

최 종
연구보고서

토종견의 혈통확인과 실험견의 계통보존
시스템 개발 및 응용

Development and Application of Pedigree
Verification and Bloodline Conservation
System in Korean Native and Experimental
Dog Breeds

연구기관
서울대학교 수의과대학

농 립 부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “토종건의 혈통확인과 실험건의 계통보존 시스템 개발 및 응용” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2002 년 12 월 5 일

주관연구기관명 : 서울대학교

총괄연구책임자 : 이 항

세부연구책임자 : 윤정희

연 구 원 : 민미숙

연 구 원 : 강병택

연 구 원 : 안용주

연 구 원 : 최지혜

위탁연구기관명 : 연세대학교

위탁연구책임자 : 성제경

요 약 문

I. 제 목

토종견의 혈통확인과 실험견의 계통보존 시스템 개발 및 응용

II. 연구개발의 목적 및 필요성

개는 사람과 가장 친숙한 동물이며 가장 먼저 가축화된 동물로 알려져 있다. 개는 사람에게 애완동물(pet animal) 혹은 반려동물(companion animal)로서 뿐만 아니라 재난구조견, 사냥견, 목축견, 경비견, 경찰견, 군용견 등 다양한 실용적 목적을 위해 사육되고 있다. 한편 개는 생명과학과 의학학에서 필수적인 실험동물로서도 중요한 역할을 하고 있다.

우리나라의 가장 대표적인 고유의 견종으로 진돗개는 그 뛰어난 충직성, 용맹성, 영민성, 청결성 등의 특징 때문에 많은 사람들의 사랑을 받고 있고 세계적인 견종으로 발돋움할 잠재력을 지니고 있는 유전자원이다. 따라서 정부에서는 진돗개를 천연기념물 제 53호로 지정하여 보호육성하고 있다. 그러나 진돗개는 아직까지 하나의 견종으로서 혈통이 고정되어 있지 않은 상태이라 상당히 다양한 형태와 품성을 나타내고 있다. 풍산개는 북한의 대표적인 견종이며 조용하면서도 사냥에 있어서는 날쌔고 용맹하며 끈기있는 성품을 지니고 있어 육종 노력에 따라서는 진돗개를 능가하는 우리의 우수한 잠재적 유전자원으로 생각되고 있다. 그러나 현재 남한에서 사육되고 있는 풍산개는 그 혈통의 순수성에 대한 신뢰를 확보하지 못하고 있다. 아마도 이러한 이유로 인하여 국내에서 진돗개의 유전적 다양성이나 특성에 관한 연구는 상당히 이루어진 반면 또 다른 우리의 우수한 토종유전자원인 풍산개의 유전적 특성에 대한 연구는 전무한 실정이다.

우리나라는 생명과학기술을 21세기를 선도하게 될 두뇌기술로 보고 이 분야

를 세계수준으로 발전시키기 위하여 많은 노력을 기울이고 있다. 생명과학의 모든 분야에는 반드시 실험동물이 필요하며 국내에도 통상적인 설치류 뿐 아니라 다양한 목적을 위하여 다양한 종류의 실험동물에 대한 수요가 급증하고 있다. 국내에서도 일부 실험견을 생산하는 농장이 있으나 국내생산 실험견의 품질이 외국의 것에 비해 그 신뢰성이 떨어지기 때문에 아직도 대부분의 실험견이 수입되어 사용되고 있다. 그 이유 중의 하나는 국내생산 실험견이 혈통관리와 유전적 균질성 확보에 있어 문제가 있다는 인식이다. 비록 외래 품종이지만 셰퍼드는 경비견 및 군용견으로 중요한 역할을 하고 있으며 그레이하운드는 최근 레저문화의 다양화와 함께 각광을 받고 있는 경견에 이용된다. 이들 품종들은 명확한 목적견으로서 우수한 혈통관리가 개의 임무수행에 절대적인 영향을 미친다. 그러므로 최근의 발달된 분자유전학적 기법에 의한 혈통관리와 계통보존 기술의 개발이 시급한 실정이다. 또한 토종견 및 실험견 생산농장의 경쟁력을 높이기 위하여는 이들 품종의 집단사육에 의한 번식상의 문제점을 파악하고 생산능력을 최적화하는 연구가 필요하다.

본 연구는 토종견, 실험견, 경비견 및 경견 생산농가의 애로사항인 혈통관리에 있어 가장 중요한 가계확인을 위한 유전자검사 기법을 확립하고자 시작하였다. 본 연구의 유전자검사 기법 개발에 사용하게 될 microsatellite는 short tandem repeat (STR)이라고도 불리우며 2개 내지 4개 단위의 염기가 연속적으로 반복되는 구조를 가진 DNA 부분으로, 게놈 전체에 걸쳐 고루 분포한다. Microsatellite는 개체에 따라 반복되는 단위의 수가 달라 상당히 높은 다형현상을 보이며 이러한 반복수는 멘델의 유전법칙에 따라 유전되므로 집단의 유전특성분석, 개체식별 및 친자감별에 강력한 도구로 이용될 수 있다. 더욱이 Microsatellite는 그 길이가 수백 bp 이내로 짧기 때문에 중합효소연쇄반응 (Polymerase Chain Reaction, PCR)에 의하여 쉽게 증폭하여 그 대립유전자의 길이를 전기영동으로 정확하게 결정할 수 있다. 그러므로 그 분석과정이 Southern blot 기술이 필요한 유전자지문법보다 훨씬 간편하고 대립유전자의 크기 결정과 통계적인 분석도 명확한 이점이 있다(Pena & Chakraborty, 1994; Heyen 등, 1997).

이미 선진외국에는 이 microsatellite marker들을 이용한 혈통검사법이 보편화되어 있어 순종견의 혈통등록 시 그 정확성을 검증하는 도구로 이용되고 있다. 예를 들어 미국애견협회(American Kennel Club)에서는 혈통등록을 신청하는 전문번식가 중 일부를 무작위 추출하여 자견과 부모견의 구강샘플 DNA를 채취, 분석하여 그 등록의 정확성을 검증하고 있다(<http://www.akc.org/>). 그러나 가계분석에 사용되는 microsatellite 마커의 종류, 그 대립유전자 빈도분포에 관한 자료와 분석기술은 외국의 기업과 연구소에서 공개하지 않고 있으며 설사 공개하더라도 국내견의 대립유전자 빈도 구조가 다를 수 있으므로 독자적인 마커개발과 자료구축이 필요하다.

III. 연구개발 내용 및 범위

본 연구는 실험견인 비글견, 토종견인 풍산개와 진돗개, 경비견인 셰퍼드, 경견 목적의 그레이하운드에서 혈통관리를 위한 개체/친자확인에 있어 최적의 표준 microsatellite marker를 선정하고 국내의 각 견종별 집단의 대립유전자 빈도 분포를 조사하여 이들 표준마커들이 친자감별/개체확인에 있어 충분한 식별력을 갖는가를 검증하며, 분석방법을 표준화하여 현장에서의 친자감별에 응용함으로써 혈통관리기법을 확립하고자 하였다. 더불어, 각 견종에서 조사된 microsatellite marker의 유전적 다양성을 이용하여 유전적 특성을 규명하고 견종사이의 유전적 근연관계를 분석하였다. 또한 국내 풍산견 사육 및 건강관리 실태와 생리형태적 특징에 대한 기초자료를 조사하고 효율적인 번식질병관리와 혈통확립에 응용하고자 하였다.

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

보통의 분자생물학 실험실에서 손쉽게 개에서의 혈통관리를 위한 유전자감식법을 확립하기 위하여 수동식 젤 전기영동에 의한 DNA typing 시스템을 개발하였다. Stutter band 현상을 극복하기 위하여, 기발표된 tetranucleotide repeat microsatellite 유전좌 (Francisco 등, 1996) 만을 유전자 감식을 위한 마커로서 고려하였다. 가장 polymorphic information content (PIC)가 높은 22개의 예비

microsatellite marker를 선정하여 primer 쌍을 합성한 후 진돗개와 풍산견 약간씩의 샘플을 대상으로 안정적인 증폭 여부와 대립유전자 크기의 분포에 의한 젤에서의 분석 용이성을 조사한 결과 11개의 표준 마커를 선정하였다. 진돗개, 풍산개, 비글견 세 품종에서 각각 40-50 마리의 샘플로 이들 유전좌의 genotyping을 실시하여 대립유전자 빈도분포를 얻었다. 이 데이터를 이용하여 heterozygosity, PIC value, Mean exclusion power를 계산하여 표준마커들의 개체식별 및 친자감별에서의 유용성 여부를 검증하였다.

11개 마커를 통틀어 풍산개와 진돗개는 평균 PIC 값이 0.85에서 0.87의 비슷한 값을 갖고 있어 셰퍼드의 평균 PIC 값 0.718보다 높았다. 풍산개와 진돗개에서 PIC 값이 0.9를 넘는 유전좌도 네 개가 있었다. 셰퍼드에서 PIC 값이 0.9가 넘는 유전좌는 하나도 없었으나 0.7이 넘는 것은 5개가 있었다. Exclusion Power 1 (EP1)값은 알려진 친부나 친모의 유전자형을 모르는 상태에서 추정부(또는 추정모)와 자식의 유전자형을 비교하여 친생자 검사를 할 때, 친부가 아닌 임의의 추정부를 얼마나 배제할 수 있는지를 나타내는 확률을 의미한다. Exclusion Power 2 (EP2) 값은 알려진 친부나 친모 둘 중 하나의 유전자형을 아는 상태에서 추정부(또는 추정모)와 자식의 유전자형을 비교하여 친생자 검사를 할 때, 친부가 아닌 임의의 추정부를 얼마나 배제할 수 있는지를 나타내는 확률을 의미한다. 대략 EP2 값이 0.5 이상인 것을 식별력이 좋은 마커로 간주할 때, 진돗개와 풍산개에서는 모든 마커의 EP2 값이 0.5를 넘었고, 셰퍼드에서는 여섯 개의 마커가 0.5 이상의 값을 보였다.

건종 별로 11개 또는 12개의 마커를 사용하였을 때 누적된 EP2 값은 진돗개와 풍산개에서 각각 0.999999와 0.999999였고 셰퍼드에서 0.9998이었다. 이것은 대략 풍산개 1000만 마리의 집단에서 한 마리의 친부(또는 친모)를 찾아 낼 수 있는 정도의 배제력을 지니고 있다는 말이며, 진돗개에서는 100만 마리에서, 그리고 셰퍼드에서는 5000마리에서 1마리를 찾을 수 있는 배제력을 지닌 것으로 생각할 수 있다. 이것은 대립유전자의 수, heterozygosity, PIC 값의 비교에서 보는 것처럼 셰퍼드보다 진돗개나 풍산개가 조사된 마커에서의 변이도가 훨씬 큰 것이 그 이유이다.

수동식 젤을 이용한 DNA typing 시스템은 보통의 분자생물학 장비를 갖춘 실험실에서 간편하게 응용할 수 있는 이점이 있으나 대량의 샘플을 처리해야 하는 자동화에는 적합하지 않다. 따라서 자동식 시퀀서를 이용한 DNA typing 시스템을 개발하였다. 자동식 시퀀서 분석에 적합한 마커 14개가 다시 선정되었고 이들 마커의 primer를 형광표지하였다. 총 5품종, 297마리의 개에서 구강상피세포 또는 혈액을 채취하여 유전자형을 조사하였다. 샘플링된 개는 풍산개가 96마리, 진돗개 56마리, 셰퍼드 54마리, 비글 50마리, 그레이 하운드 41마리로, 전국의 농장에서 가까운 근친관계가 아닌 것으로 생각되는 개체들로부터 샘플을 채취하여 실험에 이용하였다. 실험을 통해 정립된 친자감별 체계를 이용하여 친자감별에의 응용성을 확인하기 위하여 풍산개 4가계 (父, 母, 子が 1가계를 구성하는 trio case), 진돗개 3가계, 셰퍼드, 비글, 그레이 하운드에서 각각 1가계씩, 그리고 모견이 없이 부견과 자견으로 구성된 가계(motherless case)를 각 견종에서 하나씩 선정하여 이들의 구강상피세포를 추가로 채취하였다.

각 견종에서 평균대립유전자의 수는 풍산개가 15.4로서 가장 높았으며, 진돗개, 13.8; 비글, 9.72; 그레이하운드, 8.55; 셰퍼드, 7.7의 순이었다. 전 견종에 걸쳐서 가장 대립유전자 수가 많은 마커는 풍산개에서 DVS-3 마커로서 27이었다. CVS-3는 진돗개에서도 대립유전자 수가 가장 높은 마커로서 26을 기록하였다. 비글에서는 CVS-3과 CVS-10이 둘 다 14개로서 가장 높은 대립유전자 수를 나타내었고, 그레이하운드에서도 CVS-3가 가장 대립유전자 수가 많아서 13개를 기록하였다. 전 견종에 걸쳐 가장 대립유전자 수가 낮은 마커는 셰퍼드에서 CVS-7으로서 4개의 대립유전자 만을 가지고 있었다. 비글에서도 가장 대립유전자 수가 낮은 마커는 6개의 CVS-7이었다. 풍산개에서는 CVS-1과 CVS-7이 둘 다 8개의 대립유전자를 가져 가장 낮은 수를 보였으며, 진돗개에서는 CVS-1이 가장 낮은 7개의 대립유전자 수를 보였다. 그레이하운드에서도 CVS-1이 6개로서 가장 낮은 대립유전자 수를 기록하였다.

Hardy-Weinberg 평형에 의하여 기대되는 이형접합률은 풍산개와 진돗개에서 공히 0.84로서 가장 높은 수준을 보였으며, 다음으로 비글이 0.78, 그레이하

운드가 0.76, 셰퍼드가 0.7의 순으로, 평균대립유전자 수의 경우와 비슷한 경향을 보였다. 전 견종에 걸쳐 가장 이형접합률이 높은 마커는 진돗개의 CVS-3로서 0.945였고, 풍산개에서도 CVS-3는 0.939로서 가장 이형접합률이 높았다. 비글, 그레이하운드, 셰퍼드에서는 각각 0.881, 0.877, 0.888의 값을 보인 CVS-4가 가장 이형접합률이 높은 마커였다. 각 견종에서 가장 이형접합률이 낮은 마커는 풍산개와 진돗개에서 CVS-6(각각 0.74 및 0.753), 비글에서 CVS-2(0.657), 그레이하운드에서 CVS-13(0.534), 그리고 셰퍼드에서 CVS-7(0.545)이었다. Guo와 Thompson (1992)의 정확검정(Exact probability test)에 의하여 Hardy-Weinberg 평형에의 위배정도를 시험해 본 결과, 풍산개에서는 CVS-7을 제외한 나머지 9개 유전좌 모두에서 이형접합률의 관측치가 기대치보다 작은 것으로 나타났다. 진돗개에서는 5개 유전좌에서 관측치와 기대치가 Hardy-Weinberg 평형에 일치하는 것으로, 그리고 나머지 5개에서는 관측치가 기대치보다 작은 것으로 나타났다. 셰퍼드에서는 7개 유전좌에서 평형을 이루었고 나머지 3개에서는 관측치가 기대치보다 작았다. 비글에서는 8개 유전좌에서 평형을 이루었고 나머지 2개 유전좌에서만 평형에 위배되었다. 그레이하운드에서는 5개 유전좌에서 평형을 이루었고 나머지 4개에서 관측치가 기대치보다 작았다.

평균 PIC (Polymorphism Information Content) 값은 진돗개에서 0.82로 가장 높았으며, 다음 풍산개에서 0.81, 비글에서 0.74, 그레이하운드에서 0.72, 셰퍼드에서 0.66의 순이었다. 전 견종에 걸쳐 가장 PIC 값이 높은 마커는 진돗개에서 CVS-3으로서 0.933이었고, 이 마커는 풍산개에서도 PIC 값이 0.930으로서 가장 높았다. 비글과 그레이하운드, 셰퍼드에서는 CVS-4의 PIC 값이 각각 0.859, 0.853, 0.866으로서 세 견종에서 모두 가장 높은 값을 보였다. 한편, 전 견종에 걸쳐 가장 낮은 PIC 값을 보인 마커는 셰퍼드에서 CVS-7으로 0.437이었고, 그레이하운드에서는 CVS-13의 0.493, 비글에서는 CVS-2의 0.599였다. 풍산개와 진돗개에서는 각각 0.694와 0.708를 기록한 CVS-6가 가장 낮은 PIC 값을 가진 마커이었다.

진돗개와 풍산개에서는 모든 마커의 EP2 값이 0.5를 넘었고, 비글에서는 11

개 중 8개가, 그레이하운드에서는 9개 중 5개가, 셰퍼드에서는 10개 중 6개의 마커가 0.5 이상의 값을 보였다. 견종 별로 9개에서 11개의 마커를 사용하였을 때 누적된 EP2 값은 진돗개에서 0.999998, 풍산개에서 0.999997, 비글에서 0.999971, 그레이하운드에서 0.999651, 셰퍼드에서 0.999473이었다. 그러므로 대략 풍산개나 진돗개에서는 30만 마리의 집단에서 한 마리의 친부(또는 친모)를 찾아 낼 수 있는 정도의 배제력을 지니고 있으며, 비글에서는 30,000, 그리고 그레이하운드와 셰퍼드에서는 3000마리 정도에서 1마리를 찾을 수 있는 배제력을 지닌 것으로 생각할 수 있다. 이것은 대립유전자의 수, heterozygosity, PIC 값의 비교에서 보는 것처럼 셰퍼드, 그레이하운드나 비글보다 진돗개나 풍산개가 조사된 마커에서의 변이도가 훨씬 큰 것이 그 이유이다.

전국적으로 현재 사육되고 있는 진돗개의 숫자가 정확히 파악되지 않고 있으나 30만 마리에는 미치지 못하는 것으로 추정되고 있으며, 풍산개의 수는 이보다 훨씬 적다. 그러므로 본 연구에서 사용된 표준마커는 국내 토종견의 친자감별에 의한 혈통등록에 충분히 이용할 수 있을 정도의 EP값을 지닌 것으로 생각된다. 비글에 있어서도 국내 실험견으로 사육되는 비글견의 수가 30,000에 이르지 못하므로 실험견의 혈통관리에 있어 표준마커로 사용될 수 있다. 다만 그레이하운드와 셰퍼드와 같이 고도의 근친교배와 선택에 의한 육종으로 발달된 견종의 경우 현재의 표준마커로는 충분한 배제력을 지니지 못한 것으로 보여 부가적인 마커의 선택이 바람직한 것으로 생각된다.

본 연구에서 확립된 이들 표준마커를 이용하여 총 5품종 10개의 가계에서 14개 케이스를 대상으로 실제적인 친자감별 유전자감식에 응용실험을 하였다. 그 결과, 삼자검사(trio case)에 있어서 친자관계를 배제할 수 없는 경우 중 가장 낮은 평가값은 셰퍼드의 케이스 5로서 누적부권지수 30,000, 부권확률 99.996%으로 친자관계를 인정할 수 있었다. 가장 높은 평가값은 풍산개의 Case 1의 1세대와 2세대간 검사로서 누적부권지수가 2.97×10^7 을, 부권확률은 99.999997%를 기록하였다.

결모검사(motherless case)에 있어서 가장 낮은 평가값은 풍산개 Case 2에서

풍산개 6과 8 사이의 검사로서 누적부권지수 3018과 부권확률 99.96%를 기록하였다. 결모검사에 있어서는 친모(또는 친부)의 유전자형을 알 수 없는 상태에서 추정부(또는 추정모)와 자식의 유전자형의 비교로만 친자관계를 평가하여야 하기 때문에 당연히 삼자검사보다 부권지수와 부권확률이 낮아지게 된다. 그러나 가장 낮은 경우에도 99.9% 이상의 부권확률을 얻었기 때문에 본 연구에서 선정된 표준마커를 이용하여서 토종견이 아닌 외래 순종견의 친자감별의 삼자검사는 물론, 결모검사까지 가능함을 보여 주었다.

14개의 친자감별 케이스 중 풍산개에서 1건, 진돗개에서 1건, 도합 2 건의 삼자검사 경우에 친자관계를 배제할 수 있는 유전자형 불일치가 나타났다. 이것은 본 응용 시험에서 14.3%의 경우에 농장주의 가계기록에 오류가 있다는 것을 의미한다. 비록 더 많은 케이스를 대상으로 조사를 하여야 일반적인 경향을 알 수 있겠지만, 이 결과 만으로도 농장주의 기억에 의존하는 가계정보와 혈통등록에 심각한 오류가 있을 수 있다는 결론을 쉽게 내릴 수 있다. 그러므로 국내 토종견 및 순종견의 혈통등록에 있어 유전자검사에 의한 친자확인 기법의 도입이 시급함을 확인할 수 있었다.

일반적인 유전자감식에 의한 친자감별에 있어 부권지수와 부권확률을 계산할 때 친부와 추정부는 유전적으로 전혀 관련이 없는 개체임을 가정한다. 그러나 실제로는 친부와 추정부가 가까운 친척관계일 가능성이 있을 수 있는 경우가 있으며, 이 때는 공통조상으로부터 물려받은 유전자형을 공유하게 되고, 이것은 부권지수의 계산에 커다란 영향을 주게 된다. 이 때에는 추정부와 친부의 친척관계의 지수, 즉 근친계수(inbreeding coefficient, θ)를 고려하여 계산을 하여야 한다. 그러나 추정부와 친부의 친척관계가 얼마나 가까운 지는 알 수 없는 경우가 대부분이기 때문에 가장 가까운 친척관계, 즉 부모-자식 간 또는 친형제 간의 관계($\theta=0.25$)로 가정하고 위 풍산개 응용 케이스 중 4 경우에서 부권지수와 부권확률을 다시 계산하여 본 결과, 부권지수와 부권확률이 급격히 감소함을 확인할 수 있다. 그러나 현실적으로 친척관계를 가정하고 적절한 부권지수를 얻기 위하여는 너무 많은 마커에 대한 typing이 필요하게 될 것이기 때문에 일반적으로는 친척관계를 무시하고 부권지수와 부권확률을 계산하는

것이 불가피하다. 그러나 케이스에 따라 추정부와 친부 간의 친척관계의 가능성을 의심하여야 할 경우에는 추가적인 마커에 대한 typing이 필요하게 될 것이다.

다섯 견종 에서 공통적으로 조사된 5개 marker (CVS-1, 2, 3, 4, 5)의 분석 결과를 이용하여 견종간의 유전적 거리를 나타내는 Nei^s distance와 이에 근거한 UPGMA dendrogram을 작성하였다. 그리고 견종간의 유전적 거리를 다른 방법으로 제시하는 F-statistics 중 Fst 값을 계산하였다. 풍산개와 진돗개 사이의 Nei^s distance가 0.300, Fst 값이 0.029로 각 견종들 간의 비교에서 그 값이 가장 작았기 때문에, 예상대로 한국 토종견들 간의 유전적 거리는 외국견종에 비해 가깝다는 것을 확인할 수 있었다. 그러나 풍산개와 진돗개 사이의 유전적 거리가 생각보다는 상당한 값을 보여 주고 있는 점은 흥미있는 사실이다. 세가지 외래견종 중 토종견들과 유전적 거리가 가장 먼 것은 셰퍼드였다.

90여 두의 풍산개에서의 체형검사 평균값과 김 등(1989)이 진도견 249두에서 실시한 성장에 따른 체형에 관한 연구 중 12개월령의 성견 체형과 비교하여 보았다. 풍산개의 체고는 55.65±3.23cm로 진도견의 53.55±2.42cm에 비하여 2.1cm가량 더 높았다. 체장은 60.44±3.81cm로 진도견의 58.33±2.66cm보다 2.1cm 더 길었고 흉위도 67.81±6.30cm로 진도견에서의 60.25±2.27보다 7.6cm 가량 더 크게 나타났다. 풍산개의 수컷 체고가 57.30±2.72, 암컷이 54.09±2.91으로서 수컷이 3.2cm 가량 더 컸다. 이것은 진도견의 암수 차이와 비슷한 수준이다. 그러나 진도견에서의 이간, 이폭, 이고에 대한 측정치는 보고 되어있지 않아 비교할 수 없었다. 이 결과들로 볼 때 동년배 1년령 이상에서의 풍산개가 진도견에 비해 전체적인 체격이 더 크다고 볼 수 있다.

혈액화학적 검사와 혈청학적 검사에서는 전체적으로 일반적인 개에 있어서의 정상 범위 안에 위치하였으나, ALP와 gamma-GT가 정상 범위를 상회하는 수준에 있었다. 이러한 개체들은 사육환경, 식이 또는 1년령 정도의 나이가 영향을 미쳤을 가능성이 있다. 그러나 몇몇 정상치를 크게 상회하는 개체들을 제외시킨 평균치는 일반적인 개의 정상 범위 내에 있었다.

대부분 풍산견 농장들의 규모가 영세함으로 인하여 사양관리 및 사육시설이 체계적이지 못하였다. 그 결과 질환상태의 동물을 인지하거나 일부 질환에 이환된 동물을 격리함에 있어서 어려움이 많았으며, 전염성 질환의 경우 동시 방목되는 개체들에게 쉽게 전파, 전염이 될 수 있다는 단점을 나타내었다. 또한, 예방의학에 있어서 대부분 농장 모두 종합백신은 접종하고 있으나, 광견병 백신을 접종하고 있지 않아 야생동물에 의한 전파에 노출되어 있는 것으로 나타났다. 주로 농장들의 주위 환경은 충분히 야생동물이 존재할 수 있는 상태이며, 이러한 야생동물에 의한 위험성에 대하여 인지하지 못하고 있거나, 이에 대한 방제가 되어 있지 않은 상황이었다. 다른 구충이나 투약에 있어서도, 전문인력의 조언 없이 농장주가 직접 약물을 구입하여 자체적으로 예방 및 구충을 하고 있는 실태였다. 심지어는, 일부 농장에서는 건사료를 사용하지 않고, 손수 제작한 사료를 급여하고 있어, 사료의 위생관리에 허점을 보였다. 또한 농장주들이 인지하고 있는 발정주기들이 질 도말 검사에서 세포학적으로 검사한 결과와 세부적인 차이를 나타내고 있는 것을 확인하였다. 그러므로 프로그스테론 수치의 측정이나 시판화 된 키트를 사용하여 발정주기와 배란시기에 대한 정확한 평가를 일반화시키는 것이 번식능력의 극대화에 도움이 될 것이다.

연구개발 결과의 활용에 대한 건의: 본 연구에 의하여 개발된 토종견 및 실험견의 혈통관리를 위한 친자감별 시스템의 가장 효과적인 응용 분야는 토종견의 혈통등록의 검정업무일 것이다. 본 유전자감식 시스템에 의한 친자확인 방법에 의하여 혈통등록 업무의 신뢰도를 획기적으로 높일 수 있다. 그러나 아직 개 사육이 축산업의 하나로서 공식 인정을 받지 못하고 있는 우리나라 실정에서 이러한 혈통등록 업무는 국가기관이 아닌 민간기업이나 애견협회 또는 지방자치단체의 주도하에 진행되어야 할 것으로 보인다. 현재 진도군에서는 독자적인 유전자검사법을 개발하여 혈통관리에 이용하는 연구를 진행 중인 것으로 알려져 있다. 그러므로 본 연구결과는 진도군에서의 혈통관리체계와 통합하거나 또는 별도로 내륙의 진돗개, 풍산개 또는 다른 순종견의 혈통등록의 검정에 사용할 수 있다. 본 연구의 수동식 젤을 이용한 DNA typing 방법은 소규모의 실험실에서 개 친자감별을 위한 유전자검사에 유용하게 사용될 수 있다. 반면에,

자동식 sequencer를 이용한 DNA typing은 상업적 응용이 가능하며 참여기업의 데이터 우선사용권을 보장하기 위하여 특히 출원이 완료될 때까지 마커들의 문헌 상 명칭을 표시하지 않았다.

친자감별 및 개체확인 서비스의 상업화가 과학적인 근거를 갖도록 하기 위하여 본 연구결과의 데이터를 이용하여 부권지수와 부권확률을 간편히 계산하여 주는 컴퓨터용 통계적 분석 프로그램을 개발할 것을 권고한다. 이 프로그램은 추정부와 친부와의 친척관계를 무시하는 일반적인 삼자검사 뿐 아니라 곁모 검사, 그리고 추정부와 친부의 가장 가까운 친척관계까지 고려하여 부권지수와 부권확률을 계산하여 유전적 검증의 객관적 근거를 명확히 제시할 수 있어야 한다.

앞으로 남북교류가 확대되어 북한산 풍산개 종건 혈통이 검증된 개체들을 확보할 수 있게 되면, 본 연구결과를 활용하여 엄격한 혈통관리를 하는 풍산개 단지를 육성할 수 있을 것이다. 본 연구에 사용된 풍산개는 청와대와 서울대공원의 개체를 제외하고는 국내에 반입된 경로가 명확하지 않은 점이 있다. 그러므로 앞으로 검증된 북한산 풍산개의 샘플 채취가 가능하게 되면 이들의 대립유전자 빈도분포를 비교하는 작업이 필요할 것이다.

본 연구에서 나타난 토종견 및 실험견 농장에서의 번식 및 질병 관리상 문제점들을 해결하기 위하여는 집단사육관리에 경험이 있는 전문수의사에 의한 토종견이나 순종견의 사육시설, 사양번식관리, 위생관리 등에 대한 지도, 조언이 필요할 것으로 보인다. 그러나 현재 개의 경우 가축으로 분류되어 있지 않아 제도적, 정책적인 지원이 어려운 상태이라 민간차원에서의 해결책을 강구하여야 할 것이며, 본 연구결과를 일부 활용하여 유전적 혈통관리, 경영, 위생, 사양관리를 업무영역으로 하는 전문적인 애견농장 consultant 기업의 출현을 기대한다. 정책적으로도 토종견이나 애완견 산업을 새로운 형태의 축산으로 생각하는 발상의 전환이 필요할 것으로 보인다.

SUMMARY

I. Subject

Development and Application of Pedigree Verification and Bloodline Conservation System in Korean Native and Experimental Dog Breeds

II. Objectives and Importance of the Project

The dog is known to be the best friend of humans and the first animal species domesticated by humans. Dogs are raised by humans not only as a pet animal or companion animal but also for the various purposes of rescuing, hunting, shepherd, guarding, and police/ military activities. The dog is also an important experimental animal in the field of life and biomedical science.

Jindo is a representative native dog breed in South Korea and famous for its outstanding characteristics like loyalty, braveness, and cleanness. The Korean government designated the Jindo as the natural monument of the nation (number 53) to protect it. However, since the Jindo breed is not a fixed breed like a breed from western origin, it shows rather wider range of forms and characteristics. Poongsan is a representative native dog breed in North Korea and shows calm, but enduring personality as a hunting dog. However, original bloodline of many Poongsan dogs currently raised in South Korea is being questioned. Probably because of this, no studies on genetic characteristics on Poongsan has been reported whereas considerable work has been done on genetic diversity and characteristics of Jindo.

Korea considers biotechnology as the leading brain technology in 21st century and make a great effort to develop this field into world class.

Experimental animals are essential in biotechnology and biomedical science and animals other than mice and rats are increasingly demanded in this field. Many beagle dogs are being imported as experimental animals. Domestic beagle dogs are not thought to be genetically uniform and the bloodline is not checked. Shepherd plays an important role as the guard, police, and military dogs. Greyhound is being introduced as a racing dog. These breeds are developed for specific human use and the management of bloodline is the key factor affecting the performance of the animals. Thus the development of pedigree verification and bloodline conservation system utilizing recently developed molecular genetical techniques is urgently needed. In addition, survey on the health management status of the dog farms is needed to improve the competitiveness of this emerging field.

The purpose of this study is to establish a pedigree verification system to help efficient management of bloodline of Korean native breeds and other breeds. Microsatellite, also called short tandem repeat (STR) is a DNA region with a structure of 2 to 4 base tandem repeats and is dispersed rather evenly in whole genome. The number of repeat unit in microsatellite differs from individual to individual and is inherited according to the Mendel's principle. Thus, microsatellites show high level of polymorphism and can be utilized as a powerful tool for the analysis of genetic characteristics of a population, parentage testing, and individual identification.

III. Contents and Ranges of the Project

- 1) Select the most suitable standard microsatellite markers for parentage testing/ individual identification system for Poongsan, Jindo, Beagle, Shepherd, and Greyhound populations in Korea.
- 2) Construct the data on the allele frequency of the standard markers to verify that the markers have enough exclusion power for parentage

testing/ individual identification.

- 3) Standardize the analytical techniques and apply the markers for actual parentage testing cases in the field using the allele frequency data.
- 4) Analyze the genetic relationships among the 5 breeds.
- 5) Survey the current status of health management in dog farms.
- 6) Study the morphological characteristics of Poongsan.

IV. Research Results and Suggestions for the Application of the Results.

A genotyping system was developed to carry out parentage testing analysis for dogs using ordinary molecular biology laboratory instruments. To overcome the stutter band problem, only tetranucleotide repeat microsatellite loci (Francisco et al., 1996) were considered as the standard markers for genetic analysis. Twenty-two preliminary markers with the most high levels of polymorphic information content (PIC) were selected and the primer pairs for the markers were synthesized. They were tested for the stability of amplification reactions and easiness of gel electrophoresis/ allele size estimation using a few samples from Poongsan and Jindo. Eleven standard markers were finally chosen and genotyping experiments were carried out for each markers using 40 to 50 DNA samples from Poongsan, Jindo, and Shepherd. Allele frequency data was constructed from the typing results and heterozygosity, PIC value, mean exclusion power was calculated to examine the effectiveness of the standard markers in parentage testing and individual identification.

Across 11 markers together, mean PIC value was 0.85 and 0.87 for Poongsan and Jindo respectively and these values were higher than 0.718 for Shepherd. Exclusion power 1 (EP1) represents the probabilistic ability of a genetic marker to exclude an unrelated man from paternity when the

genotype of the biological father or mother is not known. Exclusion power 2 (EP) represents the probabilistic ability of a genetic marker to exclude an unrelated man from paternity when the genotype of the biological father or mother is known. The overall EP2 values across 11 or 12 standard markers were 0.999999 for Jindo, 0.9999999 for Poongsan, and 0.9998 for Shepherd. This may be interpreted as that using these markers, we may correctly identify the biological father (or mother) in 10 million individuals of Poongsan population, in one million individuals of Jindo population, and in 5000 individuals of Shepherd population. The difference stems from the fact that Jindo or Poongsan has much higher level of genetic variation in these markers as shown in PIC values.

