

RAPD에 의한 개품종 《세인트 버나드》와 계통 〈L ㄹ〉의 섞불임후대에서 선발한 개체들의 유전거리평가

리지성, 박학성, 김현철

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 동물육종에서는 표식자도움선택(Marker-assisted selection: MAS)기술을 리용하여 유전적류연관계분석과 섞불임쌍선택 등을 DNA수준에서 진행함으로써 육종사업을 보다 과학화해나가고있다.[2-6]

우리는 개육종을 과학화할 목적으로 임의증폭다형성DNA(Randomly Amplified Polymorphic DNA: RAPD)기술을 리용하여 다른 나라의 우량개품종인 《세인트 버나드》와 우리 나라의 노랑개계통인 〈L ㄹ〉를 섞불임한 후대들에서 선발한 개체들사이의 유전거리를 평가하였다.

재료와 방법

연구재료로는 다른 나라의 우량개품종 《세인트 버나드》와 우리 나라의 노랑개계통 〈L ㄹ〉사이에서 섞불임한 후대들가운데서 선발한 15마리의 개체들을 리용하였다.

연구방법 개의 앞다리정맥에서 뽑은 혈액으로부터 페놀-클로로포름법으로 게놈DNA를 분리하였다. DNA순도는 나노단백질 및 핵산정량장치(《Thermo》)를 리용하여 비교하고 1% 아가로즈겔전기영동으로 확인하였다.

RAPD프라이머는 개에서 품종들사이 다형성이 높은 4개의 프라이머 OPD3, OPN4, OPN6, OPI14를 리용하였으며 PCR는 RAPD분석의 정해진 프로그램에 따라 진행하였다.[1]

증폭산물들은 에티디움브로미드로 염색한 1.2% 아가로즈겔에서 영동하여 겔화상입력장치(《Geldoc-It™》)에서 관찰하였다.

유전거리는 NTsys(Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System)를 리용하여 평가하였다.

결과 및 논의

1) 출발개체들의 DNA분리 및 확인

섞불임후대들가운데서 선발한 15마리의 혈액으로부터 DNA를 분리하여 DNA의 순도를 비교하였다. 모든 혈액시료들에서 분리한 DNA의 농도가 10~100ng/mL 범위에 있고 A_{260}/A_{280}

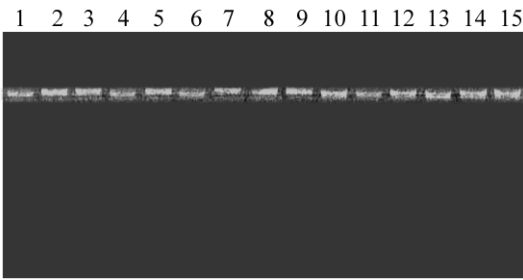


그림 1. 15개 시료DNA의 1% 아가로스겔 전기영동상
1-15는 선발한 쉼벌입후대의 개체번호임

값이 1.8~2.0사이에 있으므로 분리한 DNA가 비교적 순수하게 분리되었다고 볼수 있다.

분리한 DNA의 1% 아가로스겔전기영동상은 그림 1과 같다.

그림 1에서 보는바와 같이 모든 개체로부터 분리한 DNA는 아가로스겔전기영동상에서 단일띠로 나타났으므로 실험과정에 기계적파괴나 효소에 의한 분해가 진행되지 않았다고 볼수 있으며 따라서 다음 공정의 PCR에 리용할수 있다.

