
석사학위논문

제주 재래마와 쓰시마 재래마에서
혈액단백질 다형현상에 대한
유전학적 연구

제주대학교 대학원

생물학과

오 유 성

1995년 2월

제주 재래마와 쓰시마 재래마에서
혈액단백질 다형현상에 대한
유전학적 연구


지도교수 : 오 문 유


오 유 성


이 논문을 이학 석사학위 논문으로 제출함

1995 年 2 月

오유성의 이학 석사학위 논문을 인준함

심사위원장 金源澤 

위 원 吳文儒 

위 원 金世宰 

제주대학교 대학원

1995 年 2 月

**Genetic Studies on the Blood Proteins
Polymorphisms in Cheju Native Horses
and Tsushima Native Horses**

You-Sung Oh

(Supervised by Professor **Moon-You Oh**)

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

**DEPARTMENT OF BIOLOGY
GRADUATE SCHOOL
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY**

1995. 2

목 차

ABSTRACT-----	page 1
I. 서론-----	2
II. 재료및방법-----	6
III. 결과-----	17
IV. 고찰-----	48
요약-----	51
참고문헌-----	52
감사의 글-----	57

Abstract

The phylogenetic relationships were studied between Cheju native horses and Tsushima native horses by protein polymorphisms in 16 loci (Trypsin inhibitor :Ti, Chymotrypsin inhibitor : CTi, Albumin : Al, Transferrin : Tf, Esterase : Es, Hemoglobin :Hb, Catalase : Cat, Esterase D: EsD, Glutamate oxaloacetate transaminase :GOT, Glyoxalase : GLO, Acid phosphatase : AcP, Superoxide dismutase : SOD, Lactate dehydrogenase : LDH, Hexokinase : HK, Malate dehydrogenase : MDH, Malic enzyme : ME). All allelic patterns of the protein loci, except 5 protein loci(SOD, LDH, HK, MDH, ME), were polymorphic in two populations.

Gene frequencies of the polymorphic loci of the population of Cheju native horse were higher than those of the population of Tsushima native horse. Average heterozygosity in Cheju native horses was 0.375, which was higher than that calculated from Tsushima native horses(0.304).

These data were used to calculate Da distance and to construct the phylogenetic tree. The Da distance and gene identity of two populations were 0.107 and 0.87, respectively.

The phylogenetic tree constructed by this results and those previously reported in other horse populations, showed that at least three clusters were observed and that Cheju native horses were closely related to the Tsushima native horses. From this tree, it could be suggested that Cheju native horses and Tsushima native horses had diverged from a Mongolian wild horse(*E. przewalskii*).

I. 서론

현 지구상에 존재하고 있는 말의 분류학적 위치는 기제목(Perissodactyla) 말과(Equidae)에 속하는 것으로, 말 외에 얼룩말, 당나귀 등이 전세계에 걸쳐 널리 분포하고 있다.

말의 진화과정은 매우 복잡하고 다양하며, 가축으로서 인류역사와 더불어 변화하여 온 관계로, 인류사의 발달과 기원에 대한 연구에도 널리 이용되고 있다.

현존하는 말의 조상은 북아메리카에서 비롯된 것으로 알려지고 있으며, 1개의 발가락을 가진 말의 계통으로부터 최초로 갈라진 것은 그래비 얼룩말(Grey's zebra, *Equus grevyi*)로서 이는 현 지구상의 말 중 가장 원시적인 특징을 지니고 있으며, 가축화된 말의 조상은 몽고 야생마(wild horse, *Equus przewalskii*)로 알려져 있다(Pett et al., 1983). 따라서 지구상에 현존하는 말의 종은 3계열(wild horse, donkey, zebra)에 7종(species)이 있는 것으로 보고되어 있다.

Equus 속에 속하는 말의 종(species)은 다양한 환경조건에 잘 적응하여 사람이 사는 곳에는 어디든지 분포되어 있다. 특히 동아시아의 여러 지역에 서식하는 재래마(native horse)들은 주로 운송수단으로 이용되어 왔는데, 이것들은 중앙아시아의 대초원인 몽골의 야생마가 자연적 이주 또는 인류와 동반한 이동에 의해 분산된 것으로 믿고 있다(Nozawa et al., 1976).

일찌기 동아시아에 분포하는 재래마 집단들에 대한 생물학적 연구는 체고, 모색 등에 관한 형태학적 관찰이 주종을 이루어왔다. 이를 기초로 한 여러 학자들의 연구에 의하면 동아시아의 재래마들은 체고가 125 cm 미만인 소형마 (small-sized horse)와 125 cm 이상인 중형마 (medium-sized horse)로 구분하였다 (Mori, 1929). 그래서 제주도 재래마와 쓰시마 (Tsushima) 재래마들은 소형마로 분류되고 있으며, 이들의 형태학적 유사성은 제주도와 쓰시마가 공통적으로 격리된 섬이어서 대륙의 재래마들에 비해 교잡에 의한 인위적인 선택을 덜 받았기 때문에 유사성이 유지된 것이라고 설명된 바 있다 (Hayashida, 1968). 한편 이러한 형태학적 형질분석에서 벗어나 재래마들의 유전적 형질을 분석하고 재래마 집단간의 계통유전학적 관계를 규명하기 위해 혈청학적, 면역학적 및 생화학적 방법 등을 이용하여 다양한 연구가 이루어졌다 (Nozawa *et al.*, 1965; 1975; 1976; Shotake, 1967; Oh *et al.*, 1992; Han *et al.*, 1990; Nozawa and Kondo, 1970).

Nozawa와 Kondo(1970)는 모색을 조절하는 유전자와 면역글로빈 유전자들의 다형연구를 통해 제주도 재래마는 중형마에 속하는 태국과 필리핀 재래마들과 매우 유사하다는 흥미로운 사실을 보고 하였다. 그러나 이러한 유전자는 인위적 선택압으로 간주되기에는 설득력이 없다. 따라서 동아시아의 재래마 집단들에 대한 단백질 수준에서의 다형현상에 대한 연구가 집중되었고, 제주도 재래마와 쓰시마 재래마는 계통유전학적으로 매우 밀접하다고 보고된 바 있다 (Nozawa *et al.*, 1976).

북제주군 애월읍 괏지리의 유적에서 출토된 말 뼈의 골학적 관찰에 의하면 이 말의 뼈는 중형마에 속하는 말의 유골로서, 연대 측정상 제주에는 적어도 몽고

말이 유입되기(13세기) 훨씬 이전에 체격이 큰 말이 서식하고 있었음을 보여 주고 있으며, 그 후 몽고 말의 혈통이 혼입되었을 가능성이 있고 현재 제주 재래마의 왜소한 체형은 후천적 환경에 영향을 받았을 가능성도 전혀 배재할 수 없을 것으로 생각된다고 보고 하였다(신, 1993). 또한 강(1969)은 자연적 환경 조건 및 인위적 조건인 선택과 도태를 거치면서 발육에도 큰 영향을 미칠수 있다고하며 이런점은 한우에서도 증명된 바 있다고 하였다.

동아시아에 분포하는 재래마들은 이들을 사육하는 인류집단의 역사와 연결해 볼 때, 이들의 조상 또는 계통 유전학적 유연관계의 규명은 연구자 등에게 매우 흥미로운 관심사가 되었다. 특히 섬 집단들을 대상으로 한 유전적 구조의 연구들은 진화과정의 이해를 돕는 데 중요하기 때문에, 제주도와 쓰시마에서 사육되는 재래마 집단들에 대한 유전학적 연구는 이들의 진화적 의문점들과 더불어 민족의 이동을 연관시키는 데 매우 중요한 과정이라 볼 수 있다.

제주와 쓰시마는 지리적으로 가까운 위치에 있고, 공통적으로 격리된 섬이라는 특성을 갖으며, 이곳에서 사육되고 있는 재래마들은 뚜렷한 구분점이 없는 서로 유사한 형태적 크기와 특성을 갖고 있다. 이들이 섬으로의 이주와 그 환경 그리고 유전적 격리등 오랜동안 격리된 섬들이라는 점을 고려해 볼 때 유전적 중요성을 지닐 것으로 생각된다.

그리고 두 집단의 마종은 몽고계 말의 계통에 연결되며 일본 재래마들은 조선 반도를 경유해서 다양한 문물을 받아들이는 가운데, 몽고계 말이 수입되어 말 생산이 시작됐다고 추정하였다(Nozawa, 1992).

본 연구는 우선 두 지역에서 사육되는 재래마 집단에서 혈액 단백질의 다형에 의한 집단간의 유전적 거리를 분석한 후 타 집단과도 비교함으로써 제주 재래

마와 쓰시마 재래마의 유전학적 유연 관계를 구명하는 기초 자료를 제공하기
위해서 실시하였다.