A DNA typing system with manual gel electrophoresis may be easily applied in a ordinary molecular laboratory, but is not suitable for automatic system to analyze large number of samples together. Thus we have developed a genotyping system using automatic sequencer. Fourteen standard markers suitable for automatic sequencer was selected and the primers for the markers were labeled with fluorescent dyes. DNA samples from 96 individuals of Poongsan, 56 of Jindo, 54 of Shepherd, 50 of Beagle, and 41 of Greyhound were typed for these markers. The samples were collected from farms all over the country with considerations not to include close relatives.

Mean PIC value was highest in Jindo (0.82) and Poongsan (0.81), then in the order of Beagle (0.74), Greyhound (0.72), and Shepherd (0.66). Using 9 to 11 of these standard markers, accumulated EP2 values were 0.999998 for Jindo, 0.999997 for Jindo, 0.999971 for Beagle, 0.999651 for Greyhound, and 0.999473 for Shepherd. Thus we may correctly identify the biological father (or mother) in 300,000 individuals of Poongsan or Jindo population, in 30,000 individuals of Beagle population. and 3000 of Greyhound or Shepherd population. Since the sizes of Jindo, Poongsan, or Beagle population in Korea

would not exceed these numbers, the markers in this study may comprise an effective parentage testing system in Korea. However, this standard markers seems not have enough exclusion power for breeds like Greyhound or Shepherd, which is developed by high level of inbreeding and selection. Thus selection of additional markers for these breeds will be desirable to complete the general parentage testing system for all breeds in Korea.

To confirm the usefulness of the system developed, actual parentage testing experiments were conducted for 14 cases from 10 families of the 5 breeds. The highest level of accumulated paternity index (PI) in trio case was obtained in a case of Poongsan with the PI value of 2.97×10^7 and paternity probability (PP) of 99.999997%. The lowest level of accumulated PI was in a case of Shepherd with the PI value of 30,000 and PP of 99.996%. The lowest level of accumulated paternity index (PI) in motherless case was in a case of Poongsan with the PI value of 3018 and paternity probability (PP) of 99.96%. Since the paternity testing in motherless case is evaluated only on the genotype comparison of alleged father and child, the PI and PP values are much lower than in trio cases.

Of the 14 cases of paternity testing, 2 cases (14.3%, one in Poongsan and the other in Jindo) showed genotypes not in agreement with the biological paternity relationship. The result indicate that the current pedigree information and registration system depending on the breeder's memory may have serious faults, substantiating the necessity of introduction of pedigree checking system by DNA analysis.

When PI and PP values calculated in a general paternity testing case by DNA analysis, it is assumed that the biological father and the alleged father is genetically unrelated. However, in real situation, there may be a case in which the real father and the alleged father could be close relatives. The

two individuals in this case will have common alleles descended from common ancestors and this will substantially affect the calculation of the PI value: inbreeding coefficient θ should be incorporated. Four application cases of Poongsan and Jindo showed great reduction of PI values if we assume the closest relationship ($\theta=0.25$) between the biological father and the alleged father. However, it would be not practical to routinely type many more markers just for in case of relatives. It is recommended that PI and PP are calculated without considering genetic relationship, but typing of additional markers will be needed whenever there is evidence to suspect a relation.

Nei's genetic distances among 5 breeds were calculated using the allele frequency data of 5 markers commonly analyzed in 5 breeds. An UPGMA dendrogram was constructed based on the Nei's distance and it shows that Jindo and Poongsan are most closely related as expected. Shepherd was the most distant breed from the native Korean breeds.

The mean height and length of body measurements was little higher in Poongsan than in Jindo. All the values of blood and serological chemistry test fall into normal dog values. Even though the general status of health management was not satisfactory, there seems no major problems in general health and breeding practices in Poongsan farms. This might reflect the high level of genetic diversity and strong physical constitution of the breed.

The most obvious application of the result in this study is verification system of registry of Korean native breeds. Parentage testing system using DNA analysis may greatly improve the integrity and reliability of the registration system.

CONTENTS

Chapter 1	Overview of the Research Project	21
Section 1.	Necessity of the Research & Development	21
1.	Technical Aspect	21
2.	Economical · Industrial Aspect	23
3.	Social · Cultural Aspect	24
Section 2.	Aims and Ranges of the Research & Development	25
Chapter 2	Current Status of the Research & Development	26
Chapter 3	Contents and Results of the Research & Development	28
Section 1:	Development of Individual Identification and Parentage Testing	
	Techniques for Pedigree Verification	28
1.	Strategy of the Research & Development	28
2.	Methods and Results	29
A.	DNA typing System Using Manual Acrylamide Gel Electrophoresis	29
B.	DNA typing System Using Automatic Sequencer	43
C.	Application of the Parentage Testing System	62
D.	Genetic Distances among Breeds and F-statistics	80
Section 2:	Development of Management Model for Efficient Breeding and Study of Physiological · Morphological Characteristics	82
1.	Methods	82
2.	Results	83
3.	Discussion	104
Chapter 4	Achievements and Contributions	110
Chapter 5	Application Plan of the Research Results	113
Chapter 6	Information on Foreign Science and Technology Acquired during the Research	116
Chapter 7	References	118

목 차

제 1 장	연구개발과제의 개요 -----	21
제 1 절.	연구개발의 필요성 -----	21
1.	기술적 측면 -----	21
2.	경제·산업적 측면 -----	23
3.	사회·문화적 측면 -----	24
제 2 절	연구개발의 목표와 범위 -----	25
제 2 장	국내외 기술개발 현황 -----	26
제 3 장	연구개발수행 내용 및 결과 -----	28
제 1 절:	혈통확인을 위한 개체식별 및 친자감별 기술개발 -----	28
1.	추진전략 -----	28
2.	추진방법 및 결과 -----	29
가.	수동식 아크릴어마이드 젤 전기영동을 이용한 DNA typing 시스템 -----	29
나.	자동화 시퀀서를 이용한 DNA typing 시스템 -----	43
다.	친자감별 시스템의 응용 -----	62
라.	건종 간의 유전적 거리와 F-Statistics -----	80
제 2 절:	집단번식에 있어 생산능력 최적모델 개발 및 생리·형태 특성 연구 -----	82
1.	추진방법 -----	82
2.	결과 -----	83
3.	종합적 소견 -----	104
제 4 장	목표 달성도 및 관련분야에의 기여도 -----	110
제 5 장	연구개발 결과의 활용계획 -----	113
제 6 장	연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 -----	116
제 7 장	참고문헌 -----	118

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 필요성

1. 기술적 측면

개는 사람과 가장 친숙한 동물이며 가장 먼저 가축화된 동물로 알려져 있다. 개는 사람에게 애완동물(pet animal) 혹은 반려동물(companion animal)로서 뿐만 아니라 재난구조견, 사냥견, 목축견, 경비견, 경찰견, 군용견 등 다양한 실용적 목적을 위해 사육되고 있다. 한편 개는 생명과학과 의약학에서 필수적인 실험동물로서도 중요한 역할을 하고 있다. 개는 기존의 실험동물로 널리 사용되는 마우스, 랫드와 달리 사회적인 습성, 감정표현 등의 고등적 정서를 표현할 수 있으며 생리적으로도 보다 사람과 밀접한 생물학적 및 약동학적 특성을 지니고 있어서 마우스, 랫드 등에 적용하기 어려운 인간질환의 모델로 유용하기 때문이다.

우리나라의 가장 대표적인 고유의 견종으로 진돗개는 그 뛰어난 충직성, 용맹성, 영민성, 청결성 등의 특징 때문에 많은 사람들의 사랑을 받고 있고 세계적인 견종으로 발돋움할 잠재력을 지니고 있는 유전자원이다. 따라서 정부에서는 진돗개를 천연기념물 제 53호로 지정하여 보호육성하고 있다. 그러나 진돗개는 아직까지 하나의 견종으로서 혈통이 고정되어 있지 않은 상태이라 상당히 다양한 형태와 품성을 나타내고 있다. 풍산개는 북한의 대표적인 견종이며 조용하면서도 사냥에 있어서는 날쌔고 용맹하며 끈기있는 성품을 지니고 있어 육종 노력에 따라서는 진돗개를 능가하는 우리의 우수한 잠재적 유전자원으로 생각되고 있다. 그러나 현재 남한에서 사육되고 있는 풍산개는 그 혈통의 순수성에 대한 신뢰를 확보하지 못하고 있다. 아마도 이러한 이유로 인하여 국내에서 진돗개의 유전적 다양성이나 특성에 관한 연구는 상당히 이루어진 반면 또다른 우리의 우수한 토종유전자원인 풍산개의 유전적 특성에 대한 연구는 전무한 실정이다.

우리나라는 생명과학기술을 21세기를 선도하게 될 두뇌기술로 보고 이 분야를 세계수준으로 발전시키기 위하여 많은 노력을 기울이고 있다. 생명과학의 모든 분야에는 반드시 실험동물이 필요하며 국내에도 통상적인 설치류 뿐 아니라 다양한 목적을 위하여 다양한 종류의 실험동물에 대한 수요가 급증하고 있다. 국내에서도 일부 비글견을 생산하는 농장이 있으나 국내생산 비글견의 품질이 외국의 것에 비해 그 신뢰성이 떨어지기 때문에 아직도 대부분의 비글견이 수입되어 사용되고 있다. 그 이유 중 하나는 국내생산 비글견이 혈통관리와 유전적 균질성 확보에 있어 문제가 있다는 인식이다. 그러므로 최근의 발달된 분자유전학적 기법에 의한 혈통확인과 계통보존기술의 개발이 시급한 실정이다. 한편, 외국에서 대중적 인기를 확보하고 있는 그레이하운드 경견산업이 국내에 도입될 준비가 이루어지고 있고, 이들은 특히 체계적 혈통관리에 의한 우수능력견의 육종이 중요하다. 또한 경비견, 경찰견, 군견 등으로 가장 광범위하게 사용되고 있는 셰퍼드의 혈통관리도 국가적으로 중요한 문제이다. 또한 이들 토종견이나 실험견 농장의 경쟁력을 높이기 위하여는 집단사육에 의한 위생 및 번식상의 문제점을 파악하고 생산능력을 최적화하는 연구가 필요하다.

본 연구는 토종견, 실험견, 경비 및 경견 생산농가의 애로사항인 혈통관리기법을 확립하고자 시작하였다. 본 연구의 혈통관리기법 개발에 사용하게 될 microsatellite는 short tandem repeat (STR)이라고도 불리우며 2개 내지 4개 단위의 염기가 연속적으로 반복되는 구조를 가진 DNA 부분으로, 게놈 전체에 걸쳐 고루 분포하고 한다. Microsatellite는 개체에 따라 반복되는 단위의 수가 달라 상당히 높은 다형현상을 보이며 이러한 반복수는 멘델의 유전법칙에 따라 유전되므로 집단의 유전특성분석, 개체식별 및 친자감별에 강력한 도구로 이용될 수 있다. 더욱이 Microsatellite는 그 길이가 수백 bp 이내로 짧기 때문에 중합효소연쇄반응(Polymerase Chain Reaction, PCR)에 의하여 쉽게 증폭하여 그 대립유전자의 길이를 전기영동으로 정확하게 결정할 수 있다. 그러므로 그 분석과정이 Southern blot 기술이 필요한 유전자지문법보다 훨씬 간편하고 대립유전자의 크기결정과 통계적인 분석도 명확한 이점이 있다(Pena & Chakraborty, 1994; Heyen 등, 1997).

이미 선진외국에는 이 microsatellite marker들을 이용한 혈통검사법이 보편화되어 있어 순종견의 혈통등록시 그 정확성을 검증하는 도구로 이용되고 있다. 예를 들어 미국애견협회(American Kennel Club)에서는 혈통등록을 신청하는 전문번식가 중 일부를 무작위 추출하고 자견과 부모견의 구강샘플 DNA을 채취, 분석하여 그 등록의 정확성을 검증하고 있다(<http://www.akc.org/>). 그러나 가계분석에 사용되는 microsatellitea 마커의 종류, 그 대립유전자 빈도분포에 관한 자료와 분석기술은 외국의 기업과 연구소에서 공개하지 않고 있으며 설사 공개하더라도 국내견의 대립유전자 빈도 구조가 다를 수 있으므로 독자적인 마커개발과 자료구축이 필요하다.

2. 경제·산업적 측면

지난 수 십 년동안 동물보호가들의 운동에 힘입어 선진외국에서 동물실험은 엄격한 감시 하에 시행되고 있다. 특히 개는 높은 지능을 가지며 애완동물(혹은 반려동물)로서 인간과 깊은 유대관계를 가지고 있기 때문에 실험동물로서의 개의 사용은 더 세밀히 감시되고 있다. 그러므로 이들 국가에서 엄격한 규제에 맞추어 개를 사육하여 실험동물로서 사용하는 것은 커다란 비용이 필요한 일이다. 우리나라도 실험동물의 생산과 관리기준을 국제적인 표준에 맞도록 개선해 나가야 할 것이므로 실험견의 생산산업이 경쟁력을 갖추기 위하여는 지금부터 지속적인 연구와 투자가 있어야 할 것이다. 국내생산 실험견은 장시간의 수송에 따른 스트레스를 피할 수 있기 때문에 과학적인 관리에 의해 품질이 일정한 생산시스템을 갖추면 수입하고 있는 실험견은 쉽게 국내산으로 대체될 수 있다.

근래에 우리나라에서도 애완동물(반려동물)에 대한 관심이 증대되면서 애완견 또는 경비견, 사냥견으로서 개를 키우는 가구가 급격히 증가하고 있다. 전국의 애완견 숫자는 300만에 이르는 것으로 추산되고 있다. 애완동물 관련산업의 총 매출액은 2002년 현재 연 2조원에 육박하는 것으로 알려져 있으며, 매년 20-30% 씩 폭발적인 성장을 하고 있다. 진돗개는 진도군의 농가소득향상에 커다란 기여를 하고 있다. 최근에 소개되기 시작한 북한산 풍산견의 혈통이 유전

자검사에 의하여 신뢰성을 얻고 풍산개 단지를 조성하여 대중화된다면, 진돗개에 못지 않은 농가소득원이 될 잠재력을 갖고 있다. 외국 유래 견종들도 부업 또는 전업으로서 농가의 소득증대에 기여할 수 있다.

3. 사회·문화적 측면

진돗개는 우리나라의 가장 대표적인 고유의 견종으로 그 뛰어난 충직성, 용맹성, 영민성, 청결성 등의 특징 때문에 많은 사람들의 사랑을 받고 있고 세계적인 견종으로 발돋움할 잠재력을 지니고 있는 유전자원이다. 한편 풍산개는 북한의 대표적인 견종으로 진도견 못지 않은 용맹성과 민첩성, 영민함이 있으면서 사람에게 대하여는 온순하다. 도시화된 현대인에게는 좀더 사회성이 높은 성질의 개들이 필요하기 때문에 풍산개는 커다란 잠재성이 있는 토종견으로 생각되고 있다. 국내에는 지난 93년부터 중국교포나 재일교포를 통하여 일부 풍산개가 반입되어 현재 수천마리 정도에 이르고 있다. 그러나 이들이 북한 풍산군에서 유래한 순종견인지는 의문의 여지가 있다. 그러므로 이들의 유전적 특징에 대한 조사는 이들 개들의 유래를 밝히는 데 도움을 줄 것이며, 진도견 등 다른 토종견의 자료와 비교하여 국내 견종들 사이의 근연관계 및 부근 아시아국가들의 견종과의 진화학적 근연관계를 밝힘으로 국내 고유 유전자원의 보호와 육성에 이바지할 수 있다. 궁극적으로 남북교류의 활성화로 풍산개에 대한 남북의 공동연구가 이루어질 때 기초자료로서 유용한 지침이 될 것이다.

순종견의 혈통은 순종견끼리의 교배에 의하여 이어지게 되는데 같은 순종견이라도 그 개체의 품종으로서 완성도는 그 가계의 혈통과 환경에 따라 많은 차이가 있다. 그러므로 애견인들은 순종견의 가계보를 중요시하게 되는데 이러한 가계의 혈통기록을 유지하기 위하여 각 나라에는 순종견의 혈통을 등록하고 혈통서를 발급하는 애견협회가 있다. 미국에는 미국애견협회(AKC, American Kennel Club)가 있고 영국에는 UK Kennel Club이 있어 이러한 협회에 등록된 혈통서는 순종과 가계혈통의 보증으로 신뢰되고 있다. 우리나라에도 크고 작은 여러 애견협회와 토종견협회들이 있으나 이러한 협회들에서 발행하는 혈통서는

선진외국에서와 같은 권위와 신뢰를 확보하고 있지 못한 실정이다. 그 중요한 이유 중의 하나는 현재 혈통등록은 번식가가 신고하는 대로 인정할 수 밖에 없는 실정인데 적지 않은 번식가들이 실수로 또는 고의로 잘못된 혈통관계를 등록하고 있다는 의심을 받고 있기 때문이다. 이러한 불신은 진돗개 등 국내 토종견에서도 마찬가지로 퍼져 있으며 이것은 국내 토종견의 건전한 보급과 혈통유지 및 고정사업에 커다란 장애요인으로 작용하고 있다. 그러므로 이러한 의심을 해소시킬 수 있다면 국내 토종견의 유전자원을 보호육성하고, 더 나아가서는 건전한 애견문화를 정착시키는데 커다란 기여를 할 수 있을 것이다. 국내 토종견의 혈통등록을 유전자감식법에 의하여 검증토록 하면 그 신뢰도를 비약적으로 높일 수 있다. 혈통등록과 관련된 의혹을 제거함으로써 토종견을 구입하는 애견가는 믿고 훌륭한 혈통의 개를 구입할 수 있을 것이며 좋은 혈통의 개를 생산하는 농가는 투자한 노력만큼의 보상을 받을 수 있을 것이다.

제 2 절 연구개발의 목표와 범위

1. 혈통확립을 위한 개체식별 및 친자감별 기술개발: 토종견인 풍산개와 진돗개, 실험견인 비글견, 경비견인 셰퍼드, 경견 목적의 그레이하운드에서 혈통관리를 위한 개체/친자확인에 최적의 표준 microsatellite marker를 선정하고 국내의 각 견종별 집단의 대립유전자 빈도를 조사하고 분석방법을 표준화하여 현장에 응용한다.

2. 토종견의 유전특성 조사: 각 견종에서 microsatellite marker의 유전적 다양성을 조사하고 유전적 특성을 규명하며 견종사이의 유전적 근연관계를 분석한다.

3. 생산능력 최적모델 개발 및 생리형태특성연구: 국내 풍산견 사육실태와 생리형태적 특징에 대한 기초자료를 조사하고 효율적인 번식질병관리와 혈통확립에 응용한다.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

최근에 사람을 포함한 동물의 유전적 특성 및 다양성연구, 개체식별 및 친자감별을 위한 빠르고 간편한 방법으로 microsatellite 분석법이 이용되고 있다. 그러나 microsatellite는 minisatellite 만큼 다형성이 높지 않을뿐더러 대부분의 순종견은 근친교배로 인하여 유전적다양성이 상당히 상실된 상태에 있으므로 그 효용가치가 떨어질 염려가 있다. 그러나 Zajc 등(1994), Binns 등(1995), Zajc과 Sampson(1996), 그리고 Fredholm과 Wintero(1996)은 microsatellite를 이용하여 여러 품종의 개에서 효과적인 친자감별이 가능함을 보여주었다.

선진외국에서는 이러한 유전자분석 친자감별과 개체확인법을 혈통관리에 이용하는 서비스가 일반화되어 여러 대학과 개인실험실에서 개를 포함한 여러 동물에서의 유전자감식 서비스를 제공하고 있다(Lyon 등, 1989; <http://www.vgl.ucdavis.edu/>). 사람, 말, 소, 개에서 이미 표준화된 marker들의 분석 kit를 판매하고 있고, 유전자감식 서비스를 상업적으로 제공하고 있다. 예를 들어 미국애견협회(American Kennel Club)에서는 1998년부터 전문적인 번식업자에 의하여 혈통등록되는 순종견에 대하여 DNA 검사를 의무화하였다(<http://www.akc.org/>). 그러나 이러한 친자감별 및 개체확인 서비스를 제공하는 대학이나 민간연구소는 그 근거가 되는 표준 marker의 종류, 그 대립유전자의 출현빈도에 관한 자료는 공개하지 않고 있다. 설사 표준 marker 및 그 대립유전자 분포 자료가 있더라도 우리 고유의 토종견인 진도개, 풍산개 등의 대립유전자 분포는 외국 품종과 상당히 다를 것으로 예상되므로 외국의 자료를 그대로 사용할 수는 없다. 외국에서 들어 온 품종일지라도 국내에 들어온 견종들의 대립유전자 분포는 외국의 것과 상당히 다를 가능성이 있다. 그러므로 microsatellite 마커를 개에서의 개체확인 및 친자감별에 이용하기 위하여는 국내 토종견 및 외래견종 전체에 걸친 대립유전자 분포에 관한 자료를 축적하고, 이들 중 여러 견종에 걸쳐 가장 다형성 정도가 높고 PCR 증폭의 안정도가 높으며 multiplex PCR이 가능하여 사용하기 간편한 marker를 선정하여 국내 개에서의 유전자감식에 표준 marker로서 이용하여야 할 것이다.

국내에서도 사람에서는 유전자감식에 의한 개인확인 및 친자감별이 일반화되어 범죄수사나 시신확인 등 법의학에 활용되고 있다. 말, 소, 돼지 등에서도 microsatellite 분석에 의한 개체확인이나 친자감별이 혈통보전과 육종개량에 응용되고 있으나(Chung 등, 1997) 국내에서 아직 개에서의 유전자감식에 의한 친자감별에 대한 연구는 이제 초기단계이다.

제 3 장 연구개발 수행내용 및 결과

제 1 절 혈통확인을 위한 개체식별 및 친자감별 기술개발

1. 추진전략

가. 수동식 아크릴어마이드 젤 전기영동을 이용한 DNA typing 시스템

Stutter band 현상을 극복하기 위하여, 기발표된 tetranucleotide repeat microsatellite 유전좌 (Francisco 등, 1996) 만을 유전자 감식을 위한 마커로서 고려하였다. 가장 polymorphic information content (PIC)가 높은 22개의 예비 microsatellite marker를 선정하여 primer 쌍을 합성한 후 진돗개와 풍산견 약간씩의 샘플을 대상으로 안정적인 증폭 여부와 대립유전자 크기의 분포에 의한 젤에서의 분석 용이성을 조사한 결과 11개의 표준 마커를 선정하였다. 이들 유전좌의 genotyping을 진돗개, 풍산개, 비글견 3 품종에서 각각 40 - 50 마리의 샘플로 실시하여 대립유전자 빈도분포를 얻었다. 이 데이터를 이용하여 heterozygosity, PIC value, Mean exclusion power를 계산하여 표준마커들의 개체식별 및 친자감별에서의 유용성 여부를 검정하였다.

나. 자동화 시퀀서를 이용한 DNA typing 시스템

수동식 젤을 이용한 분석법은 특별한 장비가 필요없고 저렴하여 보통의 실험실 조건에서 쉽게 수행할 수 있는 장점이 있는 반면, 실험자의 숙련도와 실험 조건에 의하여 결과의 신뢰도와 안정성이 쉽게 영향을 받고 대량의 샘플을 한꺼번에 처리하는데 문제가 있다는 단점이 있다. 따라서 본 연구는 자동화된 genotyping 방법을 이용하는 분석에 사용될 14쌍의 프라이머를 다시 선정하여 5가지 품종에서의 대립유전자 빈도분포를 조사하였다. 수동식 방법과 마찬가지로 heterozygosity, PIC value, Mean exclusion power를 계산하여 표준마커들의 개체식별 및 친자감별에서의 유용성 여부를 검정하였다.

2. 추진방법 및 결과

가. 수동식 아크릴어마이드 젤 전기영동을 이용한 DNA typing 시스템

1) 추진방법

가) Microsatellite marker의 선정: 보고되어 있는 문헌(Francisco 등, 1996; Mellersh 등, 1997)을 조사하여 11개의 microsatellite 시험 marker를 선정하였다. 통상적인 acrylamide gel이나 agarose gel에서도 band 사이의 구분을 쉽게 하고 stutter band로 인한 mistyping을 예방하기 위하여 tetranucleotide repeat microsatellite 만을 마커로 선정하여 primer를 합성 의뢰하였다. 가능한 한 PIC (polymorphic information content) value와 heterozygosity가 높은 것을 선정함으로써 exclusion power를 높이도록 하였다. 선정된 11개의 마커에 관한 정보는 Table 1에 요약되어 있다.

나) 동물 샘플링 : 경기, 강원 지역의 전문번식장 및 경비견 훈련소 등에서 가능한 근연관계가 먼 개체들로 진돗개 (N=16), 풍산개(N=50), 셰퍼드(N=16)의 구강상피세포를 채취하거나 혈액을 채취하였다.

다) DNA 준비 : DNA 추출을 위한 세포를 얻기 위해 구강내벽을 칫솔로 5-6회 문질러 phosphate buffered saline (PBS, 0.01M NaPO₄, pH 7.0) 3ml에 담그어 흔든 후 원심분리 하였다. 세포는 lysis buffer(100mM EDTA, 10mM Tris-Cl, 1%(w/v) SDS, 100 μ g/ml proteinase K, pH 8.0) 200 μ l에 60 $^{\circ}$ C에서 1시간 녹인 후 다시 원심분리하여 이물질 제거한다. 이물질이 제거된 lysate에 isopropanol 500 μ l를 첨가하여 DNA를 침전시키고 Wizard DNA Clean Up System (Promega)을 이용하여 정제한 후 PCR 반응에 이용하였다.

라) PCR : PCR mixture 조성은 10mM Tris-HCl(pH 8.3), 50mM KCl, 1.5mM MgCl₂, 0.001% (w/v)gelatin, 0.2mM dNTPs, 0.5 μ M primer, 0.75 unit

Taq polymerase으로 하며 template으로 10-20 ng의 genomic DNA를 사용하였다. 반응 조건은 touch down 기법으로 annealing 처음 시작온도에서 3 cycles에 1°C씩 낮추면서 35cycle의 반응을 진행시켰다. 반응 조건이 민감한 marker에 대해서는 처음 10 cycle의 annealing 온도는 높은 온도에서, 다음 25 cycles는 처음보다 2°C 낮은 온도에서 반응을 진행하였다. 모든 경우에 첫 번째 denaturation은 94°C에서 5분, 나머지 34 cycles의 denaturation은 35초로 하고, annealing은 40초, extension 72°C 40초, 마지막 extension은 5분 동안 반응시켰다.

마) Electrophoresis: 전기영동은 crosslinker로 piperazine di-Acrylamide를 이용한 polyacrylamide gel을 사용하였고 Separating gel (T : 8%, C : 3% : 375mM Tris-Cl, 1mM EDTA pH 9.0) 15cm와 stacking gel (T : 4%, C : 3% : 125mM Tris-Cl, 1mM EDTA pH6.8) 1cm를 결합시켜 사용하였다. 전기영동 buffer로는 1x TGE (25mM Tris, 0.2M glycine, 1mM EDTA)를 사용하여 250V에서 4-6시간 전개시켰다.

바) Silver Staining: 전기영동이 끝난 후 유리판에서 gel을 떼어내 10% acetic acid에 부드럽게 흔들면서 30분 이상 담그어 둔 후 Staining 용액 (1g/ℓ AgNO₃, 0.05% formaldehyde)에 35분 간 담가두었다. 염색 후 gel을 증류수에 가볍게 3-4회 씻은 후 developing solution (10g/ℓ Na₂CO₃, 0.02% formaldehyde, 0.6mg/ℓ Na₂S₂O₃)에 band가 보일 때까지 담가 놓았다. 모든 과정은 부드럽게 흔들면서 진행하였다. 염색된 gel은 blotting paper에 붙여 gel dryer로 말린 후 보관하였다.

사) 결과분석: 전기영동한 polyacrylamide gel은 GS-670 Imaging Densitometer (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)를 이용하여 scan하고 Multi-Analyst image analysis computer program (Bio-Rad, Version 1.1)을 이용하여 DNA의 크기를 계산하였다. DNA size marker로는 20bp DNA Ladder (Takara)를 사용하였다. Heterozygosity는 Hardy-Weinberg assumption으로부터 기대치를 구하였으며, Botstein 등(1980)에 의해 제시된

PIC value는 다음과 같이 계산하였다.

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n P_i^2 - 2 \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n P_i^2 P_j^2,$$
 P_i 는 i 번째 allele의 빈도수이며 n 은 allele의 개수이다.

부모 중 한쪽의 genotype 정보만이 가용한 경우의 average exclusion probability와 양 부모의 genotype 정보가 모두 가용한 경우의 average exclusion probability 및 개별 exclusion probability를 포함한 모든 분석은 Marshall 등(1998)에 의한 CERVUS (Version 1.0, The University of Edinburgh, 1988; <http://helios.bto.ed.ac.uk/evolgen/cervus/>) perantage testing computer program에 의하여 계산하였다.

Table 1. Information on microsatellite loci used for manual genotyping experiments (Francisco et al., 1996; Mellersh et al., 1997).

Marker name	Sequence	Annealing Temp.	Repeat Unit	PIC	Linkage Group	
2004	forward reverse	ctaagtggggagcctcctct actgtgacctactgaggttgca	58°C	(GAAA)13	0.79	L 17
2016	forward reverse	cattttaaggatggagacagc aacagtgtcccatggcctac	58°C	(GAAA)25	0.76	L 1
2097	forward reverse	caatgtcgaattccatggtc atggagcaagatgtgtttgtg	58°C	(GAAA)16	0.70	L 2
2132	forward reverse	cactgggagtggagactgct tgcacagccaactagaggtg	60°C	(GAAA)35	0.85	L 21
2146	forward reverse	gggctccactaagcactatct taccataacaaaggcaaggc	58°C	(GAAA)86	0.85	L 3
2149	forward reverse	catggagcctgcttatccat aacccttagccaccag	58°C	(GAAA)53	0.76	L 5
2158	forward reverse	atggccacatcacctagtc ctctctctgcatctctcatgaa	58°C	(GAAA)44	0.86	L 22
2161	forward reverse	tcagcaagaaacctccagt cattccaacggaggactct	58°C	(GAAA)21	0.70	L 25
2164	forward reverse	gattatgactcgaaccaaaggc tggaggaagttcattaagcagc	58°C	(GAAA)25	0.76	L 14
2165	forward reverse	ggatggagtcccacatcg cctcaccacaattcttttagc	58°C	(GAAA)43	0.91	L 10
2175	forward reverse	ttcattgatttctcattggc aggactctaaaaactgcctcc	58°C	(GAAA)18	0.78	L 13

* Each microsatellite marker was grouped into A, B, or C according to its amplification condition for simultaneous PCR reaction in a group.

2) 결과

각각의 Microsatellite marker를 분석하기 위한 가장 적당한 증폭조건은 Table 2와 같았다.

Table 2. Amplification conditions of each microsatellite makers.

Marker	Amplification condition	Amplification group*
2004	65→55 - 60→50°C	A
2016	57→55°C, <57°C	B
2097	57→55°C, <57°C	B
2132	66→55 - 59→49°C	A
2146	57→55°C, <57°C	B
2149	57→55°C, <57°C	B
2158	64→54 - 60→50°C	A, B
2161	62→52 - 59→49°C	A
2164	64→54 - 60→50°C	A, B
2165	64→54 - 60→50°C	A
2175	51→49°C, <51°C	C

* Each microsatellite marker was grouped into A, B, or C according to its amplification condition for simultaneous PCR reaction in a group (Chae, 1999)

위 표에서 증폭그룹은 여러 marker를 동시에 증폭할 수 있도록 비슷한 증폭 조건에 따라 나누었으며 A 그룹은 ‘touch down’ 방식을 따라 B 및 C 그룹은 2 step 방법으로 증폭하였다. PCR 산물의 크기는 개 전체 집단 of 대립유전자 분포에서 얻어진 결과이다. 각각의 microsatellite marker들에 대해서 진돗개, 풍산개 및 German shepherd의 DNA sample을 증폭하여 전기영동한 사진의 일부와 이들의 allele 분포도를 Fig. 1에서 15까지 나타내었다.

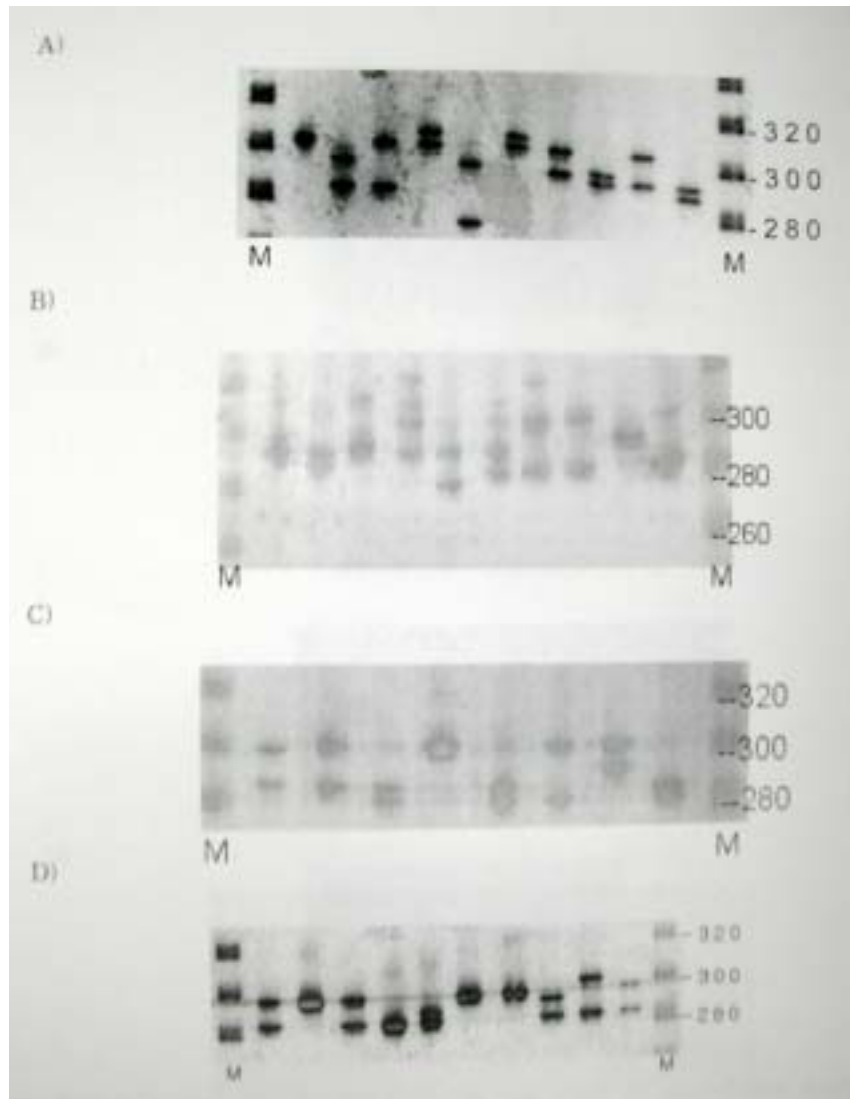


Fig. 1. A representative polyacrylamide gel (8%) of microsatellite marker 2097 genotyping in Jindo dog (A, inland; B, Jindo island) and Poongsan (C) and Shepherd (D) by PCR analysis. The bands were visualized by silver staining. The stained gel was scanned and analyzed with Geldoc 2000 and Quantity-one image analysis program (Bio-Rad, Hercules, CA, USA). The numbers indicate sizes (bp) of the standard size marker DNAs.

