과

### 가. SCI 국외 학술지에 3편의 논문 게재

- Jeong, D. W., Y. M. Choi, S. H. Lee, J. H. Choe, K. C. Hong, H. C. Park, & B. C. Kim. 2010. Correlations of trained panel sensory values of cooked pork with fatty acid composition, muscle fiber type, and pork quality characteristics in Berkshire pigs. *Meat Science*, 86, 607-615.
- Lee, S. H., Y. M. Choi, J. H. Choe, J. M. Kim, K. C. Hong, H. C. Park, & B. C. Kim. 2010. Association between polymorphisms of the heart fatty-acid-binding protein gene and intramuscular fat content, fatty acid composition, and meat quality in Berkshire breed. *Meat Science*, 86, 794-800.
- Kang, Y.K., Y.M.Choi, S.H. Lee, J.H. Choe, K.C. Hong, & B.C. Kim. 2011. Effects of myosin heavy chain isoforms on meat quality, fatty acid composition, and sensory evaluation in Berkshire pigs. *Meat Science*, In press.

### 나. 국제학술대회 1편 발표

- Kang, Y.K., Y.M. Choi, S.H. Lee, J.H. Choe, K.C. Hong, & B.C. Kim. 2010. Meat quality and sensory evaluation of different pig breeds: relationships between MHC isoforms and sensory evaluation. 56th International Congress of Meat Science & Technology. Jeju, Korea.

### 3. 우수 인력의 양성

- 박사 2명
- 석사 4명
- 학사 2명

## 제 2 절 성과 활용계획

### 1. SCI 국외학술지에 1편의 논문 투고

- Lee, S. H., Choe, J. H., Choi, Y. M., Jung, K. C., Hong, K. C., Lee, S. K., Ryu, Y. C., & Kim, B. C. The influence of pork quality traits and muscle fiber characteristics on the eating quality of pork from various breeds.

### 2. 국내 특허 출원 2건 준비

- 육질예측용 근섬유단백질 관련 DNA 표지인자에 관한 특허 출원 준비 중
- 육질예측용 돼지 생체시료 채취에 관한 기술의 특허 출원 준비 중



## 제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

## 제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

저 자	년도	내 용	출 처
Goll 등	2008	Myofibrillar protein turnover: The proteasome and the calpains	Journal of Animal Science, 86, E19-35
Lefaucheur	2010	A second look into fibre typing - Relation to meat quality	Meat Science, 84, 257-270
Li 등	2009	Meat quality is associated with muscle metabolic status but not contractile myofiber type composition in prematured pigs	Meat Science, 81, 218-223
Latorre 등	2008	The relationship within and between production performance and meat quality characteristics in pigs from three different genetic lines	Livestock Production Science, 115, 258-267
Gil 등	2008	Relationships between biochemical characteristics and meat quality of <i>longissimus</i> <i>thoracis</i> and <i>semimembranosus</i> muscles in five porcine lines	Meat Science, 80, 927-933

## 제 7 장 참고문헌

## 제 7 장 참고문헌

- Aberle, E. D., Forrest, J. C., Gerrard, D. E., Mills, E. W., Hedrick, H. B., Judge, M. D., et al. (2001). Chapter 2: Structure and composition of animal tissues. *Principles of Meat Science*. Kendall/Hunt Publishing Company.
- Bader, M., & Miyahara, R. (1983). Relationship of newborn screening tests for congenital hypothyroidism to subsequent SIDS. *American Journal of Public Health*, *73*, 215.
- Bottinelli, R. (2001). Functional heterogeneity of mammalian single muscle fibres: do myosin isoforms tell the whole story? *Pflugers Archiv European Journal of Physiology*, *443*, 6-17.
- Bowker, B., Swartz, D., Grant, A., & Gerrard, D. (2005). Myosin heavy chain isoform composition influences the susceptibility of actin-activated S1 ATPase and myofibrillar ATPase to pH inactivation. *Meat science*, *71*, 342-350.
- Brooke, M. H., & Kaiser, K. K. (1970). Muscle fiber types: How many and what kind? *Arch Neurol*, *23*, 369-379.
- Buckingham, M. E. (1994). Muscle: the regulation of myogenesis. *Curr Opin Genet Dev*, *4*, 745-751.
- Chang, K. C., Fernandes, K., & Goldspink, G. (1993). In vivo expression and molecular characterization of the porcine slow-myosin heavy chain. *J Cell Sci*, *106*, 331-341.
- Chikuni, K., Tanabe, R., Muroya, S., & Nakajima, I. (2001). Differences in molecular structure among the porcine myosin heavy chain-2a, -2x, and -2b isoforms. *Meat Science*, *57*, 311-317.
- Choe, J. H., Y. M. Choi, S. H. Lee, H. G. Shin, Y. C. Ryu, K. C. Hong, & B. C. Kim. 2008. The relation between glycogen, lactate content, and muscle fiber composition, and their influence on postmortem glycolytic rate and pork quality. *Meat Science*. *80*, 355-362.
- Choi, Y. M. & Kim, B. C. (2009). Muscle fiber characteristics, myofibrillar protein isoforms, and meat quality. *Livestock Science*, *122*, 105-118.