II. 재료 및 방법

1. 혈액 채취 및 시료준비

제주 재래마의 혈액은 제주 경마장의 경주마 중에서 소형마(125 cm 미만)로 인정된 100여 두의 말을 골라, 각각의 경정맥에서 50 ml씩 채혈되었다. 그리고 쓰시마 재래마의 혈액은 쓰시마의 농가에서 사육되고 있는 소형마 25두의 경정맥에서 50 ml의 혈액을 채취하였다.

혈액응고를 방지하기 위해 0.5 M EDTA를 5ml 넣고, 1500 X g에서 5분간 원심분리하여 혈장과 혈구를 분리하였다.

분리된 적혈구는 0.9% Saline solution(생리적 식염수)으로 세 번 세척한 후 냉동(-50℃) 보관하였다가 전기영동 직전에 0.02 M phosphate buffer(pH 6.8)를 동량 넣어 냉동고(-20℃)에서 얼린 후 실온에서 해동시켜 hemolysates를 시료로 사용하였다.

2. 실험 방법

2-1. 혈장 단백질의 전기영동 및 염색

2-1-1. Trypsin inhibitor and Chymotrypsin inhibitor

Bell(1984)의 방법을 약간 변형한 thin layer acid gradient polyacrylamide gel electrophoresis를 실시하였다. Acrylamide

stock solution (30.8% T, 2.6% C)은 30g acrylamide, 0.8g bis-acrylamide에 증류수 75 ml를 가하여 완전히 녹인 후 여과시킨 다음 최종 부피를 100 ml로 만들어 갈색 병에 넣고, 4°C가 유지되는 곳에 보관하면서 사용하였다.

전기영동을 위한 Gel은 separating gel(10%, 8%), sample gel(4%)이 separating gel은 10% (7 cm), 8% (6 cm), sample gel은 4% (3 cm) 되도록 gradient를 만들어 사용하였다. Gel buffer는 0.16 M pyridine, 8.77 M HCl(pH4.6)를 사용했으며, 양극 buffer는 0.0124 M pyridine(pH4.4) 음극 buffer는 0.08 M cacodylic acid, 0.084 M pyridine (pH5.6)을 사용하였다.

시료는 혈장 8 μ l에 25% glycerol BPB 용액 8 μ l를 잘 섞은 다음 이 중에서 8 μ l를 취하여 apply 하였다. 전기영동은 4°C, 200V 조건에서 albumin-BPB complex가 10% separating gel 로 이동할 때 까지 약 10시간 동안 실시 하였다.

염색은 Trypsin 4 mg, Chymotrypsin 2 mg을 0.1 M phosphate buffer (pH7.4)에 녹여 gel을 Trypsin sol.과 Chymotrypsin sol.에서 30분 동안 incubation 시킨 후 0.025 M phosphate buffer (pH7.4) 100 ml에 2 ml의 dimethylformamide에 녹인 50mg N-acetyl- α -phenylalaine- β -naphthyl ester와 100 mg의 fast blue B salt를 넣고 60분 동안 incubation 시켜서 선별염색 하였다.

2-1-2. Albumin

Gel과 buffer 의 조성은 Table 1 과 같으며 시료로는 혈장 $15\mu\text{l}$ 와 25% glycerol BPB 용액 $15\mu\text{l}$ 를 혼합한 후 이 중에서 $15\mu\text{l}$ 를 취하여 apply 하였다. 전기영동은 4°C , 200V 조건에서 albumin-BPB complex 가 10% separating gel 로 이동할 때까지 실시 하였다.

염색은 Coomassie Brilliant Blue G250 으로 염색하였다.

2-1-3. Esterase

Anderson 과 Braend(1989)의 Isoelectrofocusing-polyacrylamide gel electrophoresis (IEF-PAGE)를 변형하여 실시하였다. IEF gel은 IEF-acrylamide stock sol.(30 % T, 3 % C) 3.75ml, 증류수 15ml, glycerol(85%) 2.25ml, ampholine(pH3.5-5.0) 0.6ml, ampholine(pH 4.0-6.0) 0.6ml를 섞은 후 vacuume pump로 degassing 시킨 후 TEMED $50\mu\text{l}$, 10% ammonium persulphate $100\mu\text{l}$ 를 넣고 중합시켰다.

양극 완충액은 1 M H_3PO_4 , 음극 완충액은 2% ampholine(pH 5.0-7.0) sol.을 사용하였다.

전기영동은 2,000V, 25mA, 25W, 10°C 조건에서 1시간 동안 prerunning한 후 시료는 3 MM(Whatmann) paper를 5 X 10 mm 크기에 혈장 원액 $2\mu\text{l}$ 를 apply하였다. 30분 동안 focusing한 다음 pieces를 제거한 후 2시간 30분 간 focusing하였다.

염색은 300 mg Fast Blue RR salt, 2% α -naphthylacetic acid 6 ml(alcohol에 용해), 0.075 M phosphate buffer(pH8.0) 400 ml 를 섞은 용액에서 10분 간 실시한 후 11.5% trichloroacetic acid, 35% sulfosalicylic acid 로 1시간 동안 고정 하여 물로 세척하였다.

2-1-4. Transferrin

전분 겔 전기영동 방법(Gahne,1963)에 의해 실시하였고 Coomassie Brillent Blue G250 으로 염색하였다.

2-2. 적혈구 단백질 및 효소의 전기영동 과 염색

2-2-1. Hemoglobin

Bowling(1988)의 IEF-PAGE(pH5.5-8.5) 방법을 변형하여 실시하였다. 양극 완충액은 0.4 M HEPES, 음극 완충액으로는 0.1 M NaOH를 각각 bridge buffer로 사용했다. Sample apply는 hemolysate 10 μ l 를 5 X 10 mm sample pieces에 묻혀 음극으로 부터 2cm 떨어진 위치에 올려 놓고 전기영동은 1,600 A, 50 mV, 25W, 10 $^{\circ}$ C 조건에서 30분간 focusing한 후 pieces를 제거하여 2시간 동안 더 focusing하였다. 전기영동이 끝난 다음 고정액으로 1시간 동안 고정하여 상온에서 gel dry 시킨 후 표현형을 분석 하였다.

2-2-2. Acid phosphatase

Gel과 buffer의 조성은 Table 2 에서 I 의 방법과 같으며, 전기영동은 4°C, 50V 조건에서 18시간 동안 실시하였다.

염색은 0.05 M citrate buffer(pH6.8) 100 ml에 275 mg phenolphthalein diphosphate(Na₂ salt)를 녹인 용액에서 4시간 동안 incubation 시킨 후 암모니아를 한 방울씩 반응이 일어날 때 까지 떨어뜨렸다.

2-2-3. Catalase

Gel과 buffer의 조성은 Table 2 에서 II 의 방법과 같으며, 전기영동은 4°C, 50V 조건에서 18시간 동안 실시하였다.

염색은 A용액(3% H₂O₂ 5 ml, 0.1 M phosphate (pH7.0) 10 ml, 0.06 M Na₂S₂O₃·5H₂O 7 ml, H₂O 78 ml)으로 gel을 실은 에서 15분간 incubation 한 후 A 용액을 버리고 물로 씻은 후 B 용액(0.09 M KI 50 ml, H₂O 50 ml)에서 주위가 청남색이 될 때까지 반응 시켰다.

2-2-4. Esterase D

Gel과 buffer의 조성은 Table 2 에서 II 의 방법과 같으며, 전기영동은 4°C, 50V 조건에서 18시간 동안 실시하였다.

염색은 acetone에 녹인 100 mg 4-Methylumbelliferyl acetate를 100 ml 0.1 M phosphate buffer(pH6.5)에 섞어 gel을 incubation 시켰다.

2-2-5. Glyoxalase I

Gel과 buffer의 조성은 Table 2 에서 IV 의 방법과 같으며, 전기영동은 4°C, 50V 조건에서 18시간 동안 실시하였다.

염색은 gel을 0.2 M phosphate buffer(pH6.8) 50 ml에 257 mM Methylglyoxal 0.9 ml, 16.5 mM Glutathione(GSH) 250 mg, MTT 50 mg을 섞은 용액에서 incubation한 후 0.06 mM dichlorophenol indophenol(DCIP)을 넣어 발색시켰다.

2-2-6. Glutamate-oxaloacetate transaminase

Gel과 buffer의 조성은 Table 2 에서 I 의 방법과 같으며, 전기영동은 4°C, 50V 조건에서 18시간 동안 실시하였다.

염색은 gel을 0.1 M Tris buffer (pH8.0)에 L-Aspartic acid, 2-Oxoglutaric acid, Fast Blue B 를 넣은 용액에서 incubation시켰다.