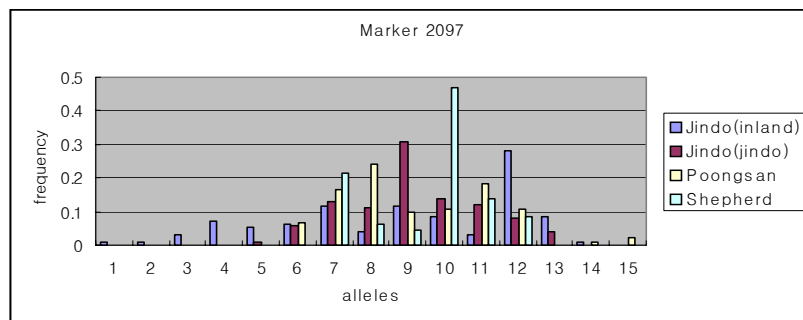
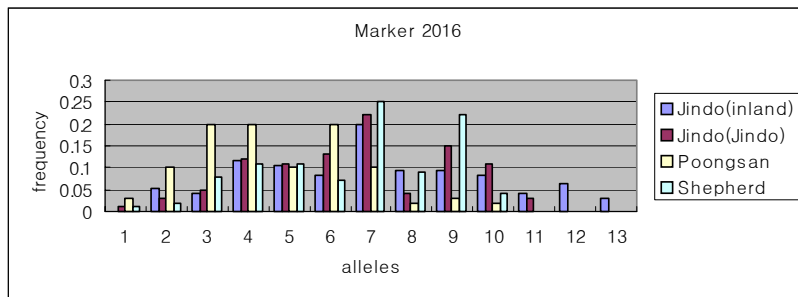
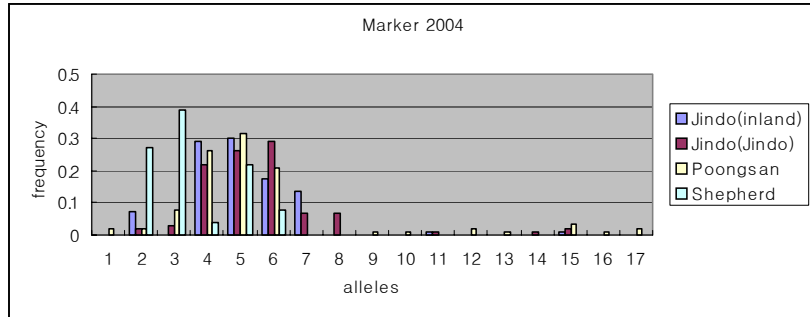


Fig. 2. Histograms of allele frequency distribution of microsatellite markers 2004, 2016, and 2097 in Jindo, Poongsan and Shepherd.

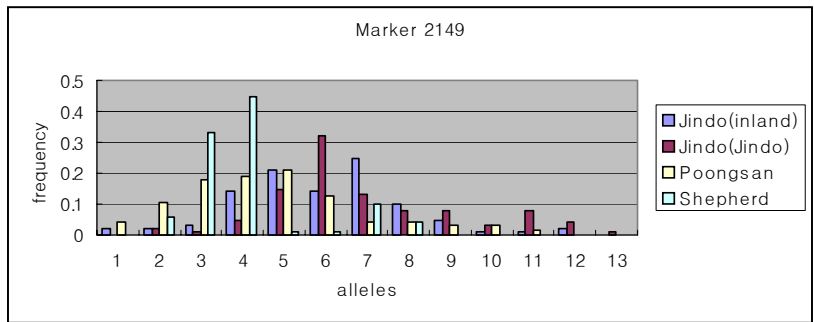
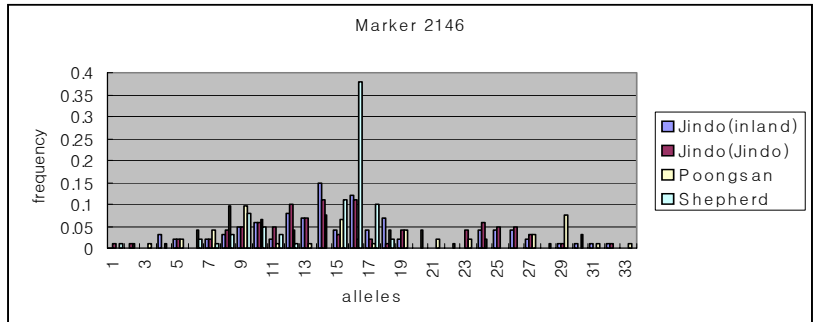
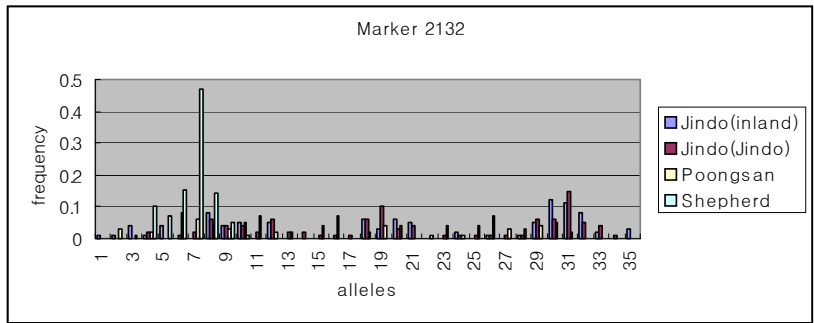


Fig. 3. Histograms of allele frequency distribution of microsatellite markers 2132, 2146, and 2149 in Jindo, Poongsan and Shepherd.

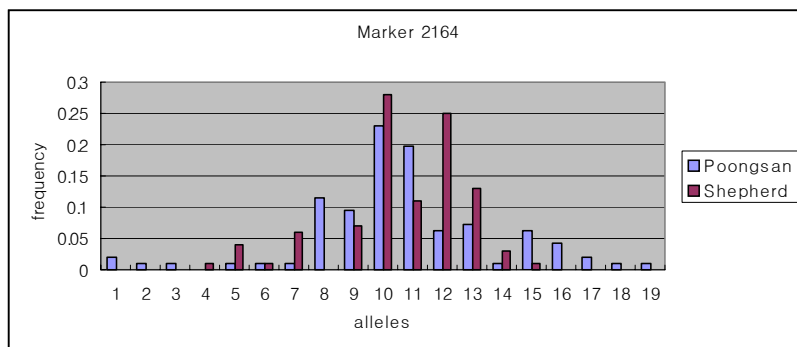
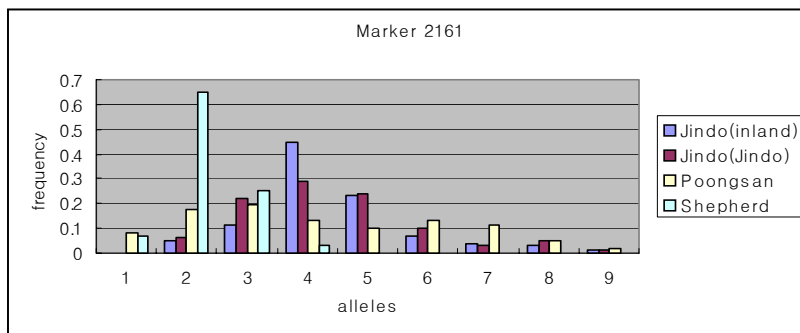
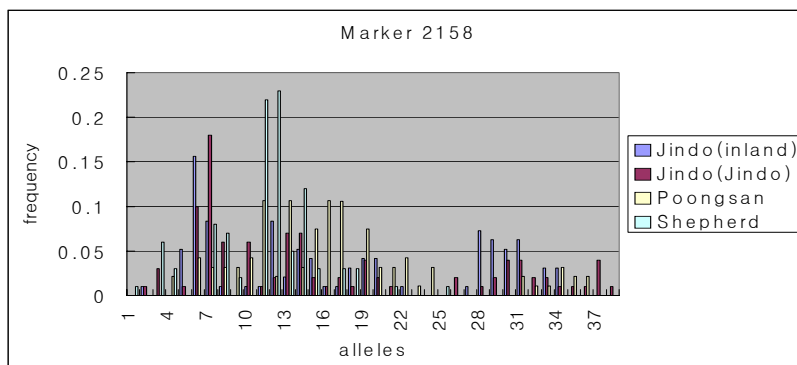


Fig. 4. Histograms of allele frequency distribution of microsatellite markers 2158, 2161, and 2164 in Jindo, Poongsan and Shepherd.

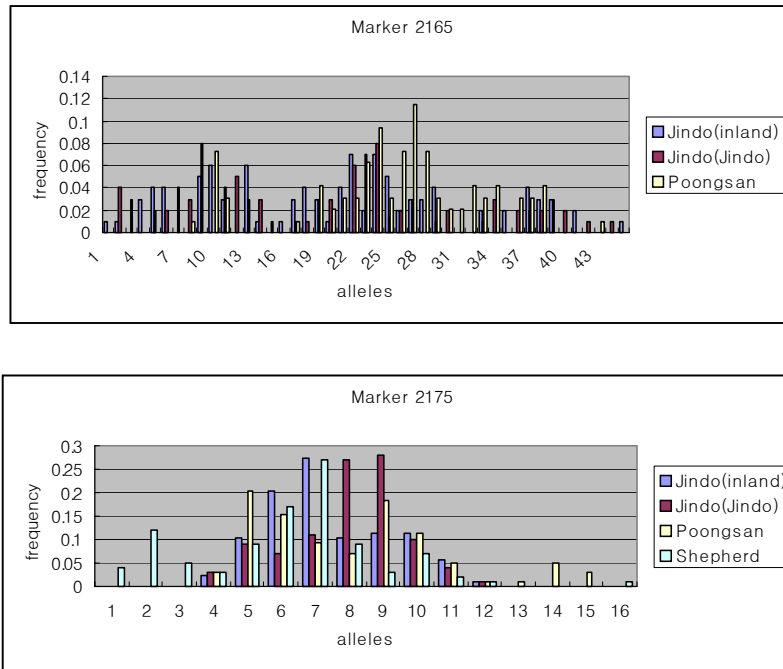


Fig. 5. Histograms of allele frequency distributions of microsatellite marker 2165 and 2175 in Jindo, Poongsan, and Shepherd.

Table 3. Size range and number of alleles in each breed

marker	Jindo (inalnd)		Jindo (Jindo)		Poongsan		Shepherd	
	size range	N	size range	N	size range	N	size range	N
2004	230-318	7	230-318	10	226-326	13	230-246	5
2016	285-329	12	281-321	11	281-317	10	281-317	10
2097	257-317	14	277-309	9	281-321	9	285-305	6
2132	241-389	22	253-381	29	245-369	26	253-277	7
2146	327-443	23	315-443	23	319-451	30	215-423	15
2149	291-335	12	295-339	12	291-331	11	295-319	7
2158	271-515	23	255-535	30	267-523	25	232-379	16
2161	243-271	8	243-271	7	239-271	9	239-251	4
2164	-	-	-	-	277-369	18	301-349	11
2165	303-495	30	311-491	34	335-487	24	-	-
2175	243-271	9	243-275	9	243-287	12	227-331	13
Average		16.0		17.4		17.0		8.54

Table 3에 각 마커들의 대립유전자 수와 그 크기의 범위를 나타 내었다. 2175 마커를 제외하고 다른 모든 마커에서 진돗개와 풍산개가 셰퍼드보다 대립유전자 수가 많았다. 셰퍼드에서는 2158에서 가장 많은 대립유전자가 있었고 풍산개에서는 2146이 대립유전자 수가 가장 많았다. 진돗개에서는 진도와 내륙 모두에서 2165가 가장 대립유전자 수가 많아 진도에서는 30개, 내륙에서는 34개를 보였다. 대립유전자 크기의 범위는 진돗개와 풍산개에서 비슷하였고 두 견종이 모두 셰퍼드보다 넓은 범위를 가졌다. 2158 마커의 범위는 특이한 경향을 보였는데 세 견종 모두에서 270 - 340 사이에 공통되는 대립유전자가 있었으나 진돗개와 풍산개에서는 셰퍼드에 없는 480 - 530 사이에 추가적인 대립유전자 범위가 존재하였고 이범위의 대립유전자는 진돗개에 더 빈번하였다. 전체적인 평균 대립유전자 수는 진돗개와 풍산개가 비슷한 수준인 16 - 17.4 이었으며 셰퍼드는 그 반 정도에 불과한 8.5 정도였다.

Heterozygosity와 chi-square 검정결과가 Table 4와 Table 5에 제시되어 있다. 대립유전자 수에서와 마찬가지로 진돗개와 풍산개는 0.85 이상의 높은 expected heterozygosity를 보였고 셰퍼드는 이보다 낮은 0.751이었다. 일반적으로 observed heterozygosity보다 expected heterozygosity 값이 높았으며, Hardy-Weinberg 평형에 대한 chi-square 검정결과에서 observed heterozygosity와 expected heterozygosity 사이에 유의성있는 차이를 나타내는 마커는 내륙의 진돗개에서 1개, 진도의 진돗개에서 5개, 풍산개와 셰퍼드에서 각각 6개 씩 관찰되었다.

Table 4. Heterozygosity of microsatellite markers in each breed.

marker	Jindo (inland)		Jindo (Jindo)		Poongsan		Shepherd	
	Ho	He	Ho	He	Ho	He	Ho	He
2004	0.583	0.768	0.480	0.788	0.391	0.781	0.540	0.718
2016	0.937	0.894	0.780	0.867	0.780	0.847	0.760	0.843
2097	0.750	0.864	0.740	0.829	0.782	0.844	0.489	0.705
2132	0.857	0.932	0.900	0.936	0.959	0.951	0.571	0.717
2146	0.900	0.928	0.860	0.935	0.914	0.946	0.580	0.813
2149	0.800	0.849	0.680	0.833	0.791	0.856	0.340	0.673
2158	0.958	0.931	0.820	0.929	0.808	0.938	0.780	0.862
2161	0.408	0.720	0.580	0.792	0.795	0.846	0.380	0.509
2164	-	-	-	-	0.708	0.869	0.460	0.818
2165	0.920	0.958	0.840	0.957	0.791	0.941	-	-
2175	0.840	0.833	0.740	0.810	0.734	0.867	0.700	0.856
mean	0.795	0.867	0.742	0.867	0.768	0.880	0.560	0.751

Table 5. Chi-square test for Hardy-Weinberg equilibrium

marker	Jindo (inland)		Jindo (Jindo)		Poongsan		Shepherd	
	χ^2	p-value	χ^2	p-value	χ^2	p-value	χ^2	p-value
2004	3.2169	0.0729	10.8466	0.0010	19.2864	0.0000	4.0731	0.0436
2016	0.6405	0.4235	4.5210	0.0335	0.0000	1.0000	0.4356	0.5093
2097	2.4746	0.1157	2.1061	0.1467	0.0897	0.7646	7.5885	0.0059
2132	0.1244	0.7243	4.3253	0.0376	0.3872	0.5338	0.4770	0.4898
2146	0.0192	0.8897	4.0608	0.0439	0.9195	0.3376	12.0375	0.0050
2149	0.4356	0.5093	0.0061	0.9378	6.5152	0.0107	20.2479	0.0000
2158	0.0354	0.8507	1.7483	0.1861	14.3409	0.0002	1.1708	0.2792
2161	21.9983	0.0000	21.7810	0.0000	0.5921	0.4416	3.1941	0.0739
2164	-	-	-	-	13.3946	0.0003	8.1916	0.0042
2165	0.2833	0.5946	1.7072	0.1913	11.3669	0.0007	-	-
2175	0.0430	0.8358	0.4165	0.5187	4.0731	0.0436	9.7641	0.0018

각 마커들의 PIC 값이 Table 6에 제시되어 있다. 풍산개와 진돗개는 평균 PIC 값이 0.85에서 0.87의 비슷한 값을 갖고 있어 셰퍼드의 평균 PIC 값 0.718 보다 높았다. 풍산개와 진돗개에서 PIC 값이 0.9를 넘는 유전좌도 네 개가 있었다(2132, 2146, 2158, 2165). 셰퍼드에서 PIC 값이 0.9가 넘는 유전좌는 하나도 없었으나 0.7이 넘는 것은 5개가 있었다. 전 견종에서 가장 낮은 값을 보인 마

커는 셰퍼드에서 2161 마커이었다(0.451).

Table 6. The PIC values of each marker

marker	Jindo (inland)	Jindo (Jindo)	Poongsan	Shepherd
2004	0.724	0.754	0.750	0.665
2016	0.885	0.858	0.824	0.826
2097	0.853	0.813	0.825	0.653
2132	0.929	0.933	0.948	0.681
2146	0.921	0.935	0.950	0.800
2149	0.822	0.804	0.840	0.619
2158	0.927	0.926	0.935	0.850
2161	0.686	0.772	0.849	0.451
2164	-	-	0.857	0.796
2165	0.957	0.956	0.937	-
2175	0.812	0.797	0.854	0.847
mean	0.851	0.854	0.869	0.718

세 견종에서 각 마커들의 Exclusion Power (EP) 값이 Table 7에 제시되어 있다. Exclusion Power 1 (EP1) 값은 알려진 친부나 친모의 유전자형을 모르는 상태에서 추정부(또는 추정모)와 자식의 유전자형을 비교하여 친생자 검사를 할 때, 친부가 아닌 임의의 추정부를 얼마나 배제할 수 있는지를 나타내는 확률을 의미한다. Exclusion Power 2 (EP2) 값은 알려진 친부나 친모 둘 중 하나의 유전자형을 아는 상태에서 추정부(또는 추정모)와 자식의 유전자형을 비교하여 친생자 검사를 할 때, 친부가 아닌 임의의 추정부를 얼마나 배제할 수 있는지를 나타내는 확률을 의미한다. 대략 EP2 값이 0.5 이상인 마커를 식별력이 좋은 것으로 간주한다면, 진돗개와 풍산개에서는 모든 마커의 EP2 값이 0.5를 넘었고, 셰퍼드에서는 여섯 개의 마커가 0.5 이상의 값을 보였다.

견종 별로 11개 또는 12개의 마커를 사용하였을 때 누적된 EP2 값은 진돗개와 풍산개에서 각각 0.999999와 0.999999였고 셰퍼드에서 0.9998이었다. 이것은 대략 풍산개 1000만 마리의 집단에서 한 마리의 친부(또는 친모)를 찾아 낼 수 있는 정도의 배제력을 지니고 있다는 말이며, 진돗개에서는 100만 마리에서, 그리고 셰퍼드에서는 5000마리에서 1마리를 찾을 수 있는 배제력을 지닌 것으로

생각할 수 있다. 이것은 대립유전자의 수, heterozygosity, PIC 값의 비교에서 보는 것처럼 셰퍼드보다 진돗개나 풍산개가 조사된 마커에서의 변이도가 훨씬 큰 것이 그 이유이다.

Table 7. Exclusion power of each marker.

marker	Jindo (inland)		Jindo (Jindo)		Poongsan		Shepherd	
	EP1	EP2	EP1	EP2	EP1	EP2	EP1	EP2
2004	0.365	0.543	0.409	0.586	0.406	0.583	0.296	0.467
2016	0.648	0.788	0.586	0.741	0.520	0.687	0.525	0.691
2097	0.585	0.740	0.503	0.673	0.521	0.688	0.289	0.470
2132	0.762	0.865	0.776	0.873	0.818	0.900	0.320	0.505
2146	0.841	0.851	0.779	0.876	0.823	0.903	0.493	0.667
2149	0.517	0.685	0.494	0.666	0.551	0.713	0.261	0.426
2158	0.757	0.861	0.758	0.862	0.781	0.876	0.577	0.732
2161	0.328	0.509	0.432	0.609	0.565	0.725	0.134	0.269
2164	-	-	-	-	0.592	0.744	0.476	0.649
2165	0.846	0.917	0.845	0.916	0.786	0.880	-	-
2175	0.499	0.670	0.476	0.649	0.580	0.735	0.570	0.727
Accumulated	0.9999	0.999999	0.9999	0.999999	0.99999	0.9999999	0.99	0.9998

나. 자동화 시퀀서(Genetic Analyzer)를 이용한 DNA typing 시스템

수동식 젤을 이용한 Genotyping 방법은 보통의 분자생물학 장비를 갖춘 실험실에서 간편하게 응용할 수 있는 이점이 있으나 대량의 샘플을 처리해야 하는 자동화에는 적합하지 않다. 따라서 자동화 시퀀서를 이용한 Genotyping 방법을 개발하였다.

1) 추진방법

가) DNA 샘플:

총 5종, 297마리의 개에서 구강상피세포 또는 혈액을 채취하였다. 풍산개는 (96마리) 전국에 산재한 농장, 진돗개는 (56마리) 진도와 경기 및 강원도의 농장과 훈련소, 셰퍼드는 (54마리) 경기도 일대의 농장, 비글은 (50마리) 국내 실험견 농장, 그레이 하운드는 (41마리) 전국의 농장에서 가까운 근친관계가 아닌 것으로 생각되는 개체들로부터 샘플을 채취하여 실험에 이용하였다. 그리고 실험을 통해 정립된 친자감별 체계를 이용하여 실제 친자감별 응용실험을 하기위해 친자관계로 생각되는 풍산개 4가계 (父, 母, 子가 1가계를 구성, trio case), 진돗개 3가계, 셰퍼트·비글·그레이 하운드 각각 1가계씩, 그리고 모견이 없이 부견과 자견으로 구성된 가계 (motherless case)를 각 견종에서 하나씩 선정하여 이들의 구강상피세포를 추가로 채취하였다.

나) DNA 추출:

구강상피세포: DNA 추출을 위한 세포를 얻기 위해 구강 내벽을 일회용 칫솔로 5~6회 문질러 phosphate buffer saline (PBS, 0.01M NaPO₄, pH 8.0) 5ml 에 담가 흔든 후 원심분리 하였다. 침전된 세포는 lysis buffer (100mM EDTA, 10mM Tris-Cl, 1% (w/v) SDS, 100µg/ml proteinase K, pH 8.0) 200µl에 60°C 에서 1시간 동안 녹인 후 다음의 과정을 수행하였다. 첫 번째로 동량의 phenol (equilibrated, pH 8.0)을 처리하여 세포 내 protein을 제거하였다. 혼합물은 3000rpm에서 10분간 원심분리하여 액체와 유기층으로 나누었으며, 상층부의 액체층을 취하여 새 1.5ml microfuse tube에 옮겼다. 두 번째로 동량의 phenol:

chloroform: isoamylalcohol (25: 24: 1)을 상층액에 처리하여 3000rpm에서 10분간 원심분리 하였고 상층액을 다시 새 tube에 옮겼다. 세 번째는 DNA 침전단계로 1/4 volume의 7.5M ammonium acetate, 동량의 100% isopropyl alcohol을 상층액에 더하였으며, -20℃에서 1시간 동안 incubation 시킨 후 12,000rpm에서 10분간 원심분리하여 DNA를 침전시켰다.

마지막으로 상층액을 버리고 70% ethanol 500 μ l로 침전된 DNA를 세척하여 salt를 제거한 후 12,000rpm에서 5분간 원심분리하고 상층액을 버렸다. 실온에서 pellet을 건조시킨 후 TE buffer (10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH 7.0) 200 μ l를 더하여 -20℃에서 보관하였다.

혈액: 1.5ml microfuge tube에 whole blood 500 μ l를 취하여 RBC lysis buffer (320mM Sucrose, 1% (v/v) Triton X-100, 5mM MgCl₂, 10mM Tris-HCl (pH 7.6)) 1ml를 가하여 잘 흔들어 적혈구를 파괴시킨 후 12,000 rpm에서 1분간 원심분리하고 상층액을 버렸다. 붉은 빛이 사라져 적혈구를 모두 제거할 때까지 RBC lysis buffer를 3~5회 반복하여 처리하였다. 이 반응이 끝나면 washing 용 TEN buffer (10mM Tris-HCl (pH 8.0), 1mM EDTA (pH 8.0), 100mM NaCl) 500 μ l를 침전물에 가하여 잘 섞은 후 12000rpm에서 5분간 원심분리하고 상층액을 버렸다. Digest용 TEN buffer (10mM Tris-HCl (pH 7.6), 10mM EDTA (pH 8.0), 150mM NaCl) 191 μ l, 20% SDS 6.25 μ l, proteinase K (20mg/ml) 2.5 μ l를 침전물에 가하여 60℃에서 2시간 동안 lysis 시켰다. 여기에 5 M NaCl 15 μ l를 가하여 12,000 rpm에서 10분간 원심분리 한 후 상층액을 새 tube에 옮기고 구강상피세포 추출방법의 DNA 침전단계로부터 동일한 과정을 수행하였다.

다) PCR:

Microsatellite는 Francisco 등 (1996)에 의해 보고된 tetranucleotide repeat sequence에 대한 primer들 중에서 비교적 polymorphic informative content (PIC) 값이 높은 primer를 선택하였다. 이들 중 forward primer에는 3가지 fluorescent dye (6-FAM, HEX, NED)로 labelling하여 이용하였다. 실험에 사용

한 마커의 이름과 labelling에 사용된 fluorescent dye는 table 8에 나타내었다. PCR mixture 조성은 10-100ng genomic DNA, 10mM Tris-HCl (pH 8.3), 50mM KCl, 1.5mM MgCl₂, 0.001% (w/v) gelatin, 0.2mM dNTPs, 각각 0.5uM의 forward와 reverse primer, 0.5 unit Taq-polymerase (Takara, Otsu, Japan) 이고 total volume은 15 μ l이었다. 반응조건은 touch down 기법으로 (Don 등, 1991) annealing 처음 시작 온도 62 $^{\circ}$ C에서 6 cycles, 61 $^{\circ}$ C 부터 3 cycles에 1 $^{\circ}$ C 낮추면서 24 cycles의 반응을 진행시키고 마지막 53 $^{\circ}$ C에서 6 cycles를 반응시켰다. 첫 번째 denaturation만 94 $^{\circ}$ C에서 5분간 반응시켰고 나머지 36 cycles의 denaturation은 35초, annealing은 35초, extension은 40초 동안 반응시켰다.

Table 8. Fluorescent dyes used for labelling microsatellite markers in this study.

Marker name	Fluorescent dye	Annealing Temp.	Productivity	Repetition
CVS-1	HEX	62→61-54→53 $^{\circ}$ C	Good	tetra repeat
CVS-2	6-FAM	62→61-54→53 $^{\circ}$ C	Good	(GAAA)25
CVS-3	NED	62→61-54→53 $^{\circ}$ C	Excellent	(GAAA)35
CVS-4	HEX	62→61-54→53 $^{\circ}$ C	Excellent	(GAAA)44
CVS-5	6-FAM	62→61-54→53 $^{\circ}$ C	Excellent	(GAAA)55
CVS-6	NED	62→61-54→53 $^{\circ}$ C	Good	(GAAA)13
CVS-7	6-FAM	62→61-54→53 $^{\circ}$ C	Excellent	(GAAA)21
CVS-8	6-FAM	62→61-54→53 $^{\circ}$ C	Good	(GAAA)18
CVS-9	NED	62→61-54→53 $^{\circ}$ C	Excellent	tetra repeat
CVS-10	HEX	62→61-54→53 $^{\circ}$ C	Excellent	(GAAA)30
CVS-11	HEX	62→61-54→53 $^{\circ}$ C	Excellent	(GAAA)25
CVS-12	NED	62→61-54→53 $^{\circ}$ C	Excellent	(GAAA)16
CVS-13	6-FAM	62→61-54→53 $^{\circ}$ C	Good	tetra repeat
CVS-14	NED	62→61-54→53 $^{\circ}$ C	Good	(GAAA)24

라) 전기영동:

PCR product의 전기영동은 ABI 310 genetic analyser (PE Applied Biosystems)에서 수행하였다. 전기영동을 하기 전 PCR product의 size, labelling 한 fluorescent dye의 종류에 따라 PCR product를 혼합하였다. 이것을 10배 희석한 후 2 μ l를 취하여 formamide로 60배 희석한 500-ROX standard

marker (PE Applied Biosystems) 10 μ l와 섞어 mixture를 만들었다. 본 실험에서는 한 개체 당 2개의 mixture (하나의 mixture 당 5개 locus의 PCR product를 섞었다)를 만들었다. 이것을 95 $^{\circ}$ C에서 10분간 incubation하여 denaturation시키고, 얼음에서 바로 cooling하였다. 60 $^{\circ}$ C에서 50분간 전기영동 한 후 GeneScan program (version 3.1.2, PE Applied Biosystems)을 이용하여 PCR product의 size를 분석하였다.

마) 결과분석:

실험을 통해 정립된 혈통관리를 위한 검사체계의 유효성을 검증하기 위해 observed heterozygosity (H_o), expected heterozygosity (H_e), PIC (Polymorphism Informatic Content) value, exclusion power 1, 2를 Cervus program (version 2.0, <http://helios.bto.ed.ac.uk/evolgen/cervus/cervusregister.html>, Marshall 등, 2001)을 이용하여 계산하였다. Heterozygosity는 Hardy-Weinberg Equilibrium으로부터 기대치를 구하였으며($Het = 1 - \sum_{i=1}^n P_i^2$), Botstein 등(1980)에 의해 제안된 PIC 값은 다음과 같이 계산하였다.

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n P_i^2 - 2 \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n P_i^2 P_j^2,$$

P_i , P_j 는 각각 i 번째 j 번째 대립유전자가 나타나는 확률이며 n 은 대립유전자의 갯수이다.

Exclusion power는 전체 집단에서 무작위로 개체를 선택했을 때 비교하고자 하는 개체간에 서로 같은 allele을 갖지 않을 확률로 친자감별시에 이용하는 marker가 어느 정도의 감별능력을 가지는 지를 나타내는 지표로 이용된다. Exclusion power 1 (EP1)은 모건과 부건 모두를 알 수 없는 경우의 확률이며 Exclusion power 2 (EP2)는 부모 중 하나는 알고 있는 경우에 적용된다. 그 계산은 Jameison 등 (1997)에 의하면 다음과 같다.

n 개의 allele을 가진 locus의 i 번째 allele frequency를 P_i 라하고 a_k 를 다음과 같이 가정하면

$$a_k = \sum_{i=1}^n P_i^k$$

$$EP1 = 1 - 4a_2 + 2a_2^2 + 4a_3 - 3a_4$$

$$EP2 = 1 - 2a_2 + 2a_3 + 2a_4 - 3a_5 - 2a_2^2 + 3a_2a_3$$

이 된다.

모든 locus에 대한 누적 EP 값인 combined EP는 다음과 같다.

Combined EP = 1-(1-marker1의 EP)(1-marker2의 EP).....(1-marker n의 EP)

각 건종 집단 내, 집단 간 유전적 구조를 알아보기 위해 F-statistics (Weir와 Cockerham, 1984)를 이용하여 5건종에 공통적으로 사용된 marker에 대한 F_{IS} 와 F_{ST} value를 구하였다. F_{IS} 는 한 아집단 내에서 비임의 교배에 의한 이형접합률의 감소정도를 나타내며, F_{ST} 는 집단의 분화에 의해서 야기되는 아집단내의 이형접합체의 감소정도를 나타낸다. 아울러 대립유전자의 독립성 검정을 위해 Guo와 Thompson (1992)이 제시한 정확검정 (Exact probability test)을 통해 markov chain method를 이용하여 유전자좌 내에서의 Hardy-Weinberg Equilibrium의 위배 정도를 알아보았다. F-statistics와 정확검정은 GENEPOP program (version 3.3, ftp://ftp.cefe.cnrs-mop.fr/genepop, Raymond와 Rousset, 1995)을 이용하여 수행하였다. 건종간의 유연관계를 알아보기 위해 Nei의 distance method (1972)를 이용하여 유전적 거리를 계산하였다.

$$\text{Nei's Distance} = - \ln \frac{\sum_m \sum_i P_{1mi} \cdot P_{2mi}}{[\sum_m \sum_i P_{1mi}^2]^{1/2} \cdot [\sum_m \sum_i P_{2mi}^2]^{1/2}}$$

P_{1mi} :population 1의 m번째 locus에 있는 i번째 allele의 frequency

P_{2mi} :population 2의 m번째 locus에 있는 i번째 allele의 frequency

그리고 이를 근거로 UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean) dendrogram을 작성하였다. 유전적 거리 계산과 UPGMA

dendrogram 작성은 TFPGA program (version 1.3, <http://bioweb.usu.edu/mpmbio/tfpga.htm>, Miller, 1997)을 이용하여 수행하였다.

본 연구에서 개발된 검사체계를 이용하여 실제 친자관계를 확률적으로 검증하기 위해 우도비 (Likelyhood Ratio (LR)) 계산을 통한 부권확률을 계산하였다. 우도비는 추정부가 자식의 생물학적 친부이어서 부성인자를 공유했을 확률이, 추정부가 친부가 아닌데도 불구하고 우연히 부성인자를 공유했을 확률에 비하여 얼마나 큰 가를 나타낸다. 우도비는 다음과 같이 구해진다.

$$LR = \frac{P(E | H_p, I)}{P(E | H_d, I)} = \frac{P(A_M | G_M)P(A_p | G_{AF}, H_p)}{P(A_M | G_M)P(A_p | G_{AF}, H_d)}$$

E: 유전자 증거

I: 정황증거,

H_p: '추정부는 아이의 생물학적 친부이다' 라는 가설

H_d: '추정부는 아이의 생물학적 친부가 아니다' 라는 가설,

A_M: 자식이 어머니로부터 받은 대립유전자

A_p: 자식이 아버지로부터 받은 대립유전자

G_M: 어머니의 유전자형

G_{AF}: 추정부의 유전자형

친자확인 검사에서는 이 값을 부권지수, 즉 PI (paternity index)라는 용어로 표현하며, 이를 이용하여 부권확률 (paternity probability)을 계산한다. 부권확률은 주어진 모든 정보를 고려할 때 추정부가 실제 친부일 확률인 P(H_p | E, I)을 의미하며, 이는 다음과 같이 계산된다.

$$P(H_p | E, I) = \frac{PI \times P(H_p | I)}{PI \times P(H_p | I) + P(H_d | I)}$$

이때 유전자증거 외의 정황증거에 의하여 추정부가 친부일 확률인 P(H_p | I)와 친부가 아닐 확률 P(H_d | I)는 주관적 판단에 의존하는 경향이 강하므로

두 확률을 단순히 똑같은 0.5로 가정하여 부권확률을 구하면 다음과 같이 된다.

$$P(H_b | E, I) = \frac{PI}{PI+1}$$

2) 결과

Fig. 6과 7은 자동화시퀀서에 의한 genotyping electrogram의 대표적 예를 보인 것이다.

