



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

碩士學位論文

제주마의 연구동향과 분자 유전체
기술의 활용방안

濟州大學校 大學院

動物生命工學科

康 多 媛

2019年 8月

↑↓
제주마의
연구동향과
분자유전체
기술의
활용방안

康
多
媛
↑↓
二〇一九
↑↓

제주마의 연구동향과 분자 유전체
기술의 활용방안

指導教授 都 敬 卓

康 多 媛

이 論文을 農學 碩士學位 論文으로 提出함

2019年 8月

康多媛의 理學 碩士學位論文을 認准함

審査委員長 류 연 철 ㉠

委 員 서 중 필 ㉠

委 員 도 경 탁 ㉠

濟州大學校 大學院

2019年 8月

Research Trends and Applications of Molecular
Genetics Technology in Jeju Ponies

Da-won Kang

(Supervised by professor Kyoung-tag Do)

A thesis submitted in partial fulfillment of the requirement for the
degree of Master of Science

This thesis has been examined and approved.

Department of Animal Biotechnology

GRADUATE SCHOOL

JEJU NATIONAL UNIVERSITY

목차

본 학위논문은 2년의 석사과정동안 수행하였던 두 가지 주제의
연구 내용을 바탕으로 2 단락으로 나누어 구성하였다.

1. 제주마 보존 및 개량을 위한 연구 동향 및 고찰(총설)
- Aun. Anim. Resour. Sci. 30(1):34~48 March 2019.

2. 제주마의 Myostatin 유전자내의 단일염기다형성에 관한 연구

표 목차	vi
그림 목차	vii
요약	1
I. 서론	4
II. 이론적 배경	7
1. 제주마의 역사	7
2. 제주마의 정책	8
3. 최근 분자 유전학적 기술	10
4. Myostatin(MSTN) 유전자에 대한 연구동향	13

III. 제주마 보존 및 개량을 위한 연구 동향 및 고찰

1. 연구방법 15

 1.1. 분야 별 연구 분류 15

 1.2. 세부 분야 별 연구 현황 19

2. 결과 20

 2.1. 계통분류 20

 2.2. 모색 21

 2.3. 신체측정과 성장 25

 2.4. 경주능력 26

 2.5. 행동 27

 2.6. 유효집단 크기 28

3. 고찰 29

IV. 제주마의 Myostatin 유전자내의 단일염기다형성에 관한 연구

1. 연구방법 33

 1.1. 공시재료 33

 1.2. MSTN 유전자 변이 탐색을 위한 PCR 및 염기서열 분석 34

 1.3. 통계분석: MSTN 유전자 SNP들의 연관불균형 분석 36

2. 결과 39

 2.1. MSTN 유전자 내의 단일염기 다형성 발굴 39

 2.2. MSTN 유전자 내 SNPs 에 대한 유전자형 빈도 42

 2.3. MSTN 유전자 내 SNPs 간의 연관불균형 분석 43

3. 고찰 46

V. 총론 48

VI. 참고문헌 51

VII. 국문요약 75

감사의 글 78

표목차

표 1. 제주마 논문 분류	16
표 2. 제주마 영어 표기법 비율	32
표 3. MSTN 유전자의 증폭 및 시퀀싱 프라이머 디자인	34
표 4. PCR reaction buffer 조건	35
표 5. MSTN 염기서열의 증폭에 대한 PCR 반응 정보 목록 ..	36
표 6. Primer 별 발굴 된 MSTN 유전자의 SNP	39
표 7. 제주마 MSTN 유전자내의 SNP 와 dbSNP 간의 비교 ·	41
표 8. 제주마의 MSTN 유전자의 19개 SNPs 유전자형 빈도 ..	42
표 9. 제주마의 19개의 SNP markers 정보	44

그림목차

그림 1. 연도별 제주마 두수	8
그림 2. 근육에서 Myostatin과 activin의 신호 반응	13
그림 3. 연도 별 제주마의 영문표기 비율	18
그림 4. 제주마의 12가지 모색	23
그림 5. 제주마 모색 분포	24
그림 6. MSTN 유전자의 exon 영역과 complete LD 분석	40
그림 7. 19개의 SNP 연관 불균형(LD)	45

요약

Jeju pony, a natural monument no. 347 living in Jeju Island, Korea, has been conserved as a genetic resource and a racing pony. A total of 125 studies written about this breed have been published in various fields, primarily animal science(106), veterinary medicine(13), and others(6), from 1961 to 2018. Specifically, the majority of studies have been published in animal breeding and genetics(84), which are subcategories in the field of animal science. However, most of the research in breeding and genetics for Jeju pony were performed in the early 2000s, and studies using recently developed techniques are inferior to other breeds(thoroughbred etc.). Our current understanding of both the conservation and utilization of the breed is still incomplete. Thus, it is important to use recently developed technologies to improve management and breeding strategies for this pony breed. In this study, we review studies on Jeju ponies in the field of animal breeding and genetics and discuss problems that need to be addressed. Reviewed studies were divided into 6 categories: systematic classification, coat color, body measurement and growth, racing performance, behavior, and effective population size. Finally, we suggest ideas for future research projects that could potentially contribute to the Jeju pony industry.

1) The genetic breeding field(84 chapters) of animal science category that occupies most of the total 125 cases of Jeju research is divided into 6 categories(systematics, coat colour, somatometry, growth, race ability, action and effective population size). We will discuss the general contents and problems of the researches and discuss the systematic preservation and upbringing of Jeju island and the correct method of improvement.

2) In horse, the MSTN gene synthesizes myostatin protein that regulates the number and growth of muscle fibers, and many studies have been reported on affecting muscle formation, racing ability and healthiness. In this study, sequence analysis of MSTN gene(full-length 6,335 bp) was performed using Jeju pony breed population(n = 10), and a total of 19 single nucleotide polymorphisms(SNPs) were excavated. Twelve SNPs(g.814C>T, g.963_T>G, g.1406_T>G, g.1444_A>G, g.1599_A>C, g.1656_A>C, g.3014_T>C, g.3569_T>C, g.3666_A>T, g.3753_T>C, g.3926_T>C, g.4349_G>A) were confirmed to be already reported SNPs, and the remaining seven SNPs(g.1686_A>G, g.1995_A>G, g.2205_G>A, g.2634_T>C, g.3549_A>G, g.4344_A>C, g.4887_A>G) were confirmed to be newly discovered SNPs in Jeju pony. Two SNPs(g.2205_G>A, g.4887_A>G) among the seven newly discovered SNPs on Jeju pony were located at exons 2 and 3, respectively, and were confirmed by synonym SNPs. In addition, frequency of g.66608679 G>A(g.1444_A>G) variation has been confirmed that the frequency of the A allele gene is significantly higher than that of the G allele(0.88 vs. 0.12). This is similar to the frequency of the previous study of the Mongolia horse, the ancestor of Jeju pony.

In addition, the degree of association disequilibrium for the 19 SNPs in the MSTN gene of Jeju pony was 9 SNPs with complete LD($r^2=1$) (g.814_C>T, g.1406_T>G, g.1599_A>C, g.1656_A>G, g.1995_A>G, g.2634_T>C, g.3014_T>C, g.3666_A>T, g.4344_A>C) there were 10 SNPs with $r^2=0.45 \sim 0.65$ degree of association disequilibrium(g.814_C>T, g.963_T>G, g.1444_A>G, g.1686_A>G, g.1995_A>G, g.3549_A>G, g.3569_T>G, g.3926_T>C, g.4344_A>C, g.4349_G>A). Haplotype in MSTN gene of horse have been reported to affect morphological traits and it is thought that further studies of Haplotype within the Jeju pony MSTN gene are needed. These results suggest that this data will be useful as basic research data for the future study of MSTN gene in Jeju pony.

Jeju pony also needs research on genomic selection(GS) using the excavated bio-markers, using the improvement of the race and the latest free global analysis method for excellent marker production. These research results are used to select superior Jeju pony which is horse resource, to discover superior characteristics such as Jeju pony race ability, passenger car ability and meat quality. It can be applied.

In this paper, we will discuss the research trends of Jeju pony breeds, overall contents and problems, and conduct basic research on representative MSTN genes in Jeju by means of the latest molecular genomics analysis methods discussed the need for research using. Thus, recognition reconsider and economic ripple effect to domestic genetic resources are provided.

Keyword : Jeju pony, MSTN, sequencing, SNP, linkage disequilibrium

I. 서론

제주마(Jeju horse)는 대한민국의 남쪽 섬인 제주도에 오랜 기간 서식하고 있으며 지리적인 환경 특성에 적응하여 고유의 특징을 나타내는 대한민국의 유일한 말 품종의 유전자원이다. 오래 전 제주마는 농업, 운송 그리고 역용 등의 여러 가지 산업분야에 활용되면서 1931년에는 최대 22,500 마리까지 사육되었다는 기록이 있으나, 농기계의 보급 및 운송수단 등의 발달로 사육 두수가 급격히 감소하여 1980년대에는 멸종 위기에 처하기도 하였다. 정부는 제주마를 보존 및 육성하기 위해 1986년 2월 제주마를 천연기념물 제 347호로 지정하여 제주특별자치도 축산진흥원에서 관리하게 되었으며, 1990년대에는 제주마의 활용 측면으로 한국마사회 제주경마공원에서 처음으로 제주마의 경마가 시작되었다. 또한 2000년대에 들어서면서 체계적인 관리를 위해 제주마에 대한 순수 혈통보존을 위한 관리가 시작되어 현재까지 진행되고 있다.

제주마의 경마는 제주경마공원에서 제주마와 한라마 집단의 경주를 분리하여 시행 중이며, 여기서 제주마는 '제주마 등록기관에 제주마로 등록된 말' 만이 해당된다. 또한 향후 2023년에는 모든 경주를 한라마를 제외한 '제주마 경주'로 시행하는 중장기 계획이 추진 중에 있어 제주마 경주를 매년 확대되고 있다 (2019년 기준 제주마:한라마 경주, 68:32%, 두수 360두:170두) (www.jejuhorse.jeju.go.kr).

제주마에 대한 연구는 1961년을 시작으로 현 2018년도까지 동물 및 수의 분야를 통틀어 다양한 분야에서 연구되어 왔지만, 경마를 위해 체계적인 육성 및 개량방법을 도입하여 이용하고 있는 더러브렛(Thoroughbred) 말 품종에 비해 현재 제주마 품종의 연구들은 매우 미흡하여 이를 개선하기 위한 다양한 연구방법 등을 통해 체계적인 보존관리 및 유전적 개량이 요구되고 있는 시점이다 (Yang, 2009; Lim 등 2019).

최근 제주마의 경주능력을 향상시키기 위해 세계적으로 많은 연구가 이루어지고 있다. 말의 혈통뿐만 아니라 우수한 운동능력을 가진 말을 선별하기 위해 원인 유전자 마커에 대한 연구가 수행 되어졌다. 이에 유전적으로 우수 능력을

가진 말에 대한 RFLP(Restriction fragment length polymorphism) 및 AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) 등의 분석기법을 이용하거나, 유전자의 단일염기변이(SNP: Single nucleotide polymorphism)를 발굴하거나, 특이적인 유전체 내의 VNTR(Variable number tandem repeat)이나 MS(Microsatellite) 마커와 같은 영역을 발굴함으로써 우수 말 특이적인 인자를 동정하는 연구가 시행되었다 (Ellegren 등, 1992; Hori 등, 2013).

최초로 2009년 게놈프로젝트(Genome Project)로 인해 말의 총 염기서열이 밝혀졌다. 그로 인해 대용량 유전체 분석방법들이 개발되어 High-density SNP chip을 이용하여 말의 개체별 경제형질(강건성, 운동능력, 질병, 면역 등) 등에 관련된 전장게놈 단계에서 탐색하는 기법인 GWAS(Genome-wide association study) 분석방법을 적용한 연구가 늘어나고 있으며 (Grossi 등, 2015; Strazzullo 등, 2012; Witt 등, 2014), 또한 NGS(Next Generation Sequencing) 기술의 개발로 인해 품종 및 개체 별 말의 유전체 염기서열 확보 및 기능유전체 분석을 통한 연구가 이루어지고 있다 (Doan 등, 2012; Kim 등, 2013; Lee 등, 2014).

많은 연구결과 중 경주마의 경주능력에 영향을 줄 수 있는 근육형성 과정에 있어 대표적인 MSTN 유전자를 동정하였다. MSTN 유전자는 근섬유의 수와 성장을 조절하여 골격근 질량의 제한·근육 형성의 강력한 억제제 역할을 하는 것으로 보고되었다 (Thomas 등, 2000). MSTN 유전자는 말의 염색체 18번에 위치하고 있으며 3개의 exon과 2개의 intron으로 구성되어 있다. MSTN 유전자는 더러브렛에서 경주 능력과 발현 정도에 따라 최적의 영향을 주는 것으로 보고되었으며 (Hill 등, 2010; Tozaki 등, 2011; McGivney 등, 2012) MSTN 유전자내의 EquCab3.0: g.66608679 G>A(EquCab2.0: g.66493737 G>A) 단일염기변이 양상에 따라 더러브렛 경주마의 최적 경주거리와의 상관관계를 밝힌 연구가 보고되고 있다 (Binns 등 2010). 또한 g.66608679 G>A 단일염기변이의 G 대립 유전자는 근거리 경주에 적합하고 신체 조성 표현형에도 영향을 주며, GG 및 GA 유전자형을 가진 말은 AA 말보다 경주기록이 우수한 상가적 효과(additive effect)가 나타났다 (Hill 등, 2012). 그 외에 많은 말 품종에서도 대표적으로 MSTN 유전자의 단일염기변이에 대한 연구가 이루어지고 있다 (Padilha 등, 2018; Stefaniuk 등, 2014; Francois 등, 2016).

하지만 제주마 품종에서는 지금껏 MSTN 유전자를 포함한 경주능력에 대한 유전체 연구가 매우 부족하다. MSTN 유전자의 연구뿐만 아니라 제주마는 앞으로 경주마로써 활용될 품종임으로 최신 대용량 분자 유전체 분석법을 이용하여 제주마의 올바른 유전체 개량 연구가 필요한 시점이다.

따라서 본 연구의 목적은 제주마의 보존 및 개량을 위한 연구 동향들을 고찰하여 향후 말 산업에 제주마 품종이 기여할 수 있는 연구전망에 대해 실마리를 제시하고자 하며 또한 제주마의 MSTN 유전자의 단일염기 변이(single nucleotide polymorphism, SNP) 발굴 및 특성을 기초 연구함으로써 향후 분자유전학적 기법들의 활용방안을 제시하고자 한다.

II. 연구사

1. 제주마의 역사

제주마(Jeju pony)는 국내에 들어와 있는 승용마, 경주마인 워블러드, 더러브렛 종에 비해 작은 품종에 속하는 국내 유일한 품종 등록과 관리가 이루어지고 있는 품종으로, 체고가 평균 약 120cm이지만 강한 체력과 체질을 가지고 있어 제주도의 섬의 기후, 환경, 거친 사료 등에 적응력이 강하다 (Kang, 1996).

제주마의 역사적 첫 등장은 제주특별자치도의 삼성 씨족의 시조신화에 타가축들과 더불어 망아지가 포함된 이야기가 있으며 광지리 패총, 월령리 한들궁, 사계리 해안 등에서 말의 치아 및 말 발자국 화석 등이 발굴됨으로써 제주도에 석기시대 말기에서 청동기시대 이전부터 말이 서식하였다고 추정하고 있다. 문헌 기록으로는 고려 문종 27년(1073), 고려 원종 14년(1274), 이후 조선 세종 12년(1430) 등에 등장하여 사육하여 진상, 군마 생산, 육성 및 개량 되었다는 기록이 있다. 산업화 이전 제주마는 농경생활에서 밭갈이, 농산물 운반 및 이동수단으로써 이용되었으나 1960년대 이후 산업화로 인한 생활방식의 발달로 인한 제주마의 활용도 저하는 제주마 수도 감소하였다. 21세기 이후 제주마는 경·승마 등 레저 활동 수단 및 부산물(화장품, 식품 등)으로써 이용가치가 변화되었다.

제주마는 과거 제주 조랑말, 탐라마, 제마, 노마, 과하마 등으로 불리었으며 2001년부터 제주마로 통일되었다. 영문명 또한 Jeju horse, Jeju pony, Jeju mini horse 등에서 현재 Jeju pony로 통일하는 것이 바람직하다 (Lim 등, 2019).

2. 제주마의 정책

정부는 제주마의 고유 자원으로써의 가치와 개체 수 보존 및 육성을 위해 1986년 2월 천연기념물 제 347호로 지정하며 제주특별자치도 축산진흥원에서 관리하여(제주마 64마리-암말 55, 수말 9), 적정 사육두수(150마리)를 초과하는 마필은 문화재 지정해제 후 공개경매를 통하여 제주도 내 사육 희망자에게 분양하고 있다. 당시 제주마는 사용 용도의 감소에 따른 멸종 위기를 겪었다.

2000년대에 들어섬과 동시에 제주특별자치도 축산진흥원의 체계적인 혈통관리를 시작하면서 99년 234마리(기초마185, 혈통마49), 2010년 1375마리(기초마146, 혈통마1229)로 사육두수가 증가하고 있으며, 현재 2019년 기준 총4,253마리(기초마115, 혈통마4,078, 고등-씨수마60)로 계속해서 증가하고 있음을 알 수 있다 (www.jejuhorse.jeju.go.kr, 그림 1). 또한 혈통관리 및 씨수마 활용도 증대를 위해 제주마 사육농가를 대상으로 ‘무상 종부서비스’를 운영하고 있다.