2-2-7. Hexokinase

Gel과 buffer의 조성은 Table 2 에서 II 의 방법과 같으며, 전기영동은 4°C, 50V 조건에서 18시간 동안 실시하였다.

염색은 gel을 0.1 M Tris (pH7.5) 에 Glucose, ATP, NADP, MTT, PMS, Glucose-6-phosphate dehydrogenase, 0.02 M MgCl₂을 섞은 용액에서 incubation 시켰다.

2-2-8. Lactate dehydrogenase

Gel과 buffer의 조성은 Table 2 에서 III 의 방법과 같으며, 전기영동은 4℃, 50V 조건에서 18시간 동안 실시하였다.

염색은 gel을 0.05 M Tris(pH8.0)에 calcium lactate, NAD, MTT, PMS를 넣은 용액에서 incubation 시켰다.

2-2-9. Malate dehydrogenase

Gel과 buffer의 조성은 Table 2 에서 III 의 방법과 같으며, 전기영동은 4℃, 50V 조건에서 18시간 동안 실시하였다.

염색은 gel을 0.1 M Tris (pH8.0)에 L-Malic acid, NAD, MTT, PMS를 넣은 용액에서 incubation 시켰다.

2-2-10. Malic enzyme

Gel과 buffer의 조성은 Table 2 에서 I 의 방법과 같으며, 전기영동은 4℃, 50V 조건에서 18시간 동안 실시하였다.

염색은 gel을 0.1 M Tris (pH7.0)에 L-Malic acid, 0.2 M MgCl₂, NADP, MTT, PMS를 넣은 용액에서 incubation 시켰다.

2-2-11. Superoxide dismutase

Gel과 buffer의 조성은 Table 2 에서 III 의 방법과 같으며, 전기영동은 4℃, 50V 조건에서 18시간 동안 실시하였다.

염색은 gel을 0.05 M Tris(pH8.0)에 MTT, PMS를 넣어 incubation시

켰다.

3. Data 처리

3-1. 전기영동 결과 분석

전기영동 후 얻어진 단백질과 효소의 전기영동상(electromorph)을 이용하여 각 개체 별로 유전자좌(locus)를 확인하고, 유전자형(genotype)을 정하였다. 하나의 유전자좌에서 1개 이상의 동위효소가 존재할 경우 전기영동상의 이동도에 따라 F(fast), S(slow) 등의 alphabet으로 유전인자(allele)를 분류하였다.

3-2. 유전자 분석

두 집단의 유전인자의 빈도(gene frequency)를 구하였고, 계산된 유전자 빈도를 사용하여 Nei(1983)의 computer program에 의해 평균 이형접합자 빈도(average heterozygosity)와 유전자 동일성(gene identity)를 분석했다.

3-3. Da 값에 의한 계통유전학적 dendrogram 구성

유전자 빈도로 Nei(1983)방법에 의해 Da 값이 계산되었다.

$$Da = \sum_{k=1}^r (1 - \sum_{i=1}^{m_k} \sqrt{X_{ik} Y_{ik}} / r)$$

(m_k = k 번째 좌위에서 대립인자 수, r = 조사된 좌위 수)

본 연구의 결과, 제주 재래마집단과 쓰시마 재래마집단의 유전자 빈

도와 이미 보고된 미국말 집단들과 몽고 야생마(*E. przewalskii*) 집단에서 공통인 유전자좌의 유전인자들 사이에서 Nei(1983) 방법에 의한 Da 값에 의해 UPGMA(Unweighted pair-group method of the arithmetic mean; Sneath and Sokal, 1979) 방법으로 phylogenetic tree를 만들어 각 집단들간의 유연관계를 분석하였다.

Table 1. Composition of the gel (I) and buffer solution (II) for acid gradient polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE)

I. Composition of the gradient gel solution

Gel function	Stock solution 30% Acrylamide(ml)	Buffer(ml)	D · W(ml)	10%AP/TEMED (ml)	Total (ml)
Separation gel(10%)	11.67	8.75	13.7	0.25/0.1	35
Separation gel(8%)	9.33	8.75	16.04	0.25/0.1	35
Separation gel(4%)	2.66	5	11.84	0.2/0.05	20
Sealing gel	4.5	3	3.5	0.1/0.05	11

II. Composition of the buffer solution for PAGE

Gel buffer	0.16 M pyridine(12.8 ml)- 0.052 M TEMED(6 ml) with HCl pH 4.6
Electrode buffer	Cathode buffer(pH 5.6) 0.08 M Cacodylic acid(11.4g)- 0.084 M pyridine(6.8 ml) Anode buffer (pH 4.4) 0.084 M HCl(7.8 ml) - 0.124 M pyridine(10 ml)

Table 2. Composition of the starch gel buffer

NO	Electrode buffer	Gel buffer
I	0.155 M Tris-0.043 M Citric acid, pH 7.0	66.7:1, pH 7.0
II	0.3 M Borate, pH 8.0	10:1, pH 8.5
III	0.1 M Phosphate, pH 7.0	10:1, pH 7.0
IV	0.2 M Tris-histidine, pH 7.8	10:1, pH 7.8

III. 결 과

1. 혈장 단백질의 유전적 변이

1-1. Trypsin inhibitor(Ti)의 표현형과 유전자빈도

Ti의 표현형은 negative 선별염색에 의해 5개의 대립인자(Ti^F , Ti^G , Ti^I , Ti^L , Ti^S)가 검출되었다(그림 1). 쓰시마 재래마집단에서는 가장 빨리 이동하는 F 인자는 검출되지 않았으나 제주 재래마집단에서는 적은 빈도($Ti^F=0.10$)이지만 검출되었다. 그리고 중간 또는 느리게 이동하는 인자(Ti^I , Ti^L , Ti^S)는 두 집단에서 유사하게 검출되었다(Table 3).

각 집단에서 표현형을 χ^2 검정 결과 유의성이 인정되지 않아 Hardy-Weinberg 평형 상태에 있었다.

1-2. Chymotrypsin inhibitor(CTi) 표현형과 유전자빈도

CTi의 표현형은 Ti와 같은 방법으로 분석하였다(그림 2). 5개의 대립인자(CTi^F , CTi^G , CTi^I , CTi^L , CTi^S)를 분석 하였는데, 쓰시마 재래마집단에서는 가장 빨리 이동하는 F 인자는 검출되지 않았으며 중간 이동도를 갖는 I 인자($CTi^I=0.58$)가 가장 높은 빈도로 검출되었다. 제주 재래마 집단에서는 빠른 이동도를 갖는 G 인자($CTi^G=0.39$)가 가장 높게 검출되었다(Table 3).

각 집단에서 표현형을 χ^2 검정 결과 유의성이 인정되지 않아 Hardy-Weinberg 평형 상태에 있었다.

1-3. Esterase(Es) 표현형과 유전자빈도

Isoelectrofocusing(IEF) 분석 결과 표현형은 그림 3과 같으며 두 집단에서 3개의 대립인자(Es^F , Es^I , Es^S)가 검출되었다. 제주 재래마에서는 중간 이동도를 갖는 인자($Es^I=0.712$)가 가장 높은 빈도로 검출되었으나, 쓰시마 재래마집단에서는 세 가지 인자가 비슷한 빈도($Es^F=0.36$, $Es^I=0.34$, $Es^S=0.30$)로 검출되었다(Table 3).

각 집단에서 표현형을 χ^2 검정 결과 쓰시마 재래마집단에서는 유의성이 인정되지 않아 Hardy-Weinberg 평형 상태에 있었으나 제주 재래마집단 ($P < 0.05$)에서는 유의성이 인정되어 Hardy-Weinberg 평형 상태에서 벗어났다.

1-4. Albumin(AI) 표현형과 유전자빈도

AI의 표현형은 polyacrylamide gel electrophoresis(PAGE) 방법에 의해 그림 4와 같이 분석되었으며, 두 개의 대립인자(AI^A , AI^B)가 검출되었다. 두 대립인자의 빈도는 두 집단에서 비슷하게 검출되었으나 제주 재래마 집단에서는 느리게 이동하는 인자($AI^B=0.60$)의 빈도가 높았으며, 쓰시마 재래마집단에서는 빠르게 이동하는 인자($AI^A=0.52$)가 약간 높은 빈도로 검출되었다(Table 3).

각 집단에서 표현형을 χ^2 검정 결과 유의성이 인정되지 않아

Hardy-Weinberg 평형 상태에 있었다.

1-5. Transferrin(Tf) 표현형과 유전자빈도

전분 겔 전기영동 결과 4개의 대립인자(Tf^A , Tf^B , Tf^C , Tf^D)가 검출되었다(그림5). 제주 재래마집단에서는 빨리 이동하는 인자($Tf^A=0.29$, $Tf^B=0.48$)의 빈도가 높게 나타난 반면, 쓰시마 재래마집단에서는 중간 이동도를 갖는 인자($Tf^B=0.32$, $Tf^C=0.4$)의 빈도가 높게 나타났다(Table 3).

