

## RAPD표식자기술에 의한 몇가지 돼지품종들의 유전적류연관계분석

박학성, 김강

위대한 령도자 김정일동지께서는 다음과 같이 교시하시였다.

《나라의 과학기술을 세계적수준에 올려세우자면 발전된 과학기술을 받아들이는것과 함께 새로운 과학기술분야를 개척하고 그 성과를 인민경제에 적극 받아들여야 합니다.》  
(《김정일선집》 증보판 제11권 138~139페이지)

현재 돼지육종에서 유전적류연관계에 따라 품종들사이에 3원 혹은 5원잡종으로 고기생산량과 성장속도, 여러가지 병견딜성이 높은 잡종무이들을 결정하고있다. 세계적으로 돼지품종들에서 임의의 증폭다형성DNA(Randomly Amplified Polymorphic DNA: RAPD)표식자기술을 리용하여 유전적류연관계를 분석하여 육종사업을 보다 과학화해나가고있다.[1-4]

우리는 RAPD표식자기술을 리용하여 몇가지 돼지품종들의 유전적류연관계를 분석하여 육종사업에 리용하기 위한 연구를 하였다.

### 재료와 방법

#### 1) 연구재료

연구재료로서는 다른 나라에서 들여온 돼지품종 《듀르크》, 《요크샤》, 《란드라스》와 우리 나라 돼지품종 《자모》, 《평양》, 《피현》을 리용하였다.

#### 2) 연구방법

돼지품종들의 귀에서 뽑은 혈액으로부터 페놀-클로로포름법으로 게놈DNA를 분리하였다. 분광광도계를 리용하여 260nm와 280nm에서 흡광도를 측정하고 1% 아가로즈겔전기영동법으로 DNA순도를 확인하였다.

선행연구자료들[1, 3, 4]에 기초하여 RAPD프라이머종합키트(《READY To Go<sup>TM</sup>》)에서 선택한 26개의 프라이머를 리용하였다.

주형DNA 1 $\mu$ L(50~100ng), 프라이머 2 $\mu$ L, PCR Mix(3mmol/L MgCl<sub>2</sub>, 0.2mol/L dNTP, 0.1IU/ $\mu$ L Taq DNA폴리메라제, 2 $\times$ PCR완충용액 포함) 12.5 $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 9.5 $\mu$ L를 넣고 총체적 25 $\mu$ L 되게 맞추었다. PCR조건은 예비변성(94 $^{\circ}$ C, 5min)→45회전의 변성(94 $^{\circ}$ C, 30s), 아닐링(36 $^{\circ}$ C, 1min), 사슬연장(72 $^{\circ}$ C, 90s)→최종사슬연장(72 $^{\circ}$ C, 10min)이다. PCR는 PCR장치(《C1000Touch<sup>TM</sup>》)에서 위의 프로그램에 따라 진행하였다.

증폭산물들을 에티디움브로미드로 염색한 1.2% 아가로즈겔에서 전기영동하여 겔화상입력장치(《Geldoc-It<sup>TM</sup>》)에서 관찰하였다.

RAPD분석프로그램 SLT\_NTsys\_2.10e를 리용하여 유전적류연관계를 분석하였다.

## 결과 및 논의

### 1) 돼지품종들에서 게놈DNA의 분리 및 확인

돼지품종 《듀로크》, 《요크샤》, 《란드라스》의 새끼시기(2달나이) 개체들과 《자모》, 《평양》, 《피현》의 비육시기 개체들에서 각각 6마리씩 골라 개체별로 혈액을 채취하여 DNA를 분리하였다.

모든 혈액시료들에서 분리한 DNA의 농도가 10~100ng/mL범위에 있고  $A_{260}/A_{280}$ 값이 1.8~2.0사이에 있었으므로 분리한 DNA가 비교적 순수하게 분리되었다고 볼수 있다. 분리한 DNA를 1.2% 아가로스겔전기영동을 진행하였다.(그림 1)

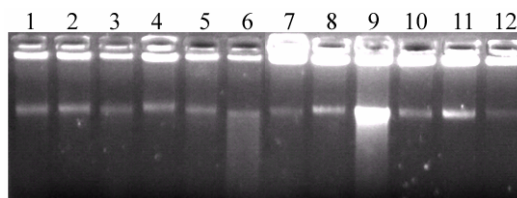


그림 1. 분리한 DNA의 1% 아가로스겔 전기영동상

1, 2는 《요크샤》, 3, 4는 《듀로크》, 5, 6은 《란드라스》, 7, 8은 《자모》, 9, 10은 《평양》, 11, 12는 《피현》

그림 1에서 보는바와 같이 모든 개체로부터 분리한 DNA는 아가로스겔전기영동상에서 단일띠로 나타났으며 따라서 이것을 PCR에 리용하였다.

