

몇가지 돼지품종에서 멜라노코틴-4접수체 (SuMC4R)유전자의 SNP분석

강금별, 박학성

경애하는 최고령도자 김정은동지께서는 다음과 같이 말씀하시였다.

《과학연구부문에서는 나라의 경제발전과 인민생활향상에서 전망적으로 풀어야 할 문제들과 현실에서 제기되는 과학기술적문제들을 풀고 첨단을 돌파하여 지식경제건설의 지름길을 열어놓아야 합니다.》

멜라노코틴-4접수체(Melanocortin-4 receptor: MC4R)유전자는 사람과 많은 동물들에서 G-단백질의 발현, 에너르기균형의 조절, 비만증상발현에서 중요한 역할을 한다.[1-3]

돼지MC4R(SuMC4R)유전자에서 일염기다형성(Single Nucleotide Polymorphism: SNP)은 돼지고기생산과 먹이소비효율 및 지방침착 등에 큰 영향을 미친다.[1-5]

우리는 먹성이 좋고 고기생산량이 높은 돼지품종을 육종하기 위한 기초연구로서 SuMC4R 유전자의 SNP를 분석하였다.

재료와 방법

1) 연구재료

돼지품종 《듀로크》, 《요크샤》, 《란드라스》를 리용하였다.

2) 연구방법

게놈DNA분리 돼지들의 귀에서 뽑은 혈액으로부터 게놈DNA를 페놀-클로로포름법으로 분리하였다. 분리한 DNA의 농도는 핵산검증장치(《Nanodrop 2000 Spectrophotometer》)로 결정하였고 분리한 게놈DNA와 PCR증폭산물들은 아가로즈겔전기영동을 진행한 후 겔도크장치(《Geldoc-ItTM》)로 확인하였다.

SuMC4R유전자단편의 증폭 SuMC4R유전자는 1번 염색체에 있다. 우리는 유전자배렬자료(유전자은행번호 AF087937.1, 유전자크기 746bp)에 기초하여 염기배열을 내리적재한 다음 선행연구자료들[1-3]에 기초하여 SNP분석을 위한 SuMC4R유전자단편을 증폭하였다. 프라이머로는 SuMC4R-1F(5'-TACCCTGACCATCTTGATTG-3')와 SuMC4R-2R(5'-ATAGCAACAGATGATCTCTTTG-3')를 리용하였다.

PCR관에 100ng의 게놈DNA, 프라이머(0.2 μ mol/L), PCR혼합용액(0.2mmol/L dNTP, 10 \times PCR 완충용액, 1.5mmol/L MgCl₂, 1U Taq DNA폴리메라제)을 넣고 초순수(ddH₂O)로 총체적을 20 μ L로 맞춘 다음 PCR를 진행하여 목적단편을 증폭하였다.

PCR증폭은 변성(95 $^{\circ}$ C, 5min)→35회전의 예비변성(95 $^{\circ}$ C, 30s), 아닐링(58 $^{\circ}$ C, 60s), 사슬연장(72 $^{\circ}$ C, 60s)→최종사슬연장(72 $^{\circ}$ C, 10min)으로 하였다. PCR는 PCR장치(《BIORAD》)에서 진행하였다.

염기배열분석 PCR산물은 DNA정제시약키트로 정제하고 운반체 pMD 19-T에 런결시켜 염기배열분석을 진행하였다.

SNP분석 염기배열들사이의 상동성검색은 DNASTAR프로그램의 MegAlign기능을 리용하여 진행하였다. 상동성검색을 진행하여 표준염기배열과 차이나는 SNP를 분석하였다.

결과 및 논의

1) 게놈DNA분리

분리한 DNA농도는 10~100ng/mL였으며 A_{260}/A_{280} 값이 1.8~2.0이었으므로 비교적 순수하게 분리되었다고 볼수 있다.

2) SuMC4R유전자단편의 증폭

먼저 SNP분석을 위한 SuMC4R유전자단편을 증폭하였다. SuMC4R유전자단편증폭산물들의 전기영동상은 그림 1과 같다.

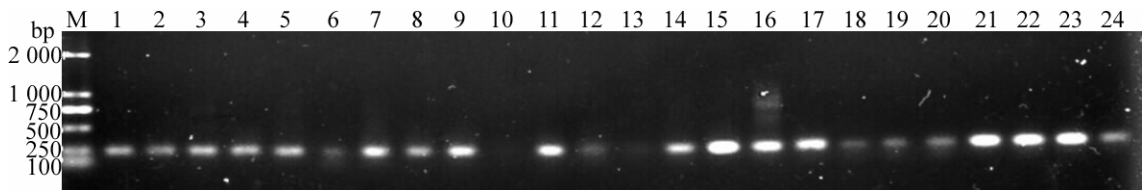


그림 1. SuMC4R유전자단편증폭산물들의 전기영동상

M-DNA분자량표식자(DL2000), 1-8은 《듀로크》, 9-16은 《요크샤》, 17-24는 《란드라스》

그림 1에서 보는바와 같이 몇가지 돼지 품종에서 SNP분석을 위한 SuMC4R유전자단편의 증폭산물크기가 226bp이다. 매 PCR산물을 가지고 염기배열분석을 진행하여 SNP분석에 리용하였다.