- Choi, Y. M., Ryu, Y. C., & Kim, B. C. (2007). Influence of myosin heavy- and light chain isoforms on early postmortem glycolytic rate and pork quality. *Meat Science*, *76*, 281-288.
- Choi, Y. M., Ryu, Y. C., & Kim, B. C. (2007). Influence of myosin heavy- and light chain isoforms on early postmortem glycolytic rate and pork quality. *Meat Science*, *76*, 281 - 288.
- Choi, Y., Ryu, Y., & Kim, B. (2006). Effect of myosin heavy chain isoforms on muscle fiber characteristics and meat quality in porcine longissimus muscle. *Journal of Muscle Foods*, *17*, 413-427.
- Choi, Y., Ryu, Y., & Lee, S. (2005). Relationships between myosin light chain isoforms, muscle fiber characteristics, and meat quality traits in porcine longissimus muscle. *Food Sci. Biotechnol*, *14*, 639-644.
- Commission Internationale de l'Eclairage. (1978). Recommendations on uniform color spaces - Color differences equations, Psychometric color terms. Supplement No. 2, CIE Publication No. 15 (E1.3.1).
- Cooper, C., Cassens, R., Kastenschmidt, L., & Briskey, E. (1970). Histochemical characterization of muscle differentiation\* 1. *Developmental Biology*, *23*, 169-184.
- DA COSTA, N., & CHANG, K. I. N. C. (2005). Molecular characterisation of the porcine skeletal myosin heavy chain cluster and a major candidate regulatory domain. *Arch. Anim. Breed*, *48*, 32-39.
- Davoli, R., Fontanesi, L., Cagnazzo, M., Scotti, E., Buttazzoni, L., Yerle, M., & Russo, V. (2003). Identification of SNPs, mapping and analysis of allele frequencies in two candidate genes for meat production traits: the porcine myosin heavy chain 2B (MYH4) and the skeletal muscle myosin regulatory light chain 2 (HUMMLC2B). *Animal genetics*, *34*, 221-225.
- Davoli, R., Zambonelli, P., Bigi, D., Fontanesi, L., & Russo, V. (1998). Isolation and mapping of two porcine skeletal muscle myosin heavy chain isoforms. *Animal Genetics*, *29*, 91-97.

- Fry, A. C., Allemeier, C. A., Staron, R. S. (1994). Correlation between percentage fiber type area myosin heavy chain content in human skeletal muscle. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 68, 246 - 251.
- Gil, M., & Oliver, M. (2003). The relationship between pig genetics, myosin heavy chain I, biochemical traits and quality of M. longissimus thoracis. *Meat science*, 65, 1063-1070.
- Honikel, K. O. & Fischer, C. (1977). A rapid method for the detection of PSE and DFD porcine muscles. *Journal of Food Science*, 42, 1633 - 636.
- Honikel, K. O. (1998). Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. *Meat Science*, 49, 447 - 57.
- Karlsson, A., Enfalt, A. C., Essen-Gustavsson, B., Lundstrom, K., Rydhmer, L., & Stern, S. (1993). Muscle histochemical and biochemical properties in relation to meat quality during selection for increased lean tissue growth rate in pigs. *Journal of Animal Science*, 71, 930-938.
- Kauffman, R. G., Eikelenboom, G., van der Wal, P. G., Merkus, G., & Zaar, M. (1986). The use of filter paper to estimate drip loss of porcine musculature. *Meat Science*, 18, 191 - 200.
- Kiessling, K., Lundstrom, K., Petersson, H., & Stalhammar, H. (1982). Age and feed related changes of fibre composition in pig muscle. *Swedish Journal of Agricultural Research (Sweden)*.
- Klont, R. E., Brocks, L., & Eikelenboom, G. (1998). Muscle fibre type and meat quality. *Meat Science*, 49, S219-S229.
- McCarthy, J. J., Vyas, D. R., Tsika, G. L., & Tsika, R. W. (1999). Segregated regulatory elements direct myosin heavy chain expression in response to altered muscle activity. *Journal of Biological Chemistry*, 274, 14270.
- McPherron, A. C., & Lee, S. J. (1997). Double muscling in cattle due to mutations in the myostatin gene. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 94, 12457-12461.