### 2) 돼지에서 유전적다형성이 높은 프라이머선발

먼저 6개 돼지품종의 각각 2마리씩에서 분리한 DNA를 주형으로 하여 선정한 26개의 프라이머를 리용하여 RAPD분석을 진행하고 다형률이 높은 6개의 RAPD프라이머를 선발하였다.

26개의 프라이머를 리용하였을 때 나타나는 전기영동띠수와 다형률은 표와 같다.

표. 26개의 프라이머를 리용하였을 때 나타나는 전기영동띠수와 다형률

프라이머 이름	프라이머 염기배열	품종별 띠수/개						총띠 수/개	차이띠 수/개	다형률/%
		Y	D	L	Z	PY	PH			
OPB-01[3]	GTTTCGCTCC	3	4	3	3	3	3	5	2	40.0
OPD-01[3]	ACCGCGAAGG	5	5	7	6	5	6	7	1	14.3
OPD-10[3]	GGTCTACACC	3	3	5	4	4	5	6	2	33.3
OPG-03[1]	GTGCCCTCCA	7	6	5	4	6	6	7	2	28.6
OPG-05[1]	CTGAGACGGA	3	4	3	3	4	5	5	1	20.0
OPG-09[4]	CTGACGTCAC	7	9	10	9	8	9	12	3	25.0
OPG-17[1]	ACGACCGTCA	4	4	5	5	4	4	7	2	28.6
OPG-18[1]	GTCAGGGCAA	3	2	3	2	3	2	4	1	25.0
OPH-03[1]	AGACGTCCAC	10	9	11	9	11	10	13	3	23.1
OPH-17[3]	CACTCTCCTC	10	11	6	5	7	6	12	7	58.3*
OPH-18[1]	GAATCGGCCA	7	6	6	8	6	6	8	2	25.0
OPI-09[4]	TGGAGAGCAG	13	12	13	11	9	9	14	3	21.4
OPI-11[4]	ACATGCCGTG	3	2	3	2	2	3	4	1	25.0
OPI-14[4]	TGACGGCGGT	7	5	6	7	7	6	8	3	37.5
OPI-16[4]	TCTCCGCCCT	11	12	6	7	10	12	12	6	50.0*
OPI-17[4]	GGTGGTGATG	6	5	7	8	6	8	9	6	66.6*
OPJ-13[4]	CCACACTACC	4	3	4	4	3	4	5	2	40.0
OPL-09[4]	TGCGAGAGTC	2	3	1	1	2	2	4	1	25.0
OPL-15[4]	AAGAGAGGGG	9	8	9	8	7	7	10	3	30.0
OPN-04[1]	GACCGACCCA	8	6	9	6	6	6	9	2	22.2

표제속		품종별 띠수/개						총띠 수/개	차이띠 수/개	다형률/ %
프라이머 이름	프라이머 염기배열	Y	D	L	Z	PY	PH			
OPN-10[1]	ACAACTGGGG	5	7	9	7	6	7	11	3	27.3
OPN-12[1]	CACAGACACC	2	1	2	2	1	1	3	1	33.3
OPN-16[1]	AAGCGACCTG	4	5	3	3	3	4	5	1	20.0
OPN-18[1]	GGTGAGGTCA	11	11	12	12	9	11	12	2	16.7
OPP-12[1]	AAGGGCGAGT	4	3	4	3	3	3	5	2	40.0
OPP-19[1]	GGGAAGGACA	6	5	7	7	3	2	7	3	42.8
계		157	151	159	146	138	147	204	66	

Y-《요크샤》, D-《듀로크》, L-《란드라스》, Z-《자모》, PY-《평양》, PH-《피현》;

\* 다형률이 50%이상인 프라이머

표 1에서 보는바와 같이 유전적다형률이 50%이상인 프라이머는 OPH-17, OPI-16, OPI-17이며 다형률은 각각 58.3, 50.0, 66.6%였다. 유전적다형률이 40%이상인 프라이머는 OPB-01, OPJ-13, OPP-12, OPP-19였다. 이와 같은 프라이머들은 앞으로 돼지품종들에서 유전적류연관계를 분석하기 위한 RAPD분자표식자기술의 응용에 리용할수 있다.

