

제주마의 혈청단백질 유전적 다형현상

신진아, 김상휘*, 김영훈*, 전창익*, 이경갑¹

제주대학교 농과대학 수의학과, 축산진흥원*

Genetic Polymorphism of Serum Protein in Horses on Cheju

Shin, J. A., S. H. Kim*, Y. H. Kim*, C. I. Chun*, K. K. Lee¹

Dept. of Veterinary Medicine, College of Agriculture,
Cheju National University, Cheju, Republic of Korea, 690-756,

*Cheju Institute for Livestock Promotion nohyong-dong,
Cheju, Republic of Korea, 315-7.

Abstract

To investigate the genetic polymorphism of serum protein of the horses on Cheju, we assigned horses for three populations, they were Cheju-native horses 40herds, which were precious natural monuments, Cheju-racing horses 55herds in Cheju Racing Association and Thoroughbred horses 46herds.

We analyzed the phenotypes and allelic frequencies of serum protein in three populations in Alb, Es, A1B, Tf loci by using a polyacrylamide gel electrophoresis.

In albumin locus, it was identified that it is controlled by 2 codominant autosomal alleles A and B, The phenotypes and allelic frequencies of serum protein were Alb^A=0.325, Alb^B=0.675 in Cheju-native horses, Alb^A=0.473, Alb^B=0.527 in Cheju-racing horses, Alb^A=0.139, Alb^B=0.860 in Thoroughbreds. In vitamin D binding protein locus, The phenotype of FF was observed in 100% in Cheju-native horses, 98.1% in Cheju-racing horses and 86.9% in Thoroughbreds. The phenotype of FS, SS was not observed in Cheju-native horses. Phenotype SS was not observed in all tested population. In Esterase locus, overall, the frequency of

1 Corresponding author.

phenotype II was high. In Thoroughbreds, phenotype II was the highest in all tested populations. The gene frequencies of the separate populations were $E_s^F=0.337$, $E_s^I=0.662$, $E_s^S=0$ in Cheju-native horses, $E_s^F=0.309$, $E_s^I=0.581$, $E_s^S=0.109$ in Cheju-racing horses and $E_s^F=0.097$, $E_s^I=0.815$, $E_s^S=0.086$ in Thoroughbreds. In glycoprotein locus, Phenotype KK was observed 100% in all tested populations. In transferrin locus, Tf^{F1} was nonexistent in Cheju-native horses, but in Thoroughbreds was the quantitative preponderance among all breeds. The frequencies of the separate alleles D, F1, F2, H2, O and R were 0.1, 0, 0.428, 0.014, 0.314 and 0.142 in Cheju-native horses, 0.16, 0.05, 0.41, 0.04, 0.06, 0.28 in Cheju-racing horses, and 0.365, 0.310, 0.229, 0.013, 0.081 and 0 in Thoroughbreds.

Key words : Cheju-native horse, Cheju-racing horse, Thoroughbred, phenotype, allelic frequency, locus, Polyacrylamide gel electrophoresis, Albumin, Vitamin-D binding protein, Esterase, Glycoprotein, Transferrin.

I. 서 론

한국의 재래마로 대표되는 제주마는 제주도 지역의 기후풍토에 순화, 적응하면서 고유한 유전적 특성을 소유하게 되었다. 근년에 이르러 외국으로부터 도입된 개량종과 교잡에 의한 잡종화가 이루어지고 있다. 혈통정립과 유지를 위해 과거에는 체위에 따른 연구로 진행되어 왔으나(1985, 강; 1986, 강 등; 1990, 제주대학교아라문화연구소; 1991, 정 등), 단백질은 종, 품종, 계통 및 개체간에 현저한 차이가 존재한다는 사실로서 유전형질관련 연구가 계속 되어오고 있는 중이다(1993, 한 등).

