



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

제주도 종돈집단에 있어서 *Estrogen receptor*
(ESR) gene과 *Properdin* (BF) gene의
유전자형이 산자수에 미치는 영향



濟州大學校 大學院

動物資源科學科

金 忠 南

2007年 1月

제주도 종돈집단에 있어서 *Estrogen receptor*
(ESR) gene과 *Properdin* (BF) gene의
유전자형이 산자수에 미치는 영향

指導教授 梁 榮 勳

金 忠 南

이 論文을 農學 碩士學位 論文으로 提出함

2007년 1월

金忠南의 農學 碩士學位 論文을 認准함

審査委員長 _____ ①

委 員 _____ ①

委 員 _____ ①

濟州大學校 大學院

2007年 1月

Effects of *Estrogen receptor*(ESR) and
Properdin(BF) genotypes on litter size of
pig breeder population in Jeju Institute

Chung-Nam Kim

(Supervised by professor Young-Hoon Yang)

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL
FULLFILLMENT OF THE REQUIREMENTS FOR THE
DEGREE OF MASTER OF AGRICULTURE

2007. 1.

THIS THESIS HAS BEEN EXAMINED AND APPROVED

DEPARTMENT OF ANIMAL BIOTECHNOLOGY

GRADUATE SCHOOL

CHEJU NATIONAL UNIVERSITY

목 차

I. 서 론	4
II. 연구사	6
1. ESR 유전자	6
2. BF 유전자	8
III. 재료 및 방법	10
1. 실험동물	10
2. 혈액 또는 모근으로부터 Genomic DNA 추출	10
3. ESR gene과 BF gene의 PCR을 위한 Primer 제작	11
4. PCR 반응조건 설정	11
5. PCR-RFLP(Restriction Fragment Length Polymorphism)	12
6. 통계분석	12
IV. 결과 및 고찰.....	13
V. 요약	22
ABSTRACT	23
참고문헌	25

I. 서론

돼지에 있어서 산자수는 번식능력에서 가장 중요한 경제형질로 취급되어 왔다 (Vincent 등, 1998). 관행적으로 종돈생산업자들은 산자수를 늘리기 위해 통계유전학적 방법으로 선발 개량해왔다. 하지만 전통적인 선발 방법은 형질의 발현에 근거한 선발이어서 형질측정에 많은 시간과 비용이 소요되었다. 최근 분자유전학적인 방법인 Marker-assisted selection(MAS)을 통하면 중요한 형질의 개량에 보다 효과적으로 선발이 가능한 것으로 소개되고 있다(Buske 등, 2005).

최근 번식형질과 관련된 몇몇의 후보 유전자가 보고되었는데(Kirkpatrick, 2002), 그 중에서 ESR(estrogen receptor)의 *Pvu*II RFLP(restriction fragment length polymorphism) (Rothschild 등, 1991)과 BF(properdin)의 *Sma* I RFLP (Jiang and Gibson, 1998)에 의한 유전자형이 산자수와 관련된 후보유전자로 보고된 바 있다.

최근 연구보고에 의하면 ESR gene의 경우 유전자형에 따른 산자수가 0.5 ~ 1두의 차이를 보였고(Horogh 등, 2005), BF gene의 경우에는 2 ~ 2.5두의 차이가 있는 것으로 보고되었다(Buske 등, 2005). 그러나 ESR gene에서는 유전자형에 따라 산자수가 다소 상반된 결과를 보고한 연구자도 있었다(Rothchild 등, 1996; Short 등, 1997; Southwood 등, 1995; Gibson 등, 2002; Van Rens 등, 2002; Rohrer 등, 1999; Drogemuller 등, 2001).

이에 본 연구는 제주도 종돈공급의 대부분을 점유하고 있는 종돈집단(축산진흥원)에서 산자수에 영향을 주는 후보인자로 알려진 ESR과 BF인자에 대하여 각 품종별 유전자 빈도를 조사하고 산자능력에 영향을 분석하여, 번식능력 향상을 위한 후보유전자로서 영향을 진단코자 한다.

II. 연구사

가축 생산에서 번식형질은 생산효율을 결정짓는 중요한 경제형질이다. 종돈업자들은 지난 수십년 동안 고능력 종모돈과 종빈돈의 교잡을 통하여 산자수를 향상시키려고 노력하였다(McLaren and Bovey, 1992; Rothschild 등, 1996). 그간 돼지에서 선발을 통한 산자수 향상에 대한 많은 연구보고가 있었다(Olliver 등, 1981; Lamberson 등, 1991; Bidanel 등, 1994). 하지만 번식형질은 낮은 유전력과 한쪽 성과 연관된 유전형질이기 때문에 선발의 효과는 제한적이었다.

생식 과정에 관련된 성호르몬과 그의 수용체 중에서 산자수에 영향을 미치는 후보유전자를 비롯한 몇몇의 번식형질에 관한 후보유전자들이 보고되었다(Rothschild 등, 1996; Kirkpatrick, 2002). 그 중에서 estrogen receptor gene(ESR) (Rothschild 등, 1991)과 properdin(BF) (Jiang and Gibson, 1998) 유전자는 많은이의 관심을 불러 일으키고 있다.

1. Estrogen receptor (ESR) 유전자

Rothschild 등(1991)은 돼지 ESR 좌위에서의 *Pvu*II polymorphism에 관한 연구에서 유전적 다양성과 관련한 돼지의 ESR 좌위를 보고하였다. Estrogen은 높은 지질 친화성 때문에 세포 내로 직접 들어가 핵 내의 estrogen receptor와 결합하게 되며 이 Estrogen-receptor 복합체는 estrogen에 반응성을 갖는 특정 유전자의 upstream에 있는 cis-acting element(enhancer 부분, ERE : estrogen responsive element)와 결합하게 된다. 이는 Downstream에 있는 특정 유전자의 발현을 유발하여 난자의 성숙, 난관, 유선의 성장 및 발달 등과 같은 생리작용에서 중요한 역할을 한다고 알려졌다(Savouret 등, 1991; Slater 등, 1991).

현재 ESR gene에서 3가지 polymorphism이 알려졌다. Rothschild 등(1991)은

Chinese 돼지계통에서 *PvuII* 제한효소를 이용한 point mutation을 확인하였는데, 이 polymorphic system을 *ESR2*(allele *C,D*)로 명명하였다. 다른 두 개의 polymorphism은 *ESR1*과 *ESR3*로 확인되었다(Drögemüller 등, 1997). Large White종에서 ESR 유전자형 간의 산자수의 차이에 대하여 여러 보고가 있었다(Rothschild 등, 1995; Rothschild 등, 1996; Short 등, 1997).