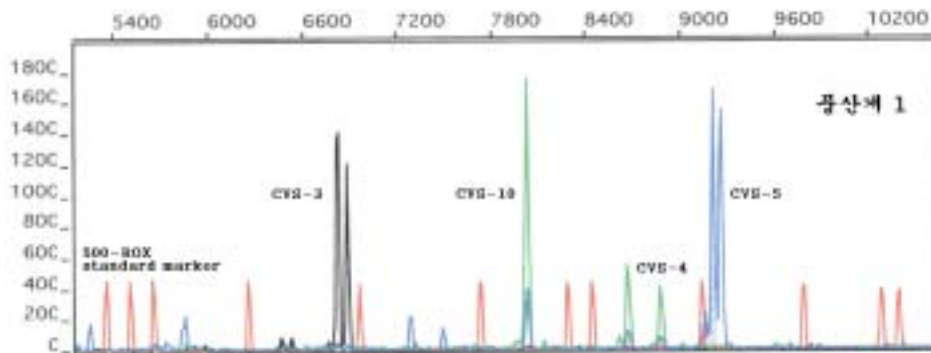


Fig. 6. A representative electrogram of PCR products of microsatellite markers CVS-3, CVS-4, CVS-5, and CVS-10 in Poongsan dog 1.

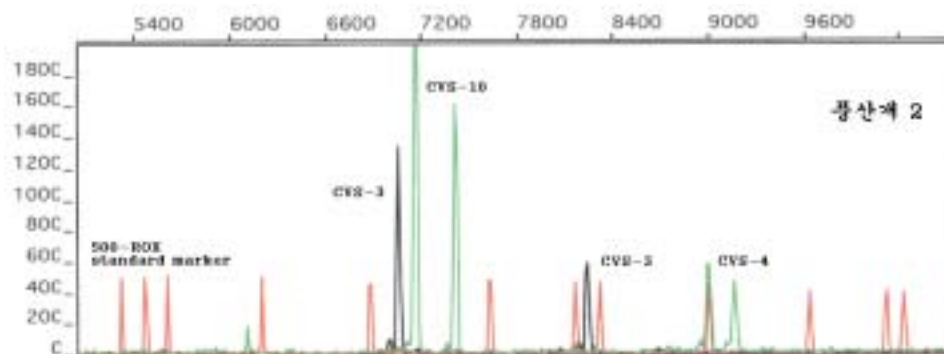


Fig. 7. A representative electrogram of PCR products of microsatellite markers CVS-3, CVS-4, and CVS-10 in Poongsan dog 2.

선정된 표준마커 14개를 풍산개, 진돗개, 비글, 셰퍼드, 그레이하운드의 5 품종에서 각각 40 - 90 마리의 표본을 대상으로 대립유전자 분포를 조사하여 Fig. 8 - 14에서와 같은 결과를 얻었다.

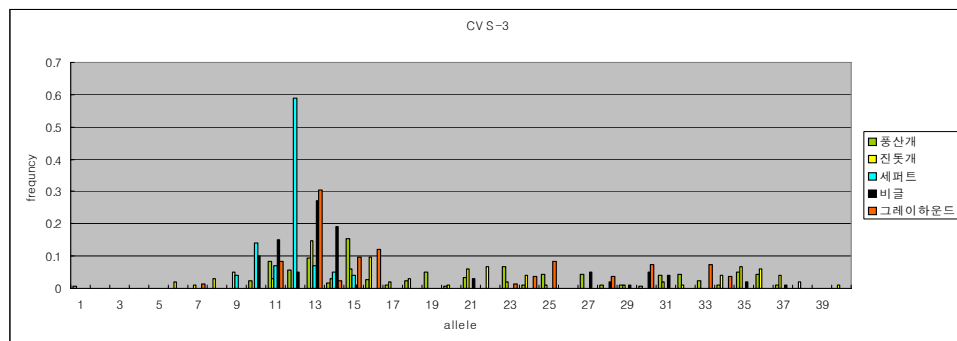
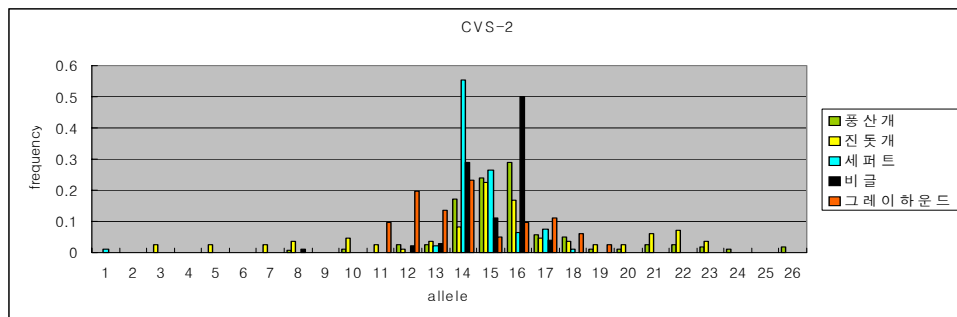
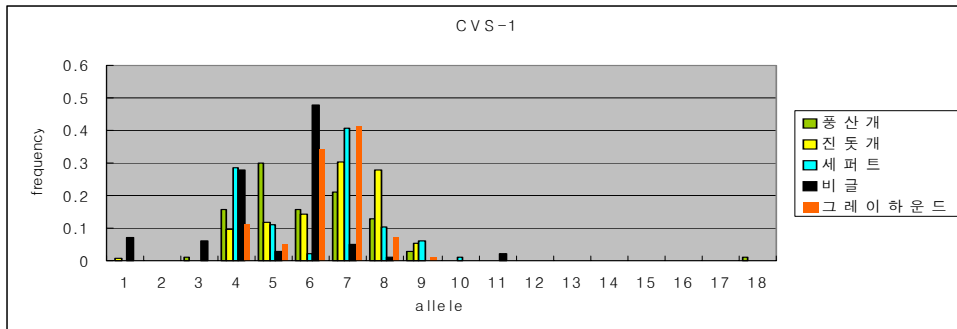


Fig. 8. Histograms of allele frequency distribution of microsatellite markers CVS-1, CVS-2, and CVS-3 in Poongsan, Jindo, Shepherd, Beagle and Greyhound.

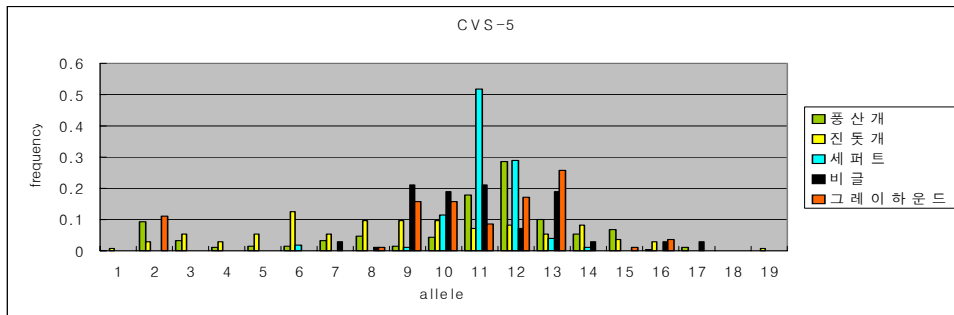
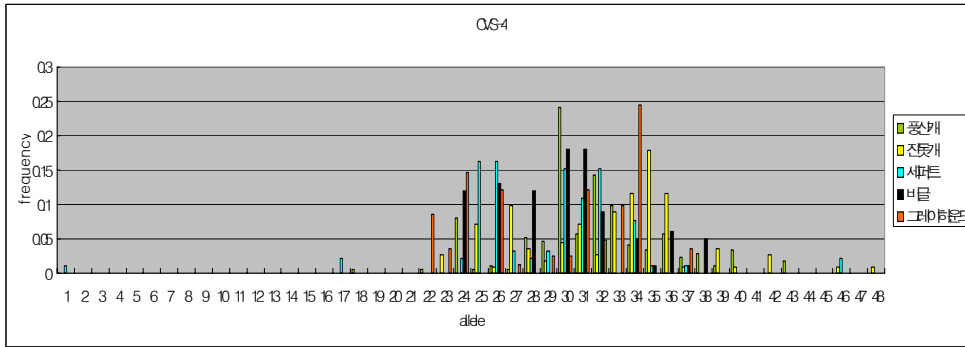


Fig. 9. Histograms of allele frequency distribution of microsatellite markers CVS-4 and CVS-5 in Poongsan, Jindo, Shepherd, Beagle and Greyhound.

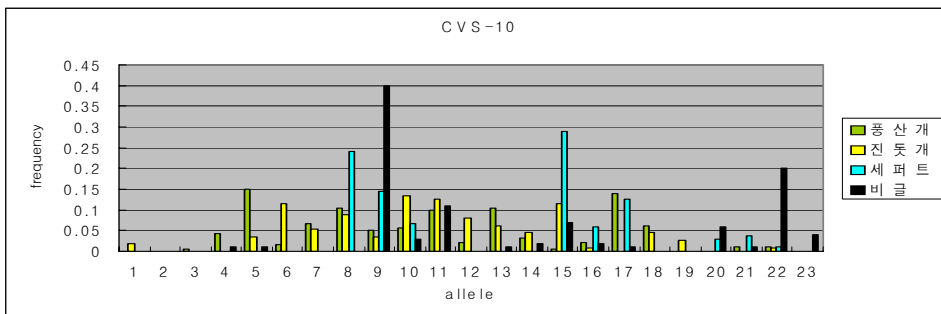
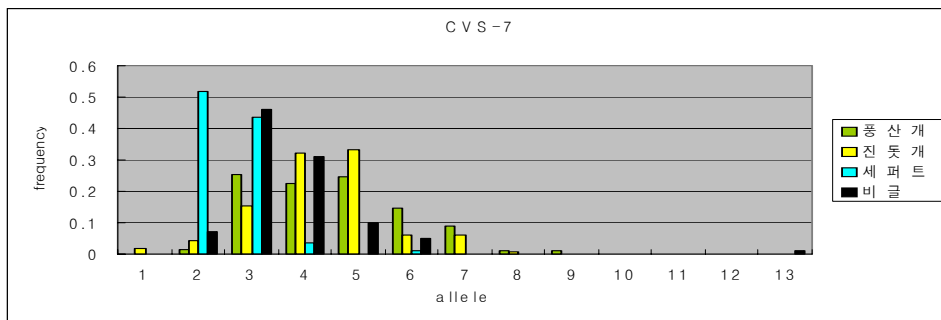
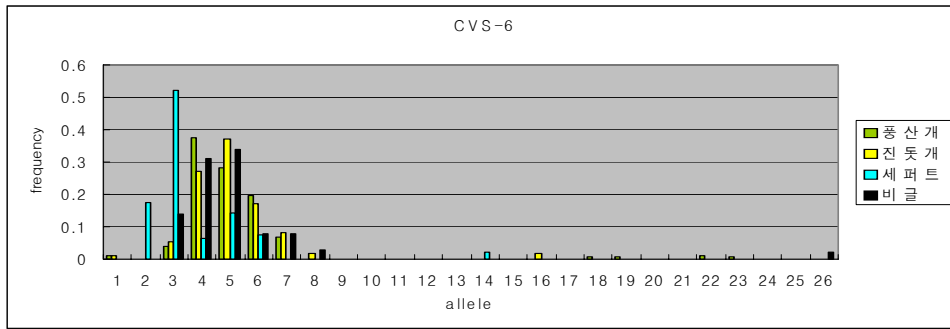


Fig. 10. Histograms of allele frequency distribution of microsatellite markers CVS-6, CVS-7 and CVS-10 in Poongsan, Jindo, Shepherd and Beagle.

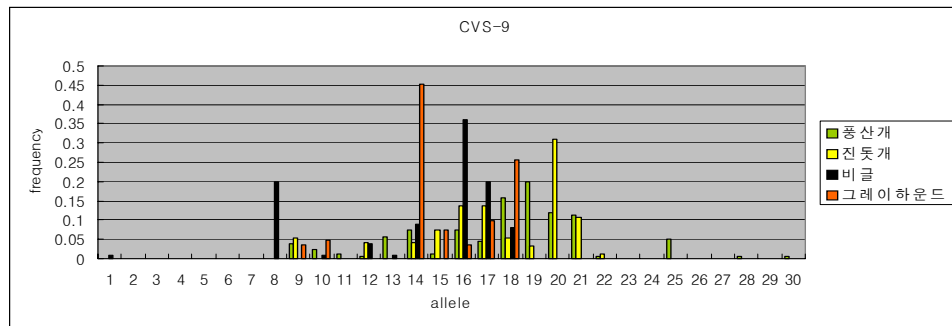
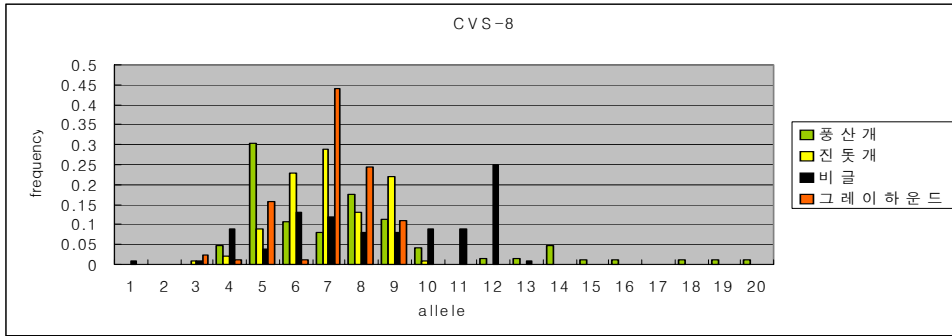


Fig. 11. A histogram of allele frequency distribution of microsatellite markers CVS-8 and CVS-9 in Poongsan, Jindo, Beagle and Greyhound.

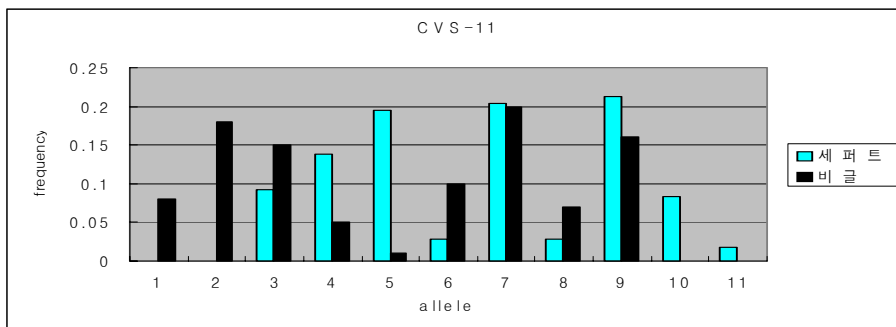


Fig. 12. A histogram of allele frequency distribution of microsatellite marker CVS-11 in Shepherd and Greyhound.

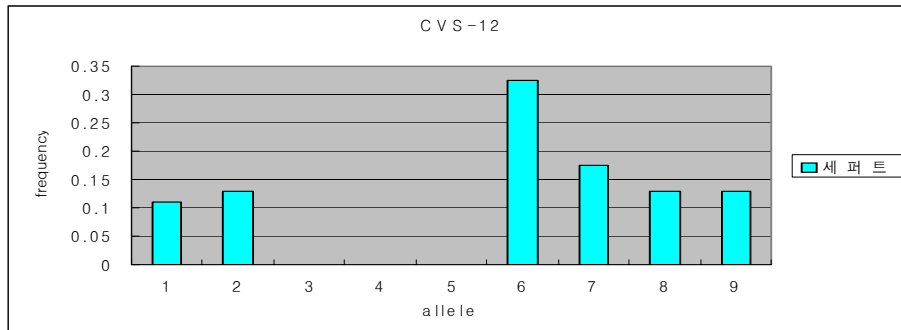


Fig. 13. A histogram of allele frequency distribution of microsatellite marker CVS-12 in Shepherd.

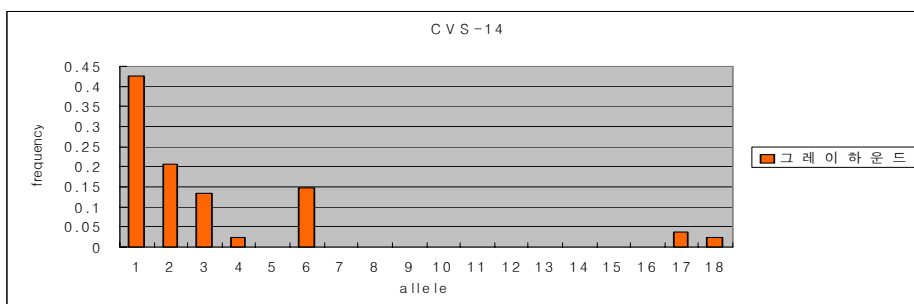
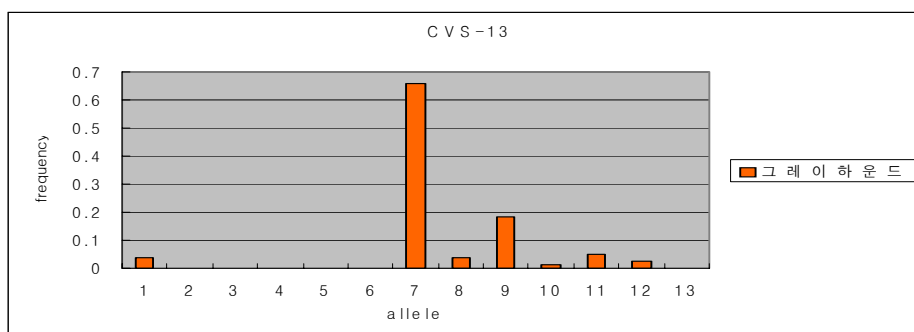


Fig. 14. Histograms of allele frequency distribution of microsatellite markers CVS-13 and CVS-14 in Greyhound.

각 견종에서 사용된 마커들의 대립유전자 수, 이형접합율 (heterozygosity), Hardy-Weinberg 평형에 대한 정확검정 결과, PIC 값, EP 값, typing에 사용된 개체수 등의 결과가 Table 9에서 13까지 제시되어 있다. 각 견종에서 평균대립유전자의 수는 풍산개가 15.4로서 가장 높았으며, 진돗개, 13.8; 비글, 9.72; 그레이하운드, 8.55; 셰퍼드, 7.7의 순이었다. 전 견종에 걸쳐서 가장 대립유전자 수가 많은 마커는 풍산개에서 DVS-3 마커로서 27이었다. CVS-3는 진돗개에서도 대립유전자 수가 가장 높은 마커로서 26을 기록하였다. 비글에서는 CVS-3과 CVS-10이 둘 다 14개로서 가장 높은 대립유전자 수를 나타내었고, 그레이하운드에서도 CVS-3가 가장 대립유전자 수가 많아서 13개를 기록하였다. 전 견종에 걸쳐 가장 대립유전자 수가 낮은 마커는 셰퍼드에서 CVS-7으로서 4개의 대립유전자 만을 가지고 있었다. 비글에서도 가장 대립유전자 수가 낮은 마커는 6개의 CVS-7이었다. 풍산개에서는 CVS-1과 CVS-7이 둘 다 8개의 대립유전자를 가져 가장 낮은 수를 보였으며, 진돗개에서는 CVS-1이 가장 낮은 7개의 대립유전자 수를 보였다. 그레이하운드에서도 CVS-1이 6개로서 가장 낮은 대립유전자 수를 기록하였다.

Hardy-Weinberg 평형에 의하여 기대되는 이형접합률은 풍산개와 진돗개에서 공히 0.84로서 가장 높은 수준을 보였으며, 다음으로 비글이 0.78, 그레이하운드가 0.76, 셰퍼드가 0.7의 순으로, 평균대립유전자 수의 경우와 비슷한 경향을 보였다. 전 견종에 걸쳐 가장 이형접합률이 높은 마커는 진돗개의 CVS-3로서 0.945였고, 풍산개에서도 CVS-3는 0.939로서 가장 이형접합률이 높았다. 비글, 그레이하운드, 셰퍼드에서는 각각 0.881, 0.877, 0.888의 값을 보인 CVS-4가 가장 이형접합률이 높은 마커였다. 각 견종에서 가장 이형접합률이 낮은 마커는 풍산개와 진돗개에서 CVS-6 (각각 0.74 및 0.753), 비글에서 CVS-2 (0.657), 그레이하운드에서 CVS-13 (0.534), 그리고 셰퍼드에서 CVS-7 (0.545)이었다. Guo와 Thompson (1992)의 정확검정 (Exact probability test)에 의하여 Hardy-Weinberg 평형에의 위배정도를 시험해 본 결과, 풍산개에서는 CVS-7을 제외한 나머지 9개 유전자 모두에서 이형접합률의 관측치가 기대치보다 작은

것으로 나타났다. 진돗개에서는 5개 유전좌에서 관측치와 기대치가 Hardy-Weinberg 평형에 일치하는 것으로, 그리고 나머지 5개에서는 관측치가 기대치보다 작은 것으로 나타났다. 셰퍼드에서는 7개 유전좌에서 평형을 이루었고 나머지 3개에서는 관측치가 기대치보다 작았다. 비글에서는 8개 유전좌에서 평형을 이루었고 나머지 2개 유전좌에서만 평형에 위배되었다. 그레이하운드에서는 5개 유전좌에서 평형을 이루었고 나머지 4개에서 관측치가 기대치보다 작았다.

평균 PIC (Polymorphism Information Content) 값은 진돗개에서 0.82로 가장 높았으며, 다음 풍산개에서 0.81, 비글에서 0.74, 그레이하운드에서 0.72, 셰퍼드에서 0.66의 순이었다. 전 견종에 걸쳐 가장 PIC 값이 높은 마커는 진돗개에서 CVS-3으로서 0.933이었고, 이 마커는 풍산개에서도 PIC 값이 0.930으로서 가장 높았다. 비글과 그레이하운드, 셰퍼드에서는 CVS-4의 PIC 값이 각각 0.859, 0.853, 0.866으로서 세 견종에서 모두 가장 높은 값을 보였다. 한편, 전 견종에 걸쳐 가장 낮은 PIC 값을 보인 마커는 셰퍼드에서 CVS-7으로 0.437이었고, 그레이하운드에서는 CVS-13의 0.493, 비글에서는 CVS-2의 0.599였다. 풍산개와 진돗개에서는 각각 0.694와 0.708를 기록한 CVS-6가 가장 낮은 PIC 값을 가진 마커이었다.

Exclusion Power 1 (EP1) 값은 알려진 친부나 친모의 유전자형을 모르는 상태에서 추정부(또는 추정모)와 자식의 유전자형을 비교하여 친생자 검사를 할 때, 친부가 아닌 임의의 추정부를 얼마나 배제할 수 있는지를 나타내는 확률을 의미한다. Exclusion Power 2 (EP2) 값은 알려진 친부나 친모 둘 중 하나의 유전자형을 아는 상태에서 추정부(또는 추정모)와 자식의 유전자형을 비교하여 친생자 검사를 할 때, 친부가 아닌 임의의 추정부를 얼마나 배제할 수 있는지를 나타내는 확률을 의미한다. 대략 EP2 값이 0.5 이상인 것을 식별력이 좋은 마커로 간주할 때, 진돗개와 풍산개에서는 모든 마커의 EP2 값이 0.5를 넘었고, 비글에서는 11개 중 8개가, 그레이하운드에서는 9개 중 5개가, 셰퍼드에서는 10개 중 6개의 마커가 0.5 이상의 값을 보였다.

건종 별로 9개에서 11개의 마커를 사용하였을 때 누적된 EP2 값은 진돗개에서 0.999998, 풍산개에서 0.999997, 비글에서 0.999971, 그레이하운드에서 0.999651, 셰퍼드에서 0.999473이었다. 그러므로 대략 풍산개나 진돗개에서는 30만 마리의 집단에서 한 마리의 친부(또는 친모)를 찾아 낼 수 있는 정도의 배제력을 지니고 있으며, 비글에서는 30,000, 그리고 그레이하운드와 셰퍼드에서는 3000마리 정도에서 1마리를 찾을 수 있는 배제력을 지닌 것으로 생각할 수 있다. 이것은 대립유전자의 수, heterozygosity, PIC 값의 비교에서 보는 것처럼 셰퍼드, 그레이하운드나 비글보다 진돗개나 풍산개가 조사된 마커에서의 변이도가 훨씬 큰 것이 그 이유이다.

전국적으로 현재 사육되고 있는 진돗개의 숫자가 정확히 파악되지 않고 있으나 30만 마리에는 미치지 못하는 것으로 추정되고 있으며, 풍산개의 수는 이보다 훨씬 적다. 그러므로 본 연구에서 사용된 표준마커는 국내 토종견의 친자 감별에 의한 혈통등록에 충분히 이용할 수 있을 정도의 EP값을 지닌 것으로 생각된다. 비글에 있어서도 국내 실험견으로 사육되는 비글견의 수가 30,000에 이르지 못하므로 실험견의 혈통관리에 있어 표준마커로 사용될 수 있다. 다만 그레이하운드와 셰퍼드와 같이 고도의 근친교배와 선택에 의한 육종으로 발달된 견종의 경우 현재의 표준마커로는 충분한 배제력을 지니지 못한 것으로 보여 추가적인 마커의 선택이 바람직한 것으로 생각된다.

Table 9. Size range, number of alleles, heterozygosity, exact probability test result, PIC value, exclusion power, and number of individuals typed for each marker in Poongsan.

Marker	Size range	Number of alleles	Ho	He	Exact Probability test		PIC values	EP1	EP2	Number of individuals typed
					P-value	SE				
CVS-1	223-287	8	0.677	0.803	< 0.01	-	0.77	0.428	0.606	93
CVS-2	290-362	16	0.691	0.824	< 0.01	-	0.797	0.482	0.653	81
CVS-3	225-369	27	0.733	0.939	< 0.01	-	0.930	0.766	0.867	90
CVS-4	325-425	20	0.770	0.893	< 0.01	-	0.879	0.641	0.781	87
CVS-5	364-424	16	0.792	0.858	< 0.01	-	0.840	0.561	0.720	96
CVS-6	230-318	9	0.621	0.740	0.0353	0.0042	0.694	0.332	0.507	87
CVS-7	242-270	8	0.747	0.798	0.3169	0.0080	0.762	0.414	0.592	95
CVS-8	251-315	15	0.628	0.844	< 0.01	-	0.824	0.528	0.693	94
CVS-9	362-446	17	0.712	0.893	< 0.01	-	0.877	0.632	0.775	80
CVS-10	267-343	18	0.760	0.912	< 0.01	-	0.900	0.684	0.813	96
Mean		15.40	0.70	0.84			0.81			89.90
All locus crossed					< 0.01	-		0.999765	0.999997	

***H_o**: observed heterozygosity, **He** : expected heterozygosity, **SE**: Standard Error

Table 10. Size range, number of alleles, heterozygosity, exact probability test result, PIC value, exclusion power, and number of individuals typed for each marker in Jindo.

Marker	Size range	Number of alleles	Ho	He	Exact Probability test		PIC values	EP1	EP2	Number of individuals typed
					P-value	SE				
CVS-1	215-247	7	0.750	0.792	0.0647	0.0054	0.753	0.406	0.584	56
CVS-2	270-350	18	0.738	0.903	< 0.01	-	0.884	0.653	0.790	42
CVS-3	245-381	26	0.706	0.945	< 0.01	-	0.933	0.773	0.872	51
CVS-4	345-445	19	0.804	0.914	0.1313	0.0108	0.899	0.682	0.811	56
CVS-5	360-432	17	0.911	0.931	0.0576	0.0055	0.917	0.727	0.842	56
CVS-6	230-290	8	0.582	0.753	0.0322	0.0028	0.708	0.349	0.527	55
CVS-7	238-266	8	0.625	0.761	0.0047	0.0021	0.717	0.362	0.539	56
CVS-8	247-275	8	0.760	0.797	0.2165	0.0067	0.757	0.408	0.586	50
CVS-9	362-414	11	0.702	0.848	0.0134	0.0019	0.823	0.526	0.693	47
CVS-10	259-343	16	0.857	0.919	0.3385	0.0124	0.904	0.693	0.819	56
Mean		13.80	0.73	0.84			0.82			52.50
All locus crossed					< 0.01	-		0.999855	0.999998	

***H_o**: observed heterozygosity, **He** : expected heterozygosity, **SE**: Standard Error

Table 11. Size range, number of alleles, heterozygosity, exact probability test result, PIC value, exclusion power, and number of individuals typed for each marker in Shepherd.

Marker	Size range	Number of alleles	Ho	He	Exact Probability test		PIC values	EP1	EP2	Number of individuals typed
					P-value	SE				
CVS-1	227-251	7	0.735	0.732	0.9561	0.0021	0.683	0.322	0.499	49
CVS-2	262-330	7	0.574	0.620	0.7163	0.0073	0.562	0.210	0.372	47
CVS-3	257-281	7	0.600	0.623	0.7213	0.0071	0.592	0.232	0.418	50
CVS-4	257-437	15	0.804	0.888	< 0.01	-	0.866	0.606	0.756	46
CVS-5	380-412	7	0.654	0.638	0.1563	0.0061	0.576	0.221	0.381	52
CVS-6	234-282	6	0.478	0.674	< 0.01	-	0.632	0.267	0.448	46
CVS-7	242-258	4	0.574	0.545	0.1638	0.0033	0.437	0.147	0.243	54
CVS-10	287-343	9	0.615	0.820	< 0.01	-	0.788	0.460	0.635	52
CVS-11	295-327	9	0.852	0.846	0.9957	0.0005	0.818	0.508	0.677	54
CVS-12	363-395	6	0.815	0.809	0.7930	0.0030	0.775	0.435	0.614	54
Mean		7.70	0.65	0.70			0.66			50.40
All locus crossed					< 0.01	-		0.988158	0.999473	

***H_o**: observed heterozygosity, **H_e** : expected heterozygosity, **SE**: Standard Error

Table 12. Size range, number of alleles, heterozygosity, exact probability test result, PIC value, exclusion power, and number of individuals typed for each marker in Beagle.

Marker	Size range	Number of alleles	Ho	He	Exact Probability test		PIC values	EP1	EP2	Number of individuals typed
					P-value	SE				
CVS-1	215-259	8	0.740	0.686	0.2532	0.0078	0.635	0.277	0.45	50
CVS-2	290-326	7	0.780	0.657	0.1038	0.0047	0.599	0.241	0.406	50
CVS-3	261-369	14	0.740	0.856	0.0174	0.0035	0.831	0.540	0.703	50
CVS-4	349-405	11	0.880	0.881	0.6289	0.0088	0.859	0.588	0.743	50
CVS-5	384-424	10	0.900	0.839	0.9321	0.0036	0.809	0.492	0.663	50
CVS-6	238-330	7	0.640	0.762	0.1286	0.0044	0.717	0.361	0.539	50
CVS-7	242-286	6	0.700	0.682	0.8120	0.0045	0.623	0.263	0.430	50
CVS-8	239-287	12	0.840	0.876	0.1245	0.0071	0.854	0.581	0.737	50
CVS-9	330-398	9	0.740	0.782	0.0855	0.0052	0.743	0.394	0.573	50
CVS-10	271-347	14	0.800	0.783	0.0201	0.0040	0.753	0.417	0.597	50
CVS-11	287-319	9	0.860	0.864	0.3494	0.0069	0.839	0.545	0.709	50
Mean		9.72	0.77	0.78			0.74			50.00
All locus crossed					0.0109	-		0.998328	0.999971	

***H_o**: observed heterozygosity, **He** : expected heterozygosity, **SE**: Standard Error

Table 13. Size range, number of alleles, heterozygosity, exact probability test result, PIC value, exclusion power, and number of individuals typed for each marker in Greyhound.

Marker	Size range	Number of alleles	Ho	He	Exact Probability test		PIC values	EP1	EP2	Number of individuals typed
					P-value	SE				
CVS-1	227-247	6	0.683	0.7	0.9505	0.0018	0.64	0.278	0.446	41
CVS-2	302-334	9	0.854	0.863	0.7251	0.0060	0.836	0.542	0.706	41
CVS-3	249-357	13	0.561	0.863	< 0.01	-	0.84	0.559	0.72	41
CVS-4	341-401	12	0.537	0.877	< 0.01	-	0.853	0.579	0.735	41
CVS-5	364-420	9	0.683	0.844	< 0.01	-	0.813	0.498	0.669	41
CVS-8	247-271	7	0.829	0.718	0.0720	0.0042	0.667	0.301	0.477	41
CVS-9	362-398	7	0.732	0.720	0.3612	0.0071	0.673	0.314	0.493	41
CVS-13	92-136	7	0.366	0.534	< 0.01	-	0.493	0.156	0.319	41
CVS-14	154-222	7	0.659	0.742	0.1195	0.0047	0.697	0.336	0.517	41
Mean		8.55	0.65	0.76			0.72			41.00
All locus crossed					< 0.01	-		0.991714	0.999651	

***H_o**: observed heterozygosity, **He** : expected heterozygosity, **SE**: Standard Error

다. 친자감별 시스템의 응용

본 연구에서 개발된 표준마커들이 실제 친자감별 케이스에 응용될 수 있는지 검정을 위하여 품종 별로 몇 가계를 선택하여 표준마커에 의한 genotyping을 실시하고 부권지수와 부권확률을 계산하였다.