각 집단에서 표현형을 χ^2 검정 결과 유의성이 인정되지 않아 Hardy-Weinberg 평형 상태에 있었다.

2. 적혈구 단백질 및 효소의 유전적 변이

2-1. Hemoglobin(Hb) 표현형과 유전자빈도

IEF-PAGE(pH 5.5-8.5) 분석 결과 양극쪽에 한 개 또는 두 개의 band는 α_2 gene, 음극 쪽에 band는 α_1 gene의 산물에 의해 생긴다 (Bowling, 1988).

제주 재래마에서는 3개의 대립인자(Hb^A , Hb^{B1} , Hb^{B11})가 검출되었고, 쓰시마 재래마에서는 4개의 대립인자(Hb^{B1} , Hb^{B11} , Hb^X , Hb^Y)가 검출되었다(그림 6). 쓰시마 재래마에서는 제주 재래마에서 검출되지 않은 인자($Hb^X=0.02$, $Hb^Y=0.08$)가 낮은 빈도로 검출되었다(Table 3).

각 집단에서 표현형을 χ^2 검정 결과 유의성이 인정되지 않아 Hardy-Weinberg 평형 상태에 있었다.

2-2. Catalase(Cat) 표현형과 유전자빈도

전분 겔 전기영동(pH8.5) 결과 두 가지 대립인자(Cat^f , Cat^s)가 검출되었다(그림 7). 두 집단에서 느린 이동도를 갖는 S 인자의 빈도가 모두 높게 검출되었다(Table 3).

각 집단에서 표현형을 χ^2 검정 결과 제주 재래마집단($P < 0.05$)에서는 유의성이 인정되어 Hardy-Weinberg 평형 상태에서 벗어났으나 쓰시마 재래마집단에서는 유의성이 인정되지 않아 Hardy-Weinberg 평형 상태에 있었다.

2-3. Glyoxalase(GLO)의 표현형과 유전자빈도

전분 겔 전기영동(pH7.0)결과 두 가지 대립인자(GLO^f , GLO^s)가 검출되었다(그림 11). 제주 재래마집단에서는 느린 이동도를 갖는 인자($GLO^s=0.57$)의 빈도가 높은 반면 쓰시마 재래마 집단에서는 빠른 이동도를 갖는 인자($GLO^f=0.52$)의 빈도가 약간 높게 나타났다(Table 3).

각 집단에서 표현형을 χ^2 검정 결과 제주 재래마집단($P < 0.05$)에서는 유의성이 인정되어 Hardy-Weinberg 평형 상태에서 벗어났으나, 쓰시마 재래마집단에서는 유의성이 인정되지 않아 Hardy-Weinberg 평형 상태에 있었다.

2-4. Acid phosphatase(AcP)의 표현형과 유전자빈도

전분 겔 전기영동(pH7.0) 결과 두 가지 대립인자(AcP^f , AcP^s)가 검출

되었다(그림 10). 제주 재래마집단에서는 세가지 표현형(FF, FS, SS)이 모두 나타난 반면 쓰시마 재래마집단에서는 한 가지 표현형(FS)만이 검출되었다(Table 3).

각 집단에서 표현형을 χ^2 검정 결과 유의성이 인정되지 않아 Hardy-Weinberg 평형 상태에 있었다.

2-5. Esterase D(EsD)의 표현형과 유전자빈도

전분 겔 전기영동(pH 8.5) 결과 두 가지 대립인자(EsD^F , EsD^S)가 검출되었다(그림 9). 제주 재래마집단에서는 느린 이동도를 갖는 인자($EsD^S=0.68$)의 빈도가 높게 나타났고 χ^2 검정 결과 유의성이 인정되어 Hardy-Weinberg 평형 상태에서 벗어났다. 쓰시마 재래마집단에서는 한 가지 표현형(FF)만이 검출되어 monomorphic함을 보였다.

2-6. Glutamate-oxaloacetate transaminase(GOT)의 표현형과 유전자 빈도

전분 겔 전기영동(pH7.0) 결과 두 가지 대립인자(GOT^F , GOT^S)가 검출되었다(그림 12). 제주 재래마집단에서는 두 인자의 빈도가 비슷하게 검출되었고(Table 3), χ^2 검정 결과 유의성이 인정되지 않아 Hardy-Weinberg 평형 상태에 있었다. 그러나 쓰시마 재래마에서는 한 가지 표현형(FF)만이 검출되어 monomorphic함을 보였다.

2-7. Hexokinase(HK)의 표현형과 유전자 빈도

전분 겔 전기영동(pH8.5) 결과 세 종류의 동위효소(HK1, HK2, HK3)

가 검출되었다(그림 14). 제주 재래마집단과 쓰시마 재래마집단에서 변이가 없이 monomorphic함을 보였다.

2-8. Lactate dehydrogenase(LDH)의 표현형과 유전자 빈도

전분 겔 전기영동(pH7.0) 결과 네 종류의 동위효소(LDH1, LDH2, LDH3, LDH4)가 검출되었다(그림 8). 제주 재래마 집단과 쓰시마 재래마집단에서 변이가 없이 monomorphic함을 보였다.

2-9. Malate dehydrogenase(MDH)의 표현형과 유전자 빈도

전분 겔 전기영동(pH 7.0) 결과 한 가지 표현형(1-1)만이 검출되었다(그림 15). 제주 재래마집단과 쓰시마 재래마집단에서 변이가 없이 monomorphic함을 보였다.

2-10. Malic enzyme(ME)의 표현형과 유전자 빈도

전분 겔 전기영동(pH7.0) 결과 한 가지 표현형(FF)만이 검출되었다(그림 16). 제주 재래마집단과 쓰시마 재래마집단에서 변이가 없이 monomorphic함을 보였다.

2-11. Superoxide dismutase(SOD)의 표현형과 유전자 빈도

전분 겔 전기영동(pH7.0) 결과 두 종류의 동위효소(SOD-1, SOD-2)가 검출되었다(그림 13). 제주 재래마집단과 쓰시마 재래마집단에서 변이가 없이 monomorphic함을 보였다.

3. Data 처리 결과

3-1. 유전자 빈도 분석

제주 재래마와 쓰시마 재래마의 유전자 빈도는 Table 3과 같았다. 각 유전자좌의 유전인자 빈도를 이용하여 Nei(1983)의 computer program에 의해 평균 이형접합자 빈도(average heterozygosity)를 구한 결과 제주 재래마집단에서는 0.375, 쓰시마 재래마집단에서는 0.304로 각각 계산되었다.

그리고 Da 값과 유전자 동일성(gene identity)은 0.107과 0.868로 각각 계산되었다.

3-2. 계통 유전학적 dendrogram 구성

제주 재래마집단과 쓰시마 재래마집단에서 분석된 유전자좌와 이미 보고된 미국마 집단들과 몽고 야생마(*E. przewalskii*) 집단에서 같은 유전인자(allele)를 이용하여 Da 값에 의한 phylogenetic tree는 그림 17과 같았다. 이 dendrogram은 크게 세 개의 cluster를 이루고 있음을 볼 수 있었다.

본 연구의 결과인 제주 재래마집단과 쓰시마 재래마집단이 하나의 cluster를 이루고, 미국마 집단들이 크게 하나의 cluster를 이루었다. 그리고 이 두 cluster는 몽고 야생마의 cluster에서 분지됨을 볼 수 있었다.