Short 등(1997)은 4가지 Large White계통의 모돈 4,262두의 9,015복을 대상으로 ESR gene의 인자형이 성장과 번식에 대한 영향을 조사하였다. 그들은 B 인자가 총산자수(TNB, total number of born)과 생자수(NBA, number of born alive)에서 1산차 일 때 0.42두와 0.39두, 2산차 이후에서는 0.31두와 0.31두의 상가적 효과로 A인자보다 높은 산자수를 확인하였다. 또한 B인자는 A인자에 비해 등지방 두께에서는 1.1mm의 감소 효과를 보였고 일당증체량과 사료효율에서는 효과가 없었지만, 일일사료소비량에서는 18g이 감소하는 효과를 보였다고 하였으며, 평균 젖꼭지수에서는 0.05개 더 적었다고 하였다. 이 결과는 Large White에 기초한 계통에서 ESR 인자형을 이용한 Marker-assisted selection(MAS)가 산자수를 올리는데 효과적인 선발방법으로 이용될 수 있는 가능성을 보여주는 것이다.

Rothschild 등(1996)은 Meishan 합성 계통과 European 합성 계통이 1산차에서 BB 유전자형이 AA 유전자형에 비해 산자수가 각각 2.3두 및 1.2두 많은 것으로 보고한 바 있다

Horogh 등(2005)은 Hungarian Large White종 226두 869복으로 ESR-RFLP를 조사하였는데, BB 유전자형이 1산차와 2산 이후의 산차에 대해 생산자수, 총산자수, 이유두수에서 AB나 AA형보다 능력이 우수하다고 보고한 바 있다.

한편 위와는 대조적으로 Goliášová 등(2004)은 Czech Large White종 1,250두 3,600복에 대한 ESR-RFLP를 조사하였는데, ESR locus는 1산차와 그 이후 산차의 평균에서 A인자가 B인자보다 다산성에 유효하다고 하였으며, 1산차에서 AA형 개체들은 BB형보다 약 0.5두의 복당 생자수가 많다고 하였다. 총산자수와 이유두수는 생자수의 결과와 비슷하였다. 이유시 동복 체중에서는 ESR locus의 상가적 효과가 관찰되지 않았으나 AA 유전자형에서는 우성효과로 1.5kg이 감소하는 경향을 전 산차에 걸쳐 보였다고 하였다. 이 형질에 대해서는 AB형 개체의

능력과 BB형의 능력이 비슷하였다.

Isler 등(2002)은 Yorkshire, Large White 및 교잡종 집단에서의 ESR 유전자형에 따른 번식 능력은 AA 유전자형이 BB 유전자형보다 복당생시체중에서 약 1kg 무거웠지만, 산자수에는 차이가 없었다고 하였다.

Gibson 등(2002)은 Meishan×Large White F₂집단에서의 모돈의 번식형질들이 ESR RFLP에서 통계적인 유의차를 보이지 못했다고 보고하였다. 또한 산자수에 대한 효과를 추정하였지만, 선행연구와는 대조적으로 나타났다고 보고하였다. 그는 이 결과를 다른 선행 연구들과 비교하여 산자수에 관련된 유전자나 유전자를 제어하는 것이 집단에 따라 연관성의 정도가 달라서 나타나기 때문으로 추측하였다.

2. Properdin(BF) 유전자

특정형질의 좌위를 찾기 위해서는 일반적으로 양적형질 연관좌위분석(quantitative trait loci, QTL)과 후보유전자 조사법(candidate gene approach) 두 가지 방법이 이용된다(Rothschild 등, 2000). 돼지에서 몇몇의 번식형질과 관련된 QTL의 위치는 이미 알려졌는데, 자궁경의 길이, 배란율, 산자수에 관련된 QTL은 돼지 7번 염색체의 중심립 근처에 있다. 그러나 아직까지 이 염색체에서 어떤 유전자가 산자수에 영향을 주는지 밝혀지지 않았다.

Properdin은 자궁상피의 성장이나 마우스에서 다른 유전자와 결합하여 산자수 등의 번식형질에 있어서 생리학적으로 중요한 기능을 하기 때문에(Hasty 등, 1993; Matsumoto 등, 1997), 돼지에서 properdin (BF)는 산자수에 대한 후보유전자로 주목 받고 있다.

Buske 등(2005)은 잡종 모돈 집단에서 BF gene과 산자수에 관한 영향을 조사 보고한 바 있다. 그들은 (Large White × Landrace) × Leicoma F₂ 123두의 모돈에 대하여 PCR-RFLP방법으로 BF인자형을 조사하기 위하여 모돈을 2종류의 집단 즉, 산자수가 높은 집단(n=61, ≥14.3)과 산자수가 낮은 집단(n=62, ≤11.3)으

로 나누었다. 전체 집단에서 유전자형 빈도 AA형은 0.02, AB형은 0.16, BB형은 0.81이었고, 인자 빈도는 A인자가 0.11, B인자가 0.89로 나타나 A 인자가 열성으로 도태되어 출현빈도가 적어지게 되었음을 보고하였고, 총산자수와 생자수에서 BF 유전자형에 따른 효과가 확인되었다고 하였다. 그들의 보고에 의하면 AA유전자형은 총산자수가 10.55두, 생자수가 10.00두 였고, BB형은 총산자수가 13.19두, 생자수가 12.11두로 BB형이 AA형보다 우수하다고 하였으며, AB 유전자형은 중간정도의 능력을 나타내었다고 하였다.



Ⅲ. 재료 및 방법

1. 실험동물

공시축군은 제주도내 종돈집단(축산진흥원)의 랜드레이스 86두, 요크셔 122두, 듀록 60두, 제주재래돈 26두를 대상으로 조사하였다. 총 294두 종빈돈에서 분만 복은 1,236복이었고, 2산차 미만의 모돈은 분석에서 제외시켰다.

2. 혈액 또는 모근으로부터 Genomic DNA 추출

1) 혈액에서의 DNA 추출

혈액에서의 DNA 추출은 Miller 등(1988)의 방법에 따라 이루어졌다.