Case 1 (풍산개): 수원 인근의 풍산개 농장에서 3세대에 걸친 5개체로 구성된 가계를 선택하였다. 본 실험에서는 각각의 개체에 대해 10개 marker로 typing을 하였으며, 이를 근거로 추정부권, 모권, 자권의 유전자 증거가 모두 확보된 3인검사의 경우인 1세대와 2세대 간, 2세대와 3세대 간의 부권지수와 부권확률을 계산하였다. 가계도와 각 개체의 genotype profile, 부권지수 및 부권확률 계산은 다음과 같다

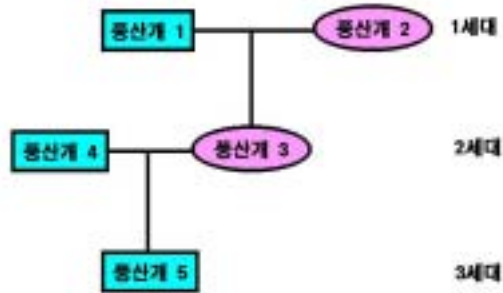


Fig. 15. Case 1의 가계도 (사각형은 숫컷, 원형은 암컷).

Table 14. Case 1을 구성하는 개체들의 genotype profile.

개체	Locus									
	CVS-1	CVS-2	CVS-3	CVS-4	CVS-5	CVS-6	CVS-7	CVS-8	CVS-9	CVS-10
풍산개1	05/09	16/19	25/35	31/32	12/13	04/19	07/07	09/12	19/20	06/07
풍산개2	05/05	16/18	15/28	30/30	02/12	04/05	03/06	05/05	20/25	05/18
풍산개3	05/09	16/18	15/25	30/31	12/12	04/04	06/07	05/09	20/25	05/06
풍산개4	05/08	16/16	33/35	28/30	12/12	04/19	05/07	05/08	17/25	17/18
풍산개5	05/05	16/16	15/23	30/31	12/12	04/05	03/06	05/08	20/25	06/16

Table 15. Case 1에서 부권지수 (Paternity Index) 와 부권확률 (Paternity Probability) 의 계산.

Locus	1세대와 2세대 간				2세대와 3세대 간			
	PI	누적 PI	PP	누적 PP	PI	누적 PI	PP	누적 PP
CVS-1	18.585502	18.585502	0.94894182	0.94894218	1.660412	1.660412	0.62411887	0.62411887
CVS-2	1.473049	27.377355	0.59564085	0.96476063	3.447777	5.724730	0.77516858	0.85129514
CVS-3	11.262388	308.334396	0.91844982	0.99676725	0	0	0	0
CVS-4	8.696522	2681.436858	0.89687024	0.99962720	1.672968	0	0.62588404	0
CVS-5	1.744852	4678.710464	0.63568163	0.99978631	3.489703	0	0.77726812	0
CVS-6	1.338464	6262.285523	0.57236887	0.99984034	0	0	0	0
CVS-7	11.173184	6.996967×10 ⁴	0.91785222	0.99998571	0	0	0	0
CVS-8	4.476276	3.132035×10 ⁵	0.81739416	0.99999681	2.849003	0	0.74019246	0
CVS-9	2.963545	9.281928×10 ⁵	0.74770061	0.99999892	2.963545	0	0.74770061	0
CVS-10	32.051282	2.974977×10 ⁷	0.96974399	0.99999997	0	0	0	0

본 케이스는 농장에서 주로 농장주의 기억에 의하여 유지되고 있는 혈연관계를 유전자검사에 의하여 생물학적 친자관계를 검증하는 실험이다. 친생자 검사의 유전자 증거는 기본적으로 추정부건과 모건, 그리고 자건의 유전자형으로 구성되며, 각 분석상황에 따라 유전자형을 추정하는 과정이 필요하다. 추정부건과 자건의 관계를 검증하고자 한다면, 세 마리의 유전자형 비교에서 자건이 부건에게서 받았어야 하는 형질, 즉 부성인자가 추정부의 것과 일치할 때 추정부에 대한 유전자 증거가 성립하며, 이에 대한 평가과정이 필요하게 된다. 이러한 평가과정은 “추정부건이 친부이어서 같은 형질을 가지고 있을 확률이, 친부건이 아님에도 불구하고 우연히 같은 형질을 가지고 있을 확률에 비하여 얼마나 큰가?” 하는 수치에 대한 관심으로 전개되며, 그런 과정에서 이용하는 것이 통계

적 가설검정의 원리이다. 위에서 제시한 부권지수는 이러한 유전자 증거의 평가를 위해 계산된 값이며, 이것이 의미하는 것은 “추정부견이 자건의 친부이어서 부성인자를 공유했을 확률이 추정부견이 친부가 아님에도 불구하고 우연히 부성인자를 공유했을 확률의 PI(부권지수)배”라는 것이다.

일반적으로 친생자 검사는 크게 세가지 경우로 나뉜다. 첫 번째는 추정부견과 모견, 그리고 자건의 유전자형을 모두 검사할 수 있는 경우인 3인검사 (trio case), 두 번째는 모견의 유전자를 검사 할 수 없는 경우인 결모검사 (motherless case), 세 번째로는 추정부견의 유전자를 검사 할 수 없는 경우인 결추정부견검사 (deficiency case)가 있다. 본 실험에서는 3인 검사를 수행하였으며 추정부견과 자견이 유전적으로 전혀 관련이 없다는 가정 하에 부권지수를 계산하였고 그 식은 Table 16과 같다.

부권확률의 계산은 정황증거에 의해 추정부가 친부일 확률 $P(H_p | I)$ 과 친부가 아닐 확률 $P(H_d | I)$ 을 동일한 것으로 가정하여 서론에서 제시한 부권확률 식에 $P(H_p | I)=P(H_d | I)=0.5$ 를 대입해서 구한 것이며 결과적으로 다음과 같게 된다.

$$P(H_p | E, I) = \frac{PI}{PI+1}$$

이를 근거로 case 1에서 계산된 부권지수와 부권확률을 보면 1세대와 2세대간에는 친자관계가 성립하고, 2세대와 3세대 간에는 친자관계가 성립하지 않음을 알 수 있다. 즉 1세대와 2세대 간에서는 추정부견이 자건의 친부이어서 부성인자를 공유했을 확률이 추정부견이 친부가 아닌데 우연히 부성인자를 공유했을 확률의 2.974977×10^7 배 (누적 PI) 이며, 모든 정보를 고려할 때 추정부견이 실제 친부일 확률은 0.99999997 이 된다. 하지만 2세대와 3세대 간에는 추정부견과 자견간에 CVS-3, 6, 7, 10 의 4개 locus에서 자견 (풍산개 5)의 부성인자를 추정부견 (풍산개 4)이 공유하지 않음을 알 수 있으며, 따라서 추정부의 부권가능성이 배제되었다.

Table 16. 3인검사 (trio case) 경우의 부권지수 계산.

G_C	G_M	G_{AF}	PI
$A_i A_i$	$A_i A_i$	$A_i A_i$	$\frac{1}{P_i}$
		$A_i A_j$ $i \neq j$	$\frac{1}{2P_i}$
	$A_i A_j$ $i \neq j$	$A_i A_i$	$\frac{1}{P_i}$
		$A_i A_j$ $i \neq j$	$\frac{1}{2P_i}$
$A_i A_j$ $i \neq j$	$A_i A_i$	$A_j A_j$	$\frac{1}{P_j}$
		$A_i A_j$	$\frac{1}{2P_j}$
		$A_j A_k$ $k \neq i, j$	$\frac{1}{2P_j}$
	$A_i A_j$ $i \neq j$	$A_i A_i$	$\frac{1}{P_i + P_j}$
		$A_i A_j$ $i \neq j$	$\frac{1}{P_i + P_j}$
		$A_j A_k$ $k \neq i, j$	$\frac{1}{2(P_i + P_j)}$
	$A_i A_k$ $k \neq i, j$	$A_j A_j$	$\frac{1}{P_j}$
		$A_j A_\ell$ $\ell \neq j$	$\frac{1}{2P_j}$

G_C : 자건의 유전자형, G_M : 모건의 유전자형, G_{AF} : 추정부건의 유전자형, A_i, A_j : 유전자형을 구성하는 각 대립형질, P_i, P_j : 형질 A_i, A_j 의 집단 내 관측빈도

Fig. 16과 17은 CVS-10에서 추정부건의 유전자형이 17/18이고, 자건의 유전자형이 06/16 이라는 것을 보여준다. 모건의 유전자형이 05/06이므로 부건인자는 16이 된다. 하지만 추정부는 이 대립유전자를 지니지 않는다는 것을 알 수 있다.

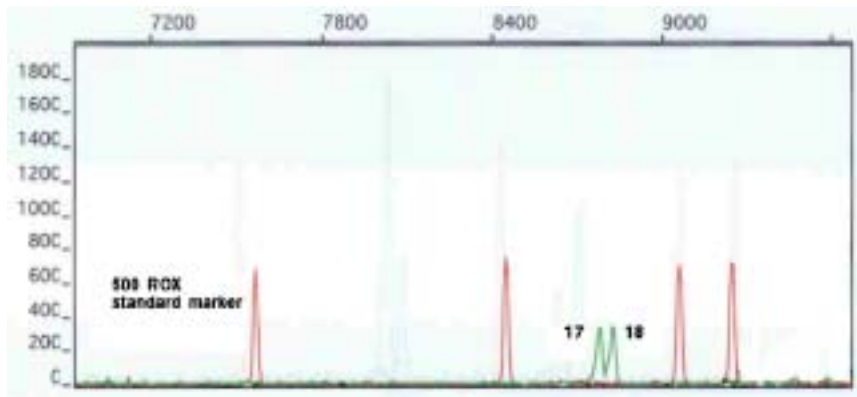


Fig. 16. 풍산개 4 (추정부견)의 CVS-10 locus genotype (17/18).

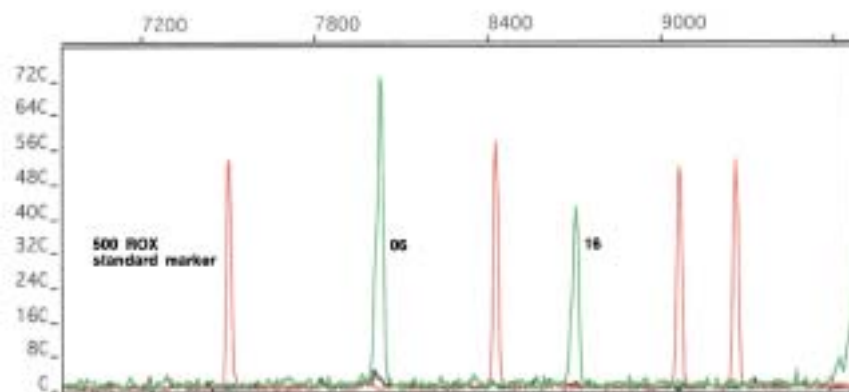


Fig. 17. 풍산개 5 (자견)의 CVS-10 locus genotype (06/16).

Case 2 (풍산개): 3대에 걸친 5개체로 구성된 가계이다. Case 1과 다른 점은 1세대와 2세대 간의 친자관계가 2가지가 있으며 모두 친모가 결부된 결모검사의 경우이다. 2세대와 3세대 간은 3인 검사의 경우이다. 가계도, 부권지수 및 부권 확률의 계산은 다음과 같다.

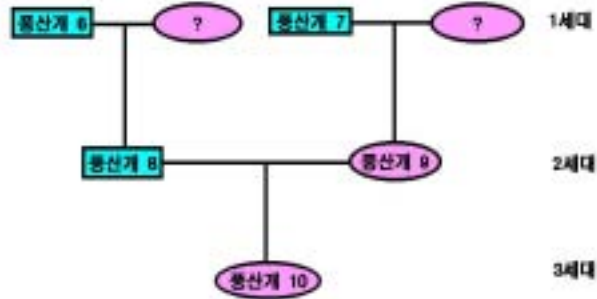


Fig. 18. Case 2의 가계도.

Table 17. 결모검사 (motherless case) 경우의 부권지수 계산.

G_C	G_{AF}	PI
$A_i A_i$	$A_i A_i$	$\frac{1}{P_i}$
	$A_i A_j$ $i \neq j$	$\frac{1}{2P_j}$
$A_i A_j$ $i \neq j$	$A_i A_i$	$\frac{1}{2P_j}$
	$A_i A_j$ $i \neq j$	$\frac{1}{4P_i} + \frac{1}{4P_j}$
	$A_i A_k$ $k \neq i, j$	$\frac{1}{4P_i}$

G_C : 자건의 유전자형, G_{AF} : 추정부건의 유전자형, A_i, A_j : 유전자형을 구성하는 각 대립형질, P_i, P_j : 형질 A_i, A_j 의 집단 내 관측빈도

Table 18. Case 2를 구성하는 개체들의 Genotype Profile.

개체	Locus									
	CVS-1	CVS-2	CVS-3	CVS-4	CVS-5	CVS-6	CVS-7	CVS-8	CVS-9	CVS-10
풍산개6	05/06	16/18	11/31	30/30	11/13	04/06	03/06	07/08	19/25	05/07
풍산개7	04/05	15/19	15/33	30/30	02/15	04/06	05/05	06/06	19/19	11/22
풍산개8	-	15/16	11/23	30/38	13/13	04/06	03/03	05/07	19/19	07/16
풍산개9	04/05	16/19	23/33	30/30	02/13	04/06	05/05	06/08	19/25	11/18
풍산개10	04/04	15/16	11/33	30/30	02/13	06/06	03/05	05/06	19/25	07/11

Table 19. Case 2 결모검사의 부권지수 (Paternity Index)와 부권확률 (Paternity Probability)의 계산.

Locus	풍산개 6, 8 사이				풍산개 7, 9 사이			
	PI	누적 PI	PP	누적 PP	PI	누적 PI	PP	누적 PP
CVS-1	-	-	-	-	2.43638	2.43638	0.70899609	0.70899609
CVS-2	0.861944	0.861944	0.46292692	0.46292692	20.329269	49.474082	0.95311607	0.98018785
CVS-3	3.001501	2.587126	0.75009378	0.72122529	11.262388	557.196302	0.91844982	0.99820852
CVS-4	2.071458	5.359122	0.67442172	0.84274559	4.142916	2308.417476	0.80555778	0.99956699
CVS-5	5.049495	27.060862	0.83469695	0.96436318	2.664712	6151.267750	0.72712726	0.99983746
CVS-6	1.948787	52.735856	0.66087751	0.98139045	1.948787	1.198751×10 ⁴	0.66087751	0.99991659
CVS-7	1.979414	104.386091	0.66436353	0.99051108	4.042037	4.845396×10 ⁴	0.80166746	0.99997936
CVS-8	3.132832	327.024085	0.75803517	0.99695144	4.699248	2.276972×10 ⁵	0.82453825	0.9999561
CVS-9	2.499750	817.478457	0.71426530	0.99877822	2.499750	5.691860×10 ⁵	0.71426530	0.9999824
CVS-10	3.692762	3018.753383	0.78690588	0.99966885	2.525253	1.447339×10 ⁶	0.71633242	0.9999931

Table 20. Case 2에서 2세대-3세대간 3인검사의 부권지수와 부권확률의 계산.

Locus	2세대와 3세대 간			
	PI	누적 PI	PP	누적 PP
CVS-1	-	-	-	-
CVS-2	2.077690	2.077690	0.67508099	0.67508099
CVS-3	6.003001	12.472375	0.85720428	0.92577404
CVS-4	2.071458	25.836001	0.67442172	0.96273662
CVS-5	5.185685	133.977364	0.83833642	0.99259135
CVS-6	2.559110	342.862313	0.71903088	0.99709186
CVS-7	3.958828	1357.334903	0.79833945	0.99926380
CVS-8	1.649077	2238.349770	0.62251003	0.99955334
CVS-9	3.999600	8952.503741	0.79998400	0.99988831
CVS-10	7.385524	6.611893×10 ⁴	0.88074687	0.99998488

실험결과 각 경우의 부권확률은 개체 6과 8 사이가 0.99966885, 개체 7과 9 사이가 0.99999931, 개체 8과 10 사이가 0.99998488 로 모두 99.9%를 초과하였으며, 따라서 추정부건과 자건과의 생물학적 친자관계를 인정할 수 있다. Fig. 19의 electrogram은 풍산개 8, 9, 10의 CVS-6, 7, 8 locus에서 부모견들과 자견 간 allele들의 공유를 보여주고 있다.

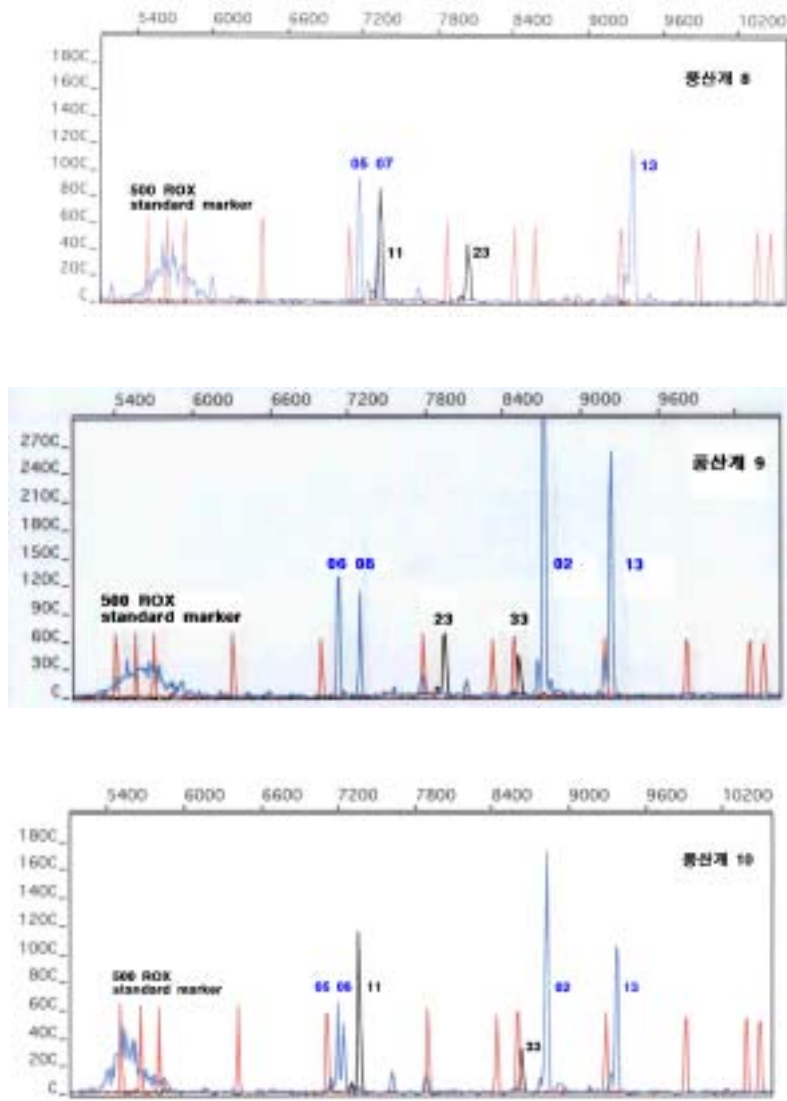


Fig. 19. 풍산개 8, 9, 10의 CVS-6, 7, 8 locus에서의 genotype을 보여주는 electrogram.

Case 3 (진돗개): 수원 인근의 한 경비견훈련소에서 번식된 진돗개 가계를 분석하였으며 가계기록은 주인의 기억에 의존하고 있었다.

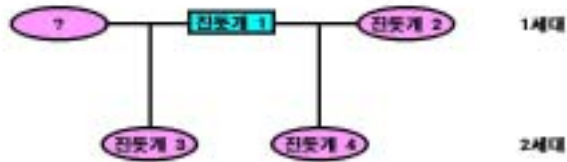


Fig. 20. Case 3의 가계도.

Table 21. Case 3을 구성하는 개체들의 genotype profile.

개체	Locus									
	CVS-1	CVS-2	CVS-3	CVS-4	CVS-5	CVS-6	CVS-7	CVS-8	CVS-9	CVS-10
진돗개1	06/08	13/21	09/16	30/40	05/09	06/06	01/04	05/06	16/20	08/13
진돗개2	07/08	16/16	15/17	25/36	08/12	04/05	04/08	07/08	17/18	12/13
진돗개3	06/09	13/21	10/22	30/36	05/05	-	04/04	05/09	16/16	05/08
진돗개4	06/07	13/16	16/17	30/36	09/12	04/06	01/08	06/07	18/20	12/13

Table 22. Case 3에서 결모검사와 3인검사의 부권지수 (Paternity Index)와 부권확률 (Paternity Probability)의 계산.

Locus	진돗개 1, 3 사이 (결모검사)				진돗개 1, 2, 4 사이 (3인검사)			
	PI	누적 PI	PP	누적 PP	PI	누적 PI	PP	누적 PP
CVS-1	1.749300	1.749300	0.63627105	0.63627105	3.498600	3.498600	0.77770862	0.77770862
CVS-2	11.206723	19.603921	0.91807793	0.95146535	14.008404	49.009802	0.93337066	0.98000392
CVS-3	0	0	0	0	5.103572	250.125054	0.83616151	0.99601792
CVS-4	5.605942	0	0.84862114	0	11.211844	2804.373096	0.91811299	0.99964354
CVS-5	9.327425	0	0.90317044	0	5.091141	1.427746×10 ⁴	0.83582715	0.99992996
CVS-6	-	-	-	-	5.790967	8.268029×10 ⁴	0.85274557	0.99998791
CVS-7	1.555694	0	0.60871685	0	27.932961	2.309505×10 ⁶	0.96543734	0.99999957
CVS-8	2.777778	0	0.73529413	0	2.173913	5.020664×10 ⁶	0.68493150	0.99999980
CVS-9	3.614967	0	0.78331373	0	1.620583	8.136402×10 ⁶	0.61840552	0.99999988
CVS-10	2.799552	0	0.73681108	0	3.498950	2.846887×10 ⁶	0.77772591	0.99999965

그러므로 진돗개 1과 4 사이의 친자관계는 인정되나 1과 3 사이는 성립되지 않는다

Case 4 (진돗개): Case 3와 같은 농장에서의 한 가계의 결모검사

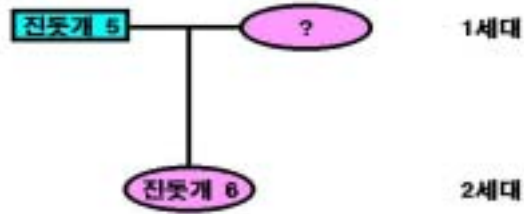


Fig. 21. Case 4의 가계도.

Table 23. Case 4를 구성하는 개체들의 Genotype Profile.

개체	Locus									
	CVS-1	CVS-2	CVS-3	CVS-4	CVS-5	CVS-6	CVS-7	CVS-8	CVS-9	CVS-10
진돗개5	07/07	14/17	16/21	27/37	06/14	05/05	03/05	07/09	17/17	11/15
진돗개6	05/07	14/14	17/21	25/36	06/14	05/05	03/05	07/08	15/17	07/15

Table 24. Case 4 결모검사의 부권지수와 부권확률의 계산.

Locus	PI	누적 PI	PP	누적 PP
CVS-1	1.646739	1.646739	0.62217657	0.62217657
CVS-2	6.003602	9.886366	0.85721633	0.90814198
CVS-3	4.252977	42.046485	0.80963176	0.97676930
CVS-4	5.605942	235.710158	0.84862114	0.99577542
CVS-5	5.108942	1204.229526	0.83630553	0.99917028
CVS-6	2.683391	3231.418687	0.72851104	0.99969063
CVS-7	2.403562	7766.915126	0.70619016	0.99987127
CVS-8	0.862069	6695.616755	0.46296297	0.99985067
CVS-9	3.614967	2.420443×10 ⁴	0.78331373	0.99995869
CVS-10	2.153316	5.211979×10 ⁴	0.68287352	0.99998081

누적 부권확률이 99.99% 이상으로 친부관계가 인정된다.

Case 5 (세퍼트): 경기도 북부의 세퍼트 농장에서의 한 가계에 대한 trio 검사.

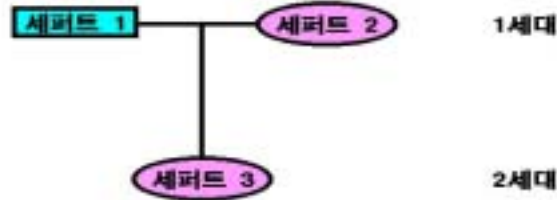


Fig. 22. Case 5의 가계도.

Table 25. Case 5를 구성하는 개체들의 genotype profile.

개체	Locus									
	CVS-1	CVS-2	CVS-3	CVS-4	CVS-5	CVS-6	CVS-7	CVS-10	CVS-11	CVS-12
세퍼트1	05/08	14/16	10/12	34/37	11/12	03/03	03/03	15/20	05/09	01/09
세퍼트2	05/07	14/17	12/12	30/32	10/11	03/03	02/03	08/09	03/09	02/06
세퍼트3	05/08	14/16	10/12	32/34	11/11	03/03	02/03	08/15	03/05	06/09

Table 26. Case 5 3인검사의 부권지수와 부권확률의 계산.

Locus	PI	누적 PI	PP	누적 PP
CVS-1	4.902451	4.902451	0.37984727	0.37984727
CVS-2	7.836991	38.420464	0.87032201	0.80433507
CVS-3	3.571429	137.215961	0.87719298	0.96706485
CVS-4	6.570959	901.640451	0.86791634	0.99889214
CVS-5	0.963020	868.297788	0.49058084	0.99884965
CVS-6	1.917002	1664.528595	0.65718227	0.99939959
CVS-7	1.048548	1745.338130	0.51184937	0.99942737
CVS-10	1.733102	3024.849003	0.63411538	0.99966951
CVS-11	2.572016	7779.960033	0.72004605	0.99987148
CVS-12	3.858411	3.001828×10 ⁴	0.79417139	0.99996669

누적 부권확률이 99.99% 이상으로 친자관계가 인정된다.

Case 6(세퍼트): Case 5와 같은 농장의 한 가계에 대한 결모검사.

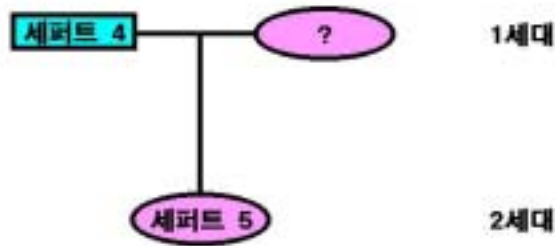


Fig. 23. Case 6의 가계도.

Table 27. Case 6를 구성하는 개체들의 genotype profile.

개체	Locus									
	CVS-1	CVS-2	CVS-3	CVS-4	CVS-5	CVS-6	CVS-7	CVS-10	CVS-11	CVS-12
세퍼트4	04/07	17/17	12/13	25/27	11/11	02/03	04/06	16/20	06/07	02/06
세퍼트5	05/07	14/17	13/13	25/27	09/11	02/03	02/06	16/17	07/09	06/06

Table 28. Case 6 결모검사의 부권지수와 부권확률의 계산.

Locus	PI	누적 PI	PP	누적 PP
CVS-1	0.612506	0.612506	0.37984727	0.37984727
CVS-2	6.711409	4.110778	0.87032201	0.80433507
CVS-3	7.142857	29.362701	0.87719298	0.96706485
CVS-4	9.203374	270.235923	0.90199320	0.99631317
CVS-5	0.963020	260.242598	0.49058084	0.99617214
CVS-6	1.917002	498.885582	0.65718227	0.99799954
CVS-7	26.881720	1.341090×10 ⁴	0.96413421	0.99992544
CVS-10	4.332756	5.810617×10 ⁴	0.81247970	0.99998279
CVS-11	1.227295	7.131341×10 ⁴	0.55102490	0.99998598
CVS-12	1.542888	1.925925×10 ⁵	0.60674635	0.99999481

누적 부권확률 99.999% 이상으로 부권이 인정된다.

Case 7(비글): 강원도의 한 실험견 농장의 한 가계에 대한 trio 검사.

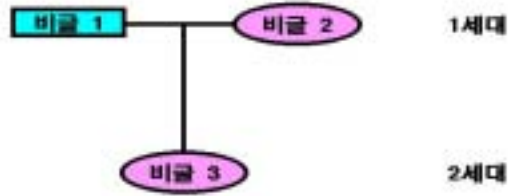


Fig. 24. Case 7의 가계도.

Table 29. Case 7을 구성하는 개체들의 genotype profile.

개체	Locus										
	CVS-1	CVS-2	CVS-3	CVS-4	CVS-5	CVS-6	CVS-7	CVS-8	CVS-9	CVS-10	CVS-11
비글1	04/05	12/14	12/12	28/30	12/13	06/07	03/06	07/08	17/18	10/11	03/04
비글2	04/07	14/16	14/14	31/31	10/11	08/08	02/06	01/04	08/12	09/10	04/06
비글3	04/07	14/14	12/12	30/31	11/12	06/08	06/06	04/07	12/18	09/10	03/04

Table 30. Case 7 3인검사의 부권지수와 부권확률의 계산.

Locus	PI	누적된 PI	PP	누적된 PP
CVS-1	1.515152	1.515152	0.60240972	0.60240972
CVS-2	1.724138	2.612331	0.63291140	0.72317044
CVS-3	20.000000	52.246623	0.95238095	0.98121947
CVS-4	2.777778	145.129519	0.73529413	0.99315676
CVS-5	7.142857	1036.639403	0.87719298	0.99903627
CVS-6	6.250000	6478.996269	0.86206897	0.99984568
CVS-7	10.000000	7.635956×10^4	0.90909091	0.99998690
CVS-8	4.166667	3.181649×10^5	0.80645163	0.99999686
CVS-9	6.250000	1.988530×10^6	0.86206897	0.99999950
CVS-10	1.162791	2.312245×10^6	0.53763447	0.99999957
CVS-11	3.333333	7.707484×10^6	0.76923075	0.99999987

부권 확률이 99.9999% 이상으로 친자관계가 인정된다.

Case 8 (비글): Case 7과 같은 농장에서 한 가계에 대한 결모검사.

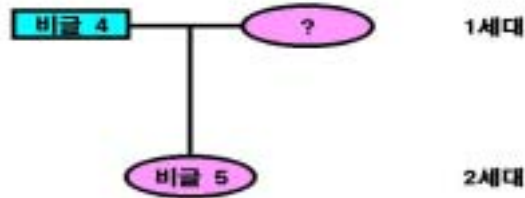


Fig. 25. Case 8의 가계도.

Table 31. Case 8을 구성하는 개체들의 genotype profile.

개체	Locus										
	CVS-1	CVS-2	CVS-3	CVS-4	CVS-5	CVS-6	CVS-7	CVS-8	CVS-9	CVS-10	CVS-11
비글4	03/04	17/17	13/15	26/28	09/10	06/08	04/04	04/06	10/14	10/11	03/06
비글5	03/03	13/17	12/15	28/28	09/11	04/08	02/04	01/04	12/14	05/11	03/03

Table 32. Case 8 결모검사의 부권지수와 부권확률의 계산.

Locus	PI	누적 PI	PP	누적 PP
CVS-1	8.333333	8.333333	0.89285714	0.89285714
CVS-2	12.500000	104.166663	0.92592593	0.99049128
CVS-3	25.000000	2604.166563	0.96153846	0.99961615
CVS-4	4.166667	1.043336×10 ⁴	0.80645163	0.99990416
CVS-5	1.190476	1.242066×10 ⁴	0.54347822	0.99991950
CVS-6	8.333333	1.035055×10 ⁵	0.89285714	0.99999034
CVS-7	1.612903	1.669444×10 ⁵	0.61728392	0.99999401
CVS-8	2.777778	4.637344×10 ⁵	0.73529413	0.99999784
CVS-9	2.777778	1.288151×10 ⁶	0.73529413	0.99999922
CVS-10	2.272727	2.927616×10 ⁶	0.69444442	0.99999966
CVS-11	3.333333	9.758719×10 ⁶	0.76923075	0.99999990

누적 부권확률 99.99999%로 친자관계가 인정된다.

Case 9 (그레이하운드): 전남의 그레이하운드 농장에서의 한 가계에 대한 trio 검사.

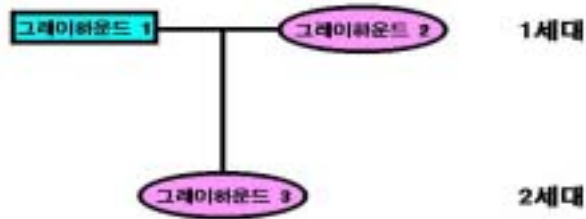


Fig. 26. Case 9의 가계도.

Table 33. Case 9을 구성하는 개체들의 genotype profile.

개체	Locus								
	CVS-1	CVS-2	CVS-3	CVS-4	CVS-5	CVS-8	CVS-9	CVS-13	CVS-14
그레이하운드1	07/08	15/18	14/16	29/30	08/12	07/09	15/16	08/10	04/04
그레이하운드2	05/07	14/15	23/23	27/32	12/13	05/07	16/17	09/11	04/17
그레이하운드3	07/07	14/15	16/23	27/29	12/13	07/07	15/16	08/11	04/17

Table 34. Case 9 3인검사의 부권지수와 부권확률의 계산.

Locus	PI	누적된 PI	PP	누적된 PP
CVS-1	1.205861	1.205861	0.54666228	0.54666228
CVS-2	1.782353	2.149270	0.64059197	0.68246610
CVS-3	4.097132	8.805843	0.80381124	0.89801999
CVS-4	20.487706	180.411518	0.95346176	0.99448767
CVS-5	1.171509	211.353717	0.53949074	0.99529088
CVS-8	1.138952	240.721739	0.53248133	0.99586301
CVS-9	6.829918	1644.109735	0.87228474	0.99939214
CVS-13	13.661202	2.246052×10^4	0.93179277	0.99995548
CVS-14	16.395082	3.682420×10^5	0.94251249	0.99999728

누적 부권확률이 99.999% 이상으로 친자관계가 인정된다.

Case 10(그레이하운드): Case 9과 같은 농장의 한 가계에서의 결모검사.

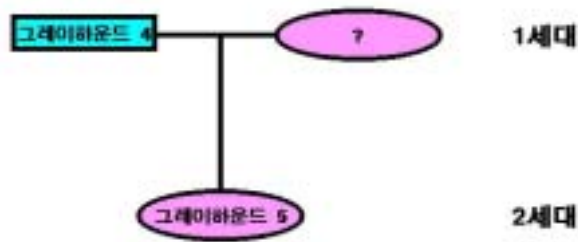


Fig. 27. Case 10의 가계도.

Table 35. Case 10을 구성하는 개체들의 genotype profile.