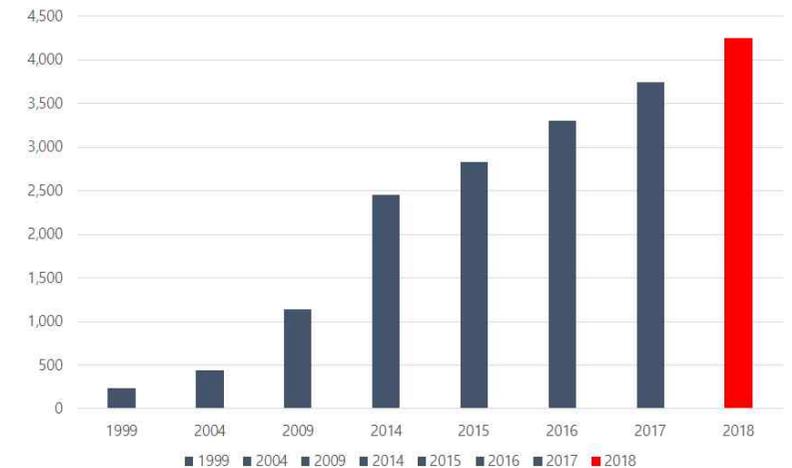


그림 1. 연도 별 제주마 두수

www.jejuhorse.jeju.go.kr, 제주마등록관리정보시스템

제주마의 개체 확대 및 보호 육성책의 방법으로써 1990년 한국마사회를 통한 제주경마공원의 운영과 제주마 경마를 시행한다 (www.park.kra.co.kr).

현재 제주경마공원의 경마 경주는 제주마와 한라마 경주가 분리시행 중이며, 여기서 제주마와 한라마의 구분으로써 제주마는 '제주마 등록기관에 제주마로 등록된 말' 만이 해당된다(한라마: 체고 137cm이하의 제주산 말로, 제주마는 제외된다, 2019년 기준). 또한 향후 2023년에는 모든 경주를 '제주마 경주'로 시행하는 중장기 계획이 추진 중에 있어 제주마 경주를 매년 확대하고 있다(2019년 기준 제주마>한라마 경주 비율 68:32%, 두수 360두:170두). 계속해서 제주마 경주의 확대가 실시되고 있으며 2019년 경마시행에는 대상·특별경주의 제주마 경주자원 증가에 따라 JIBS배, 제주마주협회장배, 제주마더비로 최우수 국 3세 제주마를 선발하는 삼관 경주의 시행, 제주마 등록 이원화와 2022년까지 거세마를 포함한 제주마 3세를 조건으로 시행하며 삼관 달성 시 인센티브를 지급한다.

3. 최근 분자 유전학적 기술

2001년 인간 게놈의 초안이 발표된 이후 말을 포함한 여러 경제 동물에서도 순차적으로 게놈의 완성과 더불어 Next Generation Sequencing(NGS) 기술이 대중화 되었다. 그 결과 게놈 전장을 탐색 할 수 있는 Illumina Equine SNP BeadChip 이 개발되었으며 또한 품종 및 개체별 전장게놈 수준의 완성 및 변이들을 발굴하는 Whole Genome Sequencing(WGS), 조직별 유전자 발현 및 기능 유전체적 분석을 할 수 있는 RNA-Seq(RNA Sequencing) 들의 대용량 분자 유전학적 기술 툴이 개발되었다.

(1) Illumina Equine SNP BeadChip

SNP chip은 바이오칩 중 DNA 수준에서 대량의 단일염기변(SNP) 마커를 집적화시킨 것으로, 가장 안정적으로 생물학적 정보 수집과 화학적 공정 및 반응 또는 정보처리 속도를 높이는 도구이다. 또한 말에서 SNP Chip을 이용할 경우 5~7만개 이상의 단일염기다형(SNP) 마커들을 한 번에 비교할 수 있고, 여러 샘플을 종합적으로 분석할 수 있는 시스템이 구축되어 있기 때문에 보다 효과적이고 경제적이라 할 수 있다. Illumina 사에서 판매되고 있는 칩은 다른 칩과는 다르게 Bead 방식의 칩으로 구성되어 있다. Bead 는 3 μ 의 크기이며, 칩에 사용되는 Optical fiber 는 1.4mm ϕ 의 크기로 50,000~70,000 개의 BEAD를 넣을 수 있으며, 하나의 단일염기다형(SNP) 마커를 위해서 30개의 Bead을 사용하여, Hybridization 시 오차를 줄일 수 있다. 각각의 Bead에는 Address Code을 심고 증폭된 Target이 Code 에 특이적으로 결합한다. 칩에 심은 각각의 Bead 들의 정보들은 Bead Decoding 방법을 통해서 CD에 기록되어 제공되어 진다. 단일염기다형(SNP) 을 확인하기 위해 3개의 Primer가 필요하며 2개의 Primer 끝에는 Universal Primer(AAllele Specific Region, ASOs) 가 붙어있어 증폭 시 형광물질이 결합된 Primer를 사용하게 하였고, 반대편의 Primer(Locus specific region,

LSO) 는 Bead Address Code와 특이적으로 결합할 수 있는 Primer를 제작하여 Golden Gate Assay 방법을 이용해 증폭한다. 이때 증폭된 산물들은 모두 Primer의 끝 부분에 있는 Universal Primer와 Code부분을 가지고 있어 증폭된 SNP에 부합되는 형광물질이 결합할 것이고, 다른 쪽은 Address와 상보적인 Primer가 결합해 Bead에 특이적으로 결합하여 단일염기다형(SNP) 을 분석할 수 있다. 이렇게 얻어진 스캔결과는 Gencall 프로그램을 이용하여 유전자형, 하디와인버그평형검증(Hardy-Weinberg Equilibrium), 복제오류(Replicate error), 그 외에 여러 가지 오류들을 프로그램에서 볼 수 있다. 그리고 연관(linkage) 분석과 염색체상의 지도 작성(mapping) 을 할 수 있는 기능을 추가로 지원하고 있다 (<http://www.illumina.com/>).

(2) Next Generation Sequencing

NGS 는 이전의 자동화 기기와 구분하기 위하여 불리는 이름이다. 초기 자동화기기는 기술적인 발전에도 불구하고 여전히 개체의 전장유전체를 밝히는 데 시간과 비용이 많이 든다. NGS 기술은 개인의 유전체를 이전의 기술보다 비용과 시간의 절약을 할 수 있는 염기서열분석(sequencing) 기술이다. 또한 수십 만 개의 DNA 단편의 amplify 반응을 동시에 수행하는 multiplexing기능을 한다.

최근 많이 보급된 대표적인 Illumina사의 Genome Analyzer의 경우 유전체 DNA에서 단편화 시킨 후 adaptor oligonucleotide를 연결시켜, 이를 glass flow cell의 표면에 흘려주면 표면에 고정된 primer(adaptor sequence와 상보적) 에 혼성화가 이루어지게 된다.

이 상태에서 PCR reaction 수행하여 주변의 표면에 존재하는 free primer에 고정된 DNA가 변형되어 다른 쪽의 adaptor가 결합하여 증폭이 된다. 그리고 회색 후 단일 DNA 단편이 공간적으로 분리가 되어 최초 하나의 DNA 단편에서 유래된 cluster가 형성된다. 이 cluster는 하나의 DNA 단편에서 기원한 동일한 집합체인 clone이며 emulsion amplification에서 미세비드와 같은 역할을 한다.

cluster들이 형성되면 다음 단계에서는 adaptor sequence에 특이적인 sequencing primer와 sequencing 용액을 이용하여 최종적인 cyclic sequencing 과정이 수행되어진다 (Kwon, 2012; <http://www.illumina.com/>).

4. Myostatin(MSTN) 유전자에 대한 연구동향

Myostatin(MSTN)은 GDF-8이라고도 하며 근육성장 및 발달의 음성 조절인자로, 성장 및 분화 인자의 TGF-β family에 속하며, 근섬유의 수와 성장을 조절하여 골격근 질량의 제한·근육 형성의 강력한 억제제 역할을 하는 것으로 알려져 있다 (그림 2).

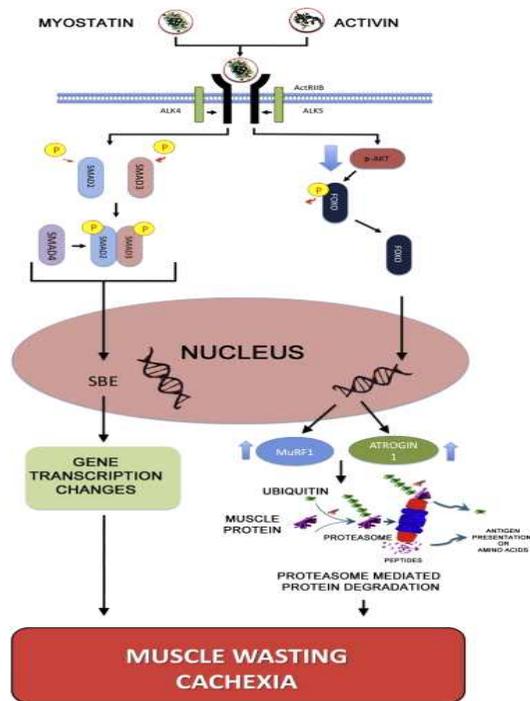


그림 2. 근육에서의 Myostatin과 activin 신호 반응. Myostatin or activin bind to type IIB activin receptor on muscle membranes. When it becomes a dimer, there is recruitment and activation of the type I activin receptor transmembrane kinase (그림 from Issues in Dialysis, Edited by Stephen Z. Fadem, Nova Science Publishers, Inc New York, 2012, page 157, 그림 2).

MSTN 유전자는 인간(Schuelke 등, 2004)을 포함한 다른 동물에서도 많은 연구가 이루어 졌다 (McPherron 등, 1997; McPherron and Lee 1997; Walling 등, 2004; Johnson 등, 2005; Mosher 등, 2007). MSTN 유전자의 변이는 쥐(mouse)에서 세포의 증식과 비대로 인한 골격근의 증가를 보였으며, 소(cattle)에서는 double muscling phenotype을 일으키는 것으로 알려졌다. 이 후 양(sheep) 그리고 개(dog)에서 연구가 이루어졌으며, 말에서도 MSTN 유전자는 다수의 연구가 수행되어지고 있다. 말 MSTN 유전자는 염색체 18번 말단에 위치하고 있으며, 유전자의 구조는 3개의 exon 과 2개의 intron 으로 구성되어 있다(Total 6,172 bp; reverse strand g.66,605,150-66,610,122; EquCab3.0).

MSTN 유전자의 변이의 양상에 따라 말의 경주능력에 영향을 미치는 것으로 연구되어지고 있으며 경마에 최적화 된 품종인 더러브렛을 포함한 여러 품종에서도 MSTN의 발현양상 및 단일염기변이 등의 연구가 다수 진행되고 있다 (Padilha 등, 2018; Stefaniuk 등, 2014; Francois 등, 2016).

Ⅲ. 제주마 보존 및 개량을 위한 연구 동향 및 고찰

Research Trends and Implications for Preservation and Improvement of Jeju Ponies

1. 연구방법

1.1 분야 별 연구 분류

조사된 125편의 제주마 연구를 분류한 결과 기타(6편)를 제외하고 대부분의 연구가 축산학(106편)과 수의학(13편) 두 가지 큰 범주로 구분되었다. 세부 분야를 조금 더 자세히 살펴보면 첫 번째로 축산학(106편) 범주에서는 유전 육종(84편)이 가장 많은 비중을 차지하고 있었으며, 나머지는 식품(8편), 번식(12편), 영양(2편) 등으로 구성되어 있었다. 유전 육종(84편)은 다시 세부 분야인 전통적 통계 유전 육종(31편)과 분자 유전 육종(53편)으로 구분될 수 있었다.

두 번째로 수의학(13편) 범주는 질병의 종류에 따라 세균(2편), 기생충(4편), 골학(3편), 기타 질병(4편; 바이러스, 빈혈, 신경 질환, 상피소체 기능항진증)으로 분류되었으며, 마지막으로 기타(6편) 범주에는 축산학 및 수의학에 포함되지 않는 경영 정책(3편), 기승자 자세(2편), 승마 효과(1편)에 대한 논문으로 구성하였다. 분야별 자세한 연구 분류에 대한 추가 내용은 표 1에 제시하였으며, 연도별 연구논문 발표 추세는 그림 4에 나타내었다.

표 1. 제주마 논문 분류

Classification	Reference
Animal Sciences (106)	
1. Breeding and genetics (84)	
① Statistical breeding and genetics (31)	
- Phylogenetics (1)	Kang, 1965
- Coat color (2)	Lee, 1971; Kang etc, 1988
- Body measurement and growth (6)	Lee, 1961; Jung etc, 1991; Yang etc, 1991; Yang, 1997; Yang, 2002; Yang, 2014
- Racing performance (9)	Yang, 2004a; Yang, 2005a; Yang, 2005b; Yang and Lee, 2009; Kim etc, 2009; Kong etc, 2011; Yang, 2012; Kim etc, 2014b; Oh etc, 2014
- Blood (3)	Han etc, 1990; Han etc, 1992; Han etc, 1996
- Population genetics (1)	Kim etc, 2015a
② Molecular breeding and genetics (53)	
- Phylogenetics (10)	Oh etc, 1994; Oh etc, 1997; Kim, 1999; Kim etc, 1999b; Jung etc, 2002; Yang etc, 2002; Han etc, 2004; Yang, 2004b; Cho, 2006; Yoon etc, 2017
- Coat color (5)	Kim etc, 2011; Kim etc, 2012; Kim etc, 2015b; Kim etc, 2018; Han etc, 2009
- Racing performance (4)	Park etc, 2014a; Moon etc, 2015; Baek etc, 2018; Lee etc, 2018
- Proteomics (7)	Hyun etc 1991a; Hyun etc 1991b; Kim and Oh, 1995; Han etc 1995; Shin etc 2002; Cho etc 2003; Cho, 2005a
- Basic molecular genetics (21)	Han etc, 1994; Cho etc, 1998; Kim etc, 1999a; Cho, 1999; Yang, 1999; Cho etc, 2000; Oh and Jung, 2001; Han etc, 2001; Cho etc, 2001a; Cho, 2001; Cho etc, 2001b; Cho etc, 2001c; Cho etc, 2002; Kim etc, 2002; Cho and Cho, 2004; Yang and Kim, 2004; Cho and Lee, 2004; Cho, 2005b; Cho etc, 2007; Choi etc, 2008; Kwon and Cho, 2009
- Population genetics (1)	Do etc, 2014
- Epigenetics (1)	Lee etc, 2014

- Immune (1)	Lee etc., 2016
- Other features (3) ¹⁾	Sohn etc., 2006; Park etc., 2009; Ahn etc., 2011
2. Food (8)	
① Horse meat (5)	Lee, 1995; Lee, 1999; Kim etc., 2005; Seong etc., 2006; Choi and Yang, 2017
② Horse milk (2)	Lee and Kim, 1985; Ko etc., 1986
③ Horse bone (1)	Kim etc., 2014a
3. Reproduction (12)	Chang etc., 1990; Kim etc., 1990a; Kim etc., 1990b; Kim etc., 1990c; Kim and Chang, 1990a; Kim and Chang, 1990b; Chang etc., 1991; Chang and Kim, 1996; Rho etc., 2004a; Kang and Kang, 2006; Yoo etc., 2007; Oh etc., 2012
4. Nutrition (2)	Oh etc., 1993; Yang etc., 2005
Veterinary medicine (13)	
1. Bacteria (2)	Son etc., 2006; Park etc., 2014b
2. Parasites (4)	Kim, 1993; Lee etc., 1995; Gupta etc., 2002; Seo etc., 2013
3. Osteology (3)	Lee etc., 1974; Kim etc., 2003; Yang etc., 2015
4. Other diseases (4) ²⁾	Kim and Choi, 1994; Lee etc., 2013; Yang and Lim, 2014; Gim and Kim, 2017
Others (6)	
1. Management policies (3)	Kang, 2000a; Kang, 2000b; Kang and Kang, 2002
2. Rider posture (2)	Oh etc., 2009; Kang etc., 2010
3. Equestrian effects (1)	Kyew, 2011

¹⁾ Karyotype analysis and identification of reference genes.

²⁾ Virus, anemia, nerve disorder, and hyperparathyroidism.

- 17 -

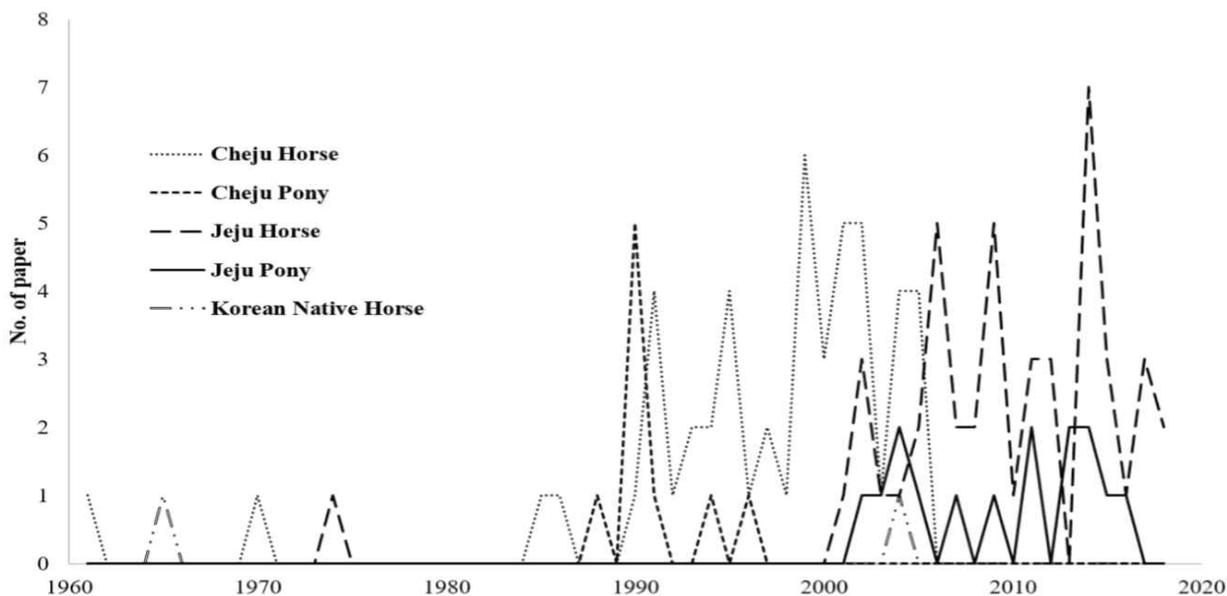


그림 3. 연도 별 제주마의 영문 표기 비율

- 18 -

1.2 세부 분야 별 연구 현황

전체 125편의 제주마 연구 중 67%를 차지하고 있는 축산학 범주의 유전 육종 분야(84편)를 6가지의 카테고리(계통분류, 모색, 신체 측정과 성장, 경주능력, 행동 그리고 유효 집단 크기)로 나누어 조사하였다.