혈액 1ml을 1.5ml 튜브에 넣은 후 Lysis buffer(155mM NH_4Cl , 10mM KHCO_3 , 10mM Na_2EDTA)를 넣고 원심분리(1,500×g, 10분)시키면서 백색 백혈구 펠렛을 형성한다. 펠렛이 형성되면 Extraction buffer(10mM Tris-HCl, 400mM NaCl, 2mM Na_2EDTA , pH8.0)로 부유시킨 후, 10% SDS 50 μl , Proteinase K solution (20mg/ml) 10 μl 를 넣고 50°C Shaking Incubator에서 소화시킨다. 소화가 완료되면 6M NaCl을 첨가하여 균질화 혼합물이 되도록 강하게 흔들어준 후 상온에서 5분간 방치 후 원심분리(5,000×g, 20분)시킨다. 부유물만 새로운 1.5ml 튜브에 덜어낸 후 -20°C 에탄올을 부유물의 2배 넣고 튜브를 상하반전시키면서 DNA가 응축되는 것을 확인 후 원심분리(10,000×g, 4°C, 10분)시킨다. 에탄올을 버리고 70% 에탄올 1ml을 넣고 vortexing하여 다시 원심분리(10,000×g, 4°C, 10분)시킨다. 에탄올을 버리고 LTE buffer(10mM Tris-HCl,

0.2mM Na₂EDTA. pH8.0) 100 μ l로 DNA가 용해될 때까지 부드럽게 교반한다.
자외선 분광광도계를 이용하여 DNA를 정량한 후 실험에 이용하였다.

2) 모근에서의 DNA추출

혈액표본 입수가 어려운 개체들은 10여개의 모근으로부터 Genomic DNA Extraction kit(Bioneer, Korea)를 이용 추출하였다.

3. ESR gene과 BF gene의 PCR을 위한 Primer 제작

1) ESR gene은 Short 등(1997)에 따라 제작·이용하였다.

ESR forward 5' CCT GTT TTT ACA GTG ACT TTT ACA GAG 3'
reverse 5' CAC TTC GAG GGT CAG TCC AAT TAG 3'

2) BF gene은 Jiang & Gibson (1998)에 따라 제작·이용하였다.

BF forward 5' ACT GCT ATG ACG GTT ACA CTC TCC G 3'
reverse 5' TCC AAG AGC CAC CTT CCT GG 3'

4. PCR 반응조건 설정

20 μ l의 총 반응액에 100ng genomic DNA, 5pM primer, 0.25mM dNTP, 10x reaction buffer(with MgCl₂), 1U Taq polymerase(Bioneer, Korea)로 PCR 시켰다.

1) ESR gene은 Short 등(1997)의 방법과 비슷하게 94 $^{\circ}$ C에서 4분간 denature시

키고, 31 cycle (94°C for 1min, 55°C for 1min, 70°C for 1min)시킨 후, 70°C에서 8분간 extension시킨다.

2) BF gene은 Jiang & Gibson(1998)의 방법과 비슷하게 94°C에서 2분간 denature시키고, 30 cycle (92°C for 30s, 55°C for 30s, 72°C for 50s)시킨 후, 72°C에서 5분간 extension시킨다.

5. PCR-RFLP

1) ESR gene은 PCR product 10 μ l에 2 μ l 10x M buffer(Takara, Japan), 1 μ l *Pvu*II (5U), 7.5 μ l 증류수를 넣고 37°C에서 2시간 소화시킨다. 4% agarose gel(containing ethidium bromide)에서 전기영동 후, UV에서 관찰한다. 유전자형은 AA(120bp), AB(120, 55, 65bp), BB(55, 65bp)로 정의한다(Short 등, 1997).

제한효소 인식부위와 mutation point는 다음과 같다(홍 등, 2000).

CCTGTTTTTA CAGTGACTTT TACAGAGTAT ATCTAAAGAT
forward primer

GCAGAATCAA GTTTTATGAG ACCAG↓CTGTC TTGTCAAGTC
A

CCCATTCAC CCTATTCTAA TTGGACTGAC CCTCGAAGTG
reverse primer

2) BF gene은 PCR product 10 μ l에 2 μ l 10x T buffer(Takara, Japan), 2 μ l 0.1% BSA, 1 μ l *Sma* I (5U), 5 μ l 증류수를 넣고 30°C에서 3시간 소화시킨다. 1.5% agarose gel(containing ethidium bromide)에서 전기영동 후, UV에서 관찰한다. 유전자형은 AA(237, 153bp), AB(390, 237, 153bp), BB(390bp)로 정의한다(Jiang & Gibson, 1998).

제한효소 인식부위와 mutation point는 다음과 같다.

GenBank Accession : M59240 (195-584)

ACTGCTATGA CGGTTACT CTCCGGGGCT CTGCCAATCG
forward primer

CACCTGCCAA GTGACTGGTC GGTGGGATGG GCAAACGGCC
ATCTGCGATG ATGGAGGTGA GAAGCATTGC CTCCTCCCAC
GATAGTACCC TCTCCCTGGC CGCCCCTCAG CCC↓GGGGAAC
A

TGGCAGCGTA CGACGTATGT CTGCCCTCGC CCTTCCGGCC
TCAGGCTTTG GCCTCATCTC CATGTCTCAT GCTTCTGCAG
CGGGGTACTG CCCGAACCCA GGCATCCCCA TTGGCACGAG
GAAGGTGGGC ACCCAGTACC GCCTTGAAGA CAGTGTCACC
TACTACTGCA CGCGAGGGCT CACCCTACGT GGCTCCCAGC
GGCGAACGTG **CCAGGAAGGT GGCTCTTGGA**
reverse primer

6. 통계 분석

유전자형이 산자수에 대한 영향은 SAS프로그램(version 9.1)에 GLM을 이용하여 분석하였으며, 통계적 분석모형은 다음과 같다.

$$Y_{ijkl} = \mu + ESR_i + BF_j + Breed_k + e_{ijkl}$$

Y_{ijkl} 은 산자수, μ 는 공통평균, ESR_i 는 ESR 유전자형 효과, BF_j 는 BF 유전자형 효과, $Breed_k$ 는 품종 효과, e_{ijkl} 는 오차.

IV. 결과 및 고찰

제주도 종돈집단에 있어서 산자수에 영향을 하는 후보인자로 알려진 ESR 및 BF 유전자에 대한 분석 결과는 다음과 같다.