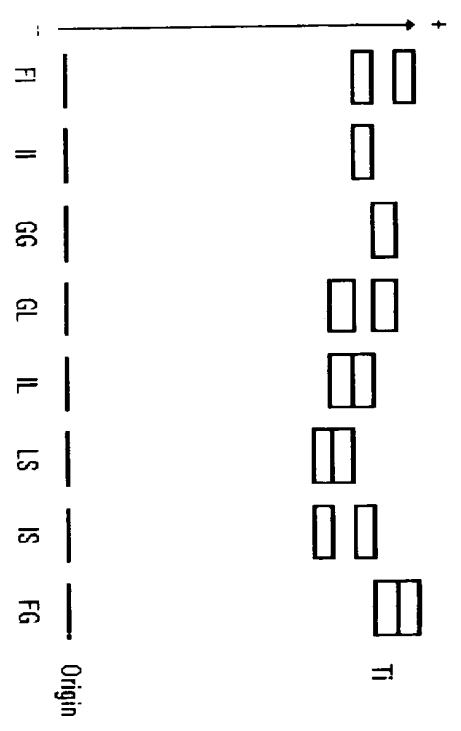
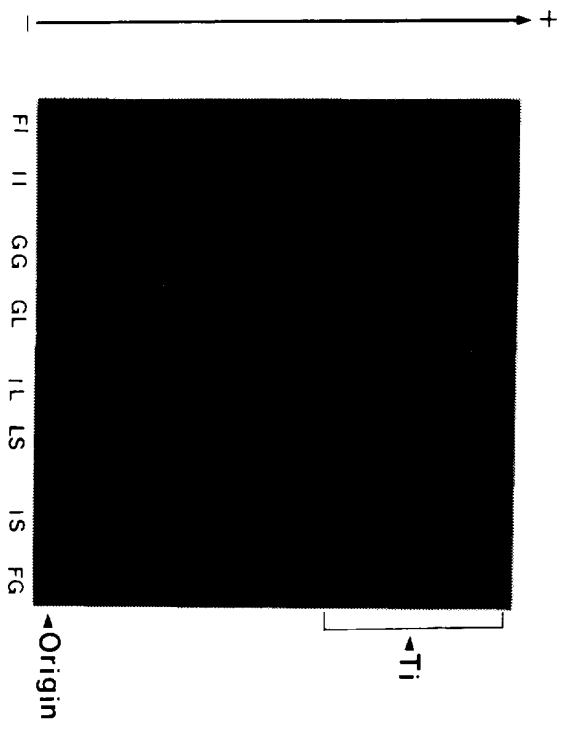


Figure 1. Trypsin inhibitor (Ti) phenotypes by acid gradient polyacrylamide gel electrophoresis (pH 4.6) and schematic representation. Eight phenotypes were detected: FI, II, GG, GL, IL, LS, IS, and FG (from left to right).

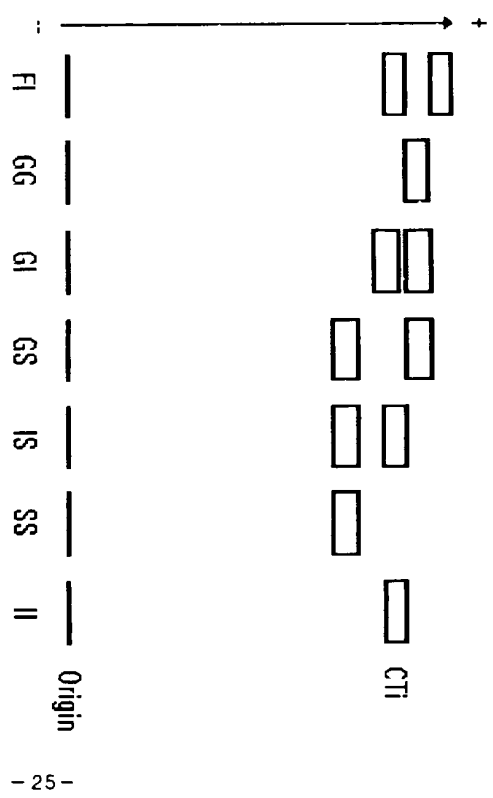
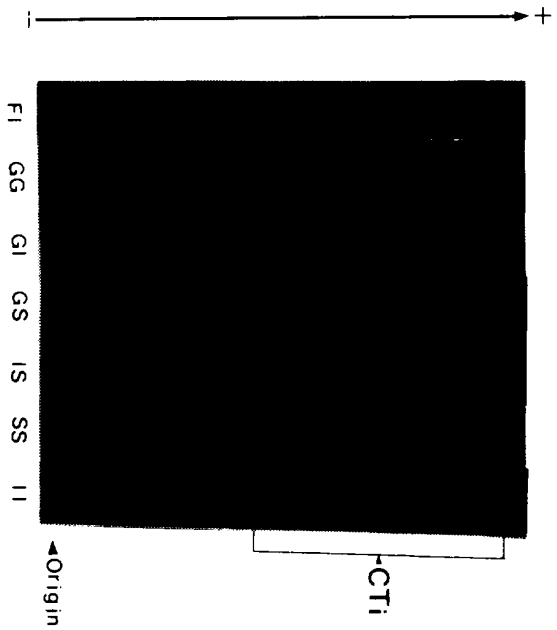


Figure 2. Chymotrypsin inhibitor(CTi) phenotypes by acid gradient polyacrylamide gel electrophoresis(pH 4.6) and schematic representation. Seven phenotypes were detected: F1, GG, GI, GS, IS, SS and II.

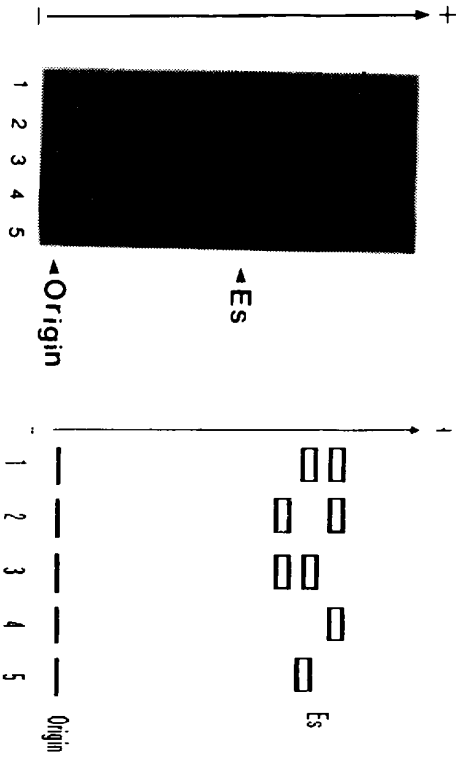


Figure 3. Serum esterase(Es) phenotypes by isoelectric focusing(pH 3.5-6.0) and schematic representation . Five phenotypes were detected: 1: F1, 2: FS, 3: IS, 4: FF and 5: I1.

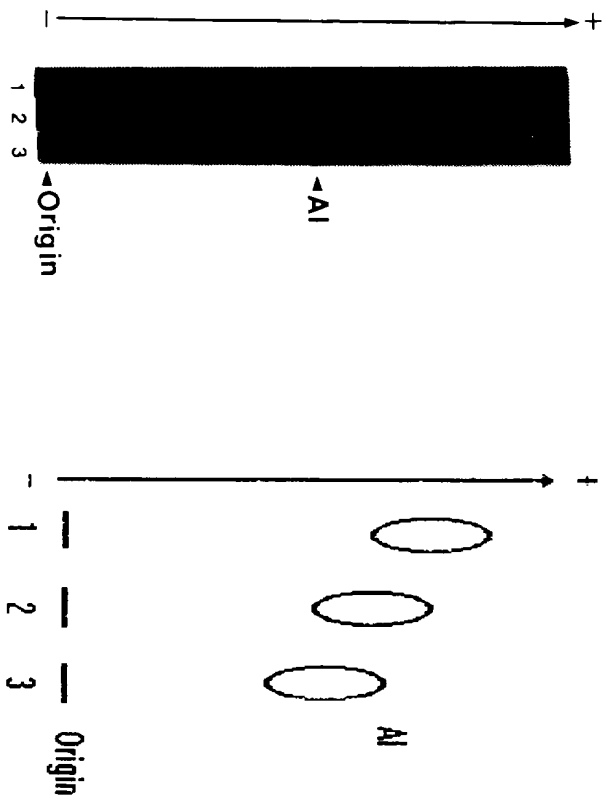


Figure 4. Albumin(AI) phenotypes by acid gradient polyacrylamide gel electrophoresis(pH 4.6) and schematic representation. Three phenotypes were detected: 1: AA, 2: AB, 3: BB.