2. 결과

2.1 계통분류

역사적으로 1276년 고려 왕조 시절 중국 유안(Yuan) 왕조의 몽고인들이 전쟁마를 생산하기 위해 제주도에 말 목장을 설치하였고 160마리의 말을 제공한 기록이 남아있다. 오랜 시간 동안 제주도의 지리적인 특성 및 특유의 자연환경에 적응하면서 현재의 제주마 고유한 형태로 진화하게 되었다.

학술적으로 제주마의 기원에 대한 최초의 연구는 Kang (1965)에 의해 보고되었는데, 생물 측정학(biometrics) 측면에서 제주마는 한반도 북쪽에 서식하는 몽고마(Mongolian horses) 보다는 일본 남쪽 섬에 서식하는 토타라 말 품종(Tokara horse)이나 중국 남서에 서식하는 윈난 말 품종(Yunnan horse)과 유사한 것을 최초 보고하였다. 하지만 이후 과학적인 발달로 인하여 분자유전학적 측면에서 모계로부터 유전되는 mtDNA의 염기서열의 변이를 이용하여 제주마와 여러 말속(Equus)의 mtDNA 염기서열 변이들을 9개의 제한효소를 통해 비교 분석한 결과 많은 말의 조상으로 불리는 E. Przewalski와 가장 흡사한 결과를 보였다 (Oh 등 1994). 또한 제주마의 mtDNA D-loop 지역의 반수체형(haplotype)을 이용하여 타 품종과 비교한 결과 한 품종이 아닌 다양한 품종과의 근연관계를 나타냈으며, 이 중에서 일부 제주마는 몽고마(Mongolian horse) 품종과 명확한 군집(cluster)을 이루고 있음을 확인하였다. 현재까지 제주마 모계 조계 조상은 몽고마(Mongolian horse)로 추정되고 있으나, 몇몇 연구결과들은 몽고마(Mongolian horse)가 아닌 다른 타 품종과 독립된 군집을 이루고 있음이 관측되어 몽고마(Mongolian horse) 뿐만 아니라 제주도 고유의 모계 조상도 존재할 것으로 예측됨을 보고하였다 (Kim 등 1999; Yang 등 2002). 또한 제주도 광지 유적에서 발굴된 말뼈의 mtDNA D-loop 분석에서도 현재 제주마와 근연관계가 관측되지 않아 고려 시대 몽고마가 제주에 들어오기 이전에 다른 말이 이미 제주에 서식하고 있었을 것이라 추정하는 근거를 제시하였다 (Jung 등 2002). 최근에는 제주마(6마리)를 포함한 68개 말 품종을 대표하는 151마리의

전체 미토콘드리아 DNA 염기서열(sequence)의 변이들을 비교 분석하여 총 6개의 군집 중 4개의 군집에 제주마가 포함되어 있어 여러 모계 조상 기원에 대해 높은 가능성을 보고하였다 (Yoon 등 2017).

2.2 모색

제주마의 모색은 과거 분류 방식에 의하면 크게 12종으로 분류되었으며 정확하게 나눌 경우 41종으로 분류 할 만큼 매우 다양한 모색을 가지고 있다. 1960년대 조사된 제주마의 모색 출현 빈도는 유마(bay, 42.75%), 적다(chestnut, 30.87%), 총마(gray, 13.05%) 및 가라(black, 7.28%) 등이 대부분을 차지하고 있었으며, 나머지는 적은 비율을 차지하거나(고라, 부루, 자흠, 거흠, 율라) 전혀 관측되지 모색(공골말, 백마, 범마)도 존재하는 것으로 보고되었다 (Lee, 1971). 그 이후, 1988년 조사된 모색 출현 빈도를 살펴보면 이전에 비해 유마(bay) 빈도가 42.75%에서 29.52%로 급격히 감소하였으며, 적다(chestnut)와 총마(gray) 빈도는 약 8%씩 상승하였으며, 가라(black)와 고라(dun) 빈도는 큰 차이 없는 것으로 조사되었다 (그림 5).

제주마의 다양한 모색 중 유마(bay), 적다(chestnut), 총마(gray), 가라(black) 그리고 율라(pinto)에 대한 유전인자의 연구가 진행되었다. 첫 번째로 말의 가라(black), 유마(bay), 적다(chestnut) 모색은 Extension(E)와 Agouti(A) 좌위에 의해 주로 조절된다. E 좌위에 포함된 melanocortin 1 receptor(MC1R) 유전자의 g.901C>T 단일염기변이와 A 좌위에 포함된 agouti signaling protein(ASIP) 유전자 exon 2 11 bp 결실 변이의 상호작용을 통해 흑모색 발현에 큰 영향을 미친다고 보고되었으며 (Marklund 등 1996; Rieder 등 2001), 제주마에서도 동일하게 적용되어 E 좌위의 E+E>E+Ee와 A 좌위가 AaAa인 경우 가라(black), E+E>E+Ee와 AAAA>AAAa인 경우 유마(bay), EeEe와 AAAA>AAAa>AaAa인 경우 적다(chestnut) 모색으로 구분되는 것을 확인하였다 (Han 등 2009; Kim 등 2011). (그림 6).

두 번째로 말의 총마(gray) 모색은 STX17 intron 6의 4.6 kb 중복(duplication)에 의해 조절된다고 보고하였으며 (Pielberg 등 2008), 제주마 품종

에서도 한 개 이상의 중복 대립인자 G가 존재하는 GG>Gg인 경우 유마(bay) 모색이 우성형질로 발현되는 것을 확인하였다 (Han 등 2009).

마지막으로 백반을 가지고 있는 제주마의 율라(pinto) 모색은 tobiano, overo, sabino 백반 유형 중 tobiano에 속하는 것으로 알려져 있으며, 한 개 이상의 염색체 가닥에서 말 염색체 3번(ECA3)의 inversion이 나타난 개체(To>To, +>To)에서 백반이 확인되었다 (Brooks 등 2007; Haase 등 2008; Kim 등 2012). 최근 2015년에 1462마리의 제주마 모색에 대한 유전인자 조사에 따르면 제주마 율라(pinto) 모색의 유전 요인(To>To, +>To)의 비율이 12%로 과거 1960년도에 약 0.34% 비율을 가지고 있던 것에 비해 매우 상승한 하였으며, 총마(gray) 모색의 유전 요인(GG>Gg)의 비율도 68%로 과거 60년대(13%)와 80년대(22%)에 비해 크게 상승한 것으로 관찰되었다 (그림 3). 또한 세대 경과에 따른 유전 요인 빈도 결과에서 백반 유전 요인(To allele)의 빈도는 유의적으로 감소하였고, 유마 모색 관련 유전 요인(G allele)은 증가하였음을 연구보고 하였다 (Kim 등 2015).

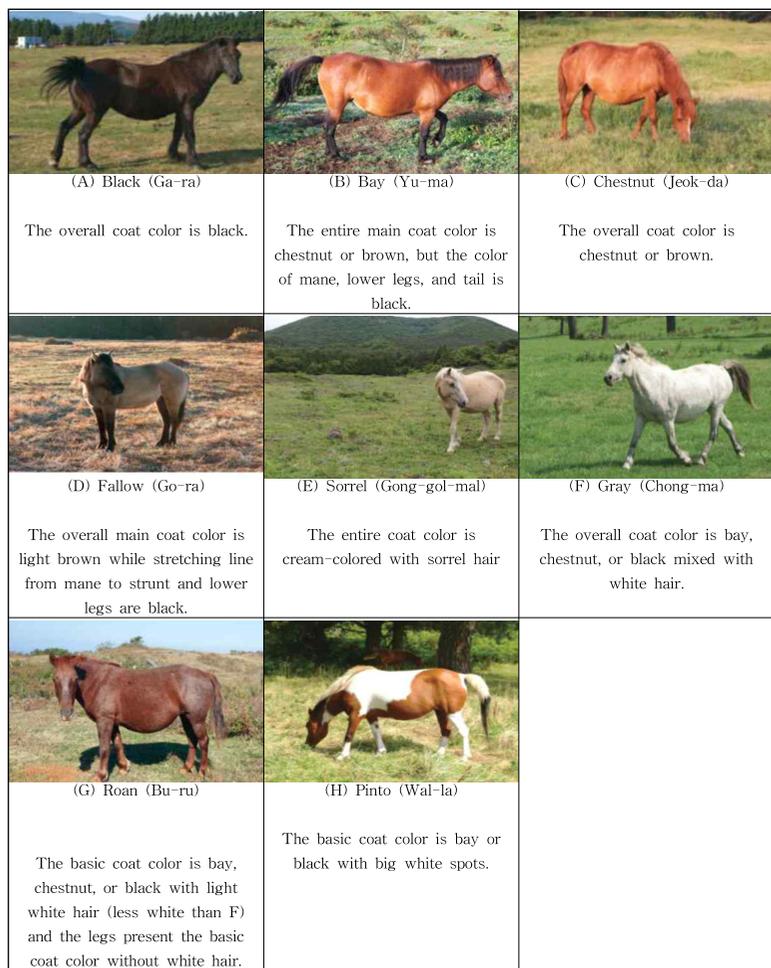


그림. 4. 제주마의 12가지 모색

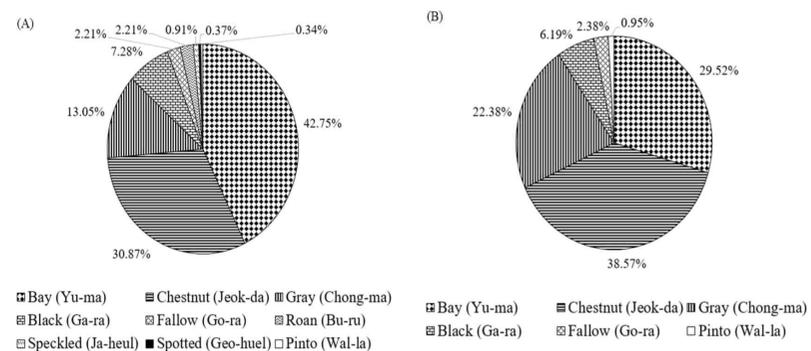


그림. 5. 제주마 모색 분포

(A) and (B) were referred to as Lee (1971) and Kang 등. (1988), respectively

2.3 신체측정과 성장

1961년 처음으로 제주마의 신체적 특징을 찾기 위해서 신체 부위를 30개로 나누어 조사하는 연구가 보고되었다 (Lee, 1961). 그 이후 1986년 제주마가 천연 기념물로 지정되면서 제주마의 혈통정립 및 등록에 따른 혈통 등급판정을 위해 12개의 신체 부위 체고(withers height), 체장(body length), 배고(back height), 고고(rump height), 흉위(chest girth), 흉심(chest depth), 흉폭(chest width), 두장(head length), 요폭(back width), 고폍(rump width), 고장 (rump length) 그리고 전관위(shank circumference) 가 측정되었고 각 지역, 성별, 나이 및 등급 별로 나누어 통계 분석되었다 (Jung 등 1991; Yang 등 1991; Yang, 1997). 또한 제주마의 표준 발육능력을 Gompertz 성장곡선을 이용하여 추정한 결과 제주마의 성장은 만 2-3세에 집중적으로 나타났으며 만 5세에 성장이 완성되는 것으로 보고되었다 (Yang, 2002). 또한 최근에는 제주마 체중에 관여하는 상가적 유전효과가 영구 환경효과에 비해 다소 큰 개체변이성을 보여 가시적인 유전적 개량에 대한 긍정적인 가능성을 보여준 연구도 보고되었다 (Yang, 2014).

2.4 경주능력

제주마는 1990년대부터 한국마사회 제주경마공원에서 경마가 시작되면서 현재에는 제주마의 경주 능력에 관한 연구에 관심이 집중되고 있는 시점이다. 제주 경마장의 제주마 25두에 대한 269개의 경마기록을 분석한 결과 800m 경주거리에서 개체 별 경주속도에 대한 가장 빠른 최소자승평균은 68.75 ± 0.73 초에서부터 가장 느린 77.20 ± 1.84 초의 범위로 추정되었고, 동일개체에 대하여 반복적으로 기록되는 경주능력 형질의 반복력은 0.52로 나타났다 (Yang, 2004). 이 후 2003 ~ 2011년까지 제주 경마 공원에서 시행된 10,870 개의 경주기록을 이용하여 유전 모수를 추정 한 결과 경주능력에 대한 유전력(h^2) 은 800m, 900m, 1000m, 1110m의 경주거리에서 각각 0.36, 0.60, 0.68, 0.77 으로 나타났으며 반복력은 각각 0.61, 0.78, 0.84, 0.90 으로 장거리 경주로 갈수록 높은 수치를 나타내는 경향에 대해 보고하였다 (Yang, 2012). 그리고 제주마 800m 경주 기록에 대한 출발주로의 환경효과(fixed effect) 는 유의성이 관측되지 않았으며 (Yang, 2005a), 주로상태가 다습(-0.49초) 하고 계절이 봄(-0.40초) 인 경우 경주속도에 가장 유리하게 영향을 미치는 것으로 나타났다 (Yang, 2005b). 또한 경주 능력에 있어 부담중량, 출주마의 체중과 체중변화량에 대한 회귀항은 고도로 유의하게 나타났으며 ($P < 0.01$), 연속되는 경주에서 출주마의 휴지기 체중변화량(전번 출주부터 금번 출주시기 사이의 체중변화량) 은 체중이 증가하거나 감소함 모두 경주 능력에 불리하게 작용한다고 보고되었다 (Yang and Lee, 2009). 또한 혈통 정보량과 오류량 등이 제주마 경주 능력의 유전 모수 추정에 미치는 영향을 분석하여 양부모에 대한 유전 정보의 유실량과 오류량이 1% 증가함에 따라 각각 0.92%, 1.39%씩 낮아지는 관계에 대해서 보고되었다 (Kim 등 2014).

2.5 행동

현재까지 제주마의 행동에 관한 연구는 통계학적 분석을 기반으로 이루어진 조사가 대부분이다. 제주마는 낮 시간 동안의 반 방목(semi-natural herd) 상태에서 조사한 결과 대부분 풀(83.7 ± 29.7%) 을 뜯어 먹으며 생활하고 있으며, 이러한 행동은 계절이 변함에 따라 늦겨울 및 초봄에 충분한 먹이가 없을 때 약간 감소하는 경향을 보였다 (Rho and Choe, 2002). 또한 제주마의 사회 계급(dominance rank) 에 대한 연구를 통해 암말들이 새끼들을 괴롭히는 행동을 취할 때 계급이 높은 암말의 새끼보다 계급이 낮은 암말의 새끼를 괴롭히는 행동 양상의 빈도가 더 잦은 것으로 나타났으며 이는 결과적으로 망아지 시기의 초기 사회 경험이 어미 말의 계급 순위와 연관성이 있음을 보고하였다 (Rho and Choe, 2003). 더하여 암말의 공격적인 행동은 분만이 가까워질수록 크게 증가하는 것으로 나타났다. 어미 말은 새끼와 동행 할 경우 새끼들의 나이가 많을수록 보호하려는 공격적인 행동의 빈도는 적게 나타났으며, 어미 말의 나이가 많을수록 더욱더 그 양상의 빈도는 줄어드는 것으로 보고되었다 (Rho 등 2004). 암말들은 새끼들의 놀이싸움(play-fighting) 에 개입(intervention) 하는데 이를 통하여 자신의 우월(dominance) 계급을 직접적으로 전가시킴으로써 간접적으로는 자기 새끼가 더 높은 계급을 달성하도록 돕는 역할도 하는 것으로 알려졌다 (Rho 등 2005). 제주마의 그루밍(grooming) 에 관한 연구에서는 수망아지는 어미 말보다 일년생 암말과 그루밍 행동을 더 자주 교환하며, 반대로 암 망아지는 어미 말과 더 자주 그루밍 행동을 교환한다고 보고되었으며 이러한 행동들은 초기의 사회적 경험이 어미와 분리된 이후에 새끼가 하렘(harem) 을 형성하기 시작할 때 사회적 유대감에 영향을 미칠 수 있다고 시사하였다 (Rho 등 2007). 말의 괴롭히는 행동(harassment) 에 관한 연구에서는 이른 나이에 번식한 암말은 나중에 나이가 들어 번식한 암말에 비해 더 높은 생산성을 가지는 경향이 있지만 말의 사회 계급 구조(dominance hierarchy) 로 인하여 어린 암말에 의해 태어나서 보호받아야 하는 새끼들이 나이가 많은 암말의 새끼보다 더 자주 괴롭힘을 당하기 때문에 초기 번식에 대한 선택의 이점을 상쇄시킬 수 있음을 시사하였다 (Rho 등 2009). 제주마와 제주마 교잡종의 보행을 비교 조사한 결과 일부 외국 품종에서

자연적으로 발생하는 특유의 보행이 제주마 품종에서는 198마리 중 16마리 (8.1%) 들만 출현하였는데, 교잡종 349마리에서는 전혀 출현되지 않았다 (Yang 등 2016).