분석에 이용된 종돈 집단의 산자능력에서 1산에서 6산까지의 평균 복당 총산자수는 랜드레이스 11.38두, 요크셔 11.49두, 듀록 10.54두, 제주 재래돈 7.44두로서 랜드레이스와 요크셔에 비해 듀록은 약 1두, 제주 재래돈은 약 4두 적은 것으로 나타났다(Table 1). 또한 종돈집단이어서 2산 이후의 산차에서는 매 산차별로 산자수, 포유능력, 재귀발정율 등 번식능력을 기준으로 강선발, 강도태가 이루어져 3산차 이후의 개체들의 능력을 단순히 유전자의 효과로 판단하기는 어려움이 있어 2산까지의 기록만으로 평가를 했다. 또한 5산차 이상의 개체들의 수가 작아서 평가하기에는 다소 어려움이 있다(Table 2). 산차별 총산자수는 랜드레이스와 요크셔에서는 1산에서 4산까지 증가하다가 5산 이후에 감소하는 것을 볼 수 있고, 듀록은 5산까지 증가하다가 6산 이후에 감소하며, 제주재래돈은 3산까지 증가하다가 4산 이후에 완만히 감소하는 것을 볼 수 있다(Fig 3). 제주재래돈은 집단유지를 위하여 고도의 근친번식으로 수세대를 증식한 결과 근친퇴화의 영향이 강한 것으로 사료된다.

ESR gene의 유전자형 빈도는 랜드레이스의 경우 AA형은 0.87, AB형은 0.13이고, 요크셔의 경우는 AA 0.34, AB 0.49, BB 0.17이고, 듀록의 경우는 AA 0.98, BB 0.02이고, 제주재래돈의 경우는 AA 0.77, AB 0.23으로 나타났다. 인자 빈도는 랜드레이스의 경우 A인자가 0.94, B인자가 0.06이고, 요크셔의 경우 A 0.58, B 0.42이고, 듀록의 경우 A 0.98, B 0.02이며, 제주재래돈의 경우는 A 0.89, B 0.12로 나타났다(Table 3). 요크셔종만 A인자와 B인자가 비교적 균등한 빈도를 보였고, 랜드레이스, 듀록, 제주재래돈은 평균적으로 A인자가 0.94, B인자가 0.06으로 A 인자로 치우치는 경향을 보였다. Isler 등(2002)은 인자빈도가 요크셔는 A인자 0.52, B인자 0.48이었고, Large White는 A 0.60, B 0.40으로 보고하였다.

선형모형분석에 의한 유전자형별 최소자승평균을 보면(Table 5, 6, 7), ESR

gene은 1산차 총산자수에서 AA형은 9.02두, AB형은 9.31두, BB형은 7.39두로 BB형이 AA, AB형에 비해 산자수가 약 2두 적게 나왔다($p < 0.05$). 이것은 Goliášová 등(2004)의 Czech Large White종 1,250두 3,600복에 연구에서 1산차와 그 이후 산차의 평균에서 A 인자가 B 인자보다 다산성에 유효하다고 하였으며, 1산차에서 AA형 개체들은 BB형보다 약 0.5두의 복당 생자수가 많다고 밝힌 결과와 일치하지만, Short 등(1997)의 4가지 Large White계통의 모든 4,262두의 9,015복을 대상으로 한 ESR gene의 인자형이 성장과 번식에 대한 영향을 조사하여 B 인자가 생자수에서 1산차 일 때 0.39두, 2산차 이후에서는 0.31두의 상가적 효과로 A인자보다 높은 산자수를 확인한 결과와 상반되고, 또 Rothschild 등(1996)의 Meishan 합성 계통과 European 합성 계통에 관한 연구에서 1산차에서 BB 유전자형이 AA 유전자형에 비해 산자수가 각각 2.3두 및 1.2두 많은 것으로 보고한 결과와도 상반되었다.

1산차 생자수는 총산자수와 비슷하게 BB 유전자형이 AA, AB형에 비해 산자수가 떨어지는데 유의차는 없었다($p > 0.05$). 그리고 이후 산차에서는 유전자형과 산자수와는 유의차가 없음을 확인하였다.

돼지의 산자수에 대한 ESR locus에 관한 연구에서 Large White 종에 대하여 B인자가 A인자보다 총산자수와 생자수에서 0.3 ~ 0.6두가 우수하게 보고된 바 있다(Rothschild 등, 1996; Short 등, 1997). Short 등(1997)은 약 9,000복이나 되는 많은 기록들을 가지고 분석하였고, Rothschild 등(1996)는 1,912복의 기록으로 분석을 하였다. 그러나 상대적으로 기록이 작은 논문(Southwood 등, 1995; Gibson 등, 2002; Van Rens 등, 2002)의 경우 A인자가 B인자보다 다산의 형질에서 좋은 효과를 나타냈었다. 또한 Goliášová 등(2004)도 Czech Large White종 1,250두, 3,600복에 대한 결과에서는 A인자가 B인자 보다 우수한 산자능력을 보인다고 하였다. 한편 Rohrer 등(1999)은 Meishan × White composite 다세대 교잡종 600두에서 인자간 산자수에 차이가 없었고, Drogemuller 등(2001)도 Duroc과 Large White에 기원한 합성계통 709두에서도 그 영향을 확인할 수 없었다고 하였다.

ESR gene의 polymorphism을 통한 산자수의 실제 효과는 ESR gene의 다른 부분에서의 mutation이나, 밀접하게 연관된 gene에서의 mutation에서 기인했을

수도 있으며(Van Rens & Van Der Lende, 2002), polymorphism의 효과는 품종 즉, 유전적 배경이 다른 계통과 집단에 의해 나타났을 수도 있다(Horogh 등, 2005 : Goliášová 등, 2004). 보다 구체적인 결론을 위해서는 sample size를 늘려 유전자 효과를 확인하고, ESR gene의 다른 부분에서의 mutation 확인 등 추가의 연구가 필요한 것으로 사료된다. 이와 관련하여 실험에 이용된 PCR 산물을 이용하여 SSCP(Single-Strand Conformation Polymorphism)를 확인하였는데 3가지 형태(AA, AB, BB)로 나타나서 PCR 산물 120bp내에는 추가의 mutation은 확인할 수 없었다.

BF gene의 인자 빈도는 랜드레이스의 경우 A인자가 0.11, B인자가 0.89이고, 요크셔의 경우는 A 0.08, B 0.92이고, 듀록의 경우는 A 0.16, BB 0.84이고, 제주 재래돈의 경우는 B인자가 1.00으로 되어 있다. 유전자형 빈도는 랜드레이스의 경우 AA형은 0.01, AB형은 0.19, BB형이 0.80이고, 요크셔의 경우는 AB 0.15, BB 0.17이고, 듀록의 경우는 AB 0.32, BB 0.68이고, 제주재래돈의 경우는 BB형만 출현되었다(Table 4).