3) SuMC4R유전자의 SNP분석

SuMC4R유전자염기배열들사이의 상동성검색을 진행한 결과는 그림 2와 같다.

Consensus	TCATCCTGATCATGTGTAATTCATCATCAATCCCTGATTTATGCACTCCGGAGCCAAGAACTGAGGAAAACCTT	AACCTTCAAAGAGATCATCTGTT
24 Sequences	140 150 160 170 180 190 200 210	210 220 230
D1	TCATCCTGATCATGTGTAATTCATCATCAATCCCTGATTTATGCACTCCGGAGCCAAGAACTGAGGAAAACCTT	AACCTTCAAAGAGATCATCTGTT
D2	TCATCCTGATCATGTGTAATTCATCATCAATCCCTGATTTATGCACTCCGGAGCCAAGAACTGAGGAAAACCTT	AACCTTCAAAGAGATCATCTG
D3	TCATCCTGATCATGTGTAATTCATCATCAATCCCTGATTTATGCACTCCGGAGCCAAGAACTGAGGAAAACCTT	AACCTTCAA
D4	TCATCCTGATCATGTGTAATTCATCATCAATCCCTGATTTATGCACTCCGGAGCCAAGAACTGAGGAAAACCTT	AACCTTCAAAGAGATC
D5	TCATCCTGATCATGTGTAATTCATCATCAATCCCTGATTTATGCACTCCGGAGCCAAGAACTGAGGAAAACCTT	AACCTTCAAAGAGATCATCTGTTGC
D6	TCATCCTGATCATGTGTAATTCATCATCAATCCCTGATTTATGCACTCCGGAGCCAAGAACTGAGGAAAAC	AAC
D7	TCATCCTGATCATGTGTAATTCATCATCAATCCCTGATTTATGCACTCCGGAGCCAAGAACTGAGG	
D8	TCATCCTGATCATGTGTAATTCATCATCAATCCCTGATTTATGCACTCCGGAGCCAAGAACTGAGGAAAACCTT	AACCTTCAAAGAGATCATC
L1	TCATCCTGATCATGTGTAATTCATCATCAATCCCTGATTTATGCACTCCGGAGCCAAGAACTGAGGAAAACCTT	AACCTTCAAAGAGATCATCTGTT
L2	TCATCCTGATCATGTGTAATTCATCATCAATCCCTGATTTATGCACTCCGGAGCCAAGAACTGAGGAAAACCTT	AACCTTCAAAGAGATCAT
L3	TCATCCTGATCATGTGTAATTCATCATCAATCCCTGATTTATGCACTCCGGAGCCAAGAACTGAGGAAAACCTT	AACCTTCAAAGAGATCATCTGTTGCTAT
L4	TCATCCTGATCATGTGTAATTCATCATCAATCCCTGATTTATGCACTCCGGAGCCAAGAACTGAGGAAAACCTT	AACCTTCAAAGAGATCATCT
L5	TCATCCTGATCATGTGTAATTCATCATCAATCCCTGATTTATGCACTCCGGAGCCAAGAACTGAGGAAAACCTT	AACCTTCAAAGAGATC
L6	TCATCCTGATCATGTGTAATTCATCATCAATCCCTGATTTATGCACTCCGGAGCCAAGAACTGAGGAAAACCTT	AACCTTCAAAGAGATCATCTGTTGC
L7	TCATCCTGATCATGTGTAATTCATCATCAATCCCTGATTTATGCACTCCGGAGCCAAGAACTGAGGAAAAC	AAC
L8	TCATCCTGATCATGTGTAATTCATCATCAATCCCTGATTTATGCACTCCGGAGCCAAGAACTGAGG	
Y1	TCATCCTGATCATGTGTAATTCATCATCAATCCCTGATTTATGCACTCCGGAGCCAAGAACTGAGGAAAACCTT	AACCTTCAAAGAGATCATCTGTTGCT
Y2	TCATCCTGATCATGTGTAATTCATCATCAATCCCTGATTTATGCACTCCGGAGCCAAGAACTGAGGAAAACCTT	AACCTTCAAAGAGATCATCTGTT
Y3	TCATCCTGATCATGTGTAATTCATCATCAATCCCTGATTTATGCACTCCGGAGCCAAGAACTGAGGAAAACCTT	AACCTTCAAAGAGATCAT
Y4	TCATCCTGATCATGTGTAATTCATCATCAATCCCTGATTTATGCACTCCGGAGCCAAGAACTGAGGAAAACCTT	AACCTTCAAAGAGATCATCTGTTGCTAT
Y5	TCATCCTGATCATGTGTAATTCATCATCAATCCCTGATTTATGCACTCCGGAGCCAAGAACTGAGGAAAACCTT	AACCTTCAAAGAGATCATCT
Y6	TCATCCTGATCATGTGTAATTCATCATCAATCCCTGATTTATGCACTCCGGAGCCAAGAACTGAGGAAAAC	AAC
Y7	TCATCCTGATCATGTGTAATTCATCATCAATCCCTGATTTATGCACTCCGGAGCCAAGAACTGAGGAAAACCTT	AACCTTCAAAGAGATCATCTGTTGC
Y8	TCATCCTGATCATGTGTAATTCATCATCAATCCCTGATTTATGCACTCCGGAGCCAAGAACTGAGGAAAACCTT	AACCTTCAAAGAGATCAT