2.6 유효집단 크기

제주마 품종의 보존을 위해서는 유효 집단 크기를 추정하는 연구가 매우 중요하다. Kim 등 (2015) 에 따르면 제주마 2,486두의 기초, 혈통, 고등등록 자료 등의 지표를 이용하여 전통육종 분석방법으로 유효 집단 크기를 추정된 결과 첫째 세대(1,149두) 집단에서 32두로 유효집단의 크기가 추정되었으나 집단 유지에 필요한 최소 두수인 50두보다 적은 두수이기 때문에 제주마의 보존을 위한 체계적인 관리의 필요성을 제시하였다. 또한 분자유전학적 분석방법을 이용한 연구결과에서는 제주마 240두를 대상으로 Equine 70K BeadChip(Illumina, San Diego, CA, USA) 을 이용하여 SNP 간 상관계수의 제곱(square of correlation coefficient, r^2) 을 기반으로 분석한 결과 유효 집단 크기는 1 ~ 5세대 전에 41마리로 추정되었다 (Do 등 2014).

3. 고찰

현재까지 보고된 120편의 제주마 논문은 현상에 대한 관찰을 기반 한 또는 전통적인 축산학적 통계적 분석기법을 기반으로 한 연구가 다수 차지하고 있다. 또한 제주마 논문의 67%를 차지하고 있는 유전 육종 분야에 속한 연구논문의 대부분이 2000년대에 초반에 발표된 논문이 대다수이며 최근 2010년도 이후 제주마 품종에 대한 연구 발표된 논문은 손에 꼽을 정도로 적게 발표되고 있는 있었다. 따라서 각 분야에 적합한 최신 과학 기술 및 분석방법 등을 이용하여 제주마 보존 및 개량 연구에 힘 써야 할 것이다.

앞에서 언급했듯이 제주마의 mtDNA 염기서열 내의 변이들을 이용하여 타 품종과 근연관계를 추정한 결과 몽고마가 유력한 모계 조상으로 나타났으나 또 다른 연구에서 제주마를 포함한 68개의 말 품종의 complete mtDNA 염기서열을 통해 근연관계를 분석한 결과 총 6개의 군집 중 4개의 군집에 제주마가 포함되어 있었으므로 제주마의 모계 조상이 몽고마만 존재하는 것이 아니라는 주장이 제시되었다. 말은 2009년 Horse Genome Project가 완료되면서 mtDNA 수준에서의 분석뿐만 아니라 전장유전체 수준의 연구가 가능하게 되었고 (Wade 등 2009), 이로 인해 말의 전장 유전체 서열정보 내의 모든 단일염기 변이(SNP) 들을 이용하여 말의 유전적 근연관계에 대한 연구가 이루어지고 있는 시점이다 (McCue 등, 2012; Petersen 등, 2013). 따라서 우리나라의 고유 유전 자원인 제주마 품종에서도 최신 전장유전체분석 기법을 활용하여 다양한 품종과의 근연관계에 대한 분석을 통해 제주마의 기원을 정확히 밝히는 연구가 꼭 필요할 것으로 사료된다. 또한 과거와 비교하여 제주마 품종의 모색의 다양성은 점점 줄어들고 있는 시점이며, 제주마 모색의 다양성을 보존 및 유지하기 위해서 자손을 생산할 시 종마를 이용한 선택적 교배가 이루어지더라도 모계마의 외형적 모색과 모색 관련 유전자 등을 고려하여 번식 계획에 이용되어야 할 것으로 사료된다. 그리고 최근 제주마의 용도가 경주마 또는 승용마로 점진적으로 정착되고 있지만 현재 제주마의 왜소한 체형을 탈피하기에는 많이 부족한 상황이므로 경주 및 승용마로 역할을 할 수 있는 충분한 큰 체형의 제주마의 생산을 지향하고 있는 시점

이다. 그러므로 경주 및 승용마로써 가치 상승을 위한 제주마의 성장 및 체형관련 연구 역시 향후 병행되어야 할 것으로 사료된다.

제주마는 경마로 활용되기 시작하면서 제주마의 경주능력에 관한 연구 또한 자연스럽게 진행되었다. 위에서 언급한 것처럼 2012년 연구결과에 따르면 주파시간에 대한 유전력과 반복력은 장거리 경주로 갈수록 높은 수치를 나타내고 있어 경주 빈도가 잦은 1000m 경주기록 표현형을 이용하여 연구하는 것이 더 정확한 방법으로 사료된다. 하지만 2012년 유전력 추정에 대한 연구가 보고되기 전에는 모두 800m 경주기록을 이용한 연구만 있을 뿐 1000m 경주기록에 대한 연구는 전혀 찾아볼 수 없다. 이러한 문제가 발생한 이유는 제주마의 경주능력에 관한 연구 초기, 2004년 800m 경주기록의 반복력이 추정된 이후로 동일한 경주기록을 이용한 연구들이 지속적으로 수행되었고, 8년이 지난 시점에서야 그 간 축적된 혈통 및 경주기록들의 정보를 활용하여 유전력이 추정되었기 때문이다. 단거리 경주의 기록일수록 유전력이 낮게 추정되는데 이는 곧 유전 능력보다 주변 환경의 영향이 더 크게 미친다고 볼 수 있어 제주마 경주 능력 개량에는 다소 부족하다. 따라서 유전 획득량의 변이가 크고 경주성적의 빈도가 높은 1000m 경주기록을 이용하여 추후 제주마의 경주능력평가에 대한 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다. 현재 제주마는 혈통관리 외에도 보존 및 개량을 위한 좀 더 체계적인 관리시스템이 필요한데 특히나 제주마의 행동학적 연구는 지극히 미흡한 수준이다. 향후 제주마 계급사회의 행동학적 영향으로 인한 생산성 감소를 해결하기 위해 제주마의 행동학적 연구가 절실히 필요하다. 보고된 제주마의 유효 집단 크기는 샘플의 표본크기 및 분석방법 등을 고려하고 주의해서 해석해야 하며 제주마 보존을 위해서는 추후 지속적인 추가 샘플 수집과 분석을 통해 계속적으로 유효 집단 크기를 추정해 나가야 한다.

추가적으로 현재까지 보고된 125편의 제주마 논문을 살펴본 결과 제주마의 영어 용어 표기법은 5가지 용어(Cheju horse, Cheju pony, Jeju horse, Jeju pony, Korean native horse)가 혼용되었다. 전체 논문 중 “Cheju horse”와 “Jeju horse” 용어가 각각 40.0%(50편) 와 38.4%(48편) 로 많은 비율로 이용되었고, “Cheju pony”와 “Jeju pony”가 8.8%(11편) 와 11.2%(14편) 를 차지하고 있었으며, 적지만 “Korean native horse”로 보고된 논문도 1.6%(2편) 확인되었다. 2014

년 8월 이후 보고된 16편의 논문에서 "Jeju horse"가 87.5%(14편) 으로 다수의 비율을 차지했으며 "Jeju pony"가 12.5%(2편) 으로 확인되었다 (표 2). 1990년대 부터 유전체 연구 기술이 발달하면서 DNA를 이용한 제주마 연구 또한 증가하게 되었는데, 초기 논문에는 대부분 "Cheju horse" 또는 "Cheju pony"로 명명되었다. 하지만 2000년대부터 "Jeju horse" 또는 "Jeju pony"가 점차 사용되었고, 2005년도 이후부터는 "Cheju horse" 및 "Cheju pony"로 명명한 논문은 단 한편도 확인되지 않았다 (표 1). 최근 "Jeju horse"의 표기가 증가하였으나, 'pony'는 147cm이하의 작은 말(조랑말) 을 정의하는 기관이 많기 때문에 pony에 속하는 것으로 평가 된다. 따라서 혼동을 막기 위해서는 제주마를 "Jeju pony" 명명으로 통일하여 용어의 혼용으로 인한 혼란을 방지해야 할 것이다.

표 2. 제주마 영어 표기법 비율

Term	No. of studies	Proportion	No. of studies (before registration)	Proportion	No. of studies (after registration)	Proportion
Cheju Horse	50	40.0%	50	45.9%	0	0.0%
Cheju Pony	11	8.8%	10	9.2%	0	0.0%
Jeju Horse	48	38.4%			14	87.5%
Jeju Pony	14	11.2%			2	12.5%
Korean Native Horse	2	1.6%			0	0.0%
Total	125	100.0%			16	100%

*Term "Jeju Horse" was registered in Wikipedia on Aug 2014.

IV. 제주마의 Myostatin 유전자내의 단일염기다형성에 관한 연구

Investigation of Single Nucleotide Polymorphism(SNP) in Myostatin(MSTN) Gene on Jeju Pony

1. 재료 및 방법

1.1 공시재료

본 연구에서 사용된 공시재료는 제주특별자치도 축산진흥원에서 천연기념물 제주마 10두의 모근을 제공받아 genomic DNA 들을 분리하였으며, DNA 추출은 DNeasy kit(QIAGEN, CO Ltd, USA) 이용하였다. 제주마 한 개체 당 20~30 가닥의 모근을 200 μ l 용량의 tube 에 들어가도록 절단하여 넣은 후 5% chelex(BIO-LAD, USA) 100 μ l 와 1mg>ml proteinase K(SIGMA, USA) 1 μ l를 첨가하여 55 $^{\circ}$ C incubator 에서 overnight 시켰다. 그 후 상온에서 30분간 보관 후 3000 rpm 에 5분간 원심분리기를 작동하였다. AL buffer 200 μ l 첨가하여 vortexing 한 다음 100% ethonal 을 200 μ l 첨가하여 5분 동안 실온에서 보관하여 13,000 RPM 에서 3분간 원심 분리하였다. 상층액을 Elute column 에 옮겨 담은 후 13,000 RPM에서 1분간 원심 분리 하였다. 그 후 AW1 buffer 500 μ l 첨가하여 13,000 RPM에서 1분간 원심 분리 하였고 AW2 buffer 500 μ l를 이용하여 13,000 RPM에서 1분간 원심 분리하였다. 상온에서 5분간 Dry 하여 AE buffer

100 μ l 을 첨가 후 5분간 상온에서 정지시킨 후 13,000 RPM에서 1분간 원심 분리하여 genomic DNA를 추출하였다.

DNA 정량 분석은 spectrophotometer(Pharmacia Biotech, England) 를 이용하여 250nm~280nm에서 흡광도를 측정하여 DNA의 농도와 순도를 확인하였다.

1.2 MSTN 유전자 변이 탐색을 위한 PCR 및 염기서열 분석

본 실험을 위하여 제작된 프라이머는 모두 NCBI GenBank accession number NC_009161(6,335bp) 를 참조하여 총 Oligo 6(Molecular Biology Insights, Cascade, CO, USA) 프로그램을 이용하여 9쌍의 primer 들을 제작하였다 (표 3).

표 3. MSTN 유전자의 중복 및 시퀀싱 프라이머 디자인

Primer name	Primer		Annealing TM	Product size (bp)
	Forward (5'→3')	Reverse (3'→5')		
MSTN_1	AAGAGCAAGGAAAAAGATTGA	GCTTAATACCACCAAGGC	56	718
MSTN_2	TGTTGGCTTGTATGTAAG	ATACAATTTTATTCTTCTTGG	56	721
MSTN_3	GCTAATTATCATAAAAATGCCT	TCTTAATCCCGAGGC	56	700
MSTN_4	CCTGGAGTAGATTTACCTTAT	ATGCAAGTGGAAAGGAAAAC	53	755
MSTN_5	ACTAATATGGGAAAGGTTTACT	CCCTGAGGAGTTAAGGACTAT	59	703
MSTN_6	TATCCAATGAAACACCCTCT	TGTCAATAGGTGGAAATAAAA	59	721
MSTN_7	GCCAAGCAGATGACAATACCT	TGTTGGTCTGTATAATGGGTT	59	738
MSTN_8	CATATTTCTCCAATTTTCCA	CCCGAAACACTTTCCT	53	711
MSTN_9	AGCCATAGGAAAAGTCAA	AAATGTAATCTCAGAGCACC	59	568
Total				6,335

제주마 총 10두의 DNA 샘플을 주형으로 이용하였으며, DNA 증폭을 위해 PTC-200 thermocycler(MJ Research, Watertown MA, USA) PCR 기계와 DNA 중합효소는 h-Taq polymerase(Solgent, Korea) 를 사용하였다 (표 4). PCR 반응 조건은 template DNA 50ng, primer 0.01uM, dNTP 5mM, 10XPCR buffer 2.5ul, 그리고 h-Taq DNA polymerase를 0.625 units를 넣어 최종 반응액 30ul을 이용하였다 (표 4). 반응조건은 최초 94°C에서 15분간 예비가열 후 94°C에서 30초 동안 변성시켰다. 각 Primer에 대응하는 annealing 온도(표 3) 에서 30초 그리고 72°C에서 40초 합성(extension) 을 시켜, 총 40 사이클 반복증폭 하였다. 72°C에서 7분 동안 마지막 합성단계(final extension) 를 수행하고 DNA 증폭을 중단하였다 (표 5). 증폭한 산물들은 5ul를 취하여 모두 2% agarose gel과 100mv 전압에서 20분간 전기영동을 통해 확인하였다.

표 4. PCR reaction buffer 조건

Component	20uL reaction
DNA Template	1.5
Forward primer (10 pmole>uL)	2 uL
Reverse primer (10 pmole>uL)	2 uL
10X Reaction Buffer	2 uL
10 mM dNTP(2.5 mM each)	2 uL
HotStart Raq Dna polymerase (5units>uL)	0.2 unit
PCR grade water	Variable

증폭산물은 GeneClean turbo kit(MP Biomedicals, USA) 를 이용하여 정제하였으며, Applied Biosystems 3730 DNA sequencer(PE Applied Biosystems, USA) 를 이용하여 염기서열분석을 수행하였다. 얻어진 염기서열들은 Sequencher ver 4.7(Gene codes, version 4.7, Ann RBOR, MI) 을 사용하여 제주마 품종에서 나타나는 단일염기변이를 조사하였다.

표 5. MSTN 염기서열의 증폭에 대한 PCR 반응 정보 목록

	Initial Denaturation	94°C	15 min
	Denaturation	94°C	30 secs
40 Cycle	Annealing	(see 표3) °C	30secs
	Extension	72°C	40secs
	Final Extension	72°C	7min
		8°C	∞

1.3 통계분석: MTSN 유전자내의 SNPs의 연관불균형 분석

제주마 MSTN 유전자 6,335bp에서 발굴된 총 단일염기변이들 간의 연관불균형(Linkage disequilibrium) 정도를 추정하기 위해 HaploView software package (Barrett 등, 2005) 를 이용하여 분석을 수행하였으며 Stephens 등, (2001) 의 method를 적용하여 단일염기변이간의 D' 과 r^2 값을 추정하였다.

$$\textcircled{1} D' : D \text{ prime}$$

$$A_1B_1 = p_1 \times q_1; A_1B_2 = p_1 \times q_2; A_2B_1 = p_2 \times q_1; A_2B_2 = p_2 \times q_2$$

A, B: 각각의 유전자이며, p_1, q_1, p_2, q_2 : 각각의 대립 유전자 D 값을 구하는 공식은 다음과 같다.

$$D = P_{11}P_{22} - P_{12}P_{21}$$

만약 두 마커가 완벽한 연관된 형태라면 D 값은 0을 취한다. 하지만 연관된 정도는 그 외의 값을 취하며 일반적으로 D 보다 더 많이 사용하는 측정치에는 D' 이 있는데 그 식은 아래와 같다.

$$D' = D/D_{\max}$$

$$D_{\max} = \text{Min}(p^1q^2, p^2q^1), \text{ if } D > 0$$

$$\text{Max}(-p^1q^2, p^2q^1), \text{ if } D < 0$$

D_{\max} : D 의 최댓값을 나타낸다.

② r^2 : r -square

마커간의 연관성 및 독립성 검증으로 측정할 수 있는 다른 방법은 r^2 (상관관계)를 이용한 방법이 있는데 두 마커간의 통계적인 상관성(correlation)이 얼마나 있느냐를 나타내는 척도로서 다음과 같이 구할 수 있다.

$$r^2 = \frac{D^2}{p_1p_1q_1q_1}$$

p_1q_2, p_2q_1 : 각각의 대립유전자를 의미한다.

③ 하디-와인버그 평형(HWE, Hardy-Weinberg Equilibrium) 검증

$$MM = p^2 \times N; MN = 2Pq \times N; NN = q^2 \times N$$

$$X^2 = \sum (\text{관측값} - \text{기대값})^2 / \text{기대값}$$

MM, MN, NN: 각각에 해당하는 유전자형이며 실제로 관측된 값과 하디와인버그 평형상태에 있을 때의 기대값과의 차이는 X^2 검증방법을 이용하여 평가하였다.

④ 이형접합성(Heterozygosity) 검증

Heterozygosity는 특정 좌위에 대해 무작위 적으로 선정된 사람의 유전자형이 이형접합(heterozygous)일 확률로 하디와인버그 평형상태를 가정했을 때 heterozygosity, H는 다음과 같이 구할 수 있다.

$$H = 1 - p^2 - q^2 = 2p(1 - p)$$

위 식은 SNP와 같은 bi-allele 마커의 경우 변환된 식으로 SNP 마커의 유전자형 빈도를 각각 $p, q (q = 1 - p)$ 라고 한다. 일반적으로 heterozygosity가 높은 마커일수록 정보력이 높은(informative) 마커라고 할 수 있다.

2. 결과

1. 제주마의 MSTN 유전자내의 SNPs 발굴

제주마의 MSTN 유전자는 18번 염색체에 위치하고 있으며 염기서열 상으로 볼 때 MSTN 은 3개의 exon과 2개의 intron으로 이루어졌다. 본 연구에서는 제주마의 MSTN 유전자 내의 염기서열에서 단일염기변이를 탐색하였다. 9개의 Primer 쌍을 이용하여 full-length 염기서열 분석을 수행하였다 (표 6). 표 6에서 보는 바와 같이 제주마 샘플에서 총 19개의 단일염기변이가 발견되었다.