BF gene의 경우에는 산자수가 인자(A, B) 또는 인자형(AA, AB, BB)간에 유의차가 없고, 유전자형빈도가 BB형으로 편중되어 있어서 유전자형에 따른 산자 능력에 대한 검토가 어려웠다. 한편 Buske 등(2005)은 인자형 빈도가 AA형은 0.02, AB형은 0.16, BB형은 0.81 나타났고, BB형이 AA형보다 총산자수에서 2.64두, 생자수에서 2.11두 많다고 분석되었으나, 염기변이가 유전자 발현기능이 없는 intron 지역이고, 어떤 원인으로 산자수와 관련되었는지는 알 수 없고, 계획 교배를 통한 자세한 연구와 MAS에 이용하기에는 충분한 검토가 필요하다고 하였다.

결론적으로 ESR이나 BF gene이 산자수에 미치는 영향은 연구보고자, 품종 및 집단에 따라 달리 보고되는 것과, 본 연구에서 ESR 또는 BF gene의 특정 유전자형이 산차에 따라 일관성있게 산자수에 유리하게 영향한다고 할 수 없는 것으로 볼 때, 본 연구에 이용된 유전자의 단일염기좌위의 돌연변이를 MAS에 이용하기에는 무리라고 생각된다. 보다 많은 자료에 의한 분석과 유전자 발현부위에 대한 염기서열 분석이 필요하다고 생각된다.

Table 1. Litter size of sows by breed and parity.

Parity	Breed					Overall
	Landrace	Yorkshire	Duroc	Jeju native pig		
1st	TNB	10.29±0.36	10.05±0.29	9.51±0.33	7.96±0.41	9.82±0.18
	NBA	9.19±0.36	9.01±0.27	7.59±0.40	6.12±0.45	8.51±0.19
2nd	TNB	11.45±0.35	11.38±0.25	10.10±0.34	7.92±0.39	10.82±0.17
	NBA	10.07±0.34	10.02±0.25	8.60±0.37	6.19±0.33	9.40±0.18
3rd	TNB	12.35±0.39	11.62±0.33	10.05±0.65	8.32±0.48	11.36±0.23
	NBA	10.16±0.31	10.70±0.40	8.64±0.55	6.55±0.31	9.80±0.22
4th	TNB	12.28±0.53	12.35±0.33	11.00±0.76	7.82±0.52	11.70±0.27
	NBA	10.69±0.35	10.40±0.43	9.29±0.62	5.41±0.58	9.89±0.27
5th	TNB	11.84±0.58	11.20±0.44	12.63±0.89	7.31±0.45	10.97±0.32
	NBA	9.57±0.43	9.95±0.55	9.75±1.42	5.69±0.54	9.17±0.32
6th	TNB	11.81±0.60	11.42±0.64	10.25±3.35	5.92±0.57	10.36±0.48
	NBA	9.19±0.42	10.48±0.52	7.25±2.02	5.38±0.59	8.72±0.37
Overall	TNB	11.38±0.31	11.49±0.23	10.54±1.39	7.44±0.28	10.57±0.26
	NBA	9.76±0.19	10.07±0.25	8.21±1.29	5.83±0.27	8.97±0.25

TNB, total number of born; NBA, number of born alive.

Table 2. Numbers of sows by parity.

Breed	Parity					
	1st	2nd	3rd	4th	5th	6th
Landrace	102	86	69	43	37	21
Yorkshire	141	122	103	78	56	26
Duroc	73	60	22	14	8	4
Jeju native pig	27	26	22	17	16	13
Overall	343	294	216	152	117	64

Table 3. Genotype and allele frequencies of ESR gene.

		Breed				Overall
		Landrace	Yorkshire	Duroc	Jeju native pig	
Genotype	AA	75 (87.2)	40 (33.6)	58 (98.3)	20 (76.9)	193 (67.9)
	AB	11 (12.8)	59 (49.6)	-	6 (23.1)	76 (26.0)
	BB	-	20 (16.8)	1 (1.7)	-	21 (7.1)
Allele	A	161 (93.6)	139 (58.4)	116 (98.3)	46 (88.5)	462 (79.7)
	B	11 (6.4)	99 (41.6)	2 (1.7)	6 (11.5)	118 (20.3)

Percentages are in parentheses.

TNB, total number of born; NBA, number of born alive.

Table 4. Genotype and allele frequencies of BF gene.

		Breed				Overall
		Landrace	Yorkshire	Duroc	Jeju native pig	
Genotype	AA	1 (1.2)	-	-	-	1 (0.3)
	AB	16 (18.6)	18 (15.1)	19 (32.2)	-	53 (18.3)
	BB	69 (80.2)	101 (84.9)	40 (67.8)	26 (100)	236 (81.4)
Allele	A	18 (10.5)	18 (7.6)	19 (16.1)	-	55 (9.5)
	B	154 (89.5)	220 (92.4)	99 (83.9)	52 (100)	525 (90.5)

Percentages are in parentheses.

TNB, total number of born; NBA, number of born alive.

Table 5. Least-squares means and standard errors of litter size by ESR gene.

Parity	n	Genotype			p
		AA	AB	BB	
1st	TNB	9.02±1.04 ^a	9.31±1.11 ^a	7.39±1.26 ^b	0.0412
	NBA	7.27±1.04	7.59±1.10	5.81±1.25	0.0633
2nd	TNB	9.74±0.96	9.56±1.03	10.17±1.17	0.6772
	NBA	8.68±0.96	8.85±1.03	9.01±1.16	0.8767
Overall	TNB	9.38±0.74	9.44±0.79	8.78±0.30	0.4718
	NBA	7.97±0.74	8.22±0.79	7.41±0.90	0.3120

'a' and 'b' represent significant difference at $p < 0.05$

TNB, total number of born; NBA, number of born alive.

Table 6. Least-squares means and standard errors of litter size by BF gene.

Parity	n	Genotype			p
		AA	AB	BB	
1st	TNB	7.75±3.07	8.93±0.52	9.04±0.33	0.8911
	NBA	5.44±3.05	7.65±0.51	7.60±0.33	0.0710
2nd	TNB	8.82±2.84	10.34±0.48	10.31±0.31	0.8675
	NBA	8.79±2.83	8.95±0.48	8.81±0.31	0.9530
Overall	TNB	8.29±2.19	9.63±0.37	9.68±0.24	0.8129
	NBA	7.11±2.18	8.30±0.37	8.20±0.24	0.8458

TNB, total number of born; NBA, number of born alive.

Table 7. Least-squares means and standard errors of litter size by breed.