혈청단백질을 포함한 모든 단백질은 유전자에 의해서 Coding되며 일정한 매체에서 전기영동될 때 Peptide chain의

Terminal chain이 하전량과 이동도가 다르기 때문에 그 표현형의 다양성에 의해 서 유전자 변이도를 간접적으로 이해할 수 있는 것이다. 혈액단백질형중에서 전기 영동을 통해 다형적으로 보고된 Albumin, Transferrin, Glycoprotein, Hemoglobin, 6-Phosphogluconate dehydrogenase, Esterase의 유전형이 있다(1990, 제주도 지회; 1985, 제주대학교농과대학축산문제 연구소). Albumin의 표현형은 대립유전자 Alb^A , Alb^B 에 의해 지배되고, 아시아지역 말은 유럽(Arab, Angro-arab과 Thoroughbred) 품종과 유전적 차이가 있음이 보고되었다(1976, Nozawa 등). Glycoprotein은 F, K, S의 3개 유전자 이동도 차이에 의해 동정되어지고, Thoroughbred, Arabian, Anglo-arabian 경주마에 있어서 유전적 변이가 검출됨이 보고되었고

(1974, Podiachouk), Bowling과 Clark 역시 미국내 품종간에 대한 유전적다형분석과 각 품종간 대립유전자의 빈도가 차이 있음을 보고하였다. Esterase는 Thoroughbred 종에서 다형 변이가 다양하지 않지만, 재래종 말에서는 상당히 복잡한 다형이 있다는 보고가 있다. Es F, I, S의 세 개의 대립인자에 의해 지배된다. Transferrin은 Fe을 결합하여 운반하는 혈장중의 유일한 단백질이며, β -globulin에 속한다. 이동도 차이에 따라 D, F1, F2, F3, G, H1, H2, J, M, O, R의 11개 대립유전자가 확인되었다. 종에 따라 Thoroughbred 와 외국 종의 조랑말의 표현형이 차이가 있음이 보고되었다(1985, Michinari Yokohama 등).

국내에서도 제주재래마의 유전자 빈도에 대한 보고는 있지만(백혈구효소-1993, 한 등; 혈청단백질-1995, 한 등), 제주재래마에 대한 교잡마와 개량마의 다른 단백질 유전적 다형현상에 대해서 연구된 바가 없어, Thoroughbred와 제주경주마의 혈액단백질 연구가 요구되어진다.

본 연구는 제주재래마와 제주경주마, Thoroughbred에서 유전적 지배를 많이 받고 있는 혈액단백질중에서 변이가 다양하게 나타나는 Albumin, Vitamin D binding protein, Esterase, Glycoprotein, Transferrin의 표현형과 대립유전인자 빈도를 조사함으로써 제주마의 혈액유전형의 상태를 알아낸다.

II. 재료 및 방법

1) 공시동물

천연기념물 제주재래마 40두, 제주경마장의 경주마 55두, 육성목장의 Thoroughbred 46두를 공시하였다.

2) Sampling

경정맥에서 10ml씩 채혈하여, 혈청은 원심분리에 의해 분리하여 -72°C에 냉동보관하여 시료로 사용하였다.

3) 전기영동

Polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE)를 이용하여, 혈청단백질을 분석하였다.

Gel - Acrylamide, bisacrylamide, Tris, TEMED, 2-Mercaptoethanol, Ammonium persulfate로 12%, 4%, 8%.

Gel buffer - Tris, boric acid.

Staining - Es staining, Protein staining.

Destaining - Methanol, acetic acid.

gel은 4%, 8%, 12%농도로 하고, gel위에 시료 paper를 loading하여, pH9.0 Tris-boric acid electrode buffer를 이용하여, 처음 8분 동안 1200V, 30mA상에서 영동한 후, paper를 제거하고, 1200V, 50W에서 약 6시간동안 영동 시켰다. 염색은 Esterase 염색액으로 0.05M Citric acid, 0.19M Tris, 1% α -Naphthyl acetate

와 Fast blue B salt 혼합용액을 사용하였고, 나머지는 CBB-G로 염색하고, Methanol-Acetic 용액으로 탈색하였다.