표 6. Primer 별 발굴 된 MSTN 유전자의 SNP

Primer name	Site of SNPs in this study
MSTN_1	0
MSTN_2	2 : 814(C>T), 963(T>G)
MSTN_3	4 : 1406(T>G), 1444(A>G), 1599(A>C), 1656(A>C)
MSTN_4	3 : 1686(A>G), 1995(A>G), 2205(G>A)*
MSTN_5	1 : 2634(T>C)
MSTN_6	1 : 3014(T>C)
MSTN_7	5 : 3549(A>G), 3569(T>C), 3666(A>T), 3753(T>C), 3926(T>C)
MSTN_8	3 : 4344(A>C), 4349(G>A), 4887(A>G)*
MSTN_9	0
Total	19 SNPs

* SNP located in exon

* New SNPs in Jeju horse

본 실험에서 수행한 제주마 MSTN 유전자 염기서열 결과를 기존에 보고된 염기서열 정보사이트(www.asia.ensembl.org) 와 (www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/) 에서 비교하였을 때 12개(g.814_C>T, g.963_T>G, g.1406_T>G, g.1444_A>G, g.1599_A>C, g.1656_A>C, g.3014_T>C, g.4349_G>A, g.3569_T>C, g.3666_A>T, g.3753_T>C, g.3926_T>C) 의 SNP는 이미 보고된 SNP인 것을 확인하였고, 나머지 7 개의 SNP(g.1686_A>G,

g.1995_A>G, g.2205_G>A, g.2634_T>C, g.3549_A>G, g.4344_A>C, g.4887_A>G) 은 제주마에서 새로이 발굴된 SNP 인 것으로 확인되었다 (표 6). 또한 제주마에 신규 발굴된 7개의 SNP 들 중 2개의 SNP(g.2205_G>A, g.4887_A>G) 는 각각 exon2 번과 3번에 위치하였는데 말의 MSTN 유전자의 ORF(open reading frame) 을 검색한 결과 synonymous SNPs로 확인되었다 (그림 6), (표 7).

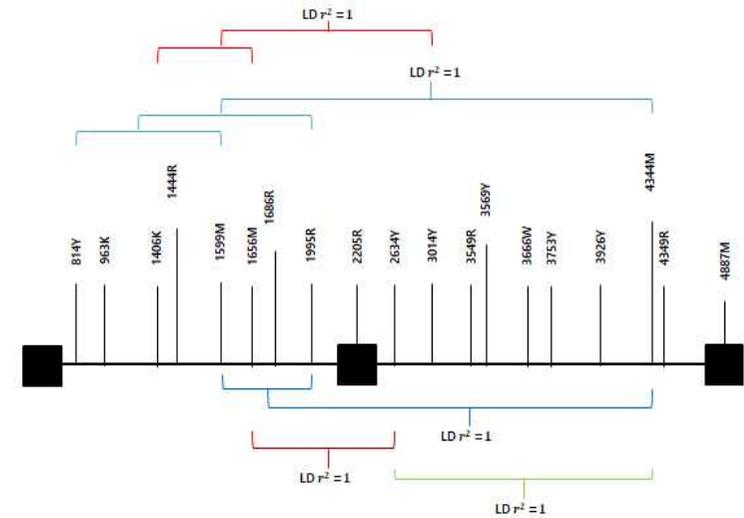


그림 6. MSTN 유전자의 exon 영역(black box) 과 complete LD 분석.

표 7. 제주마 MSTN 유전자내의 SNP 와 dbSNP 간의 비교

ID	JH*	Location*	JH allele	rs number	Location	dbSNP allele	Class	
1	g.4887_A>G	New	66,605,237	A>C		A	exon*	
2	-	66,605,255	T	rs1135959227	66,605,255	T>G	exon*	
3	-	66,605,717	A	rs1095048846	66,605,717	A>G	intron	
4	g.4349_G>A	rs1150222879	66,605,775	G>A	rs1150222879	66,605,775	G>A	intron
5	g.4344_A>C	New	66,605,780	A>C		A		
6	g.3926_T>C	rs1142612851	66,606,197	T>C	rs1142612851	66,606,197	T>C	intron
7	-	66,606,305	A	rs1143394265	66,606,305	A>T	intron	
8	g.3753_T>C	rs1148179004	66,606,370	T>C	rs1148179004	66,606,370	T>C	intron
9	g.3666_A>T	rs1095048847	66,606,457	A>T	rs1095048847	66,606,457	A>T	intron
10	g.3569_T>C	rs1095048848	66,606,554	T>C	rs1095048848	66,606,554	T>C	intron
11	-	66,606,564	T	rs1095048849	66,606,564	T>A	intron	
12	g.3549_A>G	New	66,606,574	A>G		A		
13	g.3014_T>C	rs1142616615	66,607,109	T>C	rs1142616615	66,607,109	T>C	intron
14	g.2634_T>C	New	66,607,489	G>A		T		
15	-	66,607,800	C	rs1143713967	66,607,800	C>A	exon**	
16	g.2205_G>A	New	66,607,918	A>G		A	exon**	
17	-	66,608,064	A	rs1140833678	66,608,064	A>G	intron	
18	g.1995_A>G	New	66,608,128	A>G		A		
19	g.1686_A>G	New	66,608,437	A>C		C		
20	-	66,608,461	C	rs1095048829	66,608,461	C>T	intron	
21	g.1656_A>C	rs1095048830	66,608,467	A>C	rs1095048830	66,608,467	A>C	intron
22	g.1599_A>C	rs1095048831	66,608,524	A>C	rs1095048831	66,608,524	A>C	intron
23	g.1444_A>G ⁺	rs397152648	66,608,679	A>G	rs397152648	66,608,679	A>G	intron
24	-	66,608,687	T	rs1095048832	66,608,687	T>C	intron	
25	g.1406_T>G	rs1095048833	66,608,717	T>C	rs1095048833	66,608,717	T>C	intron
26	-	66,608,770	G	rs1095048850	66,608,770	G>A	intron	
27	g.963_T>G	rs1095048834	66,609,160	T>G	rs1095048834	66,609,160	T>G	intron
28	-	66,609,244	T	rs69472472	66,609,244	T>C	intron	
29	g.814_C>T	rs69472471	66,609,309	C>T	rs69472471	66,609,309	C>T	intron
30	-	66,609,489	T	rs1148225342	66,609,489	T>C	intron	
31	-	66,609,496	T	rs69472470	66,609,496	T>C	intron	
32	-	66,609,622	C	rs69472469	66,609,622	T>C	intron	

*: synonymous SNP

** : missense

⁺: EquCab3.0: g.66608679 C>T (EquCab2.0: g.66493737 C>T)

2. 제주마의 MSTN 유전자내 SNPs 에 대한 유전자형 빈도

본 연구에서 발굴된 제주마의 MSTN 유전자내의 총 19개의 단일염기변이의 유전자형 빈도는 표 8에 요약하였다.

표 8. 제주마 MSTN 유전자의 19개 SNPs 유전자형 빈도

Genotype allele frequency (n=10)				
g.814_C>T(Y)	g.963_T>G(K)	g.1406_T>G(K)	g.1444_A>G ⁺	g.1599_A>C(M)
C: 0.95	T: 0.85	T: 0.88	A: 0.88	A: 0.95
T: 0.05	G: 0.15	G: 0.12	G: 0.12	C: 0.05
g.1656_A>C(M)	g.1686_A>G(R)	g.1995_A>G(R)	g.2205_G>A(R)*	g.2634_T>C(Y)
A: 0.90	A: 0.89	A: 0.94	G: 0.89	T: 0.60
C: 0.10	G: 0.11	G: 0.06	A: 0.11	C: 0.40
g.3014_T>C(Y)	g.3549_A>G(R)	g.3569_T>C(Y)	g.3666_A>T(W)	g.3753_T>C(Y)
T: 0.89	A: 0.89	T: 0.89	A: 0.61	T: 0.94
C: 0.11	G: 0.11	C: 0.11	T: 0.39	C: 0.06
g.3926_T>C(Y)	g.4344_A>C(M)	g.4349_G>A(R)	g.4887_A>C(M)*	
T: 0.83	A: 0.95	G: 0.95	A: 0.55	
C: 0.17	C: 0.05	A: 0.05	C: 0.45	

*: synonymous SNP

⁺: EquCab3.0: g.66608679 C>T (EquCab2.0: g.66493737 C>T)

대립유전자의 빈도가 가장 낮은 단일염기변이 g.814_C>T, g.1599_A>C, g.4344_A>C 그리고 g.4349_G>A 4개는 하나의 대립유전자의 빈도가 0.05 로 매우 낮게 나타났다. 또한 가장 다형성이 풍부한 단일염기변이는 exon 3번에 위치한 g.4887_A>C(M) 변이로 나타났지만 아미노산에 영향을 주는 낮은 synonymous SNP 로 확인되었다. 다음으로 다형성이 높은 단일염기변이는 g.2634_T>C 로 T 대립유전자의 빈도는 0.60, C 대립유전자의 빈도는 0.40 으로 나타났으며 또한 g.3666_A>T 단일염기변이는 A 대립유전자의 빈도는 0.61, T 대립유전자의 빈도는 0.39 로 나타났다. 또한 다수의 논문에서 말의 경주능력에 상관관계가 있다고 연구된 g.1444_A>G(EquCab3.0: g.66608679 G>A) 단일염기

변이는 제주마 집단에서 A 대립유전자의 빈도는 0.88 로 나타났으며 G 대립유전자의 빈도는 0.12 로 관찰되었다.

3. 제주마의 MSTN 유전자내의 SNPs 간의 연관불균형 분석

제주마 MSTN 유전자(6,335bp) 의 염기서열 분석결과 19개의 SNP 들의 연관불균형 정도 및 구조를 분석하기 위하여 첫 번째로 Marker 의 다양성 및 집단의 구조안정성을 위한 평가를 수행하였다 (표 9).

총 19개 SNP는 하디-와인버그 평형(HWE, Hardy-Weinberg Equilibrium) 인 p-value <0.001 을 모두 인정되었으며 각 마커의 기대 이형접합성(expected heterozygosity), 관측 이형접합성(observed heterozygosity) 추정치를 산출하였다. 총 19개의 SNPs 중 g.2634_T>C 단일염기변이가 0.400으로 관측 이형접합성이 가장 높게 관찰 되었으며, MAF(Minor Allele Frequency) 가 가장 높은 단일염기변이는 g.4887_A>C 로 0.450의 다양성을 가지는 것으로 나타났다.

표 9. 제주마의 19개 SNP markers 정보

Marker no.	SNP name	Obs_HET	Exp_HET	HWE p-value	MAF	Success rate, (%)
Marker1	g.814_C>T	0.100	0.095	1.000	0.050	100.0
Marker2	g.963_T>G	0.100	0.255	0.316	0.150	100.0
Marker3	g.1406_T>G	0.000	0.219	0.133	0.125	80.0
Marker4	g.1444_A>G	0.250	0.219	1.000	0.125	80.0
Marker5	g.1599_A>C	0.100	0.095	1.000	0.050	100.0
Marker6	g.1656_A>C	0.000	0.180	0.105	0.100	100.0
Marker7	g.1686_A>G	0.222	0.198	1.000	0.111	90.0
Marker8	g.1995_A>G	0.111	0.105	1.000	0.056	90.0
Marker9	g.2205_G>A	0.000	0.198	0.118	0.111	90.0
Marker10	g.2634_T>C	0.400	0.480	0.964	0.400	100.0
Marker11	g.3014_T>C	0.000	0.198	0.118	0.111	90.0
Marker12	g.3549_A>G	0.222	0.198	1.000	0.111	90.0
Marker13	g.3569_T>C	0.222	0.198	1.000	0.111	90.0
Marker14	g.3666_A>T	0.333	0.475	0.697	0.389	90.0
Marker15	g.3753_T>C	0.111	0.105	1.000	0.056	90.0
Marker16	g.3926_T>C	0.333	0.278	1.000	0.167	90.0
Marker17	g.4344_A>C	0.100	0.095	1.000	0.050	100.0
Marker18	g.4349_G>A	0.100	0.095	1.000	0.050	100.0
Marker19	g.4887_A>C	0.300	0.495	0.430	0.450	100.0

- 1) Obs_HET is the marker's observed heterozygosity.
- 2) Exp_HET is the marker's predicted heterozygosity. (i.e. $2 * MAF * (1 - MAF)$).
- 3) HWE P-value is the Hardy-Weinberg equilibrium p value, Panel which is the probability that its deviation from H-Panel equilibrium could be explained by chance
- 4) MAF is the minor allele frequency (using founders only) for this marker

두 번째로 첫 번째 과정에서 통과한 총 19개 모두에 대한 연관불균형 분석을 수행하였다. 그 결과 g.814_C>T(Marker1), g.1599_A>C(Marker5), g.1995_A>G(Marker8), g.4344_A>C(Marker17) 단일염기변이들은 complete LD 인 것으로 나타났다. g.1406_T>G(Marker3) 과 g.1656_A>G(Marker6), g.3014_T>C(Marker11), 그리고 g.1599_A>C(Marker5) 과 g.1995_A>G(Marker8), g.4344_A>C(Marker17), 또한 g.1656_A>G(Marker6) 과 g.3014_T>C(Marker11), g.2634_T>C(Marker10), g.3666_A>T(Marker14) 역시 complete LD 의 구조인 것으로 나타났다.

그리고 연관불균형의 정도가 0.45~0.65 인 단일염기마커들은

(Mongolian horse) 인 경우 높은 C 대립유전자의 빈도가 매우 0.05 로 매우 낮은 것으로 보고되었다 (Viluma 등, 2012). 따라서 기원에 따라 제주마 역시 몽고마와 따라 같이 분류 되는 것으로 사료된다.

제주마에서 새로이 발견된 7 개의 단일염기변이들(g.1686_A>G, g.1995_A>G, g.2205_G>A, g.2634_T>C, g.3549_A>G, g.4344_A>C, g.4887_A>G) 은 추후 제주마에서 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

제주마의 MSTN 유전자내의 총 19개의 단일염기변이에 대한 연관불균형의 정도는 완전한 complete LD($r^2 = 1$) 인 경우인 9개의 단일염기변이들이 나타났으며(g.1406_T>G, g.1599_A>C, g.1656_A>G, g.1995_A>G, g.2634_T>C, g.3014_T>C, g.3666_A>T, g.4344_A>C, g.814_C>T), 연관불균형의 정도가 $r^2 = 0.45 \sim 0.65$ 인 단일염기변이들은 10개로 나타났다(g.814_C>T, g.963_T>G, g.1444_A>G, g.1686_A>G, g.1995_A>G, g.3549_A>G, g.3569_T>G, g.3926_T>C, g.4344_A>C, g.4349_G>A). Dall'Olio 등 (2014) 의 연구보고에 의하면 말의 MSTN 유전자내의 반수체형들은 형태학상의(morphological) 형질에 영향을 주는 것으로 보고하고 있다. 따라서 제주마의 MSTN 유전자내의 반수체형(Haplotype) 들의 연구가 필요할 것으로 사료된다. 또한 독립적인 4개 (g.1444_A>G, g.2205_G>A, g.3753_T>C, g.4887_A>G) 의 단일염기변이 역시 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

앞으로 제주마 역시 경주를 위한 개량 및 우수마 생산을 위한 바이오 마커를 활용한 유전체 선발 연구가 매우 필요한 시점이다. 이상의 결과는 앞으로 수행되어질 제주마 MSTN 유전자 연구에 대한 유용한 기초연구자료로 제공되어질 것으로 사료된다.

V. 총론

제주마는 이전에는 이동, 농경 및 식용의 목적으로 사육 되었으나 농기계의 보급 및 운송수단 등의 발달로 2000년대에 들어서면서 한국고유의 유전자원으로 정부차원에서 체계적인 관리가 시작되어 현재까지 보존되고 있다. 하지만 현재 경마산업의 정책으로 인해 제주마의 활용 측면으로 한국마사회 제주경마공원에서 처음으로 제주마의 경마가 시작되었으며, 향후 제주마의 경마산업이 꾸준히 늘어나고 있는 시점이다. 따라서 제주마의 보존적인 측면에 관한 제주마의 연구동향을 파악하고 유전체선발과 같은 최신연구기법의 도입을 통해 개량 및 육성적인 측면의 연구가 필요한 시점이다.

지금까지의 제주마의 연구보고는 매우 미흡한 시점이다. 전체 국내의 저널에 발표된 총 125편의 제주마 연구보고 중 67% 정도는 계통분류, 모색, 신체 측정과 성장, 경주능력, 행동 그리고 유효 집단 크기 추정 등의 축산학 범주의 유전 육종 분야(84편)가 대부분이며 이 역시 관찰을 기반 한 연구 또는 전통적인 축산학적 통계적 분석기법을 기반으로 한 연구가 다수 차지하고 있다. 또한 유전 육종 분야에 속한 연구논문의 대부분이 2000년대에 초반에 발표된 논문이 대다수이며 최근 2010년도 이후 제주마 품종에 대한 연구 발표된 논문은 손에 꼽을 정도로 적게 발표되고 있는 있었다.

또한 제주마의 우수마 생산을 위한 개량적인 측면의 연구는 전장유전체 정보를 활용한 최신분석 기법을 이용한 논문은 매우 미흡하다. 국외에서는 이미 개발된 High-density SNP chip을 이용하여 말의 개체별 경제형질(강건성, 운동능력, 질병, 면역 등) 에 관련된 전장계놈 단계에서 탐색하는 기법인 GWAS(Genome-wide association study) 분석방법을 적용한 연구가 늘어나고 있으며 또한 NGS(Next Generation Sequencing) 기술의 개발로 인해 말 품종 및 개체 별 말의 유전체 염기서열 확보 및 기능유전체 분석을 통한 연구가 이루어지고 있다. 그 중 Petersen 등 (2013) 에 연구보고에 의하면 서러브레드, 파인트 그리고 쿼터 말 품종을 비롯한 33품종 744 개체에서 Illumina SNP50 Beadchip을 이용한 SNP genotyping 연구에서 각 품종 특이적인 골격근 근섬유 형식이 선택

적 교배에 의해 일어났으며, 이에 따라 경주 및 운동 능력이 품종에 따라 차이가 있음을 보고하였다. 따라서 제주마 역시 정확한 혈연관계 및 표현형 자료를 기반으로 최신 개발된 대용량 유전체 분석방법들을 활용하여 강력한 선택 신호를 나타내는 마커들과 더불어 원인 유전자를 발굴하여 활용한다면 우수 제주마 선발에 있어서 선별 마커로 활용 가능한 중요한 마커가 될 것이라 사료된다.