Parity	Breed				p	
	Landrace	Yorkshire	Duroc	Jeju native pig		
1st	TNB	9.37±1.09 ^a	9.28±1.07 ^a	8.66±1.15 ^b	6.98±1.23 ^c	0.0035
	NBA	8.08±1.08 ^a	8.01±1.06 ^a	6.52±1.14 ^b	4.96±1.22 ^c	<.0001
2nd	TNB	11.09±1.01 ^a	10.99±0.99 ^a	9.65±1.06 ^b	7.57±1.14 ^c	<.0001
	NBA	10.23±1.01 ^a	10.06±0.99 ^a	8.75±1.06 ^b	6.36±1.14 ^c	<.0001
Overall	TNB	10.23±0.78 ^a	10.14±0.76 ^a	9.15±0.82 ^b	7.27±0.88 ^c	<.0001
	NBA	9.15±0.78 ^a	9.03±0.76 ^a	7.64±0.82 ^b	5.66±0.88 ^c	<.0001

'a' and 'b' represent significant difference at $p < 0.01$

TNB, total number of born; NBA, number of born alive.

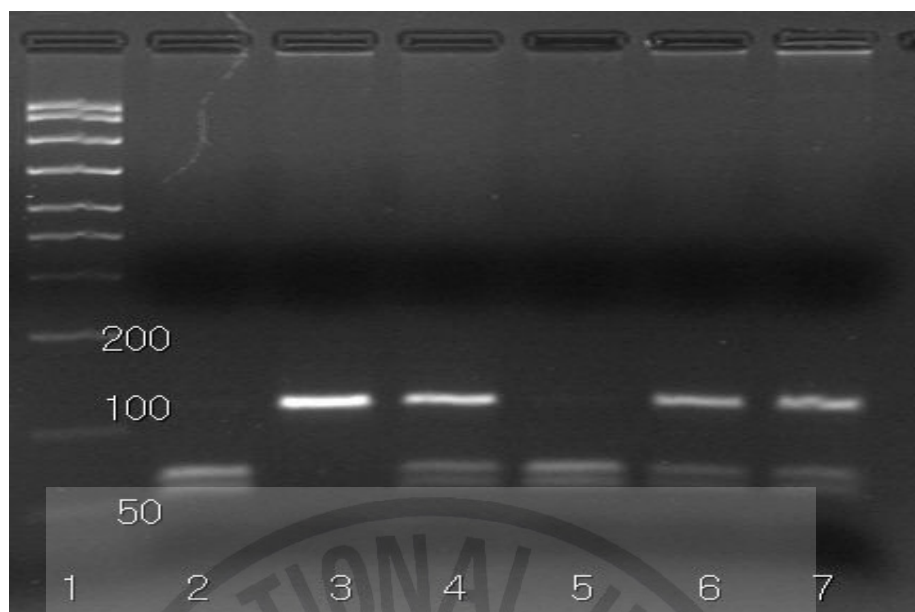


Fig 1. PCR-RFLP fragments of ESR gene digested with *Pvu*II.

1, Size marker(50-2000bp); 2, BB; 3, AA; 4, AB; 5, BB; 6, AB; 7, AB.



Fig 2. PCR-RFLP fragments of BF gene digested with *Sma* I .

1, Size marker(300-2000bp); 2, BB; 3, AB; 4, AA; 5, AB; 6, AA; 7, AB; 8, BB.

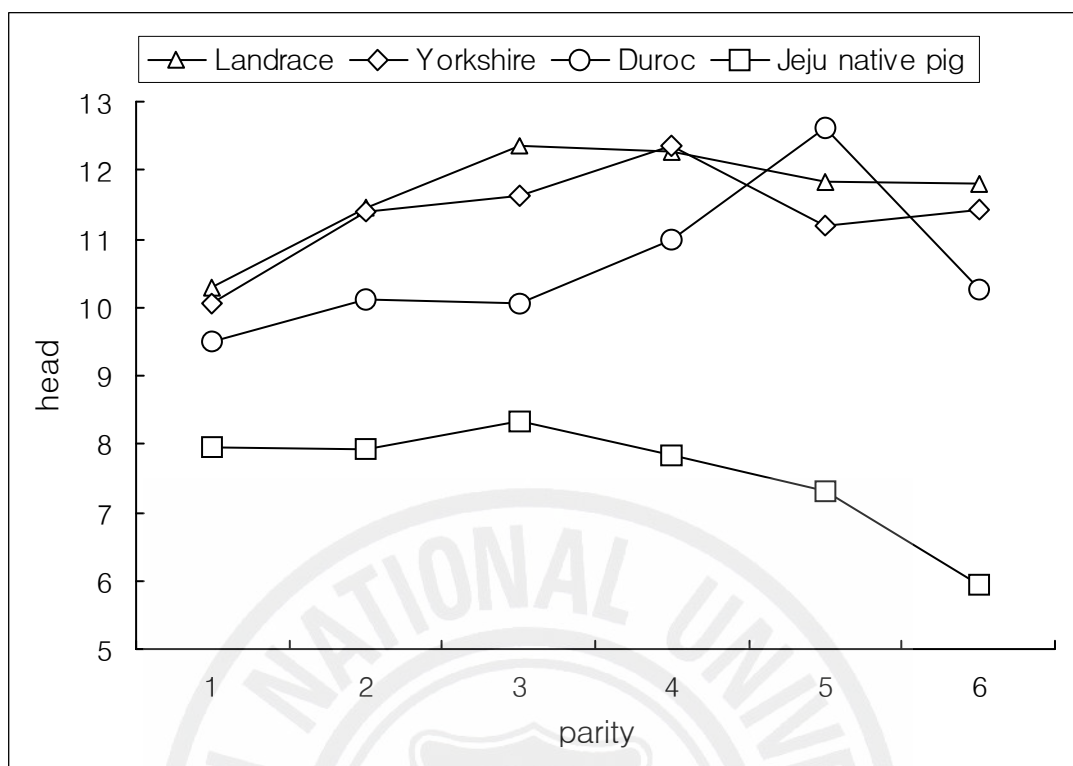


Fig 3. Litter size of sows by breed and parity.

V. 요약

본 연구는 제주도내 종돈집단에 있어서 산자수에 영향을 주는 후보유전자로 알려진 ESR(*Estrogen receptor*) gene과 BF(*Properdin*) gene의 RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*)을 통하여 유전자 빈도를 조사하고, 특정 유전자형이 선발 marker로의 이용가능성을 진단하기 위해 수행되었다.

공시축은 축산진흥원 집단의 2산차 이상의 분만기록을 갖는 종빈돈 294두(랜드레이스 86두, 요크셔 122두, 듀록 60두, 제주재래돈 26)를 대상으로 하였다. 개체별 혈액 또는 모발 표본을 입수한 후 Genomic DNA를 추출하여 실험에 이용하였다. ESR gene은 *Pvu*II로, BF gene은 *Sma* I로 소화시켜 polymorphism을 확인하였다.