III. 결 과

1) Albumin(Alb) 좌위의 유전적 다형 현상

a. Albumin 좌위의 표현형 분류

Albumin zone은 가장 빠른 이동도를 지니며, 이동도가 빠른 AA형, 이동도가 느린 BB형, 양쪽의 band를 모두 소유한 AB형의 표현형이 분류되었고, Alb^A, Alb^B의 대립유전자에 의해 지배됨을 확인 할 수 있었다.

b. Albumin(Alb) 좌위의 표현형 출현빈도 및 유전자빈도

Table 1. Phenotypes and gene frequencies of Alb locus

	Genotype	No. of animal	Gene frequencies
Cheju-native horses	AA	0.15 (6)	0.325
	AB	0.35 (14)	
	BB	0.5 (20)	0.675
	total	n=40	
Cheju-racing horses	AA	0.236 (13)	0.473
	AB	0.472 (26)	
	BB	0.290 (16)	0.527
	total	n=55	
Thorough-breds	AA	0.023 (1)	0.139
	AB	0.232 (10)	
	BB	0.744 (32)	0.860
	total	n=43	

이동도가 가장 빠른 AA형의 출현빈도는 제주경주마가 23.6%로, Thoroughbred 2.3%, 제주재래마 15% 보다 높은 출현빈도를 나타내었고, 가장 느린 BB형의 빈도는 Thoroughbred가 74.4%로 가장 높은 빈도를 나타내었다. 중간형인 AB형은 제주경주마에서 47.2%로 가장 높은 경향을 나타내었다. 제주재래마의 유전자빈도는 AlbA=0.325, AlbB=0.675, 제주경주마는 AlbA=0.473, AlbB=0.527이고, Thoroughbred는 AlbA=0.139, AlbB=0.860로 나타났다.

2) Vitamin D binding protein (Gc) 좌위의 유전적 다형 현상

a. Gc 좌위의 표현형 분류

이동도가 빠른 FF형, 이동도가 느린 SS형, 양쪽 band를 모두 소유한 FS형으로 분류된다.

Gc는 F, S의 대립유전자에 의해 지배됨을 확인할 수 있었다.

b. Gc 좌위의 표현형 출현빈도 및 유전자빈도

제주재래마의 Gc표현형의 출현빈도는 FF형이 100%를 나타내었고, 제주경주마는 FF형이 98.1%가 나타났고, FS형이 1.8%를 나타내었고, Thoroughbred는 FF형이 86.9%, FS형은 13%를 나타내었다. 제주재래마의 유전자빈도는 Gc^F=1, Gc^S=0, 제주경주마는 Gc^F=0.990, Gc^S=0.001 그리고 Thoroughbred는 Gc^F=0.934, Gc^S=0.065로 나타났다.

Table 2. Phenotypes and gene frequencies of Gc locus

	Genotype	No. of animal	Gene frequencies
Cheju-native horses	FF	1 (40)	1
	FS	0	
	SS	0	0
total		n=40	
Cheju-racing horses	FF	0.981 (54)	0.990
	FS	0.018 (1)	
	SS	0	0.001
total		n=55	
Thoroughbreds	FF	0.869 (40)	0.934
	FS	0.130 (1)	
	SS	0	0.065
total		n=41	

3) Esterase(Es) 좌위의 유전적 다형 현상

a. Es 좌위의 표현형분류

Es는 F, I, S의 대립유전자에 의해 지배됨을 확인할 수 있다. FF, II, SS, FI, IS, FS형의 표현형으로 분류된다.

b. Es 좌위의 표현형 출현빈도 및 유전자빈도

Es 표현형빈도는 모든 종에서 II형이 제일 높은 출현빈도를 나타내었다. 그 중 Thoroughbred가 65.2%로 가장 높은 검출률을 보였다. 제주재래마의 유전자빈도는 $Es^F=0.337$, $Es^I=0.662$, 제주경주마는 $Es^F=0.309$, $Es^I=0.581$, $Es^S=0.109$ 그리고