그림 2. SuMC4R유전자염기배열들사이의 상동성검색결과

그림 2에서 보는바와 같이 SuMC4R유전자의 SNP는 돼지품종에 따라 각이하게 나타났다.(표)

표. 몇가지 돼지품종에서 SuMC4R유전자의 SNP형과 나타난 비율					
품종	개체수/마리	SNP형		SNP가 나타난 비율	
		G	A	G	A
《듀로크》	8	2	6	0.250	0.750
《요크샤》	8	1	7	0.125	0.875
《란드라스》	8	2	6	0.250	0.750

표에서 보는바와 같이 몇가지 돼지품종에서 SuMC4R유전자의 SNP가 나타난 비율은 《듀로크》품종에서는 G형이 0.25, A형이 0.75이고 《요크샤》품종에서 0.125, 0.875, 《란드라스》품종에서 0.25, 0.75로서 G가 A로 바뀌어진 개체수비율이 높았다.

돼지에서 먹성과 고기질을 높이는데 직접적으로 관여하는 유전자들은 여러가지가 있지만 제일 주목되는 유전자는 MC4R유전자이다. MC4R유전자는 사람과 많은 동물들에서 에네르기대사에서 중요한 G-단백질의 발현과 지방조직대사에서 중요한 역할을 하는 렙틴(Leptin)대사에 직접적으로 관여하는 중요한 유전자이다.[2, 3]

SuMC4R유전자의 1 426번째 자리에서 G→A치환은 단백질의 298번째 자리에서 아스파라긴산의 아스파라긴에로의 교체(Asp298Asn 일염기변이)를 일으키며 이것은 여러 돼지품종과 계통들에서 등비게충두께와 성장률, 먹이섭취량 등의 특성들과 관련된 비대증과도 관계가 있다.[2, 3, 5] 특히 큰 흰돼지품종(《Large White》)에서 GG형일 때 등비게충두께, 하루평균증체량, 하루먹이섭취량이 평균 13.3mm, 733g, 1 933g이며 AA형일 때 14.7mm, 805g, 2 098g으로서 AA형이 GG형보다 생산형질이 우월하다는것을 보여주었다.[1] 이러한 연구결과는 많은 돼지품종들에서도 일관하게 나타났다.[2, 3, 5]

맺 는 말

몇가지 돼지품종에서 SNP분석을 위한 SuMC4R유전자단편의 증폭산물의 크기는 226bp이다.

SuMC4R유전자의 SNP가 나타난 비율은 《듀로크》품종에서는 G형이 0.25, A형이 0.75이고 《요크샤》품종에서는 0.125와 0.875, 《란드라스》품종에서는 0.25와 0.75로서 G가 A로 바뀌어진 개체수비율이 높았다.

참 고 문 헌

- [1] I. K. Lyadskiy et al.; Cytology and Genetics, **45**, 2, 106, 2011.
- [2] Kensuke Hirose et al.; Animal Science Journal, **85**, 198, 2014.
- [3] Zhe Chao et al.; Mol. Biol. Rep., **39**, 6329, 2012.
- [4] Carmen Burgos et al.; Meat Science, **73**, 144, 2006.
- [5] 杨岸奇 等; 广东畜牧兽医科技, **38**, 1, 42, 2013.

SNP Analysis of Melanocortin-4 Receptor (MC4R) Gene in Some Pig Breeds

Kang Kum Byol, Pak Hak Song

Melanocortin-4 receptor (MC4R) gene has been implicated in the regulation of feeding behavior and body weight in some pig breeds.

The SNP ratio of the MC4R gene, G genotype is 0.25, A genotype—0.75 in “Drocke” and “Landras”, is 0.125 and 0.875 in “Yorkusa”. The production character of A genotype is more predominant than one of G genotype in some pig breeds.

Key words: pig breeds, melanocortin-4 receptor gene, SNP