### 3) 몇가지 돼지품종들의 유전적류연관계분석

몇가지 돼지품종들에서 유전적다형률이 40%이상인 프라이머 OPH-17, OPI-16, OPB-01, OPJ-13, OPP-12를 리용하여 PCR를 진행하고 전기영동하였다. 증폭띠수와 유전적다형률에 따라 선발한 5개의 프라이머 OPH-17, OPI-16, OPB-01, OPJ-13, OPP-12를 리용하여 RAPD분석을 진행한 결과는 그림 2, 3, 4, 5와 같다.

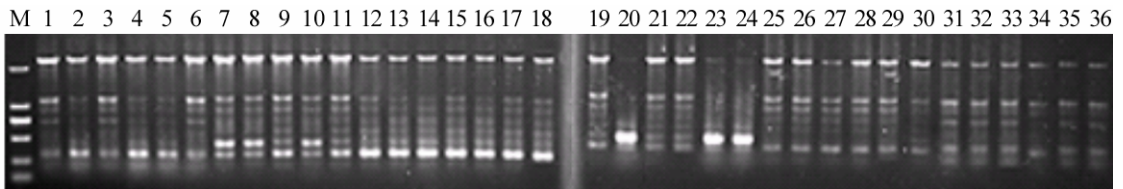


그림 2. 프라이머 OPH-17을 리용한 PCR증폭산물의 1.2% 아가로스젤전기영동상  
M은 DNA분자표식자(DL2000), 1-6은 《요크샤》, 7-12는 《듀로크》, 13-18은 《란드라스》,  
19-24는 《평양》, 25-30은 《자모》, 31-36은 《피현》

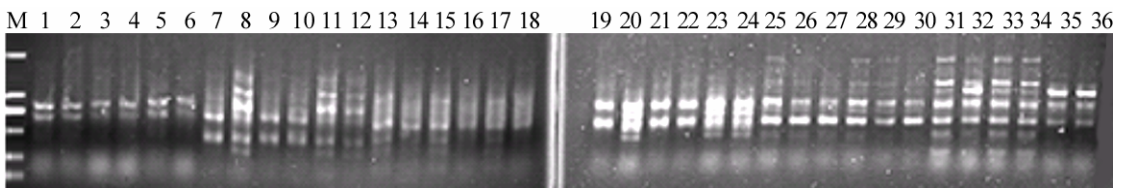


그림 3. 프라이머 OPI-16을 리용한 PCR증폭산물의 1.2% 아가로스젤전기영동상  
M과 1-36은 그림 2에서와 같음

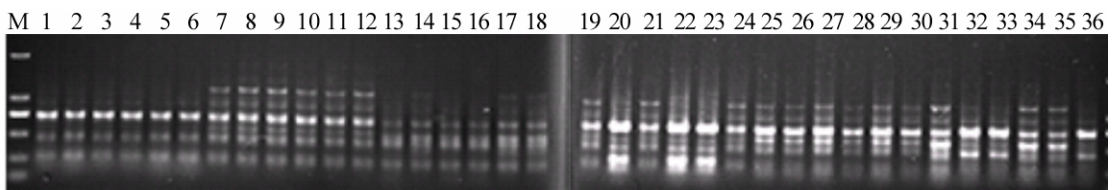


그림 4. 프라이머 OPB-01을 리용한 PCR증폭산물의 1.2% 아가로스젤전기영동상  
M과 1-36은 그림 2에서와 같음

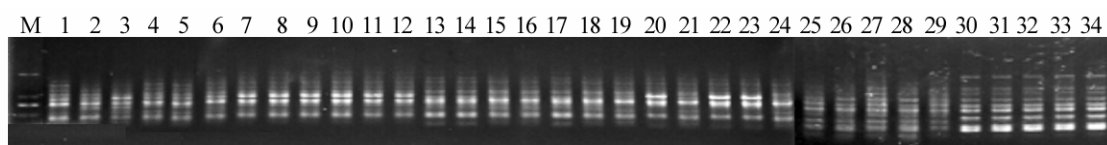


그림 5. 프라이머 OPJ-13을 리용한 PCR증폭산물의 1.2% 아가로스겔전기영동상

M은 DNA분자량표식자(DL2000), 1-6은 《요크샤》, 7-12는 《평양》, 13-18은 《피현》,  
19-24는 《자모》, 25-29는 《듀로크》, 30-34는 《란드라스》