Table 3. Phenotypes and gene frequencies of Es locus

	Genotype	No. of animal	Gene frequencies
Cheju-native horses	FF	0.131 (5)	0.337
	II	0.447(17)	0.662
	SS	0	0
	FI	0.394(15)	
	IS	0	
total		n=40	
Cheju-racing horses	FF	0.2 (11)	0.309
	II	0.436(24)	0.581
	SS	0.018 (1)	0.109
	FI	0.163 (9)	
	IS	0.127 (7)	
total		n=55	
Thoroughbreds	FF	0.021 (1)	0.097
	II	0.652(30)	0.815
	SS	0 (0)	0.086
	FI	0.152 (7)	
	IS	0.173 (8)	
total		n=46	

Thoroughbred는 $Es^F=0.097$, $Es^I=0.815$, $Es^S=0.086$ 로 나타났다.

4) Glycoprotein (A1B) 좌위의 유전자 다형 현상

a. A1B 좌위의 표현형 분류

F, K, S 3개의 대립유전자에 의해 이동도 차이에 의해 동정된다.

b. A1B 좌위의 표현형 출현빈도 및 유전자빈도

3집단 모두 KK형 100%를 나타냈고, 역시 유전자빈도수가 A1B^K=1을 나타내었다.

5) Transferrin 좌위의 유전자 다양현상

a. Tf 좌위의 표현형분류

D, F1, F2, F3, G, H1, H2, J, M, O 및 R의 대립유전자로 여러 가지 표현형이 분류되어진다.

b. Tf 좌위의 표현형 출현빈도 및 유전자빈도

여러 종류의 표현형이 나타났다. 그 중 Tf^{F1}는 제주재래마에서 관찰되지 않았지만, Thoroughbred에서는 공시마중에 가장 많은 빈도수를 나타내었다.

IV. 고 칠

Albumin(Alb)유전형은 전체적으로 Alb^B형의 유전자빈도가 높게 나타났다. 제주재래마의 유전자빈도분석결과는 오 등¹¹⁾의 성적과 유사한 결과로 나타났다. 한 등¹⁶⁾에 의해 조사된 제주재래마 분석치는 오히려 제주경주마(Alb^A=0.473, Alb^B=0.527)와 비슷한 경향을 보였다. Thoroughbred의 유전자빈도 분석결과, Bowling 등²⁾에 의해 조사된 결과와 유사한 비슷한 검출율

Table 4. Phenotypes and gene frequencies of Tf locus

	Genotype	No. of animal	Gene frequencies
Cheju-native horses	R	0.057 (2)	
	F ₂	0.142 (5)	D=0.1
	F ₂ O	0.257 (9)	F1=0
	F ₂ R	0.171 (6)	F2=0.428
	O	0.171 (6)	H2=0.014
	H ₂ O	0.028 (1)	O=0.314
Cheju-native horses	DF ₂	0.142 (5)	R=0.142
	D	0.028 (1)	
		total n=35	
Cheju-racing horses	F ₂ O	0.094 (5)	
	DF ₂	0.169 (9)	D=0.16
	F ₂	0.113 (6)	F1=0.05
	F ₂ R	0.245 (13)	F2=0.41
	F ₁ R	0.056 (3)	H2=0.04
	OR	0.018 (1)	O=0.06
	F ₁ F ₂	0.037 (2)	R=0.28
	H ₂ R	0.037 (2)	
	DR	0.056 (3)	
	D	0.018 (1)	
Thoroughbreds	R	0.056 (3)	
	DH ₂	0.037 (2)	
	total n=50		
	F ₁	0.108 (4)	
	DF ₁	0.216 (8)	
Thoroughbreds	F ₁ F ₂	0.135 (5)	D=0.365
	D	0.189 (7)	F1=0.310
	F ₂ O	0.027 (1)	F2=0.229
	F ₁ O	0.054 (2)	H2=0.013
	DF ₂	0.108 (4)	O=0.081
	DO	0.027 (1)	R=0
	F ₂ H ₂	0.027 (1)	
	F ₂	0.081 (3)	
	O	0.027 (1)	
	total n=46		

을 보였고, Alb^B형 유전자빈도수가 Alb^A형보다 월등히 높음을 재확인할 수 있었다.