RFLP로 확인되는 ESR gene의 유전자는 A와 B로, 유전자 빈도는 요크셔의 경우에서만 A인자는 0.58, B인자는 0.42이고, 유전자형 빈도는 AA형이 0.34, AB형이 0.49, BB형이 0.17로 비교적 고른 분포를 보였고, 랜드레이스, 듀록, 제주재래돈의 경우 인자 빈도가 평균적으로 A인자는 0.94, B인자는 0.06으로 A인자로 치우치는 경향을 보였다. 산자수에 미치는 영향을 분석한 결과 ESR gene에서 1산차 총산자수(total number of born)에서 BB형(7.39 ± 1.26 두)이 AA형(9.02 ± 1.04 두)과 AB형(9.31 ± 1.11 두)에 비해 산자수가 약 2두 작은 결과가 나왔다($P < 0.05$). 그러나 1산차에서 생자수(number of born alive)와 2산차에서 총산자수 및 생자수는 유전자형들 사이에 유의차는 없었다($P > 0.05$).

BF gene의 유전자는 A와 B로, 인자 빈도는 A인자가 0.10, B인자가 0.90이며, 유전자형 빈도는 AA형이 0.01, AB형이 0.18, BB형이 0.81로 모든 품종에서 B인자로 치우치는 경향을 보였다. 제주 재래돈의 경우에는 유전자형은 BB형만 나타났다. BF gene은 모든 산차에서 총산자수, 생자수간의 유전자형에 따른 효과가 없는 것으로 나타났다($P > 0.05$).

이상의 결과로 볼 때 제주도의 종돈집단에서 ESR 및 BF 유전자형이 MAS에 이용되기 위해서는 보다 많은 자료로 자세한 연구 검토가 필요한 것으로 사료되었다.

ABSTRACT

Effects of *Estrogen receptor*(ESR) and *Properdin*(BF) genotypes on litter size in pig breeder population in Jeju Institute

Chung-Nam Kim

Department of Animal Biotechnology, Graduate School
Cheju National University, Jeju, Korea

The purpose of this research was to investigate the frequencies of ESR (*Estrogen Receptor*) and BF(*Properdin*) genes using a technique called PCR-RFLP(*Restriction Fragment Length Polymorphism*) analysis, and to study if the some genotypes would have an effect on litter size of pig breeder population in Jeju Institute. ESR and BF genes have been known as candidates for reproductive traits in pig.

A total of 294 of sows (Landrace 86, Yorkshire 122, Duroc 60, Jeju native pig 26) having a second or later parity and their reproductive records were used for this study. Genomic DNA was extracted from the whole blood or hair samples gathered from individual sow and used for test. The polymorphism of ESR gene was confirmed by digesting it with *PvuII*, and for BF gene, with *Sma I*.

The frequencies of PCR-RFLP alleles of A and B for ESR gene in Yorkshire breed were 0.58 and 0.42, respectively. The genotype frequencies of AA, AB and BB of ESR gene was 0.34, 0.49 and 0.17, respectively. In the breeds of Landrace, Duroc and Jeju native pig, the allele frequency of ESR

gene was generally skewed to the allele A, and their mean frequencies of allele A and B were 0.94 and 0.06, respectively.

Result from the analysis of the genotype effects on litter size using a general liner model including breed and genotype fixed effects and a random error term was that the total number of born of BB genotype (7.39 ± 1.26) of ESR gene was about 2 heads fewer than those of genotype AA (9.02 ± 1.04) and AB (9.31 ± 1.11) for the first parity ($P < 0.05$). However, For the traits of the number of born alive in first parity, the total number of born and the number of born alive as well in the second parity there were no significant differences between ESR genotypes ($P > 0.05$).

The frequencies of RFLP allele A and B in BF gene was 0.10 and 0.90, respectively. The gene frequency showed a tendency to have been inclined to B allele in Yorkshire, Landrace and Duroc. The mean frequencies of the genotype AA, AB and BB were 0.01, 0.18 and 0.81, respectively. In case of Jeju native pig, only the genotype BB was observed. In the statistical analysis of general liner model, the RFLP genotypes of BF gene didn't show any influence on traits of total number of born and the number of born alive in any parity ($P > 0.05$).

In conclusion, it is considered that further researches with sufficient data should be required to evaluate the genotype effects of ESR and BF gene on the reproductive traits, and to make ESR and BF genotypes to be utilized as MAS marker in Jeju breeder population.

참고문헌

Bidanel J.P., Gruand J. & Legault C. 1994. *Proceedings of the 5th World Congress on Genetic Applied to Livestock Production*(Univ. of Guelph, Guelph, ON, Canada), Vol. 17, 512-515.

Buske B, Brunsch C, Zeller K, Reinecke P, Brockmann G. 2005. Analysis of properdin (BF) genotypes associated with litter size in a commercial pig cross population. *Journal of animal breeding and genetics*. 122. 259-263

Drögemüller C., Hamann H., Distl O. 2001. Candidate gene markers for litter size in different German pig lines. *J. Anim. Sci.*, 79. 2565-2570.

Drögemüller C., Theiven U., Harlizius B. 1997. An Ava I and MspA1 I polymorphism at the porcine estrogen receptor (ESR) gene. *Anim. Genet.*, 28, 59-59.

Gibson J. P., Jiang Z. H., Robinson J. A. B., Archibald A. L. & Haley C. S. 2002. No detectable association of the ESR PvuII mutation with sow productivity in a Meishan × Large White F₂ population. *Animal Genetics*. 33. 448-450.

Goliášová E. and Wolf J. 2004. Impact of the ESR gene on litter size and production traits in Czech Large White pigs. *Animal Genetics*. 35. 293-297.

Hasty L. A., Brockman W. W., Lambris J. D., Lyttle C. R. 1993. Hormonal regulation of complement factor B in human endometrium. *Am. J. Reprod.*

Immunol., **30**, 63–67.

Horogh G., Zsolnai A., Komlósi I., Nyíri A., Anton I. & Fésüs L. 2005. Oestrogen receptor genotypes and litter size in Hungarian Large White pigs. *J. Anim. Breed. Genet.* 122. 56–61.

Islar B. J., Irvin K. M., Neal S. M., Moeller S. J., and Davis M. E. 2002. Examination of the relationship between the estrogen receptor gene and reproductive traits in swine. *J. Anim. Sci.* 80. 2334–2339.

