

재래흑염소 미토콘드리아 DNA를 이용한 계통분석 연구

김가은, 최봉환

국립축산과학원 가축유전자원센터

e-mail : gagauneun@naver.com

Phylogenetic Analysis Research Using Mitochondrial DNA of Korean Native Goat

Ga-Eun KIM, Bong-Hwan Choi

National Institute of Animal Science Animal Genetic Resources Research Center

요약

본 논문에서는 한국의 고유 재래자원인 흑염소의 유전구조와 기원을 설명하는 유전자 분석을 실시하였다. 유전적 다양성을 분석하는 일반적인 방법인 미토콘드리아의 전체 게놈을 활용하여 국립축산과학원 가축유전자원시험장에서 보존·관리 중인 재래흑염소 4개 집단(당진, 통영, 장수, 경상대)과 농가에서 수집한 외래종 집단, 그리고 Genbank에서 얻은 미토콘드리아 데이터를 조사하였다. Genbank에서 얻은 샘플들은 하플로그룹(A, B, C, D, G) 5가지에 속하여 재래흑염소의 기원 및 계통발생분석을 위한 기준선을 제공하였다. 재래흑염소는 외래종에서도 특히 유산양(누비안, 알파인, 토겐부르크, 자넨)과 뚜렷이 구분되며, 맨해튼 플랏으로 표현된 ASSOC 분석에서도 유산양종과 육용종(보어, 재래흑염소)을 구별하는 마커들의 존재를 확인하였다. 계통수 분석(Neighbor-Joining tree)을 통해서 하플로그룹 A와 재래흑염소 집단이 최종적으로 분류 되는 것으로 보아 이는 재래흑염소 집단이 A그룹에 소속되어 있거나 이와 밀접한 관련이 있음을 확인하였다. 또한, 서열 간 진화 관계를 시각화하기 위해 Median-Joining network를 실행한 결과 계통수 분석에서 밝혀진 바와 같이 하플로그룹 A와 가깝지만 재래흑염소 집단만의 뚜렷한 유전 구조를 갖는 것으로 나타났다. 본 연구와 더불어 계속해서 재래흑염소의 유전학적 기원을 밝히기 위한 분석과 품종식별 변이를 발굴하여 유전자원 연구에 대한 토대를 마련하고자 한다.

1. 서론

염소는 UN 식량농업기구(FAO)[1]에서는 5대 가축 중 하나로 정의되어 식량 및 섬유의 귀중한 자원으로 기술되고 있다. 그 중 한국의 고유 재래자원인 흑염소는 거칠고 조악한 환경에서도 높은 적응력과 생산성을 보이며 검은 모색의 특징을 가지고 있다.

재래흑염소는 통영의 육지도, 장수, 당진에서 폐쇄축군인 순종 집단을 수집하여 가축유전자원시험장에서 보존·관리 하고 있다. 현재 순종 집단에 대한 역사와 기원은 연구되지 않았으며 미토콘드리아의 특정 부분을 이용한 분석[2]만 진행되어 왔다. 16s rRNA의 경우 보존되는 영역으로써 느린 돌연변이 속도를 가지며, D-loop영역은 높은 돌연변이율을 가지며 빠르게 진화하는 특징을 가지고 있다.

따라서 미토콘드리아 게놈은 다양한 진화속도를 가지고 있는 여러 유전자를 통합하여 포괄적으로 이용함으로써 진화 역사에 대한 균형잡힌 시각을 제공할 필요성이 제기된다[5]. 이에 따라 본 연구는 재래흑염소의 기원과 진화 역사를 위한 계속

적인 연구의 기초자료로써 계통발생적 분석에 대해 조사하였다.

2. 재료 및 방법

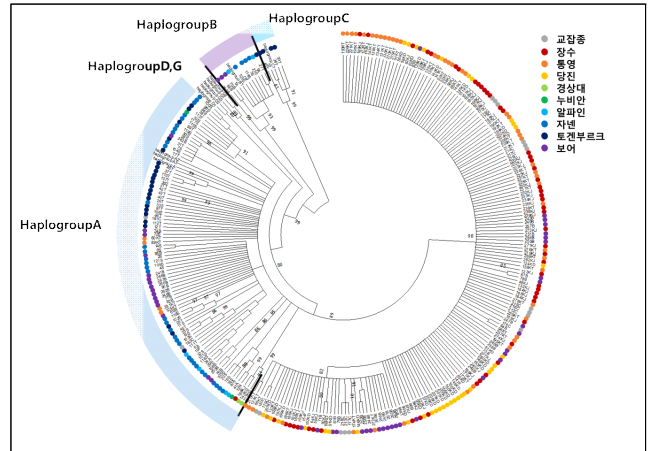
2.1 실험 재료

국립축산과학원 가축유전자원시험장에서 관리하고 있는 4개 집단(통영, 장수, 당진, 경상대)과 염소 농장(보어, 누비안, 알파인, 자넨, 토겐부르크)의 염소 282두에서 DNA를 추출하였다.