Vitamin D binding protein (Gc)의 표현형에서 제주재래마는 KK형이 100%로 SS형과 FS형은 관찰되지 않았다. 3집단 모두 거의 100%에 가까운 결과를 나타내었다.

Esterase(Es)의 분석결과로, 제주재래마에서는 Es^S=0으로, FS형, SS형이 검출되지 않았다. 이는 오 등¹¹⁾에 의해 조사된 결과와도 일치하였다. Thoroughbred는 표현형 II형이 65.2%로 3집단중 가장 높은 검출률을 나타내었으며, Es^S=0.086으로, 표현형 SS형과 FS형이 검출되지 않았다. 제주재래마의 Es유전형은 오 등¹¹⁾의 제주재래마 분석결과와 유사한 반면, 한 등¹⁶⁾에 의한 제주재래마분석결과, Es^I형, Es^S형이 차이가 있음을 발견하게 되었고, 이것은 제주경주마와 유사한 결과를 나타내었다. Es^S는 4대에 걸쳐 한 마리 또는 두 마리 같은 선조의 후손에서 나오는 변이라고 보고되어있다⁴⁾. 이로보아 제주경주마의 Es^S의 존재는 타종종과 오랫동안 교잡이 이루어졌다는 것으로 시사된다.

Transferrin은 여러 표현형이 나타났다. 그 중 F형은 F1과 F2로 나뉘어지고, 그 빈도수는 종에 따라 달라짐이 관찰되었다. Thoroughbred 경우는 F1과 F2 모두 지니고있고, 그 중 F1이 높은 빈도수를 나타내었으며, 그 반면 제주재래마에서는 F1 유전형이 관찰되지 않았다. F1 유전자는 교잡마에서 발견된다는 보고로⁴⁾, 제주경주마의 Tf^{F1}=0.05의 수치는 교잡에 의해서 나타난 것으로 시사된다.

Thoroughbred 경우 K. Bell³⁾의 결과와 비슷하였다. 온혈종인 경우, DF와 FF표현형이 가장 많이 관찰된다고 보고된바⁵⁾ 있다. 온혈종인 Thoroughbred 유전자빈도수를 보면, Tf^D=0.365, Tf^{F1}=0.310, Tf^{F2}=0.229로, 다른 유전형보다 높게 검출됨을 관찰 할 수가 있다.

분석된 결과를 기준으로, 제주재래마, 제주경주마 및 Thoroughbred는 각각의 유전자빈도수를 나타냄으로 다른 집단을 구성한다는 것을 알 수 있었다.

V. 결 론

제주도내 사육되고 있는 제주재래마, 제주경주마, Thoroughbred의 혈청단백질 Albumin, Vitamin D binding, Esterase, Glycoprotein, Transferrin의 유전적표현형과 빈도수를 polyacrylamide gel electrophoresis를 이용하여 조사하였다.

1. Albumin 좌위에서, 표현형 AA형의 출현빈도는 제주경주마가 23.6%로 높은 출현빈도를 나타내었고, 표현형 BB형의 빈도는 Thoroughbred가 74.4%로 가장 높은 빈도를 나타내었다. 중간형인 AB형은 제주경주마에서 47.2%로 가장 높은 경향을 나타내었다. 제주재래마의 유전자빈도는 Alb^A=0.325, Alb^B=0.675, 제주경주마는 Alb^A=0.473, Alb^B=0.527이고, Thoroughbred는 Alb^A=0.139, Alb^B=0.860로 나타났다.

2. Vitamin D binding protein 좌위에서, 제주재래마의 Gc표현형의 출현빈도

는 FF형이 100%를 나타내었고, 제주경주마는 FF형이 98.1%가 나타났고, FS형이 1.8%를 나타내었고, Thoroughbred는 FF형이 86.9%, FS형은 13%를 나타내었다. 제주재래마의 유전자빈도는 $Gc^F=1$, $Gc^S=0$, 제주경주마는 $Gc^F=0.990$, $Gc^S=0.001$ 그리고 Thoroughbred는 $Gc^F=0.934$, $Gc^S=0.065$ 로 나타났다.