본 연구에서는 말의 근육형성, 경주능력 및 체형에 영향을 주는 것으로 많이 연구된 강력한 후보유전자인 MSTN 유전자를 제주마에서 기초 연구를 수행하였으며 총 19개의 단일염기변이를 제주마에서 발굴하였고 그 중 7개 (g.1686_A>G, g.1995_A>G, g.2205_G>A, g.2634_T>C, g.3549_A>G, g.4344_A>C, g.4887_A>G) 의 단일염기변이들은 제주마 집단에서 신규로 발굴된 변이들이다. 또한 MSTN 유전자내의 가장 중요한 변이라 밝혀진 g.66608679 C>T(g.1444_G>A) 단일염기변이에서는 제주마에서는 A 대립유전자의 빈도가 G 대립유전자의 빈도보다 크게 나타났는데(0.88 vs. 0.12) 이는 제주마의 조상인 몽고마에서도 비슷한 빈도를 나타내었음을 확인하였다. Hill 등 (2010a) 등의 연구 보고에 의하면 g.66608679 G>A 변이는 GG 유전자형인 경우 근육형성이 증가하며 근육 내 속근의 비율이 높아지며 말의 단거리 경주에 최적한 유전자형으로 보고되었으며, 반면 AA 유전자형은 경우 근육형성이 GG 유전자형보다 적게 형성되고 상대적으로 속근의 비율도 낮으며 나타났으며 체형에 따른 스테미너 형인 장거리 경주에 적합한 유전자형으로 구분되는 것으로 보고되었다. 따라서 AG 유전자형을 가진 개체가 근육의 형성 및 스테미너 역시 좋은 개체로 AG 유전자형은 단거리부터 장거리까지 우승할 수 있는 경주마가 될 가능성이 가장 높은 것으로 보고하였다. 제주마는 선행연구에 따르면 스테미너가 좋은 장거리용 경주에 적합한 품종인 것으로 확인 할 수 있으나 제주마에 대한 선행연구가 부족하여 단정 짓기는 미흡하므로 추후 더 많은 연구가 제주마에서 이루어져야 할 것이다.

특히 2023년부터 제주경마의 100%를 제주마로 시행하겠다는 한국마사회의 발표와 더불어, 건강하고 우수한 제주마 생산을 위해서 앞에서 소개한 최신 분자 유전체 기술을 활용한 연구가 시급한 실정이다. 또한 각 분야에 적합한 최신 과학 기술 및 분석방법 등을 이용하여 제주마 보존 및 개량 연구에 힘 써야 할 것

으로 사료된다. 또한 국내 고유한 유전자원에 대한 재고와 우수성에 대한 과학화 및 산업화에 기여할 것이다.

VI. 참고문헌

- Ahn, K., Bae, J. H., Nam, K. H., Lee, C. E., Park, K. D., Lee, H. K., Cho, B. W. and Kim, H. S. 2011. Identification of reference genes for normalization of gene expression in thoroughbred and Jeju native horse(Jeju pony) tissues. *Genes Genom.* 33:245-250.
- Baron, E. E., Lopes, M. S., Mendonca, D., Da Camara Machado, A. (2011). SNP identification and polymorphism analysis in exon 2 of the horse myostatin gene. *J. Ani Genetics* 43:229-232.
- Barrett, J. E., Fry, B., Maller, J. and Daly, M. J. 2005. HAPLOVIEW: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *J. Bio info.* 21:263-265.
- Beak, K. W., Gim, J. A. and Park, J. J. 2018. Genetic analysis strategies for improving race performance of Thoroughbred racehorse and Jeju horse. *J. Life Sci.* 28(1):130-139.
- Binns, M. M., Boehler, D. A. and Lambert, D. H. (2010) Identification of the myostatin locus (MSTN) as having a major effect on optimum racing distance in the Thoroughbred horse in the USA. *Anim. Genet.* 41(2): 154-158.
- Brooks, S. A., Lear, T. L., Adelson, D. L. and Bailey, E. 2007. A chromosome inversion near the KIT gene and the Tobiano spotting pattern in horses. *Cytogenet. Genome Res.* 119:225-230.
- Chang, D. G., Seo, M. H., Kim, Y. H., Ko, G. R. and Kim, J. K. 1991. Studies on the reproductive efficiency and cause of reproductive disorders in Cheju ponies and horses. *Chuksannonchong* 6:55-66.
- Chang, D. G., Yang, K. C., Kim, J. K. and Suh, M. H. 1990. Therapeutic effect of prostaglandin F₂alpha on anestrus in Cheju pony mares. *Korean J. Vet. Res.* 30(3):349-354.
- Chang, D. J. and Kim, J. K. 1996. Studies on the progesterone level for early pregnancy diagnosis of Cheju native mares. 11:85-91.
- Cho, B. W. 1999. Fundamental studies on the development of horse pedigree system with genetic analysis of Che-ju horse. *J. Agri. Tech. Dev. Inst.* 3:249-254.
- Cho, B. W. 2001. Cloning and sequencing of breed specific DNA fragment in horse. *J. Agri. Tech. Dev. Inst.* 5:101-107.
- Cho, B. W. 2005a. Development of sequence characterized amplified regions (SCAR) showing for Cheju native horse. *J. Life Sci.* 15(3):474-478.
- Cho, B. W. and Lee, K. W. 2004. Genetic diversity analysis of the Cheju horse using random amplified polymorphic DNAs. *J. Life Sci.* 14(3):521-524.
- Cho, B. W., Jung, J. H., Kim, S. W., Kim, H. S., Lee, H. K., Cho, G. J. and Song, K. D. 2007. Establishment of genetic characteristics and individual identification system using microsatellite loci in Jeju native horse. *J. Life Sci.* 17(10):1441-1446.
- Cho, B. W., Lee, K. W., Kang, H. S., Kim, S. G., Park, M. H. and Kim, Y. J. 2000. Application of random amplified polymorphic DNAs methods to identify interbreed difference in horse. *J. Agri. Tech. Dev. Inst.* 4:161-165.

Cho, B. W., Lee, K. W., Kang, H. S., Kim, S. G., Shin, T. S. and Jeon, H. Y. 1998. Development of RAPD marker specific for Cheju horse (Jorangmal). *J. Agri. Tech. Dev. Inst.* 2:119-125.

Cho, B. W., Lee, K. W., Kang, H. S., Kim, S. K., Shin, T. S. and Kim, Y. G. 2001a. Application of polymerase chain reaction with short oligonucleotide primers of arbitrary sequence for the genetic analysis of Cheju native horse. *J. Agri. Tech. Dev. Inst.* 5:109-114.

Cho, B. W., Lee, K. W., Kang, H. S., Kim, S. K., Shin, T. S. and Kim, Y. G. 2001b. *J. Agri. Tech. Dev. Inst.* 5:93-99.

Cho, B. W., Lee, K. W., Kim, S. K. and Kim, Y. G. 2001c. Identification of DNA markers to characterize horse breed using random amplified polymorphic DNAs. *J. Agri. Tech. Dev. Inst.* 5:85-92.

Cho, G. J. 2005b. Analysis of genetic polymorphism by bloodtyping in Jeju horse. *J. Life Sci.* 15(6):972-978.

Cho, G. J. 2006. Genetic relationship among the Korean native and alien horses estimated by microsatellite polymorphism. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 19(6):784-788.

Cho, G. J. and Cho, B. W. 2004. Microsatellite DNA typing using 16 markers for parentage verification of the Korean native horse. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 17(6):750-754.

Cho, G. J., Cho, B. W., Kang, H. S. and Kim, Y. K. 2003. Detection of silent allele at esterase(Es) locus in Jeju native horse. *Korean J. Life Sci.* 13(4):412-415.

Cho, G. J., Yang, Y. J., Kang, H. S. and Cho, B. W. 2002. Genetic diversity and validation of microsatellite markers for Jeju native horse parentage testing. *Korean J. Genetics* 24(4):359-365.

Choi, K. S. and Yang, T. S. 2017. A study on the menu quality of Jeju horse restaurants using revised IPA. *JHTR.* 31(9):233-246.

Choi, S. K., Cho, C. Y., Yeon, S. H., Cho, B. W. and Cho, G. J. 2008. Genetic characterization and polymorphisms for parentage testing of the Jeju horse using 20 microsatellite loci. *J. Vet. Med. Sci.* 70(10):1111-1115.

Dall'Olio, S., Fontanesi, L., Nanni Costa, L., Tassinari, M., Minieri, L., and Falaschini, A. (2010). Analysis of horse myostatin gene and identification of single nucleotide polymorphisms in breeds of different morphological types. *BioMed Research International*, 2010.

Do, K. T., Lee, J. H., Lee, H. K., Kim, J. and Park, K. D. 2014. Estimation of effective population size using single-nucleotide polymorphism (SNP) data in Jeju horse. *J. Anim. Sci. Technol.* 56:28.

Doan, R., Cohen, N. d., Sawyer, J., Ghaffari, N., Johnson, C. D and Dindot, S. V. (2012) Whole-Genome sequencing and genetic variant analysis of a quarter Horse mare. *J. BMC Genomic.* 13:78.

Doan, R., Cohen, N. D., Sawyer, J., Ghaffari, N., Johnson, C. D. and Dindot, S. V. (2012) Whole-genome sequencing and genetic variant analysis of a Quarter Horse mare. *J. BMC Genom* 13:78.

- Ellegren, H., Johansson, M., Sandberg, K. and Andersson, L. (1992) Cloning of highly polymorphic microsatellites in the horse. *J. Anim. Genet.* 23:133-142.
- Fadilha, F. G. F., El-jaick, B. B., Castro, L. D., Moreira, A. D. S and Ferreira, A. M. R. (2018) Effect of selection for eventing on the MSTN gene in Brazilian sport horses. *J. Equ. Sci.* 29(1):21-24.
- Francois, L., Fegraeus, K. J., Eriksson, S., Andersson, L. S., Tesfayonas, Y. G., Viluma, A., Imsland, F., Buys, N., Mikko, S., Lindgren, G and Velie, B. D. (2016) Conformation Traits and Gaits in the Icelandic Horse are Associated with Genetic Variants in Myostatin (MSTN). *J. Heredity.* 107(5):431-437.
- Gim, J. A. and Kim, H. S. 2017. Identification and expression analyses of equine endogenous retroviruses in horses. *Mol. Cells* 40(10):796-804.
- Grossi, D. D. A., Buzanskas, M. E., Grupioni, N. V., de Paz, C. C., Regitano, L. C., de Alencar, M. M., Schenkel, F. S. and Munari, D. P. (2015). Effect of IGF1, GH, and PIT1 markers on the genetic parameters of growth and reproduction traits in Canchim cattle. *J. Mol. Biol.* 42(1):245-251.
- Gupta, G. D., Lakritz, J., Kim, J. H., Kim, D. Y., Kim, J. K. and Marsh, A. E. 2002. Seroprevalence of Neospora, Toxoplasma gondii and Sarcocystis neurona antibodies in horses from Jeju island, South Korea. *Vet. Parasitol.* 106:193-201.
- Haase, B., Jede, R., Brooks, S. A. and Leeb, T. 2008. An equine chromosome 3 inversion is associated with the tobiano spotting pattern in German horse breeds. *Anim. Genet.* 39(3):306-309.
- Han, B. K., Chang, D. G. and Hyun, H. S. 1990. Effect of age, season and sex on the blood properties in the Cheju horse. *Korean J. Vet. Sci.* 30(4):525-532.
- Han, B. K., Chang, D. G., Kim, S. K. and Matsumoto, H. 1992. Classification of the blood group in Cheju native horses by the antiserum of isoimmunization. *Korean J. Vet. Res.* 32(3):451-456.
- Han, B. K., Chang, D. J., Tsuchida, S. and Ikemoto, S. 1994. Mitochondrial DNA polymorphism in the Cheju horses. *Korean J. Vet. Res.* 34(2):243-247.
- Han, B. K., Han, H. J., Kim, J. B., Ko, M. S. and Matsumoto, H. 1996. Serum selenium and alpha-tocopherol concentration in Cheju mares. *Korean J. Vet. Res.* 36(1): 51-56.
- Han, S. H., Jung, Y. H., Oh, Y. S. and Oh, M. Y. 2001. Genetic polymorphism of mitochondrial cytochrome b gene in Jeju native horses inferred from PCR-RFLP. *J. Basic Sci.* 14(1):39-46.
- Han, S. H., Kim, J. H., Song, J. H., Oh, J. H., Oh, Y. S., Jung, Y. H., Kayano, H. and Oh, M. Y. 2004. Polymorphism of the mtDNA cytochrome B and NADH dehydrogenase 6 genes in Tsushima and Jeju native horses. *Korean J. Genetics* 26(1):1-7.
- Han, S. H., Lee, C. E., Kim, N. Y., Ko, M. S., Jeong, H. Y. and Lee, S. S. 2009. Genetic polymorphisms of candidate loci and inheritance patterns of gray coat color in Jeju Horses. *J. Life Sci.* 19(6):793-798.
- Han, S. K., Chung, E. Y., Shin, Y. C. and Byun, H. D. 1995. Studies on serum protein and enzyme polymorphisms for conservation of Cheju native horses. *Korean J.*

- Anim. Sci. 37(1):52-58.
- Hill, E. W., Fonseca, R. G., McGivney, B. A., Gu, J., Hachugh, D. E. and Katz, L. M. (2012) MSTN genotype (g.66493737C>T) association with speed indices in Thoroughbred racehorses. *J. App phys.* 112(1):86-90.
- Hill, E. W., Gu, J., Eivers, S. S., Fonseca, R. G., McGivney, B. A., Govindarajan, P., and MacHugh, D. (2010). A sequence polymorphism in MSTN predicts sprinting ability and racing stamina in thoroughbred horses. *PLoS one*, 5(1).
- Hill, E. W., McGivney, B. A., Gu, J., Whiston, R and MacHugh, D. E., (2010) A genome-wide SNP-association study confirms a sequence variant (g.66493737C>T) in the equine myostatin (MSTN) gene as the most powerful predictor of optimum racing distance for Thoroughbred racehorses. *J. BMC genomics.* 11:552.
- Hori, Y., Ozaki, T., Yamada, Y., Tozaki, T., Kim, H. S., Takimoto, A., Endo, M., Manabe, N., Inoue-Murayama, M. and Fujita, K. (2013) Breed differences in dopamine receptor D4 gene (DRD4) in horses. *J. Equine Sci.* 24:31-36.
- Hyun, H. S., Kim, W. K. and Chang, D. G. 1991a. Studies on catalase type in Cheju native horse. *Korean J. Vet. Res.* 31(2):167-170.
- Hyun, H. S., Kim, W. K. and Han, B. K. 1991b. Studies on hemoglobin type in Cheju native horse. *Korean J. Vet. Res.* 31(2):163-166.
- Johnson, P. L., McEwan, J. C., Dodds, K. G., Purchas, R. W. and Blair, H. T. (2005) Meat quality traits were unaffected by a quantitative trait locus affecting leg composition traits in Texel sheep. *J. Ani Sci.* 83:2729 - 35.
- Jung, C. J., Yang, Y. H., Kim, J. K. and Kang, M. S. 1991. Studies on the classification for the registration of the Cheju Native Horse I. Body measurements by location, sex and age. *J. Anim. Sci. Technol.* 33(6):418-422.
- Jung, Y. H., Han, S. H., Shin, T. and Oh, M. Y. 2002. Genetic characterization of horse bone excavated from the Kwakji archaeological site, Jeju, Korea. *Mol. Cells* 14:224-230.
- Kang, K. B. and Kang, T. S. 2002. Analysis of management efficiency using data envelopment analysis in Cheju horse raising farms. *Korea J. Agri. Management Policy* 29(2):265-282.
- Kang, M. H. 1965. Systematic studies on the Korean Native Horse. *J. Anim. Sci. Technol.* 7:92-97.
- Kang, M. S. 2000a. The present and future situation of native Cheju horse. *J. Res. Ins. Anim. Sci.* 15:81-87.
- Kang, M. S., Choung, C. C., Kang, T. S. and Choung, J. J. 1988. Coat color frequencies in the Cheju Island Pony. *Chuksannonchong* 3:29-32.
- Kang, O. D., Ryu, Y. C., Ryew, C. C., Oh, W. Y., Lee, C. E. and Kang, M. S. 2010. Comparative analyses of rider position according to skill levels during walk and trot in Jeju horse. *Hum. Mov. Sci.* 29:956-963.
- Kang, T. S. 2000b. Use of Cheju horses for racing. *Korea J. Agri. Management Policy* 27:103-115.

Kang, T. Y. and Kang, M. S. 2006. Assessment of Jeju horse semen using computer-assisted sperm analysis (CASA). *Korean J. Emb. Trans.* 21(1):69-75.

Kim, C. S., Won, C. K. and Suh, M. D. 2003. A case of fused lumbar vertebrae in Cheju native horse. *Korean J. Vet. Res.* 43(1):1-3.

Kim, D., Kim, H. J., Chae, H. S., Park, N. G., Kim, Y. B. and Jang, A. 2014a. Anti-exidation and anti-wrinkling effects of Jeju horse leg bone hydrolysates. *Korean J. Food Sci. An.* 34(6):844-851.