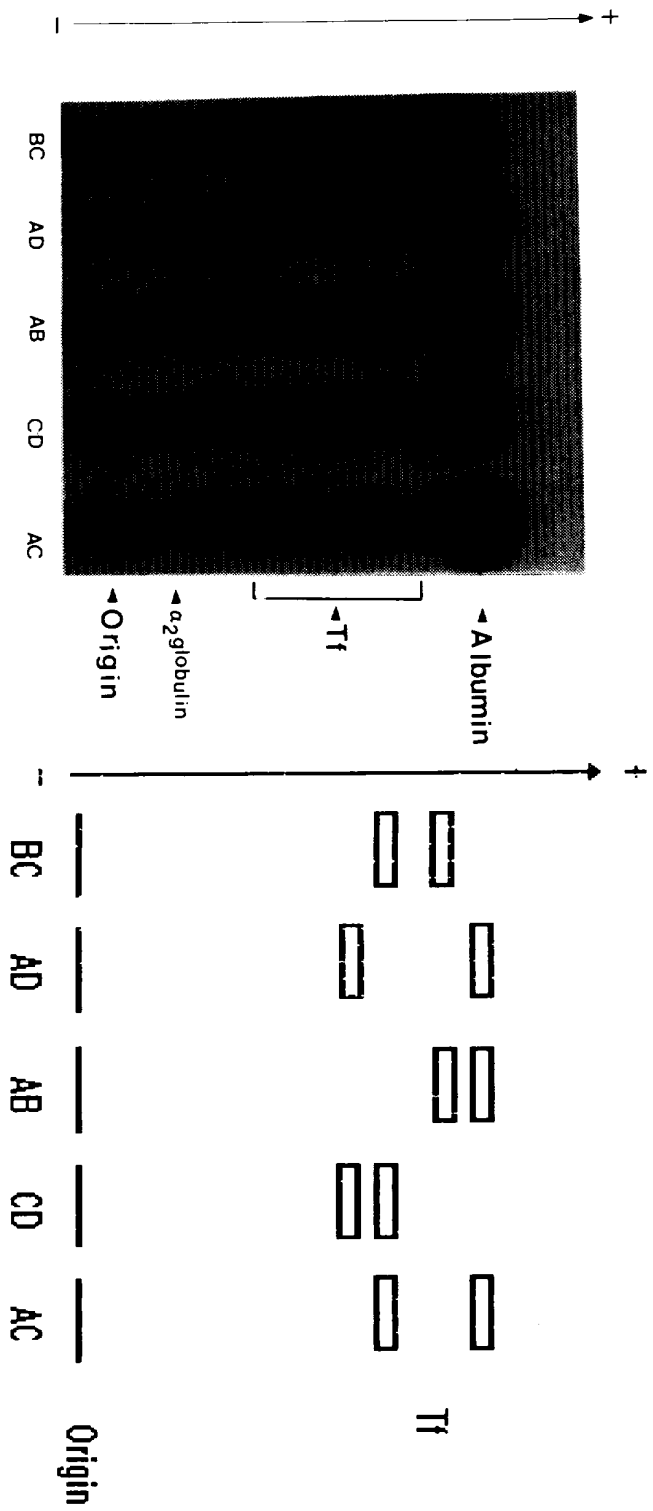


Figure 5. Transferrin(Tf) phenotypes by starch gel electrophoresis(pH 8.5) and schematic representation . Five phenotypes were detected: BC, AD, AB, CD and AC(from left to right).

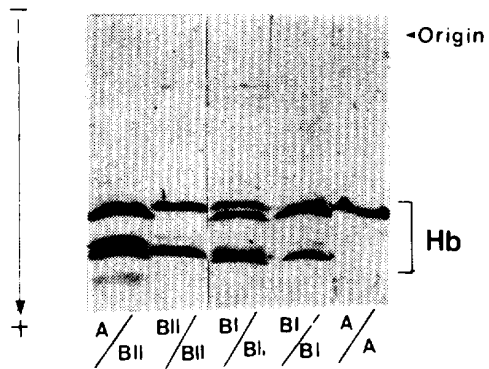


Figure 6. Hemoglobin(Hb) phenotypes by isoelectric focusing(pH 5.5-8.5) and schematic representation. Five phenotypes were detected: A/BII, BII/BII, BI/BII, BI/BI and A/A(from left to right).

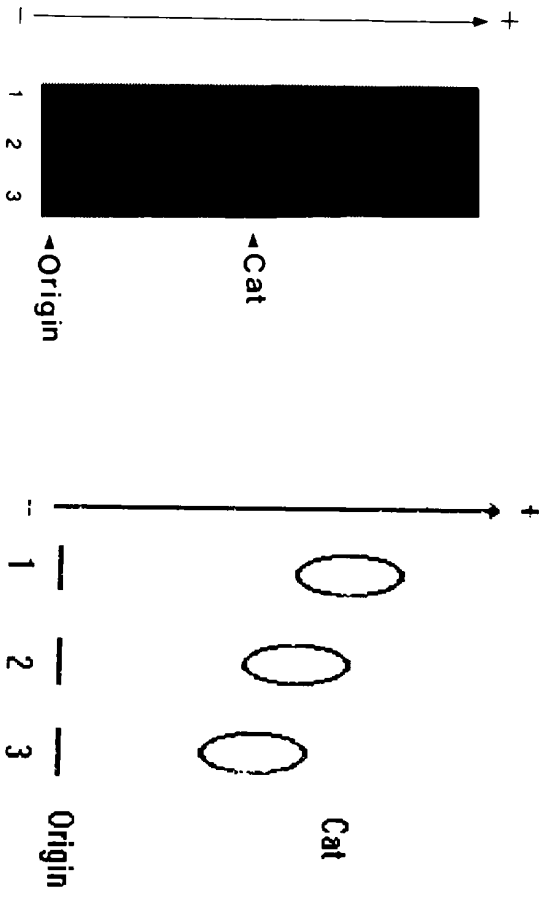


Figure 7. Catalase(Cat) phenotypes by starch gel electrophoresis(pH 8.5) and schematic representation. Three phenotypes were detected: 1: FF, 2: FS and 3:SS.

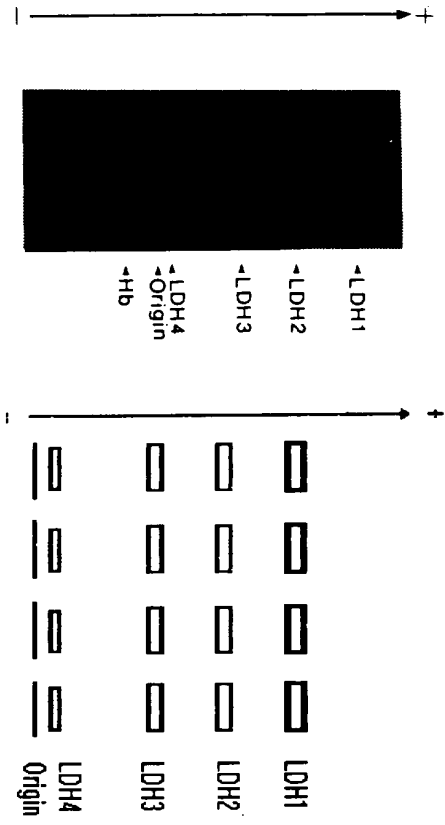


Figure 8. Lactate dehydrogenase(LDH) phenotypes by starch gel electrophoresis(pH 7.0) and schematic representation. LDH isozymes were shown monomorphic, as LDH1, LDH2, LDH3 and LDH4.

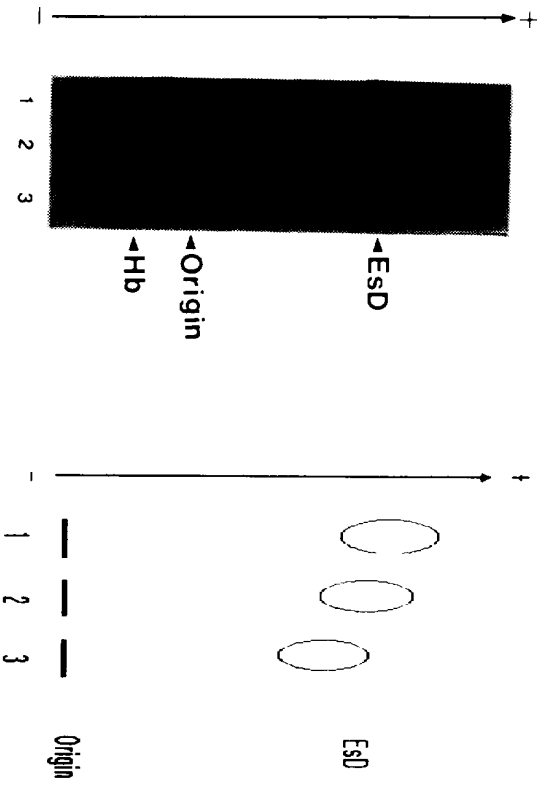


Figure 9. Esterase D(ESD) phenotypes by starch gel electrophoresis(pH 8.5) and schematic representation. Three phenotypes were detected: 1: FF, 2: FS and 3:SS.