개체	Locus								
	CVS-1	CVS-2	CVS-3	CVS-4	CVS-5	CVS-8	CVS-9	CVS-13	CVS-14
그레이하운드4	08/09	14/16	13/16	27/29	11/12	05/07	15/17	9/11	03/06
그레이하운드5	08/08	13/16	07/13	23/29	08/11	04/07	10/17	11/11	02/06

Table 36. Case 10 결모검사의 부권지수와 부권확률의 계산.

Locus	PI	누적된 PI	PP	누적된 PP
CVS-1	6.829918	6.829918	0.87228474	0.87228474
CVS-2	2.561219	17.492916	0.71919727	0.94592524
CVS-3	0.819695	14.338856	0.45045736	0.93480609
CVS-4	10.243853	146.885129	0.91106252	0.99323799
CVS-5	2.927400	429.991526	0.74537862	0.99767977
CVS-8	0.569476	244.869854	0.36284467	0.99593281
CVS-9	2.561219	627.165323	0.71919727	0.99840806
CVS-13	10.245902	6425.874437	0.91107872	0.99984440
CVS-14	1.708988	1.098174×10 ⁴	0.63085846	0.99990895

누적부권확률이 99.99%로서 친자관계가 인정된다.

그러므로 총 5품종 10개의 가게에서 14개 케이스를 대상으로 본 연구에서 확립된 이들 표준마커를 이용하여 실제적인 친자감별 유전자감식에 응용실험을 하였다. 그 결과, 삼자검사(trio case)에 있어서 친자관계를 배제할 수 없는 경우 중 가장 낮은 평가값은 셰퍼드의 케이스 5로서 누적부권지수 30,000, 부권확률 99.996%으로 친자관계를 인정할 수 있었다. 가장 높은 평가값은 풍산개의 Case 1의 1세대와 2세대간 검사로서 누적부권지수가 2.97×10^7 을, 부권확률은 99.999997%를 기록하였다.

결모검사(motherless case)에 있어서 가장 낮은 평가값은 풍산개 Case 2에서 풍산개 6과 8 사이의 검사로서 누적부권지수 3018과 부권확률 99.96%를 기록하였다. 결모검사에 있어서는 친모(또는 친부)의 유전자형을 알 수 없는 상태에서 추정부(또는 추정모)와 자식의 유전자형의 비교로만 친자관계를 평가하여야 하기 때문에 당연히 삼자검사보다 부권지수와 부권확률이 낮아지게 된다. 그러나 가장 낮은 경우에도 99.9% 이상의 부권확률을 얻었기 때문에 본 연구에서 선정된 표준마커를 이용하여서 토종견이 아닌 외래 순종견의 친자감별의 삼자검사는 물론, 결모검사까지 가능성을 보여 주었다.

14개의 친자감별 케이스 중 풍산개에서 1건, 진돗개에서 1건, 도합 2 건의 삼자검사 경우에 친자관계를 배제할 수 있는 유전자형 불일치가 나타났다. 이것은 본 응용 시험에서 14.3%의 경우에 농장주의 가게기록에 오류가 있다는 것을 의미한다. 비록 더 많은 케이스를 대상으로 조사를 하여야 일반적인 경향을 알 수 있겠지만 이 결과 만으로도 농장주의 기억에 의존하는 가게정보와 혈통등록에 심각한 오류가 있을 수 있다는 결론을 쉽게 내릴 수 있다. 그러므로 국내 토종견 및 순종견의 혈통등록에 있어 유전자감사에 의한 친자확인 기법의 도입이 중요함을 알 수 있다.

일반적인 유전자감식에 의한 친자감별에 있어 부권지수와 부권확률을 계산할 때 친부와 추정부와는 유전적으로 전혀 관련이 없는 개체임을 가정한다. 그러나 실제로는 친부와 추정부가 가까운 친척관계일 가능성이 있을 수 있는 경우가 있으며, 이 때는 공통조상으로부터 물려받은 유전자형을 공유하게 되고,

이것은 부권지수의 계산에 커다란 영향을 주게 된다. 이 때에는 추정부와 친부와의 친척관계의 지수, 즉 근친계수(inbreeding coefficient, θ)를 고려하여 계산을 하여야 한다. 그러나 추정부와 친부와의 친척관계가 얼마나 가까운 지는 알 수 없는 경우가 대부분이기 때문에 가장 가까운 친척관계, 즉 부모-자식 간 또는 친형제 간의 관계로 가정하고 위 풍산개 응용 케이스 중 4 경우에서 부권지수와 부권확률을 다시 계산하여 보았다.

Table 37. 추정부와 친부의 가장 가까운 친척관계($\theta=0.25$)를 가정한 부권지수의 계산.

Case	추정부와 친부의 친척관계 가능성을 무시하는 경우		추정부와 친부의 친척관계 가능성을 가정하는 경우	
	부권지수	부권확률	부권지수	부권확률
Case 1, 1세대와 2세대간(trio)	2.974977×10^7	0.99999997	96.4862	0.989742
Case 2, 풍산개 6과 8 사이(motherless)	3018.753383	0.99966885	20.0652	0.952528
Case 2, 풍산개 7과 9 사이(motherless)	1.447339×10^6	0.99999931	97.2388	0.989821
Case 2, 2세대와 3세대	6.611893×10^4	0.99998488	43.0582	0.977303

그러므로 추정부와 친부 간의 친척관계를 가정하였을 때 부권지수와 부권확률이 급격히 감소함을 확인할 수 있다. 그러나 현실적으로 친척관계를 가정하고 적절한 부권지수를 얻기 위하여는 너무 많은 마커에 대한 typing이 필요하게 될 것이기 때문에 일반적으로는 친척관계를 무시하고 부권지수와 부권확률을 계산하는 것이 불가피하다. 그러나 케이스에 따라 추정부와 친부 간의 친척관계의 가능성을 의심할 상당한 이유가 있을 경우에는 추가적인 마커에 대한 typing이 필요하게 될 것이다.

라. 견종간의 유전적 거리와 F-Statistics

5견종 에서 공통적으로 조사된 5개 marker (CVS-1, 2, 3, 4, 5)의 분석결과를 이용하여 견종간의 유전적 거리를 나타내는 Nei's distance와 이에 근거한 UPGMA dendrogram을 작성하였다. 그리고 견종간의 유전적 거리를 다른 방법으로 제시하는 F-statistics 중 Fst 값을 계산하여 다음의 표에 나타내었다.

Table 38. 각 견종 간의 평균 비교 Fst 값 (상단)과 Nei's (1972) distance (하단).

	풍산개	진돗개	세퍼트	비글	그레이하운드
풍산개	-	0.029	0.090	0.061	0.055
진돗개	0.300	-	0.120	0.080	0.047
세퍼트	0.420	0.699	-	0.142	0.130
비글	0.386	0.611	0.670	-	0.067
그레이하운드	0.466	0.424	0.690	0.405	-

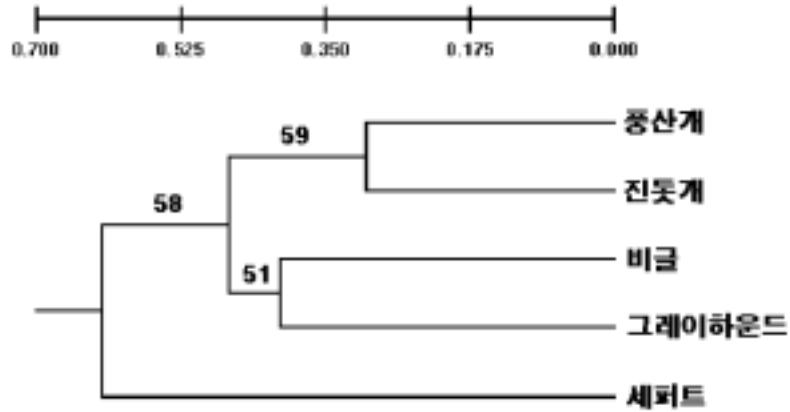


Fig. 28. 5개의 microsatellite loci를 이용하여 계산한 Nei's distance에 근거한 견종간의 유전적 거리를 나타내는 UPGMA dendrogram. 제일 상단의 값은 유전적 거리를 나타내며 branch 위의 값은 1000번 bootstrap에서의 신뢰도를 퍼센트로 나타낸 것이다.

Table 38을 보면 풍산개와 진돗개 사이의 Nei's distance가 0.300, Fst 값이 0.029로 각 견종들 간의 비교에서 그 값이 가장 작았기 때문에, 예상대로 한국 토종견들 간의 유전적 거리는 외국견종에 비해 가깝다는 것을 확인할 수 있었다. 그러나 풍산개와 진돗개 사이의 유전적 거리가 생각보다는 상당한 값을 보여 주고 있는 점은 흥미있는 사실이며, 두 3가지 외국견종 중 토종견들과 유전적 거리가 가장 먼 것은 셰퍼드였다.

제 2 절: 집단번식에 있어 생산능력 최적모델 개발 및 생리·형태특성연구

1. 추진방법

국내 실험건 및 토종건인 풍산건의 번식 및 사육 환경에 관한 실태조사 및 체형조사를 다음과 같이 실시하였다.

가. 실태조사항목

- 1) 사육 두수
- 2) 사양 관리
- 3) 사육 환경
- 4) 일반적인 질병지표 조사

나. 풍산건의 연령별, 성별 체장과 체고 등 형태학적인 특징조사: 체형의 측정에 있어서는 다음의 기준에 따랐다(Park, 1971).

- 1) 체고 : 기갑 최고부에서 지상까지에 이르는 수직 거리.
- 2) 체장 : 흉골 전단에서 둔단 끝까지의 거리.
- 3) 흉위 : 기갑 최고부에서 약간 후방에 있어서의 가슴둘레.
- 4) 흉심 : 기갑 최고부에서 흉골 하연까지.
- 5) 이간 : 이근 후단부의 좌, 우 귀의 거리.
- 6) 이폭 : 이근부 최대 폭.
- 7) 이고 : 이근 중앙부와 이침단의 거리.
- 8) 체중 : 몸 무게(kg)
- 9) 일반외모 : 관찰을 통하여 품성, 머리, 귀의 형태, 직립도, 눈, 흉채색, 비색, 구강점막색, 모색, 혼모 유무 및 부위, 정도 등, 흉, 복부 꼬리의 모양, 전지 등을 확인.

다. 생리화학적 특성조사: 연령별, 성별로 동물의 요측피하정맥에서 혈액 및 혈액화학검사를 위한 혈액 8ml 정도를 채취하여 혈청 중 총단백질(TP), 알부

민(Alb), 글로블린(Glb), 콜레스테롤(Chole), 마그네슘(Mg), 칼슘(Ca), 무기인(P), 포타슘(K), 소듐(Na), 염소(Cl) 등의 농도를 측정하였다. 혈액검사를 위하여는 Hemavet (Oxford, CT, USA)를, 혈청검사를 위하여는 Vitalab Selectra E (Vital Scientific, Dieren, The Netherlands)의 분석기기를 이용하였다.

라. 사양 및 번식 상태 조사: 기본적인 질병 스크리닝 및 건강의 척도가 되는 전체적인 신체검사, 혈액 및 혈청을 통한 검사 그리고 분변을 통한 기생충의 감염여부 등을 조사하였다. 혈액검사로서는 적혈구, 백혈구 및 적혈구와 관련된 수치들 그리고 백혈구의 감별계수를 통하여 질환의 만연 여부를 스크리닝하였으며, 분변을 통한 충란의 확인을 이용해 기생충의 감염여부를 검사하였다. 최적번식을 위한 발정 및 교배시기 판단의 정확성 검증을 위하여 질도말 검사를 실시하였는데, 방법은 6인치 정도 길이의 면봉을 생리식염수에 적신 후 음순을 통과하여 면봉을 음문의 등쪽교합부에 삽입하며, 배쪽의 음핵오목 및 요도개구부는 접촉하지 않도록 한다. 치골궁까지는 면봉을 등쪽으로 앞으로 척추를 향해 삽입하고 그 후로는 앞쪽으로 삽입하였다. 면봉은 질전정에 있는 정상 편평상피세포의 채취를 막기 위해 요도구의 앞쪽으로 삽입, 채취한다. 면봉을 빼내어 깨끗한 슬라이드에 굴려 도말한다. 슬라이드에 문질러서 도말을 하면 세포에 손상을 줄 수가 있다. 공기중에서 말린다. New methylene blue 또는 Diff-Quik[®]을 이용하여 염색하였다. 관독은 각화세포 즉, 무핵편평상피와 superficial cell; 비각화세포로서는 intermediate cell, parabasal cell 등을 관찰하였다.

2. 결과

가. 방문농장 1

- 1). 농장소재지: 강원도 삼척시 소재 비글견 번식농장
- 2). 일반적 관리실태
 - 가) 사육두수 : 비글견 200두

나) 사료 : Dog Rang Hunter 15kg 대주산업

다) 사육환경 : 축사를 개조한 건물내 케이지 사육(100×80×80cm)

3). 건강관리 현황

백신: 파보-코로나 백신(1회만)과 DHPPL 혼합 백신을 1개월령에 접종 시작해서, 2개월령에 2회, 3개월령에 3회째 실시하고, 광견병 백신은 3.5개월령에 실시함. DHPPL 백신의 경우는 보통 6주령에 시작해서, 2에서 3주 간격으로 3에서 5회 정도 실시하는 것으로 알려져 있으나, 본 농장의 경우, 1개월령에 초회 접종을 실시하는 것은 다소 이른 것으로써 모체이행항체와의 상호 간섭이 우려되어 적절한 면역능을 획득치 못 할 수도 있다. 이는 향후 계몽으로 지도되어야 할 것으로 생각한다.

구충: 구충에 있어서는 25일에서 1개월령에 초회 구충, 그리고 그후 5에서 7일경에 2회, 그후 1개월경에 3회째 구충을 실시하는 것으로 나타났다. 그러나 기생충 검사 결과(분변중 직접 충란 확인), 거의 대부분의 분변 샘플에서 회충인 *Toxascaris leonina*의 충란이 발견되었다. 이는 좀 더 효율적인 구충프로그램이 요구되는 상황이라 할 수 있다. 즉, 약제의 선택이나 구충시기의 조절 면에서 개선이 요구된다 하겠다.

혈액: 혈액 샘플을 검사한 결과, 1두에서만 백혈구 수치가 약간 증가하였고, 나머지 적혈구, HCT, MCV, 헤모글로빈 등의 수치는 모두 정상 범위에 있는 것으로 나타났다. 백혈구 수치가 증가한 예에서는 그 정도가 다소 경미한 수준으로서 농장 관리자의 의견을 고려해볼 때 별다른 질환의 징후를 보이지 않았으므로 일시적이거나 경미한 염증 상황 정도 또는 가검물 채취로 인한 낫선 사람의 견사 출입에 따른 다소의 스트레스에 기인하는 것으로 이해할 수 있을 것이다. 이는 추후에 계속되는 경향을 보일 경우, 개체 관리가 요구된다.

혈청화학치: 혈청 화학 검사에서는 나트륨, 칼륨, 염소 등의 이온은 별다른 변화 없이 정상 범위에 있었다. 그리고 칼슘의 경우는 2 내지 3년령 정도의 건

군 중 6두에서 다소 감소한 경향을 보였고 인의 경우는 이와 대조적으로 6내지 7개월령의 비교적 어린 견군에서 다소 증가한 경향을 보였는데, 이는 매우 다양한 원인의 가능성이 있으나 우선 농장의 현 여건을 고려해 볼 때, 특이적인 문제보다는 가검물의 취급에 따른 즉, 용혈이나 혈청 분리 시까지의 시간의 지연 등의 기술적인 문제에 기인하는 것으로 생각된다. 하지만, 이러한 상황이 지속 되면, 칼슘과 인의 농도 사이의 균형이 깨져서 올 수 있는 전신적인 대사성 골 질환의 경우에 봉착하는 수도 있으니, 관리인을 통해 상황의 가능성을 주지시킬 필요가 있다. 이외에도 ALT는 모두 정상 범위에 있었고, ALP, BUN, creatinine, 총단백, 알부민, 콜레스테롤, lipase, amylase 등에 있어서도 군별로 다소 정상치를 넘거나 못 미치는 예들이 있었으나, 사양관리 또는 농장의 환경 등으로 미루어 별다른 이상 요소가 없는 것으로 생각되어 이들 가검물 수치 결과상의 변화 역시, 경미하거나 가검물 취급이나 동물의 정상적 생리상태에 따른 변화의 범위 내에 있는 것으로 생각된다.

나. 방문농장(기관) 2

1) 기관명: 서울대공원 풍산개 4두(북한의 중앙동물원에서 공식적으로 직수입한 개체들)

2) 검사항목

가) 혈액학적 검사

나) 백혈구 감별계산

다) 혈액화학적 검사

라) 혈액 전해질 측정

3) 검사결과

가) 혈액학적 검사

Table 39. 방문기관 2에서의 풍산개 혈액학적 검사결과.

항목 \ 개체번호	1	2	3	4
백혈구수(개/ $\mu\ell$)	12,700	14,100	11,900	12,000
적혈구수(만개/ $\mu\ell$)	835	630	800	766
Hb(g/dl)	16.4	11.7	15.5	14.0
PCV(%)	49	38	47	47
MCV(fl)	58	60	58	61

모든 혈액학적 검사 결과는 정상범위 내에 있었다.

나) 백혈구 감별계산

Table 40. 방문기관 2에서의 풍산개 백혈구 감별계산 결과.

항목 \ 개체번호	1	2	3	4
MONO	1	3	3	-
LYMPH	37	17	22	36
SEG	49	76	58	55
BAND	2	1	-	2
EOSIN	11	3	17	7
BASO	-	-	-	-
JUVEN	-	-	-	-

다른 수치들은 모두 정상범위 내에 있었으나 호산구 수치에 있어서 다소 높은 경향을 보였다. 따라서 이들 개체에 대해서는 구충에 좀 더 만전을 기해야 할 것으로 생각된다.

다) 혈청화학적 검사

Table 41. 방문기관 2에서의 풍산개 혈청화학적 검사 결과.

항목 \ 개체	1	2	3	4
ALT(U/L)	26	29	67	35
AST(U/L)	26	30	32	23
ALP(U/L)	92	386*	100	79
BUN(mg/dℓ)	17	16	13	14
Creatinine(mg/dℓ)	0.9	0.8	1.1	0.9
Glucose(mg/dℓ)	65	76	83	63
Total Bilirubin(mg/dℓ)	0.2	0.2	0.3	0.2
Albumin(g/dℓ)	2.8	2.6	2.8	2.9
Total Protein(g/dℓ)	6.0	5.9	5.7	5.8
γ-GT(U/L)	5	7	7	7
Total Cholesterol(mg/dℓ)	98	132	128	141
Free Cholesterol(mg/dℓ)	24	35	30	34
Calcium(mg/dℓ)	10.8	10.1	10.0	11.2
Phosphorus(mg/dℓ)	4.0	4.0	4.5	4.1
Amylase(U/L)	978	663	512	1027

풍순의 ALP만이 정상치를 넘는 것으로 나타났다. 이는 간장이나 기타 장기의 이상을 생각할 수 있으나, 각 장기의 이상에 따른 다른 효소 수치 변화는 전혀 인정이 되지 않으므로 비특이적인 변화로 생각된다. 추후 재검이 요망된다.

라) 혈액 전해질 측정

Table 42. 방문기관 2에서의 풍산개 혈액 전해질 측정 결과.

항목(mmol/L) \ 개체	덩치	풍순	풍돌	비실
Na+	151	149	150	152
K+	4.2	4.5	3.5	5.0
Cl-	114	113	114	114

다. 방문농장(기관) 3

- 1) 기관명 : 청와대 (청와대 내에서 기증받아 사육 중인 진도견 2두 및 김정일 위원장의 선물로서 사육되고 있는 풍산개 2두)
- 2) 검사항목
 - 가) 진도견 : 혈액화학 및 혈청화학 검사, 심장사상충 검사
 - 나) 풍산개 : 분변 검사 (당시 풍산개의 연령이 너무 어린 이유에서 혈액 채취는 시도하지 않았음)
- 3) 검사결과
 - 가) 진도견 혈액 및 혈청화학 검사

Table 43. 방문기관 3에서의 진도견 혈액 및 혈청화학 검사 결과.

개 체		처 용	나 리	
항 목				
혈액화학검사	백혈구수(개/ $\mu\ell$)	8,400	8,500	
	적혈구수(만개/ $\mu\ell$)	724	755	
	Hb(g/dl)	14.9	14.5	
	PCV(%)	42	44	
	MCV(fl)	58	57	
	백혈구 감별계산(%)	MONO	3	2
		LYMPH	36	23
		SEG	57	69
		BAND	1	2
		EOSIN	3	4
혈청화학검사	ALT(U/L)	96	22	
	AST(U/L)	30	21	
	ALP(U/L)	248	212	
	BUN(mg/dl)	8	8	
	Creatinine(mg/dl)	0.9	0.9	
	Glucose(mg/dl)	93	69	
	Total Bilirubin(mg/dl)	0.35	0.28	
	Albumin(g/dl)	3.0	2.8	
	Total Protein(g/dl)	6.1	5.7	
	γ -GT(mg/dl)	9	9	
	Total Cholesterol(mg/dl)	92	227	
	Calcium(mg/dl)	9.1	9.3	
	Phosphorus(mg/dl)	1.9	2.1	
	전해질(mmol/L)	Na ⁺	147	146
		K ⁺	5.3	5.8
Cl ⁻		115	115	

Table 43에서 살펴본 바와 같이 처용의 ALT와 ALP가 정상치를 넘었으며, 나리의 ALP가 증가된 것으로 관찰되었다. 이는 간장이나 기타 장기의 이상을 생각할 수 있으나, 각 장기의 이상에 따른 다른 효소 수치 변화는 전혀 인정이 되지 않으며 임상적인 증상 또한 전혀 관찰되지 않아, 일시적인 비특이적인 변화로 생각된다. 추후 재검사가 요망된다.

나) 진도견 심장사상충 검사 : 음성

다) 풍산개 분변 검사 : ‘두리’는 개회충인 *Toxocara canis*의 충란이 발견됨. ‘우리’의 경우에도 특이한 충란은 발견되지 않았지만 분변 검사시 모래알갱이들이 상당량 관찰되어 이식증이 있음을 알 수 있었고, 이러한 이식증의 원인에는 기생충의 감염의 가능성도 고려해야 할 것으로 생각된다.

라. 방문농장(기관) 4

- 1) 기관명 : 서울대공원 풍산개 11두 (북한에서 수입된 풍산개 4두, 청와대로부터 위탁받은 풍산개 2두 및 이들로부터 번식된 개체들)
- 2) 검사항목: 혈액학적 검사, 백혈구 감별계산, 혈액화학적 검사, 체형 측정
- 3) 검사결과
 - 가) 혈액학적 검사
 - 나) 백혈구 감별 계산

Table 44. 방문기관 4에서의 풍산견 혈액학적 검사 및 백혈구 감별계산 결과.

번호	WBC (千/ $\mu\ell$)	RBC (萬/ $\mu\ell$)	PCV (%)	Hb (g/dl)	MCV (fl)	Differential WBC count (%)					
						Mono	Lymph	Seg	Band	Eosin	Baso
1	9,600	795	48	16.0	60	2	36	52	-	10	-
2	13,900	533	33	10.4	62	1	33	56	2	8	-
3	11,000	848	50	17.1	58	1	31	50	1	17	-
4	16,600	763	43	15.2	56	1	25	65	-	9	-
5	11,900	573	33	11.3	56	8	31	62	2	3	-
6	9,300	807	45	16.2	56	4	23	66	1	6	-
7	14,300	733	45	14.1	61	-	30	45	-	25	-
8	13,700	642	38	12.7	59	1	43	49	2	5	-
9	14,000	705	42	13.8	59	2	35	58	-	5	-
10	10,700	706	40	14.3	56	-	33	63	-	4	-
11	13,400	677	40	13.5	59	-	27	64	2	7	-

3번, 7번 개체에서 호산구 증다증이 관찰되었으며, 이는 내부 기생충 감염, 심장 사상충 감염이나 외부 기생충의 감염 그리고 호산구 침윤성 염증 등의 가능성이 있음을 시사하며, 그 외의 개체에서 다른 수치들은 모두 정상 범위 내에 있는 것으로 나타났다.

다) 혈청화학적 검사

Table 45. 방문기관 4에서의 풍산견 혈청화학적 검사 결과.

번호	ALT (U/l)	AST (U/l)	ALP (U/l)	BUN (mg/dl)	Crea. (mg/dl)	Glu. (mg/dl)	Bili. (mg/dl)	Alb. (g/dl)	T.prot (g/dl)	r-GT (U/l)	Chole. (mg/dl)	Ca (mg/dl)	Phos. (mg/dl)
1	39.9	24.9	110	18.3	0.98	75	0.12	2.74	5.69	6.8	101	10.63	3.37
2	21.4	25.2	180	19.2	0.51	53	0.13	2.05	4.81	3.6	162	8.06	3.74
3	24.2	19.2	77	13.0	0.70	59	0.18	2.50	5.93	5.3	107	8.46	2.40
4	22.9	17.7	227	9.6	0.66	72	0.12	2.32	6.20	6.8	235	9.13	3.31
5	27.4	31.2	156	8.7	0.67	71	0.11	2.12	5.37	6.1	139	8.79	5.29
6	52.0	39.5	101	10.7	0.81	73	0.18	2.61	5.72	6.8	128	9.06	3.01
7	34.2	29.1	86	12.6	0.87	66	0.16	2.31	5.65	5.4	102	9.27	2.48
8	38.4	22.0	207	8.3	1.11	76	0.12	2.54	5.10	5.0	224	9.62	4.39
9	52.4	19.8	258	8.2	0.86	80	0.12	2.47	5.05	4.4	218	9.53	4.94
10	31.3	23.6	237	16.3	0.81	83	0.22	2.41	5.60	5.7	212	10.14	5.32
11	55.2	20.9	263	8.3	0.84	91	0.12	2.60	5.34	4.3	234	9.68	4.96

4번, 8번, 9번, 10번, 11번의 경미한 ALP 상승을 제외하고 다른 개체의 혈청 수치는 모두 정상 범위 내에 있는 것으로 생각된다. 이러한 ALP의 상승은 정도가 경미하여 크게 고려할 상황은 아닌 것으로 생각되며 샘플의 용혈 등 가검물 채취 및 처리 과정상의 오류에 의한 것으로 사료된다. 추후 재검사를 통한 확인이 요망된다.

라) 체형측정

Table 46. 방문기관 4에서의 풍산견 체형측정 결과.

개체 번호	성별	체고	체장	흉위	흉심	이간	이폭	이고	귀	코	체색	꼬리형 태
1		52	64	65	26	16	10	10	하수	흑	백	
2		48	60	67	26	16	9	10	직립	흑	백	말립
3	M	58	60	62	28	15	8	11	하수	흑	백	말립
4	F	53	60	61	25	16	8	9	하/직	흑	백	
5	F	52	60	55	22	16	9	10	하수	살	백	
6	M	53	60	58	26	15	8	10	하수	흑	백	
7	M	58	63	60	26	18	8	10	하수	살	백	
8	F	54	58	59	26	15	7	10	하수	살	백	
9	F	55	61	63	25	17	8.5	10	하수	살	백	말립
10	F	54	59	60	27	15	8.5	10	하수	살	백	말립
11	F	55	60	60	28	15	8.5	10	하수	살	백	말립

마. 방문 농장 5

1) 농장소재지: 경기도 광주 소재 풍산개 농장

2) 검사항목: 혈액학적 검사, 백혈구 감별계산, 혈액화학적 검사, 체형 측정, 분변 검사 (분변 검사의 실시여부에 있어서, 농장의 사육 방식이 케이지에 개별 사육하는 방식이 아니고 일정 영역내에 방목하는 형태의 사육 방식을 취함으로써 인하여 특정 개체의 분변이 아닌 한 집단의 표본을 채집하였다)

3) 검사결과

가) 혈액학적 검사

나) 백혈구 감별 계산

Table 47. 방문농장 5에서의 풍산견 혈액학적 검사 및 백혈구 감별계산 결과.

번호	WBC (千/ $\mu\ell$)	RBC (萬/ $\mu\ell$)	PCV (%)	Hb (g/dl)	MCV (fl)	Differential WBC count (%)					
						Mon o	Lymph	Seg	Band	Eosin	Baso
1	22.3	6.70	37.3	14.1	55						
2	22.3	5.05	31.2	10.3	61	3	9	75	3	11	
3	15.0	7.51	46.3	15.1	61	1	22	72	4	9	
4	18.2	7.81	43.4	17.2	55		22	73	4		
5	21.4	4.76	28.1	10.5	58	3	23	62		9	
6	13.7	6.10	36.4	13.0	59						
7	24.1	6.39	39.8	13.5	62		14	77	4	4	1
8	16.2	6.69	42.9	14.9	64		26	54		19	1
9	16.6	8.43	49.0	19.0	58		21	68	7	4	
10	9.3	8.04	47.0	18.3	58		13	85		1	
11	14.3	8.77	49.6	18.4	56		18	76	2	1	1
12	23.4	6.79	39.3	14.6	57	2	17	72	2	7	
13	11.3	7.59	46.3	17.4	61	8	13	53	1	25	
14	16.4	7.14	40.7	15.7	56	5	10	71		14	
15	18.1	8.77	54.4	17.8	62	2	9	48		41	
16	33.9	5.60	35.0	11.5	62	2	28	52	5	12	1
17	24.4	6.26	34.9	12.6	55		16	80	1	2	
18	22.0	6.71	42.2	14.7	62		13	79	2	6	
19	16.7	5.59	33.1	11.6	59		20	67	4	2	2
20	14.4	6.48	38.6	12.0	59		31	59	1	8	1
21	15.7	7.50	43.6	15.6	58		21	69	2	8	
22	17.7	7.26	41.5	15.9	57	1	20	65	1	12	1
23	13.9	8.64	51.1	19.3	59	1	12	76	6	4	1
24	18.8	6.95	39.3	14.8	56		17	58		18	2
25	19.7	6.75	39.9	14.0	59		21	73	1	5	
26	18.4	6.07	33.2	13.1	54		34	60	1	4	
27	10.9	6.39	36.6	12.6	57		27	71	2		
28	18.9	5.43	34.1	11.5	62		22	76		2	
29	14.8	6.82	41.1	12.9	60	3	28	58	3	9	
30	21.9	7.67	39.9	16.6	52	4	16	76	4		1
31	12.7	7.41	41.5	16.5	56	1	20	78			1
32	12.5	7.33	44.2	14.8	60	2	34	56		8	

개체 1번, 5번, 7번, 13번, 18번, 32번에서 경미한 백혈구 증가증이 확인되었으며, 이는 체내의 경미한 염증 반응이나 감염증이 있음을 의미한다. 일반적인 신체검사상의 결과와 고려해 보았을 때 피부질환이나 다른 외상으로 인한 것을 고려해보아야 할 것이다. 14번, 16번, 25번 개체에서는 호산구 증가증이 확인되었는데, 이는 내부 기생충, 심장 사상충, 외부 기생충, 호산구 침윤성 염증 등이 있을 가능성을 의미한다. 그 외의 개체에서 다른 수치들은 모두 정상 범위 내에 있는 것으로 확인 되었다.

다) 혈청화학적검사

Table 48. 방문기관 5에서의 풍산견 혈액화학적 검사 결과.

개체 번호	ALT (U/l)	AST (U/l)	ALP (U/l)	BUN (mg/dl)	Crea. (mg/dl)	Glu. (mg/dl)	Bili. (mg/dl)	Alb. (g/dl)	T.pro (g/dl)	r-GT (U/l)	Chole. (mg/dl)	Calcium (mg/dl)	Phos. (mg/dl)
1	58.0	42.3	89	13.9	0.80	52	0.95	2.49	8.63	7.6	274	10.14	4.79
2	35.0	47.7	220	8.7	0.82	26	0.13	2.44	6.33	9.9	217	9.18	6.96
3	33.4	37.2	204	21.2	0.66	35	0.51	2.49	7.12	10.3	180	10.86	6.71
4	41.8	109.0	216	13.1	0.81	29	0.15	2.81	6.81	7.7	166	10.11	4.66
5	26.9	32.0	90	14.5	0.95	44	0.21	2.29	6.09	4.6	222	9.06	5.95
6	37.95	34.1	88	7.6	1.19	62	0.16	2.65	6.99	3.2	210	9.76	4.02
7	42.7	54.2	67	14.9	1.27	47	0.45	2.78	7.64	6.0	191	9.80	4.55
8	57.7	46.8	104	7.5	0.57	54	1.25	2.59	9.16	10.4	161	9.50	3.94
9	73.9	46.7	226	12.6	0.27	45	1.03	3.01	8.94	12.5	263	10.93	5.81
10	26.8	33.3	127	12.4	0.96	54	0.51	3.02	8.03	9.9	306	10.77	4.05
11	17.7	17.9	57	16.9	0.90	68	0.48	2.23	6.41	6.0	245	10.29	5.41
12	58.1	38.2	152	12.9	1.11	59	0.67	2.65	8.26	12.9	213	10.19	3.81
13	32.7	35.2	61	23.8	0.89	56	0.43	2.43	6.67	6.0	146	10.26	5.04
14	21.9	29.0	235	26.1	0.98	66	0.40	2.45	7.22	7.3	100	10.27	1.75
15	16.0	29.3	72	14.3	0.93	42	0.64	2.47	7.59	7.3	229	9.63	5.37
16	31.8	40.6	201	24.1	0.95	57	0.13	2.62	6.28	4.4	126	9.16	3.19
17	33.0	47.6	168	32.1	0.75	47	0.29	2.46	6.51	6.6	117	8.76	2.04
18	32.8	35.7	102	7.0	1.12	39	0.37	2.75	7.11	6.6	197	11.69	7.80
19	57.3	51.3	202	29.6	0.67	73	0.75	2.61	7.39	7.6	175	10.28	3.35
20	38.2	28.9	61	12.6	1.12	50	0.38	2.89	7.52	6.8	174	10.37	3.29
21	59.0	39.9	108	21.4	0.77	68	0.71	2.49	8.08	8.8	164	9.81	3.55
21	59.0	39.9	108	21.4	0.77	68	0.71	2.49	8.08	8.8	164	9.81	3.55
22	38.3	N/A	98	9.7	1.04	38	0.68	2.17	7.15	6.6	174	9.35	5.20
23	20.4	35.6	148	14.4	1.02	68	0.23	2.32	6.14	5.2	286	10.11	6.72
24	27.9	24.9	159	9.7	1.19	71	0.16	2.55	6.14	5.0	189	11.17	5.34
25	59.2	40.2	162	15.7	1.29	49	0.32	2.55	6.70	6.7	227	9.96	5.10
26	16.7	37.5	87	16.9	0.97	56	0.52	2.81	7.09	9.5	245	9.99	4.02
27	31.7	28.9	127	16.0	0.86	61	0.63	2.67	7.52	4.8	238	10.09	3.74
28	22.9	31.0	268	10.8	0.81	56	0.16	2.59	6.09	3.9	183	11.25	8.94
29	52.6	36.4	109	12.8	1.19	39	0.54	2.89	7.90	4.9	167	10.38	4.79

일부 간 효소 수치가 증가한 개체들이 관찰되었으며 그 세부적인 내용으로는, ALT 증가가 34번 개체에서 관찰되었고, AST 증가 4번 개체에서 나타났다. 또한 ALP 증가가 2, 3, 4, 10, 15, 17, 20, 30, 33번 개체에서 관찰되었다. 18번 개체에서 BUN 증가를 보였으며, Bilirubin 증가는 8, 10번 개체에서 관찰되었으며, 8번 개체에서는 T. protein 증가를 동시에 관찰할 수 있었다 그러나, 대부분의 혈청 검사 결과들의 증가 정도는 매우 경미하며, 다른 수치들과의 상관 관계

가 없으므로, 샘플의 용혈로 볼 수 있다. 특히, 다수의 샘플에서 저혈당증이 나타났으나, 이 역시 샘플 보관의 잘못으로 생각하는 것이 타당하다. 그외 모두 정상 범위내에 위치하는 것으로 나타났다.