2) 출발품종별개체들사이의 유전거리평가를 위한 RAPD분석

개에서 다형성이 높은 4개의 RAPD프라이머 OPD3, OPN4, OPN6, OPI14를 리용하여 PCR로 증폭하고 전기영동을 하였다.(그림 2-5)

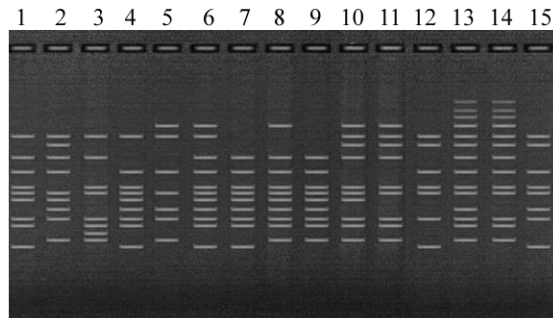


그림 2. RAPD프라이머 OPD3을 리용한 15개 시료 PCR산물의 1.2% 아가로스겔 전기영동상
1-15는 그림 1에서와 같음

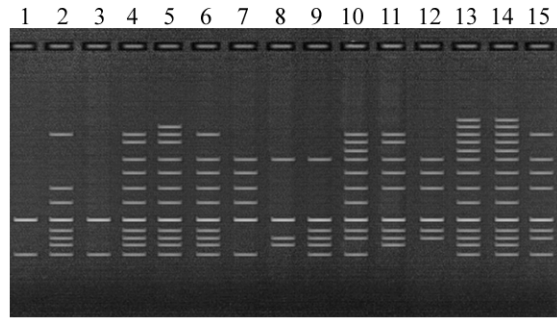


그림 3. RAPD프라이머 OPN4를 리용한 15개 시료 PCR산물의 1.2% 아가로스겔 전기영동상
1-15는 그림 1에서와 같음

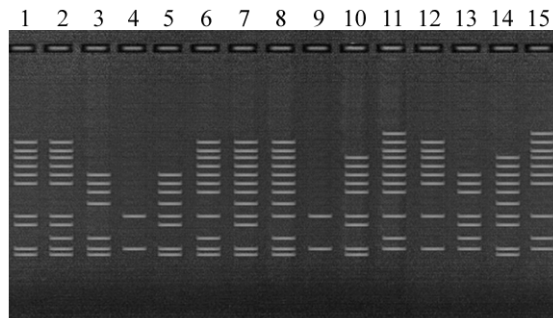


그림 4. RAPD프라이머 OPN6을 리용한 15개 시료 PCR산물의 1.2% 아가로스겔 전기영동상
1-15는 그림 1에서와 같음

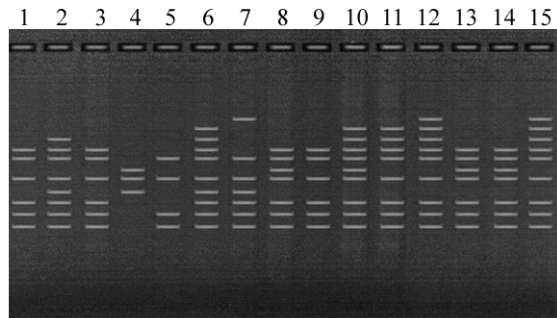


그림 5. RAPD프라이머 OPI14를 리용한 15개 시료 PCR산물의 1.2% 아가로스겔 전기영동상
1-15는 그림 1에서와 같음

그림 2-5에서 보는바와 같이 매 프라이머에 의한 증폭띠수는 5~17개 범위에 있으며 OPD3프라이머에서 최고 17개의 증폭띠가 나타났다.

3) NTsys를 리용한 유전거리평가

매 전기영동상들에서 증폭띠들의 유무에 기초하여 15마리 개체들사이의 유전거리를 평가하였다. 계산한 유전거리값은 표와 같다.