Jiang Z.H. and Gibson J.P. 1998. Rapid communication : a PCR–RFLP marker at the porcine complement factor B gene locus shows between–population frequency variation. *J. Anim. Sci.*, 76. 1716–1717.

Kirkpatrick B.W. 2002. QTL and candidate gene effects on reproduction in livestock: progress and prospects. In: Proceedings of the 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production (CD-ROM), Montpellier, Communication. 08–01.

Lamberson W.R., Johnson R.K., Zimmerman D.R., Long T.E. 1991. Direct responses to selection for increased litter size, decreased age at puberty, or random selection following selection for ovulation rate in swine. *J Anim Sci.* Aug;69(8): 3129–3143.

Matsumoto M., Fukuda W., Circolo A., Goellner J., Strauss–Schoenberger J., Wang X., Fujita S., Hidvegi T., Chaplin D.D., Colten H.R. 1997. Abrogation of the alternative complement pathway by targeted deletion of murine factor B. *Immunology*, **94**, 8720–8725.

McLaren, D. G. and M. Bovey. 1992. Genetic influences on reproductive performance. *Vet. Clin. N. Am. Food Anim. Prac.* 8: 435-459.

Miller S. A., D. D. Dykes and H. F. Polesky. 1998. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research.*, 16(3). 1215.

Olliver L. & Bolet G. 1981. *J. Rech. Procine France.* 13. 261-268.

Rohrer G. A., Ford J. J., Wise T. H., Vallet J. L., Christenson R. K. 1999. Identification of quantitative trait loci affecting female reproductive traits in a multi-generation, Meishan-White composite swine line. *J. Anim. Sci.*, 77. 1385-1391.

Rothschild M.F., Larson R.G., Jacobson C. & Pearson P. 1991. PvuII polymorphisms at the porcine estrogen receptor locus (ESR). *Animal Genetics.* 22. 448.

Rothschild M.F., Vaske D.A., Tuggle C.K., Messer L.A., McLaren D.G., Short T.H., Eckardt G.R., Mileham A.J., Plastow G.S. 1995. Estrogen receptor locus is a major gene for litter size in the pig. In: 46th Annual Meeting of the EAAP, Prague, 53-53.

Rothschild M., Jacobson C., Vaske D. et al. 1996. The estrogen receptor locus is associated with a major gene influencing litter size in pigs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 93, 201-205.

Rothschild, M. F. 1996. Genetics and reproduction in the pig. *Anita. Reprod. Sci.* 42:143.

Rothschild M.F., Messer L., Day A., Wales R., Short T., Southwood O., Plastow G. 2000. Investigation of the retinol-binding protein 4 (RBP4) gene as a candidate gene for increased litter size in pigs. *Mamm. Genome*, **11**, 75-77.

Savouret J. F., Baily A., Misrahi M., Rauch C., Redeuilh G., Chauchereau A., and Milgrom E.. 1991. Characterization of the hormone responsive element involved in the regulation of the progesterone receptor gene. *The EMBO Journal*. 10(7) : 1875-1883.

Short T. H., Rothschild M. F., Southwood O. I., McLaren D. G., de Vries A., van der Steen H., Eckardt G. R., Tuggle C. K., Helm J., Vaske D. A., Mileham A. J., and Plastow G. S. 1997. Effect of the estrogen receptor locus in reproduction and production traits in four commercial pig lines. *Journal of Animal Science*. 75. 3138-3142.

Slater E.P., Redeuilh G., Beato M. 1991. Hormonal regulation of vitellogenin genes: an estrogen-responsive element in the *Xenopus A2* gene and a multihormonal regulatory region in the chicken *II* gene. *Molecular Endocrinology*, 5(3) : 386-396.

Southwood O.I., van der Steen H.A.M., Mileham A.J. and Cuthbert-Heavens D. 1995. Evaluation of the estrogen receptor (*ESR*) gene in Meishan synthetic and Large White pigs. In: *Proceedings of the European Association of Animal Production*, Prague.

Van Rens B.T.T.M., Van Der Lende T. 2002. Piglet and placental traits at

term in relation to the estrogen receptor genotype in gilts. *Theriogenology*, 57, 1651-1667.

Vincent A.L., Evans G., Short T.H., Southwood O.I., Plastow G.S., Tuggle C.K., Rothschild M.F. 1998. The prolactin receptor gene is associated with increased litter size in Pigs. In: *Proc., 6th World Congr. Genet. Appl. Livest. Prod.*, 27:15-18, Jan., 11-16, 1998. Armidale, Australia.

홍기창, 박성수, 고용, 서동삼, 김지은, 조시영. 2000. 돼지 돼지의 산자수 증대를 위한 관련 유전자의 동정 및 고능력돈 선발용 kit 개발. 고려대학교.



감사의 글

논문을 마치면서 본 논문이 나오기까지 항상 곁에서 따뜻한 충고와 격려를 아끼지 않으시고, 지도해주신 지도교수 양영훈 교수님께 먼저 감사의 말씀 올립니다.

그리고 바쁘신 와중에서도 많이 부족한 제 논문을 심사하고 조언해주신 김규일 교수님과 정동기 교수님께 감사드립니다. 조교시절부터 대학원 생활까지 여러 조언과 격려를 보내주셨던 동물자원과학과 강태숙 교수님, 이현중 교수님, 김문철 교수님, 강민수 교수님께도 감사드립니다.

실험에 필요한 돼지의 혈액과 모근 샘플을 얻는데 정말 큰 힘이 되어준 축산진흥원의 김대철 연구사님, 현철호 수의사님께 감사드리며, 이성수, 김남영 선배님께도 감사드립니다.

실험실에서 같이 실험하고, 공부하며 지냈던 김 훈, 김미경 원우, 김성미, 김미나 후배님께 이 글을 빌어 고마움을 전합니다. 학과 조교로 많은 도움을 줬던 김현숙 조교, 윤미정 조교에게도 감사의 말씀을 올리고, 대학원 생활을 함께하며 여러 도움을 주었고 힘든 일을 같이 나눴던 김재연 원우에게 진심으로 감사드립니다. 그리고 항상 만날 때마다 밝은 모습으로 격려해줬던 졸업동기들에게도 감사드립니다.

그리고 지금까지 이 아들을 믿고 묵묵히 뒷바라지해 주시던 부모님께 진심으로 감사드리며, 앞으로는 곁에서 미약하나마 힘이 되고자 합니다.

마지막으로 항상 곁에서 즐거울 때 같이 기뻐해주고, 어려워 할 때 힘이 되어준 영지에게 고맙다는 말을 전하고 싶습니다.

2007년 1월