라) 체형측정

Table 49. 방문기관 5에서의 풍산견 체형측정 결과.

개체 번호	성별	체고	체장	흉위	흉심	이간	이폭	이고	체중	귀	코	체색	꼬리 형태	기타
1	F	48	60	72	27	18	9	10	24	하수	재색			임신
2	F	52	56	60	24	14	8	10	18	하수	재색			
3	F	56	63	68	28	19	9.5	10	24	직립	살색	백색		
4	M	53	53	62	25	17	9.5	10	17	하/직	흑/살	황색		
5	F	53	55	80	30	18	8.5	10	28	하수	흑	재색		임신
6	M	60	64	78	31	20	12	11	30	하/직	흑	흑/백	말립	
7	M	57	63	70	27	18	10	12	25	하수	흑	흑	말립	
8	M	55	64	70	28	18	8	9	23	하수	흑/살	백/황		
9	M	58	60	78	33	20			28	하/직	살	백/황		
10	F	55	60	74	28	16	9.5	9.5	28	하수	살	백/황		
11	F	53	60	70	29	20	10	10	25	하수	흑/살	백/황		
12	M	55	60	72	28	15	10	9.5	23	하수	흑	백/황	말립	
13	F	62	61	75	28	19	10	11	27	하수	흑	재색		임신
14	M	63	70	80	33	21	10	10	31	하수	흑	백/황		장모
15	F	60	65	75	31	18	10	10.5	32	하수	흑	재색		임신
16	M	62	64	72	32	20	10.5	11	25	하수	흑	백/황	말립	
17	F	54	63	72	30	19	10	10	26	하수	흑/살	백/황	말립	
18	F	55	62	67	27	18	10	10	22	하수	흑	백/황		
19	F	53	59	63	27	20	9.5	10.5	22	직립	살	백/황	말립	
20	F	49	57	70	27	16	8	8	22	직립	흑	재색		
21	F	53	57	74	31	17	9.5	11	30	하수	살	백/황		
22	F	54	56	63	27	19	9	10	19	하수	흑	재색		
23	F	52	56	62	27	15	9	9	17	하수	흑	황색		
24	M	57	66	72	28	21	11	10	27	직립	흑	재색		
25	F	54	58	78	30	19	9	10.5	28	하수	살/흑	백/황		
26	F	53	56	67	28	18	10	10	19	하수	살/흑	백/황		
27	F	52	58	65	27	17	8.5	10	21	하수	살/흑	백/황	말립	
28	F	52	57	64	28	18	8	9.5	20	하수	흑	백/황		
29	M	55	60	65	27	18	8.5	10	22	하수	흑	재색		
30	M	56	56	69	27	21	9.5	11	23	하수	흑	황색		
31	M	55	60	62	26	17	8.5	10	21	하수	흑	황색		
32	F	45	49	56	20	13.5	7.5	7.5	13	직립	흑	흑색	진도	
33	F	49	55	63	25	17.5	8.5	9	19	직립	흑	흑색	진도	
34	M	53	56	62	26	16	8.5	9	17	직립	흑/살	백색	진도	

마) 분변검사: 무작위로 추출한 분변에 대하여 특이적인 충란이나 기생충을 발견할 수 없었다.

바. 방문 농장 6

1) 농장소재지 : 경기도 광주 소재 풍산개 농장

2) 검사항목: 혈액학적 검사, 백혈구 감별계산, 혈액화학적 검사, 체형 측정, 분변 검사, 질도말 검사 (질 도말 검사는 기본적으로 농장주가 인지하고 있는 발정기의 암캐들을 중심으로 실시하였으며, 연령이 1년령 이하이거나, 10년령 이상의 노령견에서는 실시하지 아니하였다)

3) 검사 결과

가) 혈액학적 검사

나) 백혈구 감별계산

Table 50. 방문농장 6에서의 풍산견 혈액학적 검사 및 백혈구 감별계산 결과.

개체 번호	WBC (개/ μ l)	RBC (萬/ μ l)	PCV (%)	Hb (g/dl)	MCV (fl)	Differential WBC count (%)					
						Mono	Lymph	Seg	Band	Eosin	Baso
1	20.1	6.39	37.2	13.2	58		18	67		14	
2	14.9	7.93	47.0	14.0	58	6	10	68	2	12	2
3	13.0	7.93	47	18.3	59	3	15	70		12	
4	14.7	7.57	43.9	15.3	58	5	9	68	1	16	1
5	17.2	7.19	42.3	15.0	58	2	9	75	3	12	
6	10.4	5.52	32.2	12.7	58	2	20	70	4	10	1
7	12.1	6.64	39.6	14.5	59	3	22	73		1	
8	12.7	7.12	43.2	15.4	60	3	20	62		12	
9	16.5	6.91	44.9	17.3	64	1	22	70	1	5	1
10	14.4	7.29	43.2	16.7	59		12	79	3	5	1
11	19.0	6.83	41.3	15.7	60		26	54		19	1
12	18.4	7.03	40.9	16.1	58	3	15	70		12	
13	28.1	6.98	39.4	12.4	56		21	68	7	4	
14	12.7	7.12	39.8	15.2	55		13	85		1	
15	17.0	6.51	38	14.4	58		18	76	2	1	1
16	16.5	6.58	37.4	14.4	56	2	17	72	2	7	
17	12.3	5.90	33.0	12.6	55	8	13	53	1	25	
18	10.8	7.81	42.2	16.2	53	2	9	48		41	
19	13.6	7.14	43.4	12.0	60	7	14	56		23	
20	18.8	7.41	43.6	17.7	58	1	15	70	3	11	
21	19.2	6.17	34.8	13.9	56	3	15	70		12	
22	15.9	7.18	43.2	17.3	60	5	10	71		14	
23	18.4	5.72	34.3	12.5	59	6	8	70	2	13	1
24	18.5	4.62	27.0	10.4	58	2	12	65	3	26	2
25	14.7	7.14	39.8	16.7	55	10	6	69		16	
26	17.0	7.64	43.5	16.8	56	7	12	71	1	9	
27	20.3	7.41	41.7	17.6	56	3	7	65	2	22	1
28	15.1	6.74	39.4	15.4	58	8	14	68		10	

개체 1번, 13번, 29번에서 경미한 백혈구 증가증이 확인되었으며, 이는 체내의 경미한 염증 반응이나 감염증이 있음을 의미한다. 일반적인 신체검사상의 결과와 고려해 보았을 때 피부질환이나 다른 외상으로 인한 것을 고려해보아야 할 것이다. 17번, 19번, 26번, 29번 개체에서는 호산구 증가증이 확인되었는데, 이는 내부 기생충, 심장 사상충, 외부 기생충, 호산구 침윤성 염증 등이 있을 가능성을 의미하며, 이에 추가적인 검사를 실시하여야 할 것이라 생각된다. 그 외의 개체에서 다른 수치들은 모두 정상 범위 내에 있는 것으로 확인되었다.

다) 혈청학적 검사

Table 51. 방문농장 6에서의 풍산견 혈청학적 검사 결과.

개체 번호	ALT (U/l)	AST (U/l)	ALP (U/l)	BUN (mg/dl)	Crea. (mg/dl)	Glu. (mg/dl)	Bili. (mg/dl)	Alb (g/dl)	TP (g/dl)	r-GT (U/l)	Chole. (mg/dl)	Calcium (mg/dl)	Phos. (mg/dl)
1	34.3	23.5	160	13.4	1.05	70	0.33	2.62	7.06	7.7	177	9.69	4.55
2	19.7	19.5	93	15.6	1.08	62	0.29	2.15	6.89	7.2	190	8.93	4.46
3	36.8	25.3	94	12.1	0.88	44	0.30	2.61	6.61	8.6	178	9.53	3.84
4	44.9	24.5	164	11.7	0.10	84	0.30	2.55	6.64	6.4	134	9.03	3.16
5	33.9	21.2	156	20.6	1.21	80	0.28	2.31	6.20	8.3	136	9.06	4.58
6	45.6	17.7	157	15.1	1.04	83	0.29	2.57	6.54	6.6	193	10.06	5.41
7	35.3	21.0	160	9.5	0.88	81	0.56	2.17	7.32	6.6	149	9.64	4.32
8	56.8	25.3	178	14.3	1.30	63	0.31	2.65	6.27	9.7	196	9.88	5.59
9	165.6	26.4	225	14.5	0.88	61	0.56	2.62	6.71	26.9	185	9.48	3.44
10	38.7	31.6	132	11.1	1.17	69	0.68	2.40	6.60	6.8	169	8.55	3.90
11	56.6	27.7	187	9.8	0.84	60	0.53	2.07	6.92	5.9	172	7.88	4.08
12	23.1	19.2	101	14.2	1.28	70	0.40	2.48	6.26	6.9	165	8.81	3.74
13	29.9	18.4	132	9.9	1.20	61	0.97	2.59	7.49	6.7	232	9.19	3.99
14	43.7	19.0	287	7.1	0.88	62	0.19	2.26	7.59	8.6	176	9.22	4.81
15	22.0	20.2	179	5.9	1.03	69	0.26	2.41	6.66	6.2	163	8.50	4.41
16	36.4	30.6	163	13.4	1.00	69	0.18	2.46	5.64	5.3	168	9.30	5.78
17	15.8	25.9	168	7.5	0.58	58	0.18	1.89	8.06	5.7	222	8.67	5.52
18	40.9	17.1	156	7.9	1.16	82	0.19	2.35	6.23	6.4	211	8.60	4.46
19	35.5	19.4	170	10.9	1.1	79	0.99	2.51	7.40	8.1	152	8.67	3.72
20	32.1	15.4	119	11.6	0.79	70	0.75	2.42	6.90	6.2	92	9.06	3.62
21	28.5	21.9	224	11.5	1.14	77	0.30	2.81	6.06	5.1	268	9.72	5.21
22	45.8	29.1	165	13.6	0.91	61	0.63	2.41	6.25	6.1	171	8.32	4.94
23	29.1	21.5	460	16.0	0.85	55	0.44	1.81	5.60	7.9	95	8.09	5.15
24	36.1	17.1	317	15.8	0.80	80	0.22	2.15	5.85	6.0	59	7.95	2.33
25	34.2	21.3	108	10.1	0.85	73	0.92	2.47	7.07	6.4	162	9.20	5.56
26	96.9	28.4	102	19.8	1.41	68	0.45	2.65	7.50	9.5	173	9.46	4.11
27	24.2	22.4	278	17.0	0.75	43	0.24	2.19	6.74	6.0	213	10.02	4.40
28	27.6	29.0	161	21.0	1.06	70	0.31	2.59	6.47	5.7	148	9.73	3.44

혈청학적 검사 결과 한 개체(9번)에서 간 효소수치 (ALT, ALP)의 증가가 나타났으며 이를 제외하고는 특이적인 이상 소견이 관찰되지 않았다.

라) 체형 측정

Table 52. 방문농장 6에서의 풍산견 체형측정 결과(단위: 길이 cm, 체중 kg).

개체 번호	성별	체고	체장	흉위	흉심	이간	이폭	이고	체중	귀	코	체색	꼬리형태
1	F	51	62	68	26	15	8	9.5	24	삼각,직립	흑	백황	감김
2	F	53	56	68	23	15	9	9	18.5	삼각하수	적	백황	감김
3	M	60	63	75	29	17.5	10	9.5	18.5	삼각직립	흑	백황	감김
4	M	60	62	77	29	20	10	10	25.5	삼각하수	흑	백황	감김
5	M	60	63	67	26	16	9	10	22.5	삼각직립	적	백황	감김
6	F	58	58	70	27	18	9.5	10	26	삼각하수	적	백황	감김
7	F	57	63	72	27	17	10	10	24	삼각직립	적	백황	감김
8	M	59	60	65	26	18	9	9	19.5	삼각하수	적	백황	감김
9	F	58	53	73	28	16	9	9.5	24.5	삼각하수	흑	백황	감김
10	M	56	55	82	29	18	9	9	20	삼각하수	흑적	백황	감김
11	M	60	63	74	29	18	9.5	10.5	23.5	삼각하수	흑	백황	감김
12	F	58	60	68	28	19	10.5	9.5	18.5	삼각하수	흑	백황	감김
13	F	60	65	74	29	20	10.5	10.5	26.5	삼각하수	적	백황	감김
14	F	58	58	64	28	16.5	8.5	9	17	삼각직립	적	백황	감김
15	F	53	59	69	27	19	9.5	9	23.5	삼각하수	적	백황	감김
16	M	62	67	75	30	20	10	10	24	삼각하수	적	백황	감김
17	M	56	60	67	27	17.5	9.5	9.5	22	삼각하수	적	백황	감김
18	F	55	59	63	28	18.5	9	9.5	19	삼각하수	적	백황	감김
19	F	58	62	68	29	19	9	9	23.5	삼각하수	검	백황	감김
20	M	57	62	75	29	17	9	9	22	삼각하수	적	백황	감김
21	M	58	60	70	28	17.5	9	10	22	삼각하수	흑	백황	감김
22	F	53	57	60	26	16.5	9	9	17.5	삼각직립	적	백황	감김
23	F	62	62	69	29	20	8.5	10	24.5	삼각하수	흑	백황	감김
24	F	52	56	62	26	16.5	8	9.5	18.5	삼각직립	적	백황	감김
25	F	55	60	67	26	16	9	9.5	21	삼각하수	적	백황	감김
26	F	53	57	69	26	16	10	10.5	20	삼각하수	적흑	백황	감김
27	M	56	60	70	28	18	9	9.5	25.5	삼각하수	적흑	백황	감김
28	M	62	67	85	31	21	10	10	25	삼각하수	적	백황	감김
29	F	55	56	54	26	17.5	8.5	10	19	삼각하수	적흑	백황	감김
30	M	60	60	70	28	17	10	10.5	22.5	삼각하수	적	백황	감김
31	M	58	58	72	30	17	10	11.5	22	삼각하수	적흑	백황	감김

마) 분변 검사: 무작위로 추출한 분변에 대하여 특이적인 충란이나 기생충을 발견할 수 없었다.

바) 질 도말검사

Table 53. 방문농장 6에서의 풍산견 질 도말검사 결과.

개체번호	소 견	개체번호	소 견
1	anestrus / diestrus	2	andestrus / proestrus
6	diestrus	7	anestrus
9	anestrus	12	diestrus
14	diestrus	15	proestrus
18	diestrus	19	anestrus
23	diestrus / proestrus	24	diestrus
25	anestrus	26	anestrus / proestrus
29	proestrus / anestrus		

질 도말 검사상의 세포학적 검사에서는 별다른 질환 상태의 소견을 관찰하지 못하였으며, 또한 농장주들이 알고 있는 발정주기와는 대략적으로는 유사하나 세부적으로 차이를 보이는 것을 알 수 있었다.

사. 방문 농장 7

- 1) 농장소재지 : 인천시 소재 풍산개 농장
- 2) 검사항목: 혈액학적 검사, 백혈구 감별계산, 혈액화학적 검사, 체형 측정, 분변 검사, 질도말 검사
- 3) 검사 결과
 - 가) 혈액학적 검사
 - 나) 백혈구 감별계산

Table 54. 방문농장 7에서의 혈액학적 검사 및 백혈구 감별계산 결과.

개체 번호	WBC (개/ μ l)	RBC (萬/ μ l)	PCV (%)	Hb (g/dl)	Differential WBC count (%)					
					Mono.	Lymph.	Seg.	Band.	Eosin.	Baso.
1	17.8	2.25	40	16.9	1	24	55	2	18	-
2	19.9	8.01	37.0	17.5	0	51	47	2	0	-
3	14.46	0.17	33	17.8	1	23	46	2	28	-
4	13.44	3.88	47.0	17.2	6	28	52	1	14	-
5	14.72	8.22	39.0	16.8	0	39	47	9	4	-
6	17.22	1.55	38.0	14.1	0	16	77	1	5	-
7	20.76	2.34	36.0	16.3	4	24	43	7	22	-
8	20.16	2.61	34.0	16.2	0	25	51	0	24	-
9	14.40	3.83	43.0	15.5	2	30	64	4	0	-

개체 2번, 7번, 8번에서 경미한 백혈구 증가증이 확인되었으며, 이는 체내의 경미한 염증 반응이나 감염증이 있음을 의미한다. 일반적인 신체검사상의 결과와 고려해 보았을 때 피부질환이나 다른 외상으로 인한 것을 고려해보아야 할 것이다. 3번, 7번, 8번 개체에서는 호산구 증가증이 확인되었는데, 이는 내부 기생충, 심장 사상충, 외부 기생충, 호산구 침윤성 염증 등이 있을 가능성을 의미한다. 몇몇의 개체에서 일부 경미한 적혈구 감소증을 확인할수 있었으며, 이는 채집된 샘플의 운반이나 보관과정에서 일부의 용혈로 인한 것으로 생각된다. 그 외의 개체에서 다른 수치들은 모두 정상 범위 내에 있는 것으로 확인되었다.

다) 혈청화학적 검사

Table 55. 방문농장 7에서의 풍산견 혈청화학적 검사 결과.

번 호	ALT (U/l)	AST (U/l)	ALP (U/l)	BUN (mg/dl)	Crea. (mg/dl)	Glu. (mg/dl)	Alb. (g/dl)	TP (g/dl)	γ-GT (U/l)	Chole. (mg/dl)	Ca (mg/dl)	Phos. (mg/dl)
1	39.5	21.0	60	19.4	1.13	65	2.66	5.64	4.0	100	9.48	4.67
2	40.8	29.4	48	23.6	1.33	73	2.67	6.12	7.0	138	10.13	3.14
3	35.6	23.3	80	15.6	1.02	69	2.97	6.40	5.4	145	9.96	5.00
4	38.9	26.7	74	14.5	0.79	99	2.53	5.27	3.9	118	9.75	4.56
5	39.0	21.8	99	20.6	1.07	88	3.13	7.34	11.9	199	9.77	5.94
6	32.7	13.6	63	15.7	0.95	75	2.65	5.51	6.5	97	9.43	3.97
7	22.2	19.9	497	11.9	0.73	111	2.58	5.91	4.3	258	10.77	10.19
8	41.4	32.5	438	20.5	0.77	101	2.51	5.69	5.2	314	8.86	5.59
9	27.9	22.6	100	17.0	0.85	57	2.60	7.40	7.2	120	9.72	4.67

혈청검사결과는 Table 55와 같으며, 7번, 8번 개체의 경미한 ALP 상승을 제외하고 다른 개체의 혈청 수치는 모두 정상 범위 내에 있는 것으로 생각된다. 이러한 ALP의 상승은 정도가 경미하여 크게 고려할 상황은 아닌 것으로 생각되며 샘플의 용혈 등 가검물 채취 및 처리 과정상의 오류에 의한 것으로 사료된다. 추후 재검사를 통한 확인이 요망된다.

라) 체형측정

Table 56. 방문농장 7에서의 체형측정 결과.

개체번호	성별	체고	체장	흉위	흉심	이간	이폭	이고	체중	이형	비색	체색	꼬리
1	M	58	59	70	26	21	9	10	22	하수	흑	황백	말립
2	M	60	66	79	30	24	10.5	11	30	직립	황	황백	말립
3	F	51	59	64	23	17	9	10	20	직립	흑	황백	말립
4	M	56	61	70	25	20	10	9.5	21	직립	황	황백	말립
5	F	55	59	69	25	19	9	10	23	직립	황	황백	말립
6	M	55	60	68	25	17	9	11	23.5	하수	황	황백	말립
7	M	51	58	61	23	18	8	9	16	하수	황	황백	말립
8	F	53	57	60	22	17	8	9	16.5	직립	황	백	안말립

마) 분변 검사: 무작위로 추출한 분변에 대하여 특이적인 충란이나 기생충을 발견할 수 없었다.

바) 질도말 검사: 발정 전기의 세포와 발정기의 세포가 관찰되고 있었으며, 그 외에 특이적인 세균감염이나 이상은 관찰되지 않았다. 질 도말 검사를 실시한 개체의 수가 부족하고 농장주로의 정보가 불충분하여 그 세부항목을 비교하는데 어려움이 있었다.

아. 방문 농장 8

- 1) 농장소재지: 경기도 시흥시 소재 풍산개 농장
- 2) 검사항목: 혈액학적 검사, 백혈구 감별계산, 혈액화학적 검사, 체형 측정, 분변 검사, 질도말 검사

3) 검사 결과

가) 혈액학적 검사

나) 백혈구 감별계산

Table 57. 방문농장 8에서의 혈액학적 검사 및 백혈구 감별계산 결과.

개체 번호	WBC (개/ μ l)	RBC (萬/ μ l)	PCV (%)	Hb (g/dl)	Differential WBC count (%)					
					Mono .	Lymp h.	Seg.	Band.	Eosin.	Baso.
1	13.62	10.78	41.0	15.7	1	15	62	0	21	1
2	10.94	9.65	40.0	17.1	3	13	70	0	14	0
3	13.48	8.65	42.0	17.1	4	13	61	2	20	0
4	9.84	0.76	39.0	15.0	2	16	75	0	5	2
5	13.00	0.31	50.0	23.0	1	16	67	0	16	0
6	14.56	8.41	41.0	16.7	0	7	86	2	5	0
7	9.14	1.73	34.0	13.6	3	32	63	0	2	0
8	13.42	9.48	39.0	16.3	3	30	60	0	7	0
9	14.90	11.47	38.0	16.2	0	22	69	5	4	0
10	13.32	11.16	41.0	18.8	1	26	37	0	35	0
11	18.72	9.68	44.0	16.8	0	9	58	1	32	0
12	27.96	6.58	46.0	12.0	0	16	54	0	31	0

개체 12번에서 경미한 백혈구 증가증이 확인되었으며, 이는 체내의 경미한 염증 반응이나 감염증이 있음을 의미한다. 일반적인 신체검사상의 결과와 고려해 보았을 때 피부질환이나 다른 외상으로 인한 것을 고려해보아야 할 것이다. 1번, 10번, 11번, 12번 개체에서는 호산구 증가증이 확인되었는데, 이는 내부 기생충, 심장 사상충, 외부 기생충, 호산구 침윤성 염증 등이 있을 가능성을 의미한다. 몇몇의 개체에서 일부 경미한 적혈구 감소증을 확인할수 있었으며, 이는 채집된 샘플의 운반이나 보관과정에서 일부의 용혈로 인한 것으로 생각된다. 그 외의 개체에서 다른 수치들은 모두 정상 범위 내에 있는 것으로 확인되었다.

다) 혈청화학적 검사

Table 58. 방문농장 8에서의 혈청화학적 검사 결과.

개체 번호	ALT (U/l)	AST (U/l)	ALP (U/l)	BUN (mg/dℓ)	Crea. (mg/dℓ)	Glu. (mg/dℓ)	Alb (g/dℓ)	TP (g/dℓ)	r-GT (U/l)	Chole. (mg/dℓ)	Ca (mg/dℓ)	Phos. (mg/dℓ)
1	40.8	27.2	79	22.7	0.92	60	2.67	6.73	5.0	175	9.82	4.87
3	38.9	31.6	68	18.4	1.24	50	2.58	6.51	8.5	162	9.39	3.73
4	73.6	32.1	279	24.5	0.91	50	2.37	8.12	4.8	121	10.69	5.73
5	53.8	48.8	754	26.8	0.78	76	2.39	6.02	5.8	109	9.42	7.17
6	28.9	20.4	266	17.0	0.81	75	2.39	6.02	5.8	109	9.42	7.17
7	30.1	29.4	168	17.4	0.55	71	2.62	6.25	5.7	121	9.70	7.54
8	27.5	22.0	78	25.7	0.85	71	2.40	8.24	4.8	128	9.80	6.90
9	243.0	77.1	93	11.6	0.64	64	2.42	5.86	6.3	139	8.84	5.26
10	29.9	21.6	54	23.4	1.01	47	2.39	8.56	6.0	102	8.57	3.55
11	34.1	19.0	162	22.8	0.77	69	2.25	6.96	5.7	232	8.97	6.51
12	47.8	32.2	82	16.5	0.79	65	2.28	7.77	7.3	121	8.50	6.37

일부 간 효소 수치가 증가한 개체들이 관찰되었으며 그 세부적인 내용으로는, ALT와 AST 수치의 증가 9번 개체에서 관찰되었고, 또한 ALP 증가가 4번, 5번, 6번, 7번, 11번 개체에서 관찰되었다. 4번 개체에 있어서는 간질환을 의심을 해보아야 할 상황으로 사료된다. 그 외의 결과들의 증가 정도는 매우 경미하며, 다른 수치들과의 상관 관계가 없으므로, 샘플의 용혈로 볼 수 있다. 특히, 다수의 샘플에서 저혈당증이 나타났으나, 이 역시 샘플 보관의 잘못으로 생각하는 것이 타당하다. 이외 모두 정상 범위내에 있는 것을 확인 하였다.

라) 체형측정

Table 59. 방문농장 8에서의 체형측정 결과(단위: cm).

개체 번호	성별	체고	체장	흉위	흉심	이간	이폭	이고	체중	이형	비색	체색	꼬리
1	M	57	68	68	26	22	10	10.5	28	하수	황	황백	안말림
2	M	55	62	64.5	24	24	10.5	11	23	하수	황	황백	안말림
3	M	57	63	62	23	22	10	10.5	22	하수	흑	황백	안말림
4	M	59	68.5	71	24	25.5	11	12	30.5	하수	흑	황백	안말림
5	M	54	62.5	59	22	23.5	9.5	10	20	하수	흑	황	안말림
6	M	56	63	62	23.5	21	10	12	23.5	하수	황	황백	말림
7	M	56	62	60	21.5	22	11.5	12	20	하수	황	흰색	말림
8	M	56	64.5	62	22	20	10	11.5	18	하수	황	황백	말림
9	M	59.5	67	70	26	23	10	11	28	하수	황	백	말림
10	F	52	62	61	21.5	19	9	11	18	하수	황	백	말림
11	M	58	67.5	67	25	22	11	12	24.5	하수	황	흰색	말림
12	F	55.5	65	68	23	21	11	12.5	25.5	하수	황	황백	안말림

마) 분변 검사: 무작위로 추출한 분변에 대하여 특이적인 기생충의 충란을 발견할 수 없었다.

바) 질도말 검사: 발정기의 세포가 몇 두에서 관찰되고 있었으며, 그 외에 특이적인 세균감염이나 이상은 관찰되지 않았다.

3. 종합적 소견

토종견인 풍산개 91두에서 체형측정 및 혈액검사, 혈청검사의 종합적인 결과는 다음과 같았다.

Table 60. 풍산개 체형 측정 평균치. (단위: cm)

	체고	체장	흉위	흉심	이간	이폭	이고	체중
전체	55.65±3.23	60.44±3.81	67.81±6.30	26.64±2.51	18.32±2.36	9.41±0.94	10.09±0.84	22.93±3.77
♂	57.30±2.72	61.76±4.32	69.17±6.53	27.09±2.76	19.28±2.60	9.67±1.01	10.32±0.91	23.40±3.59
♀	54.09±2.91	59.21±2.77	66.54±5.86	26.80±2.26	17.43±1.69	9.187±0.82	9.88±0.71	22.45±3.92

Table 61. 풍산개 혈액 검사 평균치.

WBC (개/ $\mu\ell$)	RBC (萬/ $\mu\ell$)	PCV (%)	Hb (g/dl)
16.15±4.43	687.52±177.62	40.48±5.12	15.12±2.33

Table 62. 풍산개 혈청 검사 평균치.

ALT (U/l)	AST (U/l)	ALP (U/l)	BUN (mg/dl)	Crea. (mg/dl)	Glu. (mg/dl)	Bili. (mg/dl)	Alb (g/dl)	TP (g/dl)	r-GT (U/l)	Chole (mg/dl)	Ca (mg/dl)	Phos. (mg/dl)
41.74 ±29.01	30.11 ±13.38	163.45 ±106.7	15.55 ±7.05	1.03 ±1.08	63.81 ±15.61	0.39 ±0.26	2.51 ±0.24	6.72 ±0.92	6.89 ±2.85	174.5 ±52.32	9.58 ±0.80	4.71 ±1.45

90여두의 풍산개에서의 체형검사 평균값과 김 등(1989)이 진도견 249두에서 실시한 성장에 따른 체형에 관한 연구 중 12개월령의 성견 체형과 비교하였다. 풍산개의 체고는 55.65±3.23cm로 진도견의 53.55±2.42cm에 비하여 2.1cm 가량 더 높았다. 체장은 60.44±3.81cm로 진도견의 58.33±2.66cm보다 2.1cm 가량 더 높았고, 흉위도 67.81±6.30cm로 진도견에서의 60.25±2.27보다 7.6cm 정도 더 높게 나타났다. 풍산개의 수컷 체고가 57.30±2.72, 암컷이 54.09±2.91으로서 수컷이 3.2cm 가량 더 컸다. 이것은 진도견의 암수 차이와 비슷한 수준이다. 그러나 진도견에서의 이간, 이폭, 이고에 대한 측정치는 보고되어 있지 않아 비교할 수 없었다. 이 결과들로 볼 때 동년배 1년령 이상에서의 풍산개가 진도견에 비해 전체적인 체격이 더 크다고 말할 수 있다.

혈액화학적 검사와 혈청학적 검사에서는 전체적으로 일반적인 개에 있어서의 정상 범위 안에 위치하였으나, ALP와 gamma-GT가 정상 범위를 상회하는 수준에 있었다. 이러한 개체들은 사육환경, 식이 또는 1년령 정도의 나이가 영향을 미쳤을 가능성이 있다. 그러나 몇몇 정상치를 크게 상회하는 개체들을 제외시킨 평균치는 일반적인 개의 정상 범위 내에 있었다. 대부분의 농장의 사육환경과 위생관리 현황이 열악함에도 불구하고 풍산개 농장에서의 기본적인 신체검사 및 혈액 검사와 백혈구 감별계산, 혈청화학적 검사에서 특이적인 이상소견이 관찰 되지 않았는데 풍산개가 상당한 유전적다양성을 보유하고 있고, 강

인한 체격을 가지고 있는 것과 관련이 있다고 생각된다. 그러나 여러 농장에 걸쳐 호산구 증가증을 나타내는 개체가 상당수 관찰되었고 일부에서 *Toxascaris canis*의 충란이 관찰되었다. 견회충(*toxocara canis*)이라 불리는 이 회충은, 성충의 길이가 7~18cm정도 되는 흰지렁이양으로 가장 흔한 내부기생충이다. 자견은 주로 임신중 어미로부터 태반감염 및 포유중 유즙으로 감염된다. 회충감염으로 자견은 구토, 설사, 식욕부진을 나타낼수 있으며, 심하면 장폐색으로 사망한 예도 보고된 적이 있다. *Toxocara canis*의 진단은 분변 검사를 통하여 그 충란을 육안적으로 확인한다. 그러나, 충란이 검사 시 항상 관찰되는 것이 아니므로, 위음성의 결과에 대하여 고려해 보아야 한다. 치료는 자견들을 위험에서부터 보호하는 것을 원칙으로 한다. 또한, 완벽한 구충을 위해서는 성견에서의 재감염과 임신견이나 수유견에 있어서 경로로 감염을 일어나는 것을 예방하여야 한다. 그러므로 기본적인 내부 기생충, 외부 기생충, 또는 심장 사상충에 대한 자세한 검사와 이후 이어지는 추가적인 치료 및 이에 따른 적절한 구충 시스템이 실시되어야 할 것으로 사료된다. 이를 위하여 우리나라 실정에 적합한 Table 63과 같은 구충 프로그램을 권고한다.

Table 63. 풍산견 농장에서 추천되는 구충 프로그램.

종합 구충 횟수	1차	2차	3차	4차	5차	6차	7차	8차	9차
시기	2주	4주	8주	12주	16주	5개월	7개월	9개월	12개월
성견은 봄, 가을에 2회 구충하고 1회 구충 할 때마다 7-10일 뒤에 한번 더 구충한다.									
모견은 교배시키기 1-2주 전 반드시 구충한다.									

대부분 풍산견 농장들의 규모가 영세함으로 인하여 사양관리 및 사육시설이 체계적이지 못하였다. 그 결과 질환상태의 동물을 인지하거나 일부 질환에 이환된 동물을 격리함에 있어서 어려움이 많았으며, 전염성 질환의 경우 동시 방목되는 개체들에게 쉽게 전파, 전염이 될 수 있다는 단점을 나타내었다. 또한, 예방의학에 있어서 대부분 농장 모두 종합백신은 접종하고 있으나, 광견병 백신을 접종하고 있지 않아 야생동물에 의한 전파에 노출되어 있는 것으로 나타났다. 주로 농장들의 주위 환경은 충분히 야생동물이 존재할 수 있는 상태이며, 이러

한 야생동물에 의한 위험성에 대하여 인지하지 못하고 있거나, 이에 대한 방제가 되어 있지 않은 상황이었다. 다른 구충이나 투약에 있어서도, 전문인력의 조언 없이 농장주가 직접 약물을 구입하여 자체적으로 예방 및 구충을 하고 있는 실태였다. 심지어는, 일부 농장에서는 건사료를 사용하지 않고, 손수 제작한 사료를 급여하고 있어, 사료의 위생관리에 허점을 보였다. 그러므로 예방의학적 관리는 다음과 같은 백신프로그램을 기본적으로 포함하여야 할 것이다.