표. 15마리 개체들사이의 유전거리

	1	2	3	4	5	6	7	8
1	0.000 0							
2	0.310 9	0.000 0						
3	0.339 0	0.698 7	0.000 0					
4	0.746 3	0.571 6	0.797 2	0.000 0				
5	0.746 3	0.430 0	0.698 7	0.310 9	0.000 0			
6	0.430 0	0.257 8	0.611 6	0.497 5	0.430 0	0.000 0		
7	0.184 6	0.398 4	0.430 0	0.533 6	0.398 4	0.283 9	0.000 0	
8	0.283 9	0.398 4	0.368 1	0.611 6	0.533 6	0.232 6	0.257 8	0.000 0
9	0.746 3	0.571 6	0.797 2	0.036 2	0.310 9	0.497 5	0.533 6	0.611 6
10	0.430 0	0.368 1	0.611 6	0.571 6	0.430 0	0.208 2	0.339 0	0.463 0
11	0.497 5	0.368 1	0.698 7	0.653 9	0.653 9	0.208 2	0.533 6	0.339 0
12	0.497 5	0.430 0	0.797 2	0.571 6	0.571 6	0.310 9	0.463 0	0.463 0
13	0.797 2	0.611 6	0.746 3	0.533 6	0.398 4	0.463 0	0.653 9	0.571 6
14	0.653 9	0.571 6	0.797 2	0.653 9	0.368 1	0.430 0	0.463 0	0.463 0
15	0.430 0	0.257 8	0.611 6	0.497 5	0.430 0	0.045 7	0.283 9	0.232 6

	9	10	11	12	13	14	15
9	0.000 0						
10	0.571 6	0.000 0					
11	0.653 9	0.208 2	0.000 0				
12	0.571 6	0.430 0	0.310 9	0.000 0			
13	0.533 6	0.339 0	0.463 0	0.797 2	0.000 0		
14	0.653 9	0.257 8	0.497 5	0.746 3	0.096 9	0.000 0	
15	0.497 5	0.208 2	0.208 2	0.310 9	0.463 0	0.430 0	0.000 0

후대들가운데서 4번개체와 9번개체, 6번개체와 15번개체는 한배에서 나온 형제들인데 유전거리가 0.036 2, 0.045 7로서 매우 작다. 그러므로 혈연관계를 정확히 반영한다. 또한 3번개체와 13번개체는 0.746 3, 3번개체와 14번개체는 0.797 2로서 제일 크다. 위의 결과로부터 선발한 4개의 RAPD표식자들이 개체들사이의 유전거리를 비교적 정확히 반영한다고 볼 수 있다.

맺 는 말

RAPD프라이머 OPD3, OPN4, OPN6, OPI14를 리용한 개섞불임후대들사이의 유전거리는 0.04~0.80사이이며 형제들인 4번개체와 9번개체는 0.04, 6번개체와 15번개체는 0.05로서 매우 작다. 또한 3번개체와 13번개체는 0.75, 3번개체와 14번개체는 0.80으로서 유전거리가 제일 크다.

참 고 문 헌

- [1] 김일성종합대학학보(자연과학), 59, 12, 83, 주체102(2013).
- [2] W. K. Chen et al.; Genome Research, 19, 500, 2009.
- [3] N. H. Dodman et al.; Molecular Psychiatry, 15, 8, 2010.
- [4] Anila Hoda et al.; Belgrade, 64, 2, 799, 2012.
- [5] 战大伟 等; 实验动物科学与管理, 20, 145, 2003.
- [6] 黄朝峰 等; 中国实验动物学报, 10, 2, 65, 2002.

주체105(2016)년 3월 5일 원고접수

**Estimation of Genetic Distance between Selected Organisms
among Crossing Offsprings of Breed “Saint Bernard”
and Strain ‘ㄴ ㄹ’ in Dogs by using RAPD**

Ri Ji Song, Pak Hak Song and Kim Hyon Chol

When RAPD analysis performed by using the primers OPD3, OPN4, OPN6, OPI14, the genetic distance between breed “Saint Bernard” and strain ‘ㄴ ㄹ’ is 0.04 to 0.80.

The genetic distance between No. 4 and No. 9 individuals which are full-sibling is 0.04 and that between No. 6 and No. 15 individuals is 0.05, so they are the closest among progeny.

And the genetic distance between No. 3 and No. 13 individuals is 0.75 and that between No. 3 and No. 14 individuals is 0.80, so they are the furthest.

Key words: RAPD, dog, genetic distance