Kim, G. O. and Oh, M. Y. 1995. Polymorphism of plasma proteins by two dimensional horizontal electrophoresis in Cheju native horse. *Korean J. Anim. Sci.* 37(6):603-610.

Kim, G. O., Kim, S. J. and Oh, M. Y. 1999a. PCR-RFLP of the cytochrome b genes in the Cheju native horses. *Korean J. Genetics* 21(1):29-34.

Kim, H., Lee, T., Park, W., Lee, J. W., Kim, J., Lee, B. Y., Ahn, H., Moon, S., Cho, S. and Do, K. T. (2013) Peeling back the evolutionary layers of molecular mechanisms responsive to exercise-stress in the skeletal muscle of the racing horse. *J. DNA Res.* 20, 287-298.

Kim, J. G. and Choi, H. I. 1994. Nutritional secondary hyperparathyroidism in Cheju pony racehorses. *Korean J. Vet. Clin. Med.* 11(1):347-358.

Kim, J. K. and Chang, D. G. 1990. Studies on the reproductive efficiency and causes of reproductive disorders in Cheju pony mares I. A study on the reproductive performance in Cheju pony mares. *Korean J. Anim. Sci.* 32(8):438-444.

Kim, J. K. and Chang, D. G. 1990. Studies on the reproductive efficiency and causes of reproductive disorders in Cheju pony mares II. A study on the causes of reproductive disorders in Cheju pony mares. *Korean J. Anim. Sci.* 32(9):514-519.

Kim, J. K., Chang, D. G. and Seo, M. H. 1990a. Studies on the blood steroid hormone levels during the reproductive stage in Cheju pony mares I. A study on the changes of estradiol-17beta and progesterone levels in the plasma. *Korea J. Anim. Sci.* 32(7):362-367.

Kim, J. K., Chang, D. G. and Seo, M. H. 1990b. Studies on the blood steroid hormone levels during the reproductive stage in Cheju pony mares II. A study on the changes of estradiol-17beta and progesterone levels in the plasma during gestation and parturition period. 1990. *Korean J. Anim. Reprod.* 15(2):117-124.

Kim, J. K., Choung, C. C. and Chang, D. J. 1990c. Studies on the progesterone level for early prognacy diagnosis of Cheju native mares. *Chuksannonchong* 5:3-9.

Kim, J., Lee, M. J., Oh, W. Y., Kim, D. H., Kim, S. D., Choi, J. G. and Cho, B. W. 2015a. Estimation of effective population size of Jeju horse in Korea. *J. Agri. Life Sci.* 49(2):67-73.

Kim, K. I. 1999. Cheju horses and their origin. *J. Res. Ins. Anim. Sci.* 14:79-93.

Kim, K. I., Yang, Y. H., Lee, S. S., Park, C., Ma, R., Bouzat, J. L. and Lewin, H. A. 1999b. Phylogenetic relationship of Cheju horses to other horse breeds as determined by mtDNA D-loop sequence polymorphism. *Anim. Genet.* 30:102-108.

Kim, N. Y., Chae, H. S., Baek, K. S., Cho, I. C., Jung, Y. H., Woo, J. H., Park, S. H., Kim, J. H., Lee, S. S. and Yang, Y. H. 2015b. A study on the changes of coat

- color-related genes according to generational changes in Jeju Horses. *J. Embryo Transf.* 30(3):183-188.
- Kim, N. Y., Han, S. H., Lee, S. S., Lee, C. E., Park, N. G., Ko, M. S. and Yang, Y. H. 2011. Relationship between MC1R and ASIP genotypes and basic coat colors in Jeju Horses. *J. Anim. Sci. Technol.* 53(2):107-111.
- Kim, N. Y., Lee, S. S. and Yang, Y. H. 2002. Polymorphisms of the exons 13, 15 and 16 of transferrin gene in Cheju horses. *J. Anim. Sci. Technol.* 44(4): 391-398.
- Kim, N. Y., Lee, S. S. and Yang, Y. H. 2014b. Influence of amount of pedigree information and parental misidentification of progeny on estimates of genetic parameters in Jeju race horses. *J. Embryo Transf.* 29(3):289-296.
- Kim, N. Y., Shin, K. Y., Lee, C. E., Han, S. H., Lee, S. S., Park, Y. S., Ko, M. S., Hong, H. J., Yang, J. H., Jang, D. J. and Yang, Y. H. 2012. Genetic characterization of Wolla coat color in Jeju Horses. *J. Anim. Sci. Technol.* 54(5):375-379.
- Kim, N. Y., Yang, B. C., Son, J. K., Shin, S. M., Woo, J. H., Shin, M. C. and Yoo, J. H. 2018. The origin of Jeju horses and the coat color characteristics - A Review. *J. Anim. Breed. Genomics* 2(1):28-31.
- Kim, S. H. 1993. On the classification and distribution of *Gasterophilus* spp in the gastrointestinal tract in Cheju horse. *Korean J. Vet. Res.* 33(1):109-117.
- Kim, S. M., Kim, M. N., Lee, S. S., Kim, N. Y. and Yang, Y. H. 2009. Racing performance and preferences for the coat colors in Jeju horses. *J. Subtropical Agri. Biotech.* 25(1):39-43.
- Kim, Y. B., Jeon, K. H., Rho, J. H. and Kang, S. N. 2005. Physicochemical properties of loin and rump in the native horse meat from Jeju. *Korean J. Food Sci. An.* 25(4):365-372.
- Ko, C. W., Lee, H. J. and Park, H. S. 1986. Studies on electrophoresis characteristics of proteins in Cheju native mare's milk. *Chuksannonchong* 1:83-94.
- Kong, H. S., Lee, H. K., Park, K. D. and Cho, B. W. 2011. A breed comparison on the finishing times of racehorses. *J. Anim. Sci. Technol.* 53(1):23-27.
- Kruglyak, L. (1999) Prospects for whole-genome linkage disequilibrium mapping of common disease genes. *J. Nat Genet* 22:139-44.
- Kwon, D. Y. and Cho, G. J. 2009. Standardization and usefulness of ISAG microsatellite markers for individual identification and parentage verification in horse breeds. *J. Vet. Clin.* 26(3):220-225.
- Kwon, S. I. (2012) Next Generation Sequencing (NGS), A Key Tool to open the Personalized Medicine Era. *Korean J Clin Lab Sci.* 44(4):167-177.
- Kwon, T. J., Jung, J. W., Kang, O. D., Kim, G. G., Kang, D. G., Kim, J. H., Park, J. H., Kim, D. W., Ahn, S. M. and Kang, M. S. 2007. The study of the investigation for the behavioral pattern of grazing Jeju stallion(1). *J. Cheju Studies* 30.
- Kwon, T. J., Jung, J. W., Kang, O. D., Kim, G. G., Kang, D. G., Kim, J. H., Park, J. H., Kim, D. W., Ahn, S. M. and Kang, M. S. 2008. The study of the investigation for the behavioral pattern of grazing Jeju stallion(2). *J. Cheju*

Studies 31.

Lee, H. J. 1995. Studies on Cheju native horse's meat. J. Res. Ins. Anim. Sci. 10:31-42.

Lee, H. J. 1999. A study on practical use of an unnecessary cheju horse. J. Res. Ins. Anim. Sci. 14:103-114.

Lee, H. J. and Kim, H. K. 1985. Studies on protein of Cheju native horse I. properties of casein (I). Korean J. Anim. Sci. 27(6):413-415.

Lee, J. H., Song, K. D., Kim, J. M., Leem, H. K. and Park, K. D. 2016. Identification of genes with nonsynonymous SNP in Jeju horse by whole-genome resequencing reveals a functional role for immune response. J. Anim. Sci. 94(3):895-901.

Lee, J. R., Hong, C. P., Moon, J. W., Jung, Y. D., Kim, D. S., Kim, T. H., Gim, J. A., Bae, J. H., Choi, Y. and Eo, J. (2014). Genome-wide analysis of DNA methylation patterns in horse. J. BMC Genomics 15(1): 598.

Lee, J. R., Hong, C. P., Moon, J. W., Jung, Y. D., Kim, D. S., Kim, T. H., Gim, J. A., Bae, J. H., Choi, Y., Eo, J., Kwon, Y. J., Song, S., Ko, J., Yang, Y. M., Lee, H. K., Park, K. D., Ahn, K., Do, K. T., Ha, H. S., Han, K., Yi, J. M., Cha, H. J., Cho, B. W., Bhak, J. and Kim, H. S. 2014. Genome-wide analysis of DNA methylation patterns in horse. BMC Genomics 15:598.

Lee, K. K., Cheong, J. T., Woo, H. C., Kim, H. S., Yang, K. C. and Kim, S. H. 1995. The studies on the mobility and the parasitic infection rate in Cheju horse. J. Res. Ins. Anim. Sci. 10:77-83.

Lee, K. M. 1961. Biostatistic study on the type of the Cheju Horses in Quelpart. J. Anim. Sci. Technol. 3:63-73.

Lee, K. M. 1971. Studies on the old name and distribution of coat color in the Cheju Horse. Konkuk University 12:893-909.

Lee, S. K., Han, J. I. and Kang, H. G. 2013. Equine motor neuron disease in a Jeju pony. J. Vet. Clin. 30(2):142-145.

Lee, W. C., Kim, H. J. and Shin, T. H. 1974. A biometric study on hardness of bone in race horse and Jeju horse. Korean J. Vet. Res. 14(2):185-189.

Lee, W., Park, K. D., Taye, M., Lee, C., Kim, H., Lee, H. K. and Shin, D. H. 2018. Analysis of cross-population differentiation between Thoroughbred and Jeju horses. Asian-Australas. J. Anim. Sci. 31(8):1110-1118.

Lim, B. H., Kim, S. W., Kang, D. W., Park, K. D., and Do, K. T.(2019) Research Trends and Implications for Preservation and Improvement of Jeju Ponies (Review). Anim. Resour. Sci. 30(1):34-48.

Marklund, L., Moller, M. J., Sandberg, K. and Andersson, L. 1996. A missense mutation in the gene for melanocyte-stimulating hormone receptor (MC1R) is associated with the chestnut coat color in horses. Mamm. Genome 7:895-899.

McGivney, B. A., Browne, J. A., Fonseca, R. G., Katz, L. M., MacHugh, D. E., Whiston, R. and Hill, W. H.(2012). MSTN genotypes in Thoroughbred horses in fluence skeletal muscle gene expression and racetrack performance. J. Ani. Genetics. 43(6):810-812.

McGivney, B. A., Browne, J. A., Fonseca, R. G., Katz, L. M., MacHugh, D. E.,

- Whiston, R., and Hill, E. W. (2012). MSTN genotypes in T thoroughbred horses influence skeletal muscle gene expression and racetrack performance. *Animal genetics*, 43(6):810-812.
- Mcpherron, A. C and Lee, S. J. (1997) Double muscling in cattle due to mutations in the myostatin gene. *J. Phas* 94 (23) 12457-12461.
- Mcpherron, A. C., Alexandra, C and Lee, S. J. (1997) Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF- β superfamily member. *J. Nature*. 387:83-90.
- Moon, S., Lee, J. W., Shin, D., Shin, K. Y., Kim, J., Choi, I. Y., Kim, J. and Kim, H. 2015. A genome-wide scan for selective sweeps in racing horses. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 28(11):1525-1531.
- Mosher, D. S., Quignon, P., Bustamante, C. D., Sutter, N. B., Mellersh, C. S., Parker, H. G. and Ostrander E. A. (2007) A mutation in the myostatin gene increases muscle mass and enhances racing performance in heterozygote dogs. *J. PloS Genet.* 3(5):779-786.
- Oh, M. Y. and Jung, Y. H. 2001. Mitochondrial DNA polymorphism in Cheju and Tsushima native horses using SSCP analysis. *Korean J. Genetics* 23(1):35-43.
- Oh, M. Y., Ko, M. H., Kim, G. O., Oh, Y. S., Jung, Y. H., Kim, S. J., Hong, S. S. and Kayano, H. 1997. Restriction enzyme analysis of mitochondrial DNA in Cheju and Tsushima native horses and evolutionary relationships. *Korean J. Anim. Sci.* 39(4):327-334.
- Oh, M. Y., Ko, M. H., Kim, G. O., Oh, Y. S., Kim, S. J. and Hong, S. S. 1994. Phylogenetic relationship of Cheju Native Horses by mitochondrial DNA analysis. *Mol. Cells* 4:13-20.
- Oh, S. A., Ko, M. H., Ko, M. S., Lee, C. E., Park, Y. S., Kang, T. Y., Ko, J. H. and Cho, W. M. 2012. Effect of glycerol and ethylene glycol on post-thawed sperm function in Jeju horse. *Reprod. Dev. Biol.* 36(3):199-206.
- Oh, W. Y., Kang, T. H., Kim, D. C., Jin, S. H., Hong, S. K., Yang, S. J. and Jung, J. H. 1993. Effect of feeding method on growth performance and carcass characteristics of Cheju native horses. *Korean J. Anim. Sci.* 35(6):505-509.
- Oh, W. Y., Kim, B. W., Cho, H. W., Shin, T. S., Cho, S. K. and Cho, B. W. 2014. Analysis of associated race performance and functional characterization of conformation in Jeju horse. *J. Agri. Life Sci.* 48(1):99-106.
- Oh, W. Y., Ryew, C. C., Kim, J. H. and Hyun, S. H. 2009. Kinematic analysis of horse-riding posture according to skill levels during rising trot with Jeju-horse. *Korean J. Sport Biomechanics* 19(3):467-479.
- Padilha F. G. F., El-Jaick K. B., Castro. L. D., Moreira. A. D. S. and Ferreira, A. M, R. (2018). Effect of selection for eventing on the MSTN gene in Brazilian sport horses. *J. Equine Sci.* 29(1):21-24.
- Park, J. S., Cho, B. W. and Sohn, S. H. 2009. Karyotype of Jeju horse: G-, C- and NOR-banding. *J. Anim. Sci. Technol.* 51(5):361-368.
- Park, W., Kim, J., Kim, H. J., Choi, J. Y., Park, J. W., Cho, H. W., Kim, B. W., Park, M. H., Shin, T. S., Cho, S. K., Park, J. K., Kim, H., Hwang, J. Y., Lee, C. K., Lee, H. K., Cho, S. and Cho, B. W. 2014a. Investigation of De Novo unique differentially expressed genes related to evolution in exercise response during

domestication in Thoroughbred race horses. PLoS One 9(3): e91418.

Park, Y. S., Kim, N. Y., Han, S. H., Park, N. G., Ko, M. S., Cho, W. M., Chae, H. S., Cho, I. C., Cho, S. R., Woo, J. H. and Kang, T. Y. 2014b. Identification of bacteria by sequence analysis of 16S rRNA in testes of Jeju horses. J. Vet. Clin. 31(1):36-39.

Petersen, J., Mckelson, J. R., Rendahl, A. K., Valberg, S. J., Andersson L. S., Axelsson, J., Bailey, E., Bannasch, D., Binns, M. M., Borges, A. S., Brama, P., Machado, A. C., Capomaccio, S., Cappelli, K., Cothran, E. G., Distl, O., Fox-Clipsham, L., Graves, K. T., Guerin, G., Haase, B., Hasegawa, T., Gemmann, K., Hill, E. W., Leeb, T., Lindgren, G., Lohi, H., Lopes, M. S., Mcgivney, B. A., Mikko, S., Orr, N., Penedo, M. C. T., Piercy, R. J., Raekallio, M., Rieder, Stefan, Roed, K. H., Swinburne, J., Tozaki, T., Vaudin, M., Wade, C. M. and Mccue, M. E. (2013). Genome-Wide Analysis Reveals Selection for Important Traits in Domestic Horse Breeds. Plos Genet. 9(1):e1003211.

Pielberg, G. R., Golovko, A., Sundström, E., Curik, I., Lennartsson, J., Seltenhammer, M. H., Druml, T., Binns, M., Fitzsimmons, C., Lindgren, G., Snadberg, K., Baumung, R., Vetterlein, M., Strömberg, S., Grabherr, M., Wade, C., Lindblad-Toh, K., Pontén, F., Heldin, C. H., Sölkner, J. and Andersson, L. 2008. A cis-acting regulatory mutation causes premature hair graying and susceptibility to melanoma in the horse. Nat. Genet. 40:1004-1009.

Rho, J. R. and Choe, J. C. 2002. Diurnal activity patterns of Jeju ponies (*Equus caballus*). Korean J. Biol. Sci. 6:293-299.

Rho, J. R. and Choe, J. C. 2003. Difference of early experience of foals according to dominance ranks of their mothers in the Jeju pony (*Equus caballus*). Korean J.

Biol. Sci. 7:119-122.

Rho, J. R., Srygley, R. B. and Choe, J. C. 2004a. Age-specific fertility rates of the Jeju pony (*Equus caballus*). J. Ethol. 22:113-117.

Rho, J. R., Srygley, R. B. and Choe, J. C. 2004b. Behavioral ecology of the Jeju pony (*Equus caballus*): effects of maternal age, maternal dominance hierarchy and foal age on mare aggression. Ecol. Res. 19:55-63.

Rho, J. R., Srygley, R. B. and Choe, J. C. 2005. Gender differences in maternal intervention in Jeju ponies (*Equus caballus*). Korean J. Ecology 28(5):225-260.

Rho, J. R., Srygley, R. B. and Choe, J. C. 2007. Sex preferences in Jeju pony foals (*Equus caballus*) for mutual grooming and play-fighting behaviors. Zool. Sci. 24:769-773.

Rho, J. R., Srygley, R. B. and Choe, J. C. 2009. Age of the Jeju pony (*Equus caballus*) at first reproduction: potential costs for foals and mothers that first reproduce early in life. J. Ethol. 27:483-488.

Rieder, S., Taourit, S., Mariat, D., Langlois, B. and Guerin, G. 2001. Mutations in the agouti (ASIP), the extension (MC1R), and the brown (TYRP1) loci and their association to coat color phenotypes in horses (*Equus caballus*). Mamm. Genome 12:450-455.