DHPPL 종합 백신과 광견병백신을 기본으로 한다. 개홍역 백신은 생독백신에 비하여 사독백신이 효과적이므로 주로 사독백신을 사용하며, 생후 6~8주령에 접종을 시작하여 3~4주 간격으로 3회 접종하여 매년 추가접종을 실시하여야 한다. 성견의 경우 1회 접종을 실시한다. 개전염성간염의 원인이 되는 adenovirus는 1형과 2형으로 구분할 수 있는데, 주로 생독 또는 사독 adenovirus-1 백신은 전방 포도막염과 각막 혼탁을 동반한 부종의 부작용이 보고되어 추천되지 않고 있으며, 이에 비하여 비교적 부작용이 적은 생독 또는 사독 adenovirus-2 백신이 주로 사용되는데 adenovirus-2 뿐만 아니라 adenovirus-1에 대하여 교차 방어 작용을 하므로 adenovirus-2 백신 접종이 추천된다. adenovirus-2 백신은 생후 6~8주령에 접종을 시작하여 3~4주 간격으로 16주령이 될 때까지 실시하며, 성견이 된 후에 생독백신의 경우 접종을 1회 실시하여야 하며, 사독백신은 3~4주 간격으로 2회 접종을 실시하여야 한다. 추가접종은 매년 1회 실시하여야 한다. 개 전염성 기관-기관지염 유발 바이러스는 distemper virus, adenovirus, parainfluenza virus, herpesvirus, reovirus로 알려져 있으며, bordetella bronchiseptica는 원인세균으로 알려져 있다. 이를 예방하기 위해서 parainfluenza virus와 bordetella bronchiseptica 각각의 백신과 합제 백신이 개발되어 있으며, 제품에 따라서 parainfluenza virus백신은 피하 접종과 비강 내 점적 접종의 2가지 방식이 있다. 피하 접종용 개 전염성 기관-기관지염 백신은 생후 6주령부터 시작하며, 적어도 2~4주 간격으로 2회 접종을 실시하여야 한다. 2차 접종 후 2~3주까지는 면역체계가 이루어지지 않으므로 주의를 요하며, 비강 내 점적 접종 백신은 접종 후 72시간 내에 면역체계가 성립되는 것으로 알려져 있다. 성견의 경우 1회 접종을 실시하며, 임신견에서도 안전한 것으로 알려져 있다. 추가접종은 매년 1회 실시한다. 개 파보바이러스 백신은 생

독백신 중 활성화, 비활성화 백신이 상품화되어 있으나, 활성화 백신이 더욱 효과적인 것으로 알려져 있기 때문에 파보바이러스에 감수성이 예민한 자견 또는 자견과 함께 사육하는 성견에서는 활성화 백신이 추천된다. 파보바이러스 백신은 생후 6주령에 접종을 시작하여, 3~4주 간격으로 16주령이 될 때까지 접종을 실시하여야 하며, 추가 접종은 매년 1회 접종을 실시하여야 한다. 성견은 1회 접종을 실시한다. 상품화된 대부분의 렙토스피라 백신은 *leptospira icterohaemorrhagiae*와 *canicola* 두가지 비활성 serovar 타입을 포함하고 있으며, 12주령 이하에서는 과민반응을 유발할 수 있으므로 접종을 해서는 안 된다. 자견은 12~16주령에 접종을 실시하며, 성견은 2~4주 간격으로 2회 접종을 원칙으로 한다. 추가접종은 매년 1회 실시하며, 상제지역에서는 6개월 간격으로 실시하는 것이 추천된다. 광견병 백신은 대부분의 국가에서 사독백신을 접종하고 있으며, 현재 대한민국에서도 사독백신을 접종하고 있다. 사독백신은 생후 3~4개월령에 1차 접종을 실시하며, 2차 접종은 연령에 관계없이 1차 접종 후 1년 후에 실시한다. 추가 접종은 상품에 따라 매 1~3년에 1회 접종을 실시하여야 한다.

또한 질 도말 검사상에서는 농장주들이 인지하고 있는 발정 주기들이 질 도말 검사에서 세포학적으로 검사한 결과와 세부적인 차이를 나타내고 있는 것을 확인하였다. 그러므로 프로게스테론 수치의 측정이나 시판화 된 키트를 사용하여 발정주기와 배란시기에 대한 정확한 평가를 일반화시키는 것이 도움이 될 것이다.

비글견을 대규모로 사육하는 농장에서의 혈액 검사, 백혈구 감별계산, 혈청 화학 검사에 있어서도 특이적인 이상 소견을 확인할수 없었으나, 분변 기생충 검사에 있어서 상당량의 샘플에서, 회충인 *Toxascaris leonina*의 충란이 발견되었다. *Toxascaris leonina*는 개와 고양이에서 흔한 회충이며, 임상증상으로는 일반적으로 경미하게 감염시에는 특징적인 증상을 나타내지 않으나, 그보다 심하게 감염되면 설사, 탈수를 일으키며, 전체적인 신체기능을 떨어뜨려 종종 폐사에 이르기기도 한다. 이러한 *Toxascaris leonina*의 진단은 주로 분변의 직접 또는 부유 검사를 통하여 충란의 직접적인 관찰을 통하여 이루어진다. 이 사자회충의

충란은 현미경 검사시 두껍고 평활한 껍질을 가지고 있다. *Toxascaris leonina*는 개와 고양이에서 모두 fenbendazole, mebendazole, piperazine, pyrantel과 dichlorvos와 같은 약제를 사용하여 치료를 하였을 때 일반적으로 반응이 좋은 것으로 알려져 있다. 현 농장의 구충 시스템은 25일에서 1개월 령에 초회 구충, 그리고 그후 5에서 7일경에 2회, 그후 1개월경에 3회째 구충을 실시하는 것으로 나타났다. 그러나 기생충 검사 결과. 거의 대부분의 분변에서 *Toxascaris leonina*의 충란을 확인하였고, 좀 더 효율적인 구충이 지시되는 상황이라 할 수 있다. 즉, 약제의 선택이나 구충시기의 조절 면에서 개선이 요구된다 하겠다.

구충 프로그램은 주로 내부 기생충 중 가능 일반적인 회충의 구제를 중심으로 실시하며, 이 외에 야외에서 사육하는 점을 고려해 심장 사상충에 대한 구충 역시 포함되어야 한다. 회충으로 인한 쇠약, 무기력증 등이나 설사등으로 인한 2차적인 탈수로 인하여 사망까지 야기 할수 있다. 전염이나 태반 감염 등을 막기 위하여 군내의 구충은 정기적, 규칙적, 일관적으로 실시되어야 하며, 구충은 자견 때부터 정기적으로 실시해야 한다. 자견도 모견의 태반을 통해 감염되어 있는 경우도 있기 때문에 늦어도 생후 3주 경에는 반드시 구충을 시켜야한다. 구충 프로그램을 실시함에 있어서 표본으로 몇 두를 선택하여, 분변검사를 실시하여 장내 기생충에 대한 구제가 잘 시행되고 있는지 점검하여야 한다.

질 도말 검사 상에서도 특징적인 이상소견은 관찰 되지 않았으나, 역시 농장 주들이 인지하고 있는 발정주기들이 질 도말 검사에서 세포학적으로 검사한 결과와 세부적인 차이를 나타내고 있는 것을 확인하였다. 이에 추가적인 최적화된 모델을 위해서는 프로게스테론 수치의 측정이나 시판화 된 키트를 사용하여 발정주기와 배란시기에 대한 정확한 평가가 선행되어야 할 것이다.

토종견이나 실험견 농장에서의 사양관리, 위생관리 상의 문제점들을 해결하기 위하여는 집단사육관리에 경험이 있는 전문수의사에 의한 토종견이나 순종견의 사육시설, 사양번식관리, 위생관리 등에 대한 지도, 조언이 필요한 것으로 보인다. 그러나 현재 개의 경우 가축으로 분류되어 있지 않아 제도적, 정책적인 지원이 어려운 상태이라 민간차원에서의 해결책을 강구하여야 할 것이다.

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

연도별 연구목표에 입각한 연구개발목표의 달성도

연도 주요 연구목표	년 (1차년도)	년 (2차년도)	년 (3차년도)	평가 가중치	달성도
○ 혈통확립을 위한 개체식별 및 친자감별 기술개발					100%
-예비 marker의 선정 및 소규모 표본에서 대립유전자 빈도분포 조사				10	100%
-후보 marker의 선정 및 대규모 표본에서 대립유전자 빈도분포 조사				12	100%
-최종표준 marker 선정 및 분석방법의 표준화, 응용연구				16	100%
○ 유전자분석에 의한 계통보존기술 개발 및 유전특성 조사					100%
- 예비 marker의 선정 및 소규모 표본에서 대립유전자 빈도분포 조사				10	100%
- 후보 marker의 선정 및 대규모 표본에서 대립유전자 빈도분포 조사				12	100%
- 최종표준 marker 선정 및 분석방법의 표준화, 응용연구				16	100%
○ 집단번식에 있어 생산능력 최적모델 개발 및 생리·형태 특성연구					95%
- 사육실태, 생리특성, 질환 정도에 관한 기초조사				10	100%
- 번식최적조건, 질환대책연구				6	90%
- 현장응용 및 형태특성 파악				8	90%
달성도	100%	95%	95%		

평가 착안점에 입각한 연구목표의 달성도

구 분	평가의 착안점 및 척도		
	착 안 사 항	척도 (점수)	달성도
1차년도(1999)	○예비marker들의 대립유전자빈도분포 조사 완료	60	100%
	○비글견 및 풍산견 사육현황 조사 완료	20	100%
	○비글견 및 풍산견 생리형태 특징 및 질환 정도 조사 완료	20	100%
2차년도(2000)	○친자감별용 후보marker들의 대립유전자 빈도분포 조사 완료	50	100%
	○품종/계통 식별용 대립유전자 빈도분포 조사 완료	30	100%
	○번식 최적조건 확립	20	90%
3차년도(2001)	○표준marker의 선정 완료	15	100%
	○분석방법의 표준화 완료	15	100%
	○혈통관리에의 응용성 확인	30	100%
	○계통보존에의 응용성 확인	20	100%
	○번식최적모델 및 형태특성 확립	20	90%
최종평가	○친자감별/개체식별법의 확립	60	100%
	○계통보존법의 확립	20	100%
	○번식최적모델 및 형태특성 확립	20	90%

본 연구 제 1세부과제에서는 토종견과 실험견에서의 친자감별 및 개체식별법을 확립함으로써 혈통확인과 계통보전을 위한 시스템 개발이라는 연구목표를 달성하였다. 또한 그레이하운드와 셰퍼드에서의 대립유전자 빈도 자료와 응용성 연구를 수행함으로써 전 견종에의 응용가능성을 보여 준 것은 본래 목표를 상회하는 성과이다.

제 2세부과제 연구에서 현재 실험견과 풍산견의 사육관리 현황과 생리, 형태 특성에 대한 기본적 자료를 얻을 수 있었으나 이를 현장에 응용하기 위한 번식 최적모델의 개발은 미흡하였다. 이것은 참여기업의 내부적 문제로 인한 협조의 어려움과 농장들의 영세성으로 인한 체계적 연구자원의 미흡으로 인한 것이다.

관련분야의 기술발전의 기여도: 토종견과 실험견에서의 유전자 분석 기술은 다른 품종의 개에도 동일하게 적용된다. 그러므로 이러한 기술을 적용하여 손쉽게 다른 품종의 개에서도 유전자분석에 의한 친자감별과 개체확인법을 혈통등록에 이용할 수 있다. 맹인안내견, 마약탐지견 등의 서비스견, 군견, 경찰견, 경견 등 우수한 자질의 가계혈통관리가 핵심인 개들 뿐 아니라 애완견들도 우수한 혈통의 개들은 그 부가가치가 대단히 높기 때문에 이들의 혈통관리를 위한 유전자분석을 전문으로 하는 벤처기업의 출현을 유도할 수 있다. 외국에는 동물의 친자감별, 개체확인, 혈통분석, 성감별, 유전병진단 등, 동물 유전자분석을 전문으로 하는 벤처기업 혹은 산학협동기업들이 다수 활동 중이다

(예: Veterinary Genetics Laboratory, <http://www.vgl.ucdavis.edu/>; Optigen, <http://www.optigen.com/>; VetGen, <http://www.vetgen.com/> ; Charles River Therion Inc., <http://www.theriondna.com/> ; ImmGen, <http://www.immgen.com/> ; Stormont Laboratories, <http://www.stormont-labs.com/> ; <http://www.vgl.ucdavis.edu/>).

이러한 기업은 본 연구에서 확보된 토종견의 생리, 화학적 자료를 기반으로 하여 토종견이나 순종견의 사양관리, 위생관리, 경영 등에 대한 자문과 지도를 하는데 활용할 수 있을 것이며, 개사육 농장을 위한 하나의 종합 consultant 역할을 할 수 있을 것이다.

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

본 연구에 의하여 토종견, 실험견 및 일부 외래종의 혈통관리를 위한 친자감별 시스템이 확립되었다. 본 연구에 의하여 개발된 토종견 및 실험견의 혈통관리를 위한 친자감별 시스템의 가장 효과적인 응용 분야는 혈통등록 업무일 것이다. 본 유전자감식 시스템에 의한 친자확인 방법에 의하여 혈통등록 업무의 신뢰도를 획기적으로 높일 수 있다. 자동화 시퀀서를 이용하여 대량의 샘플 처리가 가능케 함으로 분석비용을 줄일 수 있어 토종견과 비글, 셰퍼드, 그레이하운드의 혈통등록에 사용할 수 있을 것이다. 그러나 실질적인 상업화를 위하여는 국내에서 사육되고 있는 다른 주요한 견종에서의 응용이 가능하여야 한다. 이를 위하여는 본 연구에서 수행한 5개의 견종 뿐 아니라 더 많은 견종에서 본 연구에서 개발된 표준마커가 응용될 수 있는 지 그 대립유전자 빈도를 조사하여 유용성을 검증할 필요가 있다.

아직 개 사육이 축산업의 하나로서 공식 인정을 받지 못하고 있는 상태이므로 이러한 혈통등록 업무는 국가기관이 아닌 민간기업이나 애견협회 또는 지방자치단체의 주도하에 진행되어야 할 것으로 보인다. 현재 진도군에서는 독자적인 유전자 검사법을 개발하여 혈통관리에 이용하는 연구를 진행 중인 것으로 알려져 있다. 그러므로 본 연구결과는 진도군에서의 혈통관리체제와 통합하여, 또는 별도로 내륙의 진돗개, 풍산개 또는 다른 순종견의 혈통등록에 사용할 수 있다.

앞으로 남북교류가 확대되어 혈통이 검증된 북한산 풍산개 종견임이 확실한 개체들을 확보할 수 있게 되면, 본 연구결과를 활용하여 엄격한 혈통관리를 하는 풍산개 단지를 육성할 수도 있을 것이다. 본 연구에 사용된 풍산개는 청와대와 서울대공원의 개체를 제외하고는 국내에 반입된 경로가 명확하지 않은 점이 있다. 그러므로 앞으로 검증된 북한산 풍산개의 샘플 채취가 가능하게 되면 이들의 대립유전자 빈도분포를 비교하는 작업이 필요할 것이다.

본 연구의 수동식 젤을 이용한 genotyping 시스템은 소규모의 실험실에서

개 친자감별을 위한 유전자검사에 유용하게 사용될 수 있다. 반면에 자동식 sequencer를 이용한 genotyping 시스템은 상업적 응용이 가능하며, 참여기업의 데이터 우선사용권을 보장하기 위하여 마커들의 문헌상 명칭을 표시하지 않았다.

본 연구결과는 참여기업에의 기술이전을 통하여 상업화를 추진하고 있다. 참여기업은 우선 본 연구에서 응용이 검증된 5개의 견종에서 친자감별, 개체확인 및 혈통등록 업무에서의 상업적 서비스를 계획하고 있고, 다른 견종에서의 대립 유전자 빈도분포에 대한 추가실험을 실시하여 전 견종에 응용되는 추가 마커를 확보하여 업무 영역을 확장해 나갈 계획이다. 또한 본 연구에서 확보된 대립 유전자 빈도 자료를 이용하여 실제 친자감별 또는 개체식별 케이스에 사용할 수 있는 집단유전학적 통계분석 프로그램을 개발하고 있다. 이 프로그램에서는 추정부, 친모, 자식의 유전자형을 모두 알 수 있는 3인 검사(trio case)와 친모의 유전자형을 알 수 없는 결모검사(motherless case), 그리고 추정부의 유전자형을 알 수 없는 경우인 결추정부 검사(deficiency case)를 수행한다. 각각의 세 경우에 있어서 유전자검사에 의하여 결정된 개체의 유전자형을 입력하면 유전자형 비교에 의하여 부권지수(PI, paternity index), 부권확률(PP, paternity probability), 누적부권지수를 자동으로 계산하여 준다. 부권지수와 부권확률은 추정부와 친부의 유전적 관계에 따라 평가값이 다르게 되는데 본 프로그램에서는 친부와 추정부가 유전적으로 전혀 관련이 없다고 가정하는 경우와, 추정부와 친부가 친척관계임을 가정하는 두 가지 경우에 대해 계산하도록 한다. 본 프로그램이 완성되면 토종견에 있어서 사람과 같은 정도의 과학적으로 엄밀한 친자감별 유전자분석 서비스가 가능하게 될 것이다. 이러한 유전자분석 서비스는 애견번식농장, 실험견농장, 애견협회, 군견, 경찰견 등 기관이나 개인을 고객으로 할 수 있으며, 정확한 친자관계를 확립함으로써 육종개량과 유전병 예방에 중요한 도움을 주고 우수견의 상품가치를 높일 수 있을 것이다. 때로는 견주 사이의 소유권 분쟁이나 범죄수사에도 도움을 줄 수 있다.

또한 본 연구에서는 primer를 여러 종류의 형광물질로 표지함으로 두 번의 전기영동으로 10개 마커의 genotyping이 완결되도록 하였다. 그러나 아직 PCR

은 개별 마커 별로 반응을 시켰으며 multiplex PCR을 시도하지 못하였다. Multiplex PCR 조건을 개발하여 확립된다면 더 간편한 분석방법으로 분석 단가를 더 낮출 수 있을 것이므로 상업화에 도움이 될 것이다.

또한 본 연구에서 확보된 토종견의 생리, 화학적 자료를 기반으로 하여 토종견이나 순종견의 사양관리, 위생관리, 경영 등에 대한 자문과 지도를 하는데 활용할 수 있을 것이며, 개사육 농장을 위한 하나의 종합 consultant 역할을 하는 서비스가 가능할 것이다.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술 정보

선진외국에서는 유전자분석에 의한 가축과 반려동물의 유전병 진단, 친자감별과 개체확인법이 일반화되어 여러 대학과 기업에서 개를 포함한 여러 동물에서의 유전자분석 서비스를 제공하고 있다 (Lyon 등, 1989; Veterinary Genetics Laboratory, <http://www.vgl.ucdavis.edu/> ; Optigen, <http://www.optigen.com/> ; VetGen, <http://www.vetgen.com/> ; Charles River Therion Inc., <http://www.theriondna.com/> ; ImmGen, <http://www.immgen.com/> ; Stormont Laboratories, <http://www.stormont-labs.com/> ; <http://www.vgl.ucdavis.edu/>).

사람, 말, 소, 개에서 이미 표준화된 marker들의 분석 kit를 판매하고 있고, 유전자감식 서비스를 상업적으로 제공하고 있다 (<http://www.appliedbiosystems.com/>). 이러한 서비스에 힘입어 많은 순종견 협회에서는 혈통등록의 정확성을 유지하기 위하여 DNA 검사를 활용하고 있다. 예를 들어 미국애견협회(American Kennel Club)에서는 1998년 1월 1일부터 전문적인 번식업자에 의하여 혈통등록되는 순종견에 대하여 DNA 검사를 의무화하였다 (<http://www.akc.org/registration/dna>). 이 프로그램은 DNA Compliance Audit Program이라고 불리우며, 1년에 7배 이상의 자견을 등록하거나 개의 경매 또는 매매에 관여하는 번식업자들은 무작위적인 추출에 의해 DNA 샘플을 제공하고 친자관계를 증명하여야 한다. 만일 어떤 배의 새끼가 친자관계가 아닌 것으로 드러난다면 등록이 취소된다. 이러한 무작위 샘플 추출 검사의 비용은 AKC가 부담한다.

또한 AKC는 1998년 4월부터 자발적인 DNA 보증서 발급이 시작되었다. 즉, 혈통등록한 견주가 DNA 검사를 자비 부담으로 신청하면, DNA 검사결과인 DNA 프로파일 번호가 개체들에 할당되어 보증서가 발급되고 모든 혈통등록에 그 번호가 사용, 등록되어 개체식별과 친자확인에 사용된다. 1997년부터는 외국에서 태어난 자식이라도 AKC에 등록된 부모로부터 낳은 자식이라는 것이 DNA

검사에 의하여 확인이 되면 등록이 허용되었다. 1998년 1월부터 신선한 또는 냉동정액을 생산하는 모든 종견(외국산을 포함하여)은 “AKC DNA 보증서”를 요구하게 되었다. 2000년 1월부터는 Frequently Used Sires Program에 의하여 일년에 3배 이상, 또는 평생에 7배 이상의 자견을 생산하는 모든 종견에 대하여 자비 부담으로 DNA 보증서를 받도록 하였다. 이전에는 부견이 불확실하거나 한 시즌에 두 마리 이상의 부견과 교미하여 태어난 자견들에 대하여 등록을 허용하지 않았으나 2000년 5월부터는 DNA 검사 후 등록을 하도록 하였다. 이렇게 AKC의 혈통등록의 검정에 있어 DNA 검사의 중요성은 날로 높아지고 있으며, 그 결과 AKC의 혈통서의 신뢰성은 크게 높아졌다. 즉, 1998년에 DNA Compliance Audit Program에 의하여 오류로 판정된 동배자들의 비율이 10%에 이르렀으나 2001년에는 4.4%로 감소하게 되었다.

AKC가 시행하는 DNA 검사는 Celera Genomics의 한 부서인 Celera AgGen에서 주로 분석 서비스를 제공하고 있으며 이 회사의 자매회사인 Applied Biosystem에서는 StockMarks Animal Parentage Typing System이라는 이름으로 소, 개, 말에서 친자확인에 사용할 수 있는 microsatellite typing kit를 판매하고 있다. Canine II kit에서 이 제품은 형광표지된 7개의 표준 마커를 multiplex 방법으로 한 번에 PCR 증폭시키고 ABI Prism 310 또는 3100 Genetic Analyzer에서 분석한다. 그러나 이 제품에 사용되는 마커의 대립유전자 빈도 등에 관한 자료가 제공되지 않기 때문에 품종에 따라 또 지역에 따라 그 응용성이 달라질 수 있으며 확실적인 검증을 할 수 없다는 단점과 함께 높은 가격과 license 문제 등으로 국내에서 사용할 수 있는 표준마커의 개발이 필요하다고 생각된다.

제 7 장 참고문헌

- Alford RL,Hammond HA,Coto I, et al.Rapid and efficient resolution of parentage by amplification of short tandem repeats. *AmJHumGenet*,55:190-195,1994.
- Bebiak DM, Lawler DF, Reutzel LF. Nutrition and management of the dog. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 17(3) : 505-533, 1987.
- Biefelt SW, Wilson AJ, Redman HC, McClellan RO, Rosenblatt LS. A breeding program for the establishment and maintenance of a stable gene pool in a Beagle dog colony to be utilized for long-term experiments. *Am J Vet Res*, 30(12) : 2221-2229, 1969.
- Binns MM,Holmes NG,Marti E, et al.Dog parentage testing using canine microsatellites. *JSmallAnimPract*,36:493-497,1995.
- Botstein D,White RL,Skolnick M, et al.Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *AmJHumGenet*,32:314-331,1980.
- Bowling AT,Eggleston-Stott ML,Byrns G, et al.Validation of microsatellite markers for routine horse parentage testing. *AnimGenet*,28(4):247-252,1997.
- Brewer GJ.Wilson disease and canine copper toxicosis. *AmJClinNutr*,67(5 Suppl):1087S-1090S,1998.
- Chen YW, P C Liu, H Shibuya, D P O'Brien, D B Lubahn, G S Johnson, Length polymorphism in a CAG-rich coding region of the canine dentatorubro-pallidoluyasian atrophy(DRPLA) gene. *Animal genetics* 29: 241, 1998
- Chung ER,Chun KY,Kim WT, et al.Studies on parentage testing and pedigree analysis in Korean native cattle using microsatellite DNA marker. *AnimalGeneticsBreeding*,1(2):133-146,1997.
- Coogle L, E Bailey, Equine dinucleotide repeat loci LEX049-LEX063. *Animal genetics* 28: 378, 1997
- Coogle L, R Reid, E Bailey, Equine dinucleotide repeat loci LEX034-LEX048. *Animal genetics* 28: 309, 1997
- Dolf G, J Schlapfer, C Schelling, H Jorg, D Ladon, M Switonski, Assignment of the canine microsatellite CanBern6 to the canine chromosome group 22 to 38. *Animal genetics* 28: 453-454, 1997
- Eggleston-Stott ML, A DelValle, M Bautista, S Dileanis, E Wictum, AT Bowling, UCDEQ412, UCDEQ425, UCDEQ437, UCDEQ467, UCDEQ487,

- UCDEQ502 and UCDEQ505. *Animal genetics* 28: 370–371, 1997
- Francisco LV, Langston AA, Mellersh CS, et al. A class of highly polymorphic tetranucleotide repeats for canine genetic mapping. *MammGenome*, 7:359–362, 1996.
- Fredholm M, Wintero AK. Efficient resolution of parentage in dogs by amplification of microsatellites. *AnimGenet*, 27:19–23, 1996.
- Galibert F, Andre C, Cheron A, et al. [The importance of the canine model in medical genetics] Interet du modele canin pour la genetique medicale. *BullAcadNatlMed*, 182(4):811–21; discussion 822, 1998.
- Gill P, Jeffreys AJ, Werrett DJ. Forensic application of DNA 'fingerprints'. *Nature*, 318(6046):577–579, 1985.
- Glowatzki–Mullis ML, Gaillard C, Wigger G, et al. Microsatellite–based parentage control in cattle. *AnimGenet*, 26:7–12, 1995.
- Gu WK, K Ray, A polymorphic (TTTA)_n tandem repeat in an intron of the canine factor IX gene. *Animal genetics* 28: 370, 1997
- Guo Q, H Shibuya, D Nonneman, P C Liu, T H M Huang, G S Johnson, A polymorphic (CA)_n microsatellite in the canine lecithin: cholesterol acyltransferase gene. *Animal genetics* 29: 328, 1998
- Guo, S.W. and Thompson, E.A. (1992) Performing the exact test of Hardy–Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics* 48: 361–372
- Hagelberg E, Gray IC, Jeffreys AJ. Identification of the skeletal remains of a murder victim by DNA analysis [see comments]. *Nature*, 352(6334):427–429, 1991.
- Hall DS, Amann JF, Constantinescu GM, et al. Anury in two Cairn terriers. *JAmVetMedAssoc*, 191(9):1113–1115, 1987.
- Heyen DW, Beever JE, Da Y, et al. Exclusion probabilities of 22 bovine microsatellite markers in fluorescent multiplexes for semiautomated parentage testing. *AnimGenet*, 28:21–27, 1997.
- Irvin Z, J Giffard, R Brandon, M Breen, K Bell, Equine dinucleotide repeat polymorphisms at loci ASB 21, 23, 25 and 37–43. *Animal genetics* 29: 67, 1998
- Jackson F. Effects of age on breeding performance. *Vet Rec*, 122(23) : 567, 1988.
- Jamieson A. Taylor S.S. (1997) Comparisons of three probability formulae for parentage exclusion. *Animal Genetics* 28: 397–400
- Jeffreys AJ, Brookfield JF, Semeonoff R. Positive identification of an immigration test–case using human DNA fingerprints.

- Nature*,317(6040):818–819,1985.
- Jeffreys AJ,Wilson V,Thein SL.Hypervariable 'minisatellite' regions in human DNA. *Nature*,314(6006):67–73,1985.
- Jeffreys AJ,Wilson V,Thein SL.Individual-specific 'fingerprints' of human DNA. *Nature*,316(6023):76–79,1985.
- laboratory mouse. 2nd ed. Oxford University Press, London,1989.
- Lein DH. Small animal reproductive problems. *Cornell Vet*, 68(Suppl 7) : 261–267, 1978.
- Lim GP,Russell MJ,Cullen MJ, et al.Matrix metalloproteinases in dog brains exhibiting Alzheimer-like characteristics. *JNeurochem*,68(4):1606–1611,1997.
- Liu PC, H Shibuya, D B Bubahn, G S Johnson, A polymorphic (CT)n microsatellite in an intron of the canine SA-hypertension gene. *Animal genetics* 29: 72, 1998
- Liu PC, H Shibuya, D Nonneman, M L Katz, G S Johnson, A BseRI PCR/RFLP in an intron of the canine phenol sulfotransferase gene. *Animal genetics* 29: 329, 1998
- Liu PC, Y W Chen, H Shibuya, M L Katz, D B Lubahn, G S Johnson, Length polymorphism in a CT-rich microsatellite in an intron of the canine tyrosinase-related protein-2 gene. *Animal genetics* 29: 327, 1998
- Lyon MF, Searle AG, Editors : Genetic variants and strains of the
- Marshall TC,Slate J,Kruuk LE, et al.Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *MolEcol*,7(5):639–655,1998.
- Mellersh CS,Langston AA,Acland GM, et al.A linkage map of the canine genome. *Genomics*,46(3):326–336,1997.
- Morton DB,Yaxley RE,Patel I, et al.Use of DNA fingerprint analysis in identification of the sire. *VetRec*,121(25–26):592–594,1987.
- Ostrander EA,Giniger E.Semper fidelis: what man's best friend can teach us about human biology and disease. *AmJHumGenet*,61(3):475–480,1997.
- Pena SD,Chakraborty R.Paternity testing in the DNA era. *TrendsGenet*,10:204–209,1994.
- Rehbinder C, Baneux P, Forbes D, van Herck H, Nicklas W, Rugaya Z, Winkler G. FELASA recommendations for the health monitoring of breeding colonies and experimental units of cats, dogs and pigs. Report of the Federation of European Laboratory Animal Science Associations (FELASA) Working Group on Animal Health. *Lab Anim*, 32(1) : 1–17,

- 1998.
- Renton JP, Munro CD, Heathcote RH, Carmichael S. Some aspects of the aetiology, diagnosis and treatment of infertility in the bitch. *J Reprod Fertil*, 61(2) : 289-294, 1981.
- Sai P, Gouin E. [Spontaneous animal models for insulin-dependent diabetes (type 1 diabetes)] Modeles animaux spontanés de diabète insulino-dépendant (diabète de type 1). *VetRes*, 28(3):223-229, 1997.
- Schlapfer J, M Switonski, C Schelling, G Stranzinger, C Gaillard, G Dolf, The highly polymorphic canine microsatellite ZuBeCa2 is localized on canine chromosome 1q210-q211. *Animal genetics* 29: 329, 1998
- Schumacher W, Strasser H. Breeding dogs for experimental purposes. I. Breeding installations, breeding processes and maintenance conditions. *J Small Anim Pract*, 9(12) : 597-602, 1968.
- Shibuya H, M W Cassells, T H M Huang, G S Johnson, A polymorphic (TG)_n microsatellite in an intron of the canine angiotensin I converting enzyme. *Animal genetics* 29: 66-67, 1998
- Shibuya H, P C Liu, D P O'Brien, Y W Chen, G S Johnson, A BbvI mismatch PCR/RFLP marker for the canine huntingtin gene. *Animal genetics* 29: 239-240, 1998
- Soderberg SF. Canine breeding management. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 16(3) : 419-433, 1989.
- Stokol T, Parry B. Efficacy of fresh-frozen plasma and cryoprecipitate in dogs with von Willebrand's disease or hemophilia A. *J Vet Intern Med*, 12(2):84-92, 1998.
- Strasser H, Schumacher W. Breeding dogs for experimental purposes. II. Assessment of 8-year breeding records for two Beagle strains. *J Small Anim Pract*, 9(12) : 603-612, 1968.
- Swinburne JE, E Marti, M Breen, M M Binns, Characterization of twelve new horse microsatellite loci: AHT 12-AHT 23. *Animal genetics* 28:453, 1997
- Switonski M, C Schelling, G Dolf, G Stranzinger, J Schlapfer, Assignment of the canine microsatellite ZuBeCa3 to canine chromosome 9q21-q22. *Animal genetics* 29: 326-327, 1998
- Teute HW, Schrank H, Knappen F, Wilk W. Study on different kinds of animal feed for their adequateness for breeding and rearing beagle dogs. 1st communication : summarizing presentation of results. *Arzneimittelforschung*, 26(9) : 1690-1697, 1976.

- Thomas R, N G Holmes, P E Fisher, H F Dickens, M Breen, J Sampson, M M Binns, Eight canine microsatellites. *Animal genetics* 28: 153-154, 1997
- van Haeringen H. DNA analysis in paternity testing of dogs and cats. *VetQ*, 20 Suppl 1: S89-90, 1998.
- Veske A, S E G Nilsson, A Gal, Microsatellite (CA)_n polymorphism in intron 2 of the canine rod photoreceptor cGMP-phosphodiesterase α -subunit gene. *Animal genetics* 28: 380, 1997
- Veske A, S E G Nilsson, A Gal, Microsatellite (TTCC)_n polymorphism in intron 6 of the canine rod photoreceptor cGMP-gated cation channel α -subunit gene. *Animal genetics* 28: 374-375, 1997
- Weir B.S. and Cockerham C.C. (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38: 1358-70
- Wright PJ, Parry BW. Cytology of the canine reproductive system. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 19(5) : 851-874, 1989.
- Zajc I, Mellers C, Kelly EP, et al. A new method of paternity testing for dogs, based on microsatellite sequences. *VetRec*, 135: 545-547, 1994.
- Zajc I, Sampson J. DNA microsatellites in domesticated dogs: application in paternity disputes. *Pflugers Arch*, 431: R201-R202, 1996.
- Zhou T, D Nonneman, H Shibuya, S Khan, P C Liu, G S Johnson, An Ava2 PCR/RFLP in an exon of the canine gene for the beta subunit of the amiloride-sensitive sodium channel (SCNN1B). *Animal genetics* 29: 239, 1998
- Zhou T, H Shibuya, P C Liu, D P O'Brien, G S Johnson, A Nla3 PCR/RFLP in an intron of the retinitis pigmentosa GTPase regulator gene (RPGR) on the canine X chromosome. *Animal genetics* 29: 330, 1998