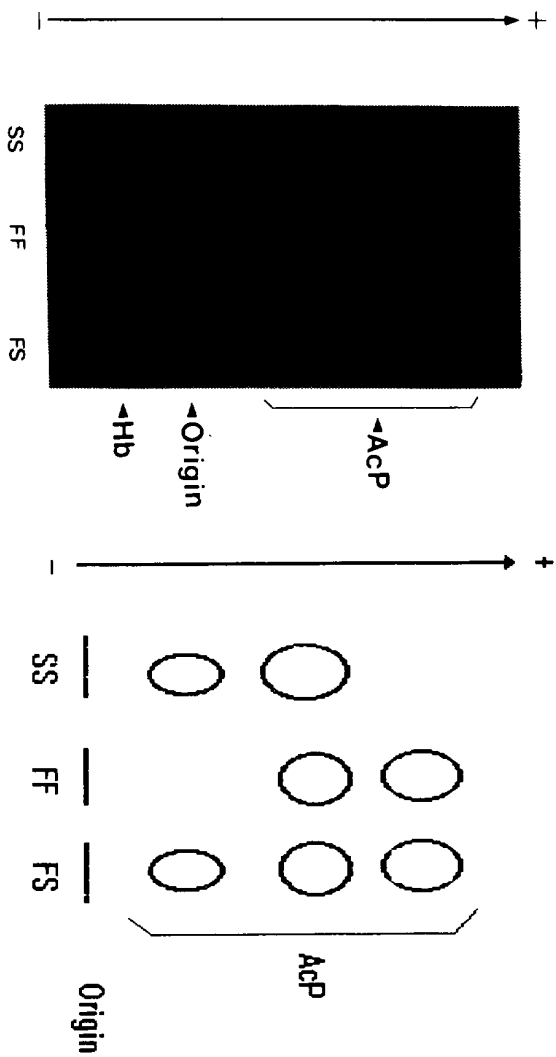


Figure 10. Acid phosphatase(Acp) phenotypes by starch gel electrophoresis(pH 7.0) and schematic representation. Three phenotypes were detected: SS, FF and FS.

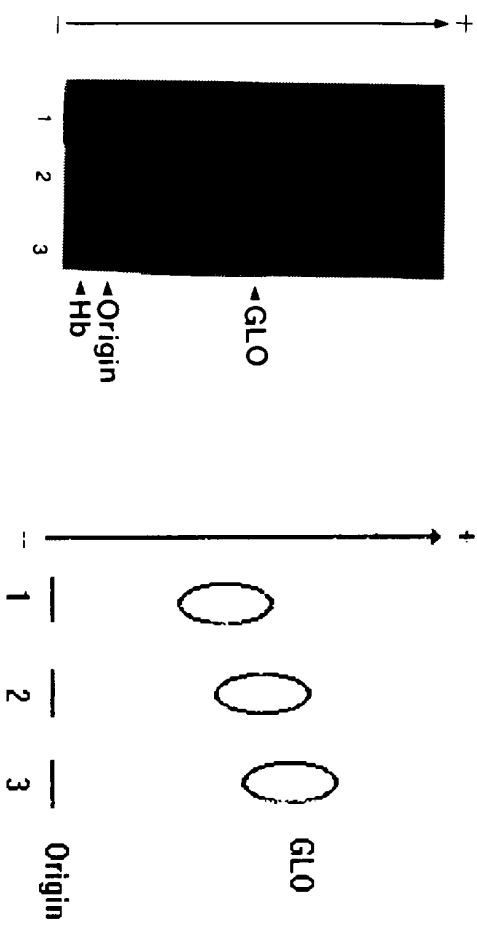


Figure 11. Glyoxalase(GLO) phenotypes by starch gel electrophoresis(pH 7.0) and schematic representation. Three phenotypes were detected:1: SS,2: FS and 3: FF.

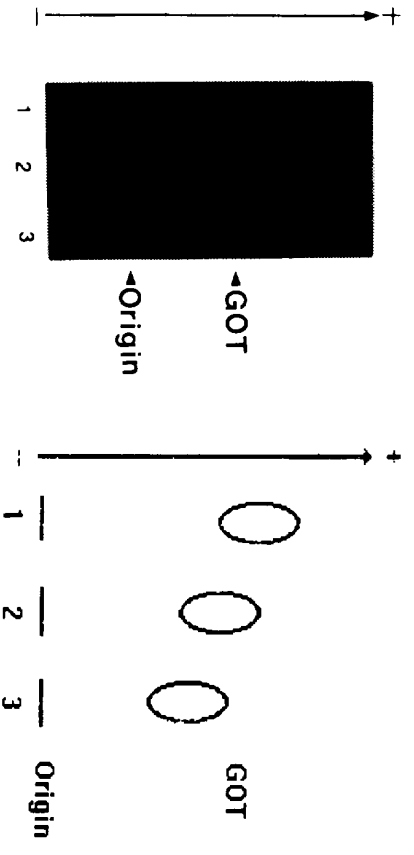


Figure 12. Glutamate-oxaloacetate transaminase(GOT) phenotypes by starch gel electrophoresis(pH 7.0) and schematic representation. Three phenotypes were detected: 1: FF, 2: FS and 3:SS.

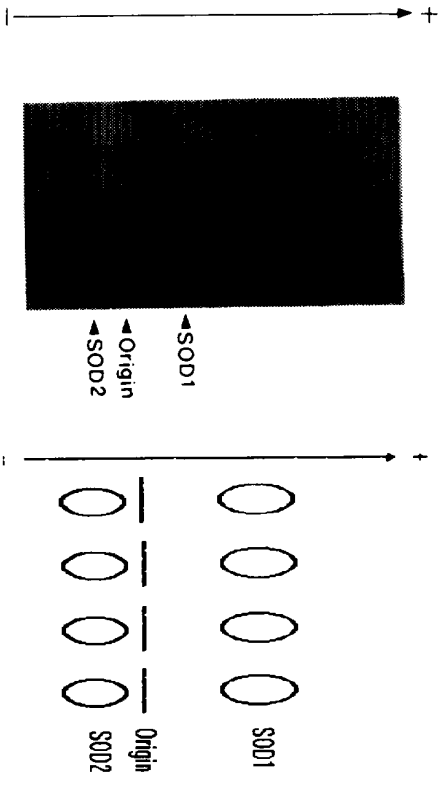


Figure 13. Superoxide dismutase(SOD) phenotypes by starch gel electrophoresis(pH 7.0) and schematic representation. SOD isozymes were shown monomorphic, as SOD1 and SOD2.

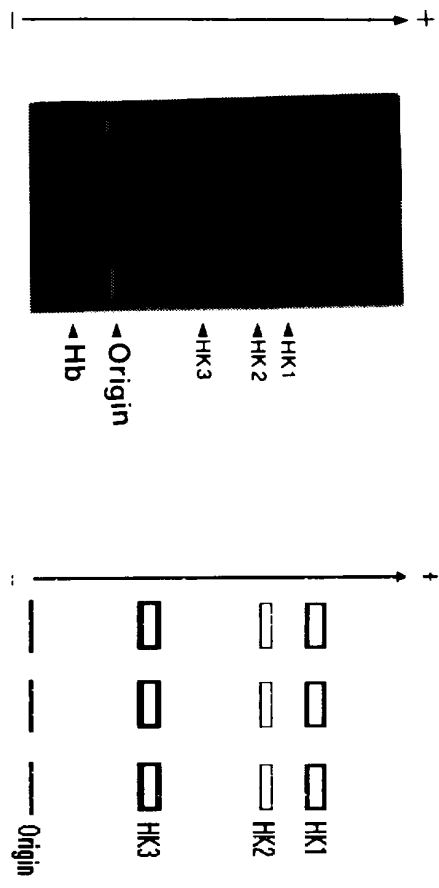


Figure 14. Hexokinase(HK) phenotypes by starch gel electrophoresis(pH 8.5) and schematic representation .HK isozymes were shown monomorphic, as HK1, HK2 and hk3.

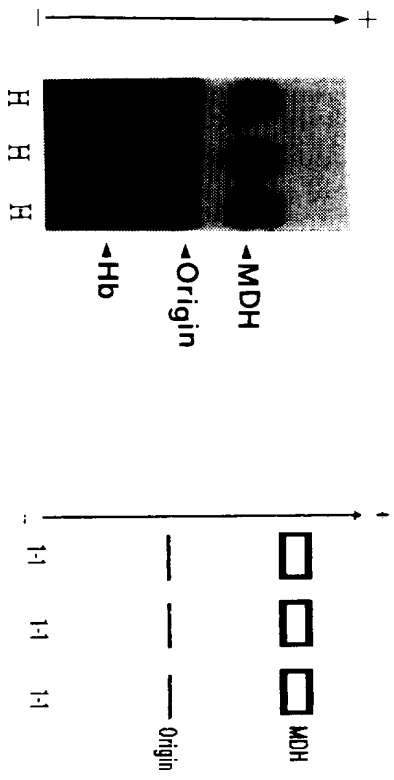


Figure 15. Malate dehydrogenase(MDH) phenotypes by starch gel electrophoresis(pH 7.0) and schematic representation. MDH was shown monomorphic.