위 염소들의 기원과 계통발생적 분류를 밝히기 위해 기존 연구[3]의 전 세계 염소 샘플에서 확인된 haplogroup을 기준으로 삼고자 해당 논문에서 쓰인 10두의 개체를 NCBI에서 수집하였고, 또한 capra hircus의 대표적인 genome 다운 받아 총 293마리의 데이터 세트를 완성하였다[표 1].

[표 1] 샘플 정보

품종	계통	개체수(두)
재래흑염소	통영	51
	장수	54
	당진	37
	경상대	2
	교잡종	17
보어		48
토겐부르크		28
알파인		6
자넨		37
누비안		2
NCBI		11
총		293



[그림 1] 계통수 분석(NJ tree)

2.2 실험 방법

2.2.1 계통수 분석(Neighbor Joining Tree)

Mega 소프트웨어 버전 11을 사용하여 유전적 거리 지수를 추정하고 계통 발생 분석을 수행하기 위하여 Neighbor-joining tree를 작성하였다.

2.2.2 중앙 결합 네트워크 분석(Median-Joining Network)

PopART Studio 소프트웨어 버전 10.2를 사용하여 네트워크를 구축하고 개체와 집단의 유전적 다양성과 구조적 패턴을 조사하였다.

2.2.3 GWAS 분석

상관분석을 위해 Python에서 구현된 GWAS(게놈 전체 연관 연구)에 일반적으로 사용되는 도구인 Assoc을 사용하였다. 분석결과는 Manhattan plot을 통해 시각화하였다.

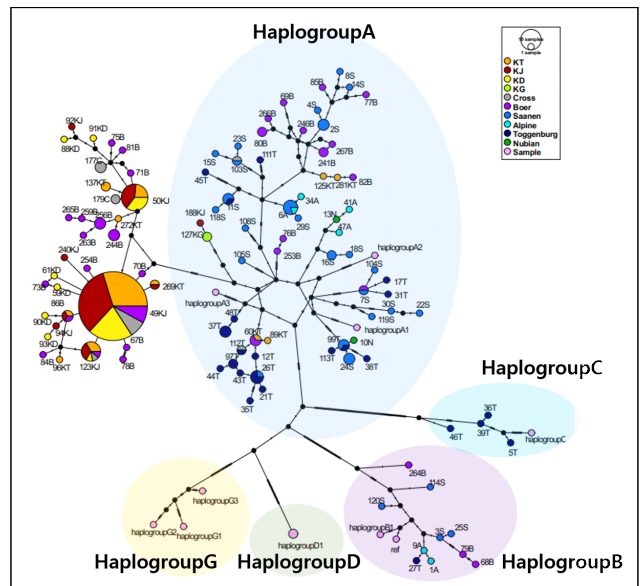
3. 연구결과

3.1 계통수 분석(Neighbor-Joining tree)

계통수 분석 결과[그림1], 기존 연구[3]에서 보고한 결과와 같이 C, B, D, G 그리고 A 순서로 하플로그룹의 분류를 확인하였다. 하플로 그룹 A는 세계적으로 가장 많은 염소가 포함된 집단이며[1, 4] 이 분석에서는 하플로그룹 A이 가장 최근에 분기되었음을 나타냈다. 또한 1000번의 부트스트랩 반복중 98%의 동일성 테스트 값을 통해 재래흑염소 집단이 하플로그룹 A와 관련이 있으면서도 구별되는 것으로 확인되었다.

3.2 중앙 결합 네트워크 분석(Median-Joining Network)