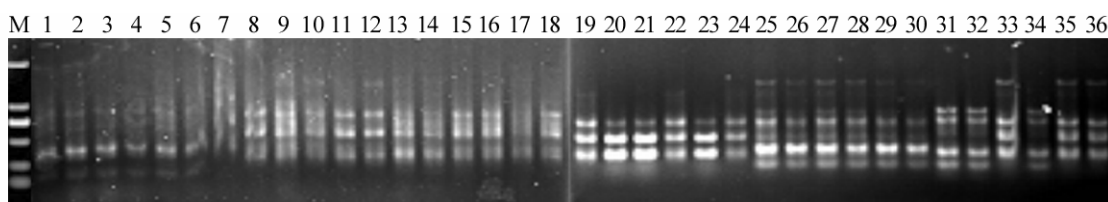


그림 6. 프라이머 OPP-12를 리용한 PCR증폭산물의 1.2% 아가로스겔전기영동상

M과 1-36은 그림 2에서와 같음

그림 2~6에서 보는바와 같이 OPH-17의 증폭범위는 200~2 000bp, OPI-16의 증폭범위는 300~2 500bp, OPB-01의 증폭범위는 200~1 500bp, OPJ-13의 증폭범위는 200~1 500bp, OPP-12의 증폭범위는 100~1 500bp이다.

프라이머종류에 따라 영동띠의 수와 위치에서 차이가 있으며 같은 프라이머에서도 시료에 따라 차이가 명백하게 나타났다.

증폭띠수는 시료당 6~17개였다. 5개의 프라이머에서 총 띠수는 62개였으며 다형성띠수는 28개로서 전체적인 유전적다형률은 45.3%였다. PCR산물의 크기는 0.7~2.5kb정도로써 증폭산물들의 분자량범위가 넓었다.

#### 4) RAPD표식자분석프로그램 SLT\_NTsys\_2.10e를 리용한 유전적류연관계분석

전기영동분석결과에 기초하여 개체들사이의 유전적류연관계를 RAPD분석프로그램 SLT\_NTsys\_2.10e를 리용하여 분석하였다. 전기영동상들에서 매 증폭띠들의 유무에 기초하여 6개 돼지품종 36마리사이의 유전거리값을 구하고 계통수를 작성하였다.

그림 7에서 보는바와 같이 RAPD표식자기술을 리용하여 돼지품종들의 유전적류연관계를 분석할 때 품종별로 크게 5개 무리가 구분되었다. 특히 《란드라스》(L13-L18)와 《자모》(Z25-Z30)의 개체들은 유전거리가 약 0.3정도로 한 무리(I)에 속하고 이 무리가 다시 《피현》(PH31-PH36)과 유전거리가 0.45정도로써 한 무리(II)에 속한다.

한편 《듀로크》(D7-D12)와 《평양》(PY19-PY24)은 유전거리가 약 0.45정도로 한 무리(III)에 속한다. 《요크샤》는 단독으로 한 무리(IV)를 이루며 II, III, IV무리가 합쳐져 큰 무리(V)를 이루었다. 다시말하여 《란드라스》(L13-L18)와 《자모》(Z25-Z30)사이의 유전적류연관계는 제일 가깝고 《요크샤》는 다른 돼지품종들과의 유전적류연관계가 제일 멀다.

돼지육종에서 유전적류연관계에 따라 3원 혹은 5원잡종으로 고기생산량과 성장속도, 여러가지 병견딜성이 높은 잡종무이들을 결정하여 육종의 출발재료로 리용하고있다.

우리가 돼지품종들에서 연구한 유전적류연관계분석은 앞으로 돼지품종간 잡종무이에 의한 출발재료선택에서 중요한 기초로 된다.