- Olson, E. N. (1990). MyoD family: a paradigm for development? *Genes & development*, 4, 1454.
- Rivero, J. L., Talmadge, R. J., Edgerton, V. R. (1997). A sensitive electrophoretic method for the quantification of myosin heavy chain isoforms in horse skeletal muscle: histochemical and immunocytochemical verifications. *Electrophoresis*, 18, 1967 - 1972.
- Ryu, Y. C. & Kim, B. C. (2005). The relationship between muscle fiber characteristics, postmortem metabolic rate, and meat quality of pig *longissimus dorsi* muscle. *Meat Science*, 71, 351 - 357.
- Ryu, Y. C. & Kim, B. C. (2006). Comparison of histochemical characteristics in various pork groups categorized by postmortem metabolic rate and pork quality. *Journal of Animal Science*, 84, 894 - 901.
- Ryu, Y. C., & Kim, B. C. (2005). The relationship between muscle fiber characteristics, postmortem metabolic rate, and meat quality of pig longissimus dorsi muscle. *Meat Science*, 71, 351-357.
- Salomon, F., Michel, G., & Gruschwitz, F. (1983). Development of fiber type composition and fiber diameter in the longissimus muscle of the domestic pig (*Sus scrofa domestica*). *Anatomischer Anzeiger*, 154, 69.
- Sambrook, J., Fritsch, E., & Maniatis, T. (1989). Molecular cloning: A laboratory manual Cold spring Harbor Laboratory press. *New York*, 5.
- Scheffler, T. L. & Gerrard, D. E. (2007). Mechanisms controlling pork quality development: The biochemistry controlling postmortem energy metabolism. *Meat Science*, 77, 7 - 16.
- Schiaffino, S., & Reggiani, C. (1994). Myosin isoforms in mammalian skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*, 77, 493.
- Schiaffino, S. & Reggiani, C. (1996). Molecular diversity of myofibrillar proteins: Gene regulation and functional significance. *Physiological Reviews*, 76, 371-423.
- Schlegel, H. B. (1982). An efficient algorithm for calculating ab initio energy gradients using s, p Cartesian Gaussians. *The Journal of Chemical Physics*, 77, 3676.

- Solomon, M. B., van Laack, R. L. J. M., & Eastridge, J. S. (1998). Biophysical basis of pale, soft, exudative (PSE) pork and poultry muscle: A review. *Journal of Muscle Foods*, 9, 1-11.
- Takeda, S., North, D., Lakich, M., Russell, S., & Whalen, R. (1992). A possible regulatory role for conserved promoter motifs in an adult-specific muscle myosin gene from mouse. *Journal of Biological Chemistry*, 267, 16957.
- Talmadge, R. J., Roy, R. R., Edgerton, V. R. (1995). Prominence of myosin heavy chain hybrid fibers in soleus muscle of spinal cord transected rats. *Journal of Applied Physiology*, 78, 1256-1265.
- Te Pas, M., & Visscher, A. (1994). Genetic regulation of meat production by embryonic muscle formation - a review. *Journal of animal breeding and genetics*, 111, 404-412.
- Van Den Hende, C., Muylle, E., Oyaert, W., & De Roose, P. (1972). Changes in muscle characteristics in growing pigs. *Histochemical and electron microscopic study. Zbl Vet Med A*, 19, 102-110.
- Weintraub, H. (1993). The MyoD family and myogenesis: Redundancy, networks, and thresholds. *Cell*, 75, 1241-1244.
- Wimmers, K., Ngu, N. T., Jennen, D. G., Tesfaye, D., Murani, E., Schellander, K., & Ponsuksili, S. (2008). Relationship between myosin heavy chain isoform expression and muscling in several diverse pig breeds. *J Anim Sci*, 86, 795-803.
- Yu, Y., & Nadal-Ginard, B. (1989). Interaction of nuclear proteins with a positive cis-acting element of rat embryonic myosin heavy-chain promoter: identification of a new transcriptional factor. *Molecular and cellular biology*, 9, 1839.



## 주 의

1. 이 보고서는 농림수산식품부에서 시행한 생명산업기술개발 사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림수산식품부에서 시행한 생명산업기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.