3. Esterase 좌위에서, 모든 종에서 II형이 제일 높은 출현빈도를 나타내었다. 제주재래마의 유전자빈도는 $Es^F=0.337$, $Es^I=0.662$, 제주경주마는 $Es^F=0.309$, $Es^I=0.581$, $Es^S=0.109$ 그리고 Thoroughbred는 $Es^F=0.097$, $Es^I=0.815$, $Es^S=0.086$ 로 나타났다.

4. Glycoprotein 좌위에서, 3집단 모두 KK형 100%를 나타냈다.

5. Transferrin 좌위에서, 여러 종류의 표현형이 나타났다. 그 중 Tf^{F1} 는 제주재래마에서 관찰되지 않았다.

VI. 참고문헌

- Ann T. Bowling, 1997. Horse Genetics, University press, Cambridge. p 1, 82-84
- Ann Trommershausen Bowling and Robert S. Clark. 1985. Blood group and protein polymorphism gene frequencies for seven breeds of horses in the United States. *Animal Blood Groups and Biochemical Genetics*. 16:93-108
- K. Bell, C. C. Politt, S. D. Patterson. 1988. Subdivision of equine Tf into H_1 and H_2 . *Animal Genetics*. 19:177~183.
- Marie Kaminski, Damian F, de Andres Cara. 1985. Electrophoretic markers of andalusian horse: comparison of panish and lusitanian lineages. *Comp Biochem Physiol*. 83B(3):575~588.
- Michinari Yokohama, Yasuko Watanabe, Kazushige Mogi. 1984. A new equine transferrin phenotype detected by iso-electric focusing. *Jpn J Zootech Sci*. 56(2):116~121.
- Michinari Yokohama, Yasuko Watanabe, Hitoshi Gawahara et al. 1987. Horizontal Polyacrylamide gel electrophoresis for equine serum protein types. *ABRI*. 15:22~27
- W. Putt, D. B. Whitehouse. 1983. Genetics of four plasma protein loci in *Equus przewalskii*: new alleles at the prealbumin, postalbumin and transferrin loci. *Animal Blood Groups Biochemical Genetics* 14: 7~16.
- 강민수. 1990. 제주도의 미래상을 위한 오늘의 과제-제주마의 체위에 있어 각부위간 상관에 관한 연구. 제주대학교 아라문화연구소
- 김동철, 이희석, 김중계, 이현종, 고창완, 문성호, 오운용. 1988. 제주한우 교잡종의 혈청단백 유전적 변이 규명에 관한 연구. 축산논총. 제3호: 33-40.

10. 양영훈, 정창조, 이현종, 강태숙. 1991. 제주재래마 혈통정립 및 혈통등록을 위한 조사연구-II. 제주재래마의 체위측정치에 대한 혈통등급의 고정효과. 한국축산학회지. 33(6) 438- 443.
11. 오문유, 고미희, 김기옥, 김세재, 정창조, 김규일. 1992. 제주도 재래종말에서 혈액 단백질의 유전적 변이에 관한 연구. 한국유전학회. 14-1:39-50.
12. 정창조, 양영훈, 김중규, 강민수. 1991. 제주재래마 혈통정립 및 혈통등록을 위한 조사연구-I. 제주마의 지역별, 성별, 연령별 체형측정치. 33(6) 418-422.
13. 제주대학교 농과대학 축산문제연구소. 1985. 제주마의 혈통정립 및 보존에 관한 연구-IV. 혈청단백의 유전적 변이
14. 축산농협협동조합중앙회(제주도지회). 1990. 제주재래마 혈통정립 및 혈통등록을 위한 조사연구 II
15. 한상기, 정의룡, 강희일. 1990. 경주마의 혈액형에 관한 연구. 한국축산학회지. 32(2): 61-65.
16. 한상기, 정의룡, 신유철, 변희대. 1995. 제주재래마의 보존을 위한 혈청단백질 및 효소의 유전적 다형현상. 한국축산학회지. 37(1):52~48.