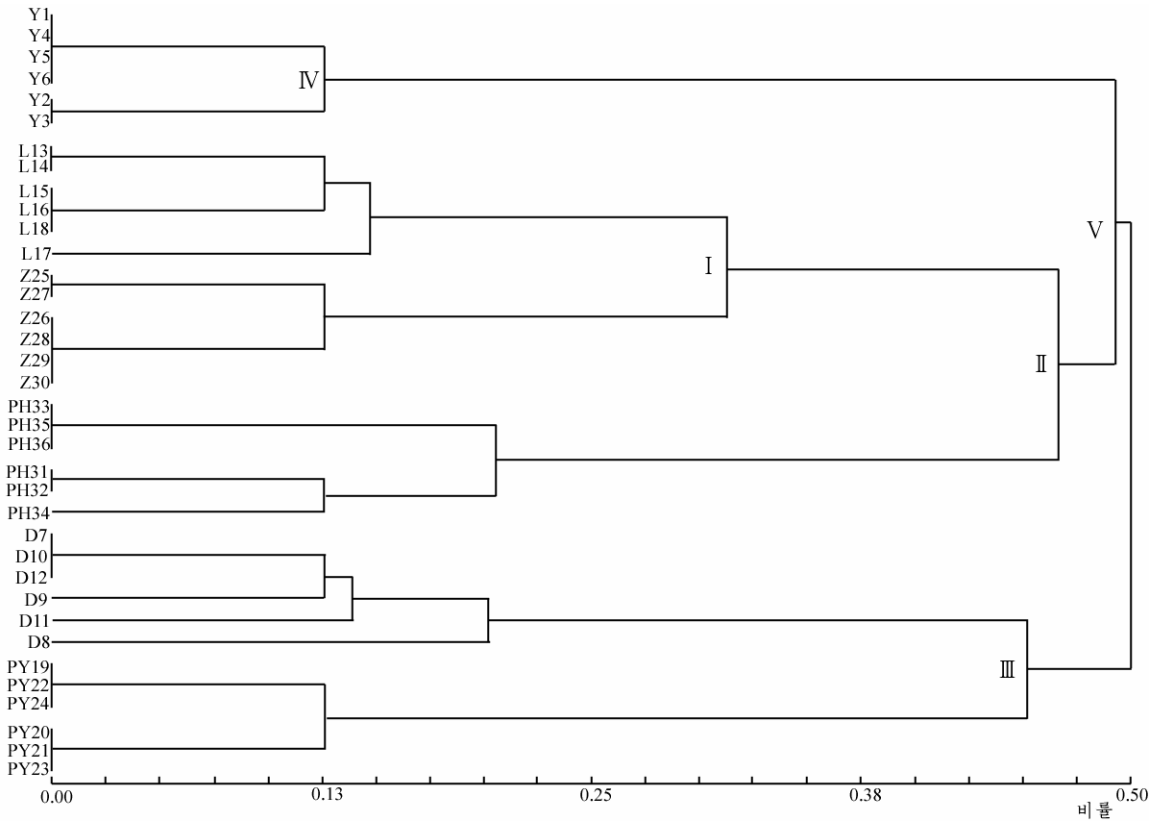


그림 7. 6개 돼지품종에서 개체들사이의 유전적류연관계를 보여주는 계통수  
D7—D12는 《듀로크》, Y1—Y6은 《요크샤》, L13—L18은 《란드라스》,  
Z25—Z30은 《자모》, PY19—PY24는 《평양》, PH31—PH36은 《피현》

## 맺는 말

돼지품종들사이의 유전적류연관계를 분석하기 위한 RAPD표식자기술적용에서 리용할 수 있는 유전적다형률이 50%이상인 프라이머는 OPH-17, OPI-16, OPI-17이며 다형률이 40% 이상인 프라이머는 OPB-01, OPJ-13, OPP-12, OPP-19였다.

돼지품종 《란드라스》와 《자모》의 개체들은 유전거리가 약 0.3정도로 류연관계가 제일 가깝고 《요크샤》는 다른 돼지품종들과의 류연관계가 제일 멀다.

## 참고 문헌

- [1] Yang Xiu-qin et al.; Journal of Northeast Agricultural University, 10, 1, 40, 2003.
- [2] S. Scarcella et al.; Parasitol. Res., 114, 1341, 2015.
- [3] 越凯 等; 实验研究, 7, 1, 2000.
- [4] 刘德武 等; 畜牧兽医学报, 33, 1, 18, 2002.

## **Analysis of Genetic Relationships of Some Pig Breeds by Random Amplified Polymorphic DNA(RAPD)**

*Pak Hak Song, Kim Kang*

The reasonable primers in RAPD application for analysis of the genetic relationships in some pig breeds were OPH-17, OPI-16, OPI-17, OPB-01, OPJ-13, OPP-12 and OPP-19. The results calculated by SLT\_NTsys\_2.10e program show that five main clusters were grouped by means of genetic distance. The genetic distance between “Landras” and “Jamo” is 0.3, and “Yorkusa” has the most far genetic relationship with other pig breeds.

Key words: pig, RAPD, genetic relationship