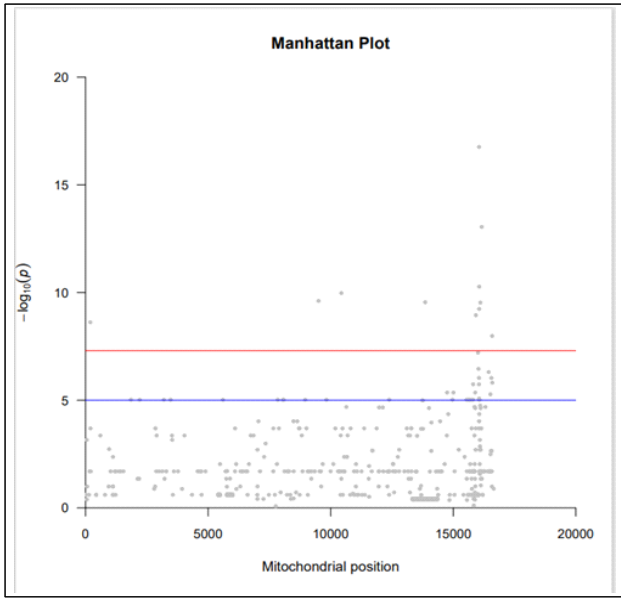
MJ Network 결과 원편에 표시된 무색 바탕 그룹은 재래흑염소 집단이며 Haplogroup A와 매우 가깝지만 계통수 분석 결과에서 밝혀진 바와 같이 별개의 집단인 것으로 작성되었다[그림 2].



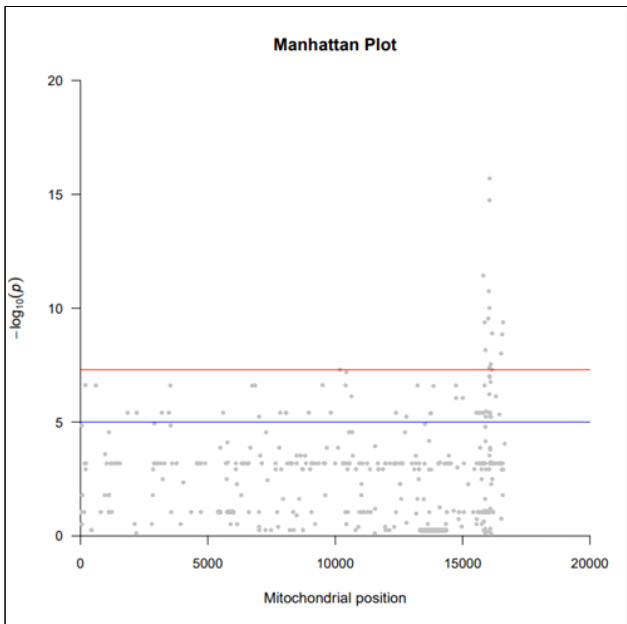
[그림 2] 중앙 결합 네트워크 분석(MJ network)

3.3 GWAS 분석

Assoc 분석 결과 재래흑염소 집단과 외래종간[그림 3] 그리고 유용종(알파인, 누비안, 자넨, 토겐부르크)과 육용종(보어, 재래흑염소)[그림 4]을 식별하는 유전자 마커는 주로 초다변량 부위(HVI)인 D-loop 영역에 다수 존재하는 것으로 조사되었다.



[그림 3] 재래종과 외래종 구별하는 GWAS 분석결과 맨해튼플롯



[그림 4] 유용종과 육용종 구별하는 GWAS 분석결과 맨해튼플롯

다. 결론적으로, 본 연구 결과는 재래흑염소의 유전적 기초를 이해하는데 기여하며, 유전자원 보존의 중요성을 재확인하였다.

참고문헌

[1] Rischkowsky 등, *The State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture*, FAO, 2007년.
 [2] 김재환 등, “한국재래염소의 mtDNA 다양성 및 계통유전학적 분석”, *생명과학회지*, 제 21권 9호, pp. 1329-1335, 8월, 2011년.
 [3] Licia Colli 등, “Whole mitochondrial genomes unveil the impact of domestication on goat matrilineal variability”, *BMC Genomics*, 제 16권, pp. 1115, 12월, 2015년.
 [4] TAREKEGN 등, “Mitochondrial DNA variation reveals maternal origins and demographic dynamics of Ethiopian indigenous goats”, *Ecology and Evolution*, 제 8권 3호, pp. 1543-1553, 2월, 2018년.
 [5] Saeid Naderi 등, “Large-Scale Mitochondrial DNA Analysis of the Domestic Goat Reveals Six Haplogroups with High Diversity”, *PLoS ONE*, 제 2권, 10호, pp. 1012, 10월, 2007년.

4. 결론

본 연구에서는 전체 미토콘드리아 계놈을 활용하여 재래흑염소에 대한 포괄적인 유전자 연구를 진행하여 유전적 다양성과 진화 역사에 대해 조사하였다. 계통 발생수 분석 및 중간 결합 네트워크 분석을 통해서 재래흑염소 집단이 Haplogroup A와 밀접하게 관련되어 있으면서도 별개의 그룹을 구성하여 재래흑염소가 독특한 유전적 혈통임을 반복 확인하였다. 더욱이, GWAS 분석에서 재래흑염소와 외래종을 구별하는 유전자 변이의 존재를 발굴하여 유전적 차이를 찾아냈