Ryew, C. C. 2011. Verification on effectiveness of horse-riding as a mean of health and rehabilitation therapy by Jeju-native horse. J. Mar. Sport Studies 1(2):43-54.

Schuelke, M., Wagner, K. R., Stola, L. E., Hubner, C., Riebel, T., Komen, W., Braun, T., Tobin, J. F. and Lee, S. J. (2004). Myostatin mutation associated with gross muscle hypertrophy in a child. *N. Engl. J. Med.* 350:2682-2688.

Seo, M. G., Yun, S. H., Choi, S. K., Cho, G. J., Park, Y. S., Cho, K. H., Kwon, O. D. and Kwak, D. 2013. Molecular and phylogenetic analysis of equine piroplasms in the Republic of Korea. *Res. Vet. Sci.* 94:579-583.

Seong, P. N., Lee, C. E., Park, B. Y., Hah, K. H. and Ko, M. S. 2006. Meat quality and sensory characteristics in Longissimus muscle of Jeju horse as influenced by ageing. *J. Anim. Sci. Technol.* 48(2):287-292.

Shin, J. A., Yang, Y. H., Kim, H. S., Yun, Y. M. and Lee, K. K. 2002. Genetic polymorphism of the serum proteins of horses in Jeju. *J. Vet. Sci.* 3(4):255-263.

Sohn, S. H., Cho, E. J. and Park, J. S. 2006. Chromosome patterns and karyotype of the Jeju horse (*Equus caballus*). *J. Agri. Tech. Res. Inst.* 19:61-69.

Son, W. G., Lee, D. S., Yamatoda, N., Hatori, F., Shimizu, N., Kakuda, T., Sasaki, Y., Tsubaki, S. and Takai, S. 2006. Molecular typing of VapA-positive *Rhodococcus equi* isolates from Jeju native horses, Korea. *J. Vet. Med. Sci.* 68(3):249-253.

Stefaniuk, M., Kaczor, U., Augustyn, R., Gurgul, A., Kulisa, M and Podstawski, Z. (2014) Identification of a New Haplotype within the Promoter Region of the MSTN Gene in Horses from Five of the most Common Breeds in Poland. *J. Folia Biologica* 62(3):219-222.

Stephens, M., Smith, N. and Donnelly, P. 2001. A new statistical method for haplotype reconstruction from population data. *Am. J. Hum. Genet.* 69:978 - 989.

Strazzullo, M., Corteggio, A., Altamura, G., Francioso, R., Roperto, F., D'Esposito, M. and Borzacchiello, G. (2012) Molecular and epigenetic analysis of the fragile histidine triad tumour suppressor gene in equine sarcoids. *J. BMC Vet. Res.* 8:30.

Strillacci, M., Frigo, E., Schiavini, F., Samore, A., Canavesi, F., Vevey, M., Cozzi, M., Soller, M., Lipkin, E. and Bagnato, A. (2014). Genome-wide association study for somatic cell score in Valdostana Red Pied cattle breed using pooled DNA. *J. BMC Genet.* 15:106.

Swinburne, J. E., Hopkins, A., Binns, M. M., (2002) Assignment of the horse grey coat colour gene to ECA25 using whole genome scanning. *J. Ani Sci.* 33(5):338-342.

Thomas, M., Langley, B., Carole, B., Mridula, S., Kirk, S., John B. and Ravi, K. (2000). Myostatin, a negative regulator of muscle growth, functions by inhibiting myoblast proliferation. *J. Biol. Chem.* 275:40235-43.

Tozaki, T., Miyake, T., Kakoi, H., Gawahara, H., Sugita, S., Hasegawa, T., ... & Nakano, Y. (2010). A genome wide association study for racing performances in Thoroughbreds clarifies a candidate region near the MSTN gene. *Animal genetics*, 41:28-35.

Tozaki, T., Sato, F., Hill, E. W., Miyake, T., Endo, Y., Kakoi, H., Gawahara, H., Hirota, K., Nakano, Y., Nambo, Y., and Kurosawa, M. (2011). Sequence variants at the myostatin gene locus influence the body composition of Thoroughbred horses. *Journal of Veterinary Medical Science*, 1108030597-1108030597.

Tozaki, T., Sato, F., Hill, E. W., Miyake, T., Endo, Y., Kakoi, H., Gawahara, H., Hirota, K., Nakano, Y., Nambo, Y. and Kurosawa M (2011). Sequence Variants at thy

myostatin Gene Locus Influence the Body Composition of Thoroughbred Horse.
J. Vet Med Sci. 73(12):1617-1624.

Viluma, A. (2012). Polymorphism in myostatin gene and athletic performance in Nordic horse breeds (Master's thesis, Norwegian University of Life Sciences, Ås).

Wade, C. M., Giulotto, E., Sigurdsson, S., Zoli, M., Gnerre, S., Inslan, F., Lear, T. L., Adelson, D. L., Bailey, E., Bellone, R. R., Blöcker, H., Distl, O., Edgar, R. C., Garber, M., Leeb, T., Mauceli, E., MacLeod, J. N., Penedo, M. C. T., Raison, J. M., Sharpe, T., Vogel, J., Andersson, L., Antczak, D. F., Biagi, T., Binns, M. M., Chowdhary, B. P., Coleman, S. J., Della Valle, G., Fryc, S., Guérin, G., Hasegawa, T., Hill, E. W., Jurka, J., Kiiialainen, A., Lindgren, G., Liu, J., Magnani, E., Mickelson, J. R., Murray, J., Nergadze, S. G., Onofrio, R., Pedroni, S., Piras, M. F., Raudsepp, T., Rocchi, M., Røed, K. H., Ryder, O. A., Searle, S., Skow, L., Swinburne, J. E., Syvänen, A. C., Tozaki, T., Valberg, S. J., Vaudin, M., White, J. R., Zody, M. C., Broad Institute Genome Sequencing Platform, Broad Institute Whole Genome Assembly Team, Lander, E. S. and Lindblad-Toh, K. 2009. Genome sequence, comparative analysis, and population genetics of the domestic horse. *Science* 326:865-867.

Walling, G. A., Visscher, P. M., Wilson, A. D., McTeir, B. L., Simm G. and Bishop, S. C. (2004) Mapping of quantitative trait loci for growth and carcass traits in commercial sheep populations. *J. Ani. Scie.* 82(8):2234-2245.

Witt, S. H., Kleindienst, N., Frank, J., Treutlein, J., Muhleisen, T., Degenhardt, F., Jungkunz, M., Krumm, B., Cichon, S. and Tadic, A., et al. (2014) Analysis of genome-wide significant bipolar disorder genes in borderline personality disorder. *J. Psy. Genet.* 24:262-265.

Yang, J. and Lim, Y. K. 2014. Surveillance for equine infectious anemia in Jeju island. *J. Vet. Clin.* 31(4):357-359.

Yang, J., Han, J., Hwang, K. K. and Lim, Y. K. 2015. Incidence of wolf teeth in Jeju ponies and Jeju pony crossbreds. *J. Vet. Clin.* 32(3):285-287.

Yang, J., Moon, K. H. and Lim, Y. K. 2016. Comparison of hippological differences between Jeju ponies and Jeju pony crossbreds: II. The incidence of innate pacers in the Jeju raceresource. *J. Vet. Clin.* 33(6):400-401.

Yang, Y. H. 1997. Study on the registration grades of Cheju Horses by discriminant analysis with various body measurements. *J. Res. Inst. Anim. Biotechnol.* 12(1):89-98.

Yang, Y. H. 1999. Characteristics of Cheju horses with body measurement blood protein and DNA polymorphism. *J. Res. Ins. Anim. Sci.* 14:1-11.

Yang, Y. H. 2002. Estimates of standard growth performance of Cheju horse by Gompertz growth curve function. *J. Subtropical Agri. Biotech.* 18(2):53-60.

Yang, Y. H. 2004a. Estimation of performance and repeatability for racing speed in Cheju horse. *J. Subtropical Agri. Biotech.* 20(2):33-37.

Yang, Y. H. 2004b. Genetic diversity of the various conserved mtDNA control regions of Cheju Horses. *J. Subtropical Agri. Biotech.* 20(1):61-67.

Yang, Y. H. 2005a. Effect of racing lane at start on the racing performance in Cheju horses. *J. Subtropical Agri. Biotech.* 21(2):23-27.

Yang, Y. H. 2005b. Fixed effects of the condition of race track and season on racing performance in Cheju horse. *J. Subtropical Agri. Biotech.* 21(1):55-60.

Yang, Y. H. 2009. Basics of genetic and breeding in Jeju horse. Gyeongminsa.

Yang, Y. H. 2012. Estimation of genetic parameters for racing performance of Jeju horses. *J. Subtropical Agri. Biotech.* 28(1):45-51.

Yang, Y. H. 2014. Permanent environmental and additive genetic variability of body weight in Jeju Horse. *J. Subtropical Agri. Biotech.* 30(1):39-43.

Yang, Y. H. and Kim, N. Y. 2004. Genetic features of Cheju horses based on transferrin gene frequency. *J. Anim. Sci. Technol.* 46(1):15-22.

Yang, Y. H. and Lee, S. S. 2009. Effects of handicap weight, horse's body weight and weight change on racing performance in Jeju horses. *J. Subtropical Agri. Biotech.* 25(1):33-38.

Yang, Y. H., Jung, C. J., Lee, H. J. and Kang, T. S. 1991. Studies on the classification for the registration of the Cheju Native Horse II. The effect of the registration grade on the body measurements. *J. Anim. Sci. Technol.* 33(6):438-443.

Yang, Y. H., Kim, K. I. and Jung, C. J. 2005. Study on the development of feeding program for horse meat production. *J. Subtropical. Agri. Biotech.* 21:35-41.

Yang, Y. H., Kim, K. I., Cothran, E. G. and Flannery, A. R. 2002. Genetic diversity of Cheju Horses (*Equus caballus*) determined by using mitochondrial DNA D-loop polymorphism. *Biochem. Genet.* 40:5-6.

Yoo, J. G., Kang, M. S., Son, W. J., Yun, Y. M., Lee, J. M. and Kang, T. Y. 2007. Measurement of size of ovaries, follicles, and corpus lutea by ultrasonography with Jeju horse. *Emb. Trans.* 22(3):191-194.

Yoon, S. H., Kim, J., Shin, D., Cho, S., Kwak, W., Lee, H. K., Park, K. D. and Kim, H. 2017. Complete mitochondrial genome sequences of Korean native horse from Jeju Island: uncovering the spatio-temporal dynamics. *J. Mol. Biol. Rep.* 44(2):233-242.

VII. 국문 요약

대한민국 제주도에 서식하는 천연기념물 제 347호 제주마(Jeju horse)는 가축유전자원으로서 보존적인 측면에서 순수 혈통보존 관리가 이루어지고 있으며 활용적인 측면에서는 경마가 진행되고 있다. 제주마에 대한 연구는 1961년을 시작으로 현재 2018년도까지 축산 및 수의 분야를 통틀어 다양한 분야에서 총 125여 편의 연구논문이 보고되었다. 조사된 125편의 제주마 연구 중 기타(6편)를 제외하고 대부분의 연구 분야는 축산학(106편) 과 수의학(13편) 두 가지 큰 범주로 나뉘었으며, 그 중에서도 축산학(106편) 범주에 속하는 유전 육종(84편) 분야가 가장 많은 비중을 차지하고 있었다. 하지만 연구논문의 대부분이 2000년대 초반에 이루어진 연구이며 최근 개발된 연구기법을 활용한 연구는 더러브렛 등 타 품종에 비해 열악하다. 제주마 연구는 특히 보존적 측면인 계통분류, 모색, 유효 집단 크기에 대한 분야와 개량 및 활용적 측면인 성장, 경주능력, 행동에 대한 분야에서 아직 매우 미비한 상태이며 이를 개선하기 위해서는 기존의 제주마 연구의 문제점을 파악하고 최근 과학기술의 도입을 이용하여 보다 정확하고 체계적인 보존관리 및 유전적 개량에 대한 연구가 필요한 시점이다.

1) 전체 125편의 제주마 연구 중 대부분을 차지하고 있는 축산학 범주의 유전 육종 분야(84편)를 대표적으로 6가지의 카테고리(계통분류, 모색, 신체 측정과 성장, 경주능력, 행동 그리고 유효 집단 크기)로 나누어 조사 하였으며, 연구들의 전반적인 내용과 문제점을 토의하여 제주마의 체계적인 보존 및 육성 그리고 정확한 개량방법을 고찰하여 향후 말 산업에 제주마 품종이 기여할 수 있는 연구진행에 대해 실마리를 제시하고자 한다.

2) 말에서 MSTN 유전자는 근섬유의 수와 성장을 조절하는 myostatin 단백질 발현을 합성하며 근육형성, 경주능력 및 강건성 등에 영향을 주는 것으로 많은 연구보고 되었다. 본 연구에서는 제주마 품종 집단(n=10)을 이용하여 MSTN 유전자(full-length 6,335bp)에 대한 염기서열 분석을 수행하였으며 총 19개의 단

일염기변이들이 발굴되었다. 12개(g.814_C>T, g.1444_A>G, g.4349_G>A, g.3753_T>C, g.3014_T>C, g.3926_T>C, g.3569_T>C, g.3666_A>T, g.963_T>G, g.1406_T>G, g.1599_A>C, g.1656_A>C)의 SNP는 이미 보고된 SNP인 것을 확인하였고, 나머지 7 개의 SNPs(g.1686_A>G, g.1995_A>G, g.2205_G>A, g.2634_T>C, g.3549_A>G, g.4344_A>C, g.4887_A>G)은 제주마에서 새로이 발굴된 SNP인 것으로 확인되었다. 제주마에 신규 발굴된 7개의 SNP들 중 2개의 SNP(g.2205_G>A, g.4887_A>G)는 각각 exon2 번과 3번에 위치하였으며 synonymous SNPs로 확인되었다. 또한 g.66608679 G>A(g.1444_A>G) 변이의 빈도는 A 대립유전자의 빈도가 G 대립유전자의 빈도보다 월등히 높은 것으로 확인되었으며(0.88 vs. 0.12), 이는 선행 연구된 제주마의 조상인 몽고마의 빈도와 비슷한 양상을 나타내었다. 또한 제주마의 MSTN 유전자내의 총 19개의 단일염기변이에 대한 연관불균형의 정도는 완전한 complete LD($r^2=1$)인 경우인 9개의 단일염기변이들이 나타났으며(g.1406_T>G, g.1599_A>C, g.1656_A>G, g.1995_A>G, g.2634_T>C, g.3014_T>C, g.3666_A>T, g.4344_A>C, g.814_C>T), 연관불균형의 정도가 $r^2=0.45\sim 0.65$ 인 단일염기변이들은 10개로 나타났다(g.963_T>G, g.814_C>T, g.4349_G>A, g.4344_A>C, g.3926_T>C, g.3569_T>G, g.3549_A>G, g.1995_A>G, g.1686_A>G, g.1444_A>G). 말의 MSTN 유전자내의 반수체형들은 형태학상의(morphological) 형질에 영향을 주는 것으로 보고되고 있으므로 제주마의 MSTN 유전자내의 반수체형(Haplotype)들의 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다. 이상의 결과는 앞으로 수행되어질 제주마 MSTN 유전자 연구에 대한 유용한 기초연구자료로 제공되어 질것으로 사료된다.

제주마 역시 경주를 위한 개량 및 우수마 생산을 위한 최신 분자유전체학적 분석 기법을 이용하여 발굴된 바이오 마커를 활용한 유전체 선발 연구가 매우 필요한 시점이다. 이러한 연구결과들은 우리 고유의 말 자원인 우수 제주마를 선별하는 데 활용함으로써, 제주마의 경주능력, 승용능력 및 육용품질과 같은 우수한 특성을 발굴하는 데 적용될 수 있을 것이다.

본 논문에서는 제주마 품종의 연구 동향을 전반적인 내용과 문제점을 토의

하였으며 또한 말의 대표적인 MSTN 유전자를 제주마에서 기초연구를 함으로써 최신 분자유전체학 분석 기법을 이용한 연구의 필요성을 토의하였다. 이를 통하여 국내 유전자원에 대한 인식 제고 및 경제적 파급 효과를 제공할 것이다.

Keyword : 제주마, MSTN, 염기서열분석, 단일염기변이, 연관불균형

감사의 글

짧고 또 길게 느껴졌던 석사 과정을 끝마치며 지도를 해주신 도경탁 교수님께 감사의 말씀 드립니다. 지도교수님의 실험실에 처음 들어간 학생이었던 저에게 많은 지도와 조언, 심사까지 맡아 주신 류연철 교수님, 서종필 교수님께도 감사의 말씀 드립니다. 큰오빠의 역할과 훌륭한 선배 노릇 까지 해주신 제주도에서 저와 가장 많은 시간을 보내주신 존경하는 김상욱 박사님, 첫 실험 일정을 잡은 후 독감에 걸려 쉬자고 물어봤지만 자비 없던 임병휘 형에게도 다 나은 지금 감사의 말 같이 올리고 싶습니다. 어리광 많이 부린 저에게 항상 제 편이며, 멘토이자 친구 역할 해주셨던 손광민 교관님, 이옥경 점장님, 수진이언니, 만솔이형, 조기제님께 감사드립니다.

하고 싶은 게 많은 저에게 항상 아낌없는 지원 해주신 아버지와 언제나 제 편에서 든든하게 서 계시는 고모, 고모부, 오빠들 모두 고맙고 사랑합니다. 비록 제주도 생활이라 힘들다곤 했지만 명절마다 찾아와준 현정이가, 항상 전화로 함께 해준 가현이 이외에 다정이 경림이 다훈이 모든 친구들아 보고 싶고 고마워.

이름을 쓰지 못했지만 많은 분 들게 감사드리고 저의 보답은 앞으로의 성장으로 보여드리겠습니다. 다시 한 번 감사드립니다.

2019년 8 월 강다원 드림