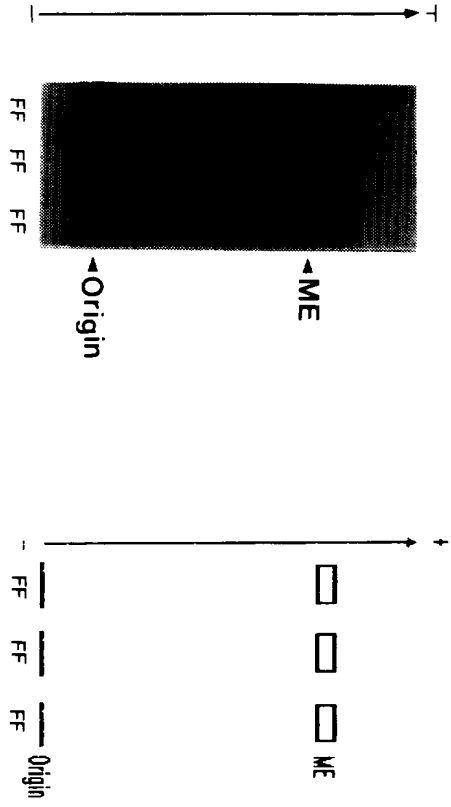


Figure 16. Malic enzyme(ME) phenotypes by starch gel electrophoresis(pH 7.0) and schematic representation. ME was shown monomorphic.

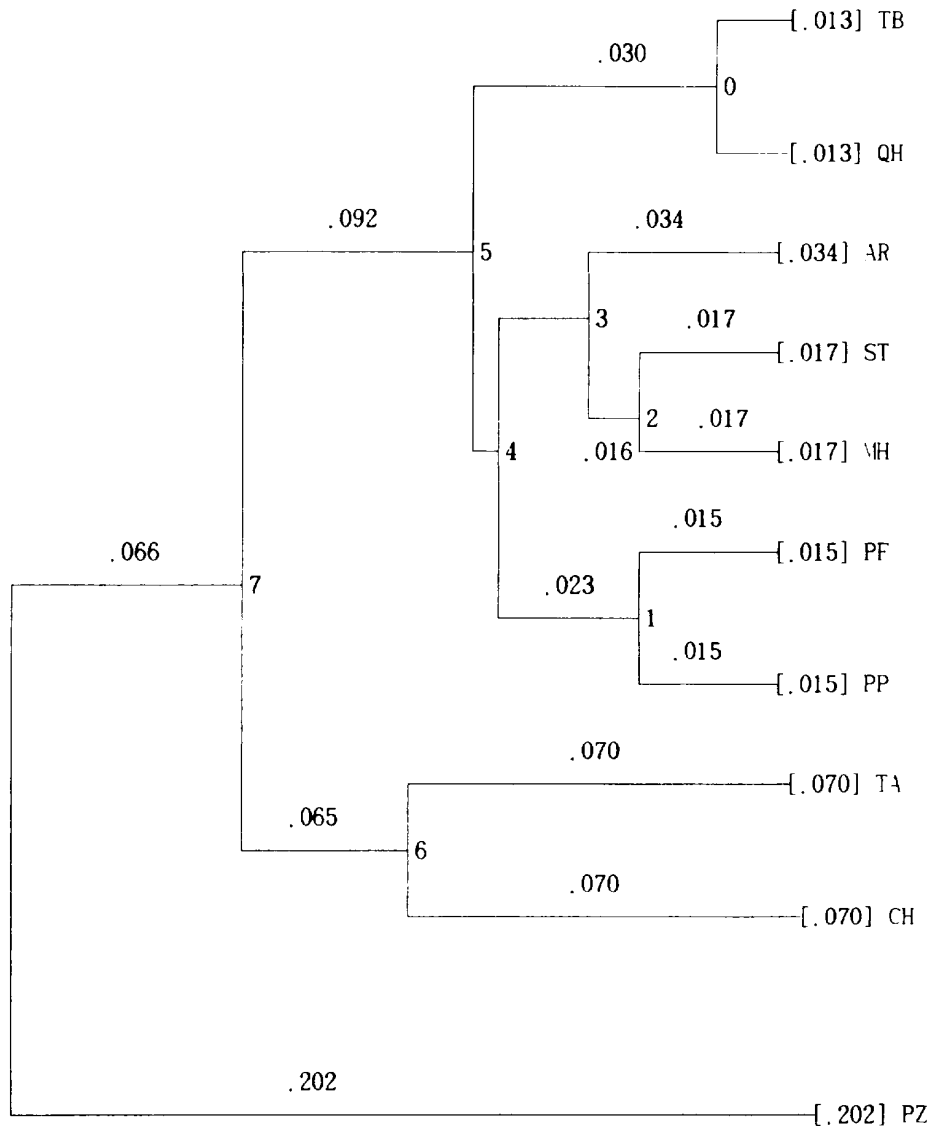


Figure 17. Phylogenetic tree for allele frequencies of four protein loci in ten equine populations. This tree was constructed by using the UPGMA methods based on D_a values (Nei., 1983).

TB: Thoroughbred, AR: Arabian, ST: Standardbred, MH: Morgan Horse, QH: Quarter Horse, PF: Paso Fino, PP: Peruvian Paso, CH: Cheju native horse, TA: Tsushima native horse, PZ: Przewalski horse.

Table 3. Phenotypes and allele frequencies for 16 protein loci in Cheju native horses and Tsushima native horses

Protein	Population	Phenotype	Observed	Expected	Gene frequency
Trypsin inhibitor	Cheju native horse (n=37)	FF	0	0.33	$T_i^F=0.10$ $T_i^G=0.08$ $T_i^I=0.27$ $T_i^L=0.31$ $T_i^S=0.24$ $\chi^2=22.88$ $P > 0.05$
		FG	3	0.57	
		FI	1	1.90	
		FL	2	2.19	
		FS	1	1.71	
		GG	1	0.24	
		GI	0	1.62	
		GL	0	1.86	
		GS	1	1.46	
		II	3	2.70	
		IL	7	6.21	
		IS	6	4.86	
		LL	6	3.58	
		LS	2	5.59	
	SS	4	2.18		
	Tsushima native horse (n=25)	GG	1	0.36	$T_i^G=0.12$ $T_i^I=0.42$ $T_i^L=0.12$ $T_i^S=0.34$ $\chi^2=4.42$ $P > 0.05$
		GI	2	2.52	
		GL	0	0.72	
		GS	2	2.04	
		II	5	4.41	
IL		3	2.52		
IS		6	7.14		
LL		1	0.36		
LS		1	2.04		
SS		4	2.86		
Chymo-trypsin inhibitor	Cheju native horse (n=40)	FF	0	0.1	$CT_i^F=0.05$ $CT_i^G=0.39$ $CT_i^I=0.15$ $CT_i^L=0.11$ $CT_i^S=0.3$ $\chi^2=7.13$ $P > 0.05$
		FG	3	1.55	
		FI	0	0.6	
		FL	1	0.45	
		FS	0	1.2	
		GG	4	6	
		GI	6	4.65	
		GL	2	3.49	
		GS	12	9.3	
		II	1	0.9	
		IL	2	1.35	
		IS	2	3.6	
		LL	1	0.51	
		LS	2	2.7	
	SS	4	3.6		
	Tsushima native horse (n=25)	GG	1	0.16	$CT_i^G=0.08$ $CT_i^I=0.58$ $CT_i^L=0.28$ $CT_i^S=0.06$ $\chi^2=9.25$ $P > 0.05$
		GI	1	2.32	
		GL	0	1.12	
		GS	1	0.24	
		II	9	8.41	
IL		9	8.12		
IS		1	1.74		
LL		2	1.96		
LS		1	0.84		
SS		0	1.12		

Table 3 Continued 1

Esterase	Cheju native horse (n=269)	FF FI FS II IS SS	32 78 1 147 11 0	19.00 101.80 0.14 136.33 8.54 0.13	$Es^F=0.266$ $Es^I=0.712$ $Es^S=0.022$ $\chi^2=21.28$ $P < 0.05$
	Tsushima native horse (n=25)	FF FI FS II IS SS	2 7 7 2 6 1	3.25 6 5.5 3.25 5 2.25	$Es^F=0.36$ $Es^I=0.34$ $Es^S=0.30$ $\chi^2=2.43$ $P > 0.05$
Trans-ferrin	Cheju native horse (n=40)	AA AB AC AD BB BC BD CC CD DD	4 13 2 0 5 9 6 0 1 0	3.66 11.14 3.48 2.09 9.22 5.76 3.46 0.9 1.08 0.32	$Tf^A=0.29$ $Tf^B=0.48$ $Tf^C=0.15$ $Tf^D=0.09$ $\chi^2=9.09$ $P > 0.05$
	Tsushima native horse (n=25)	AA AB AC AD BB BC BD CC CD DD	0 1 2 2 0 12 3 1 4 0	0.25 1.6 2 0.9 2.56 6.4 2.88 4 3.6 0.81	$Tf^A=0.1$ $Tf^B=0.32$ $Tf^C=0.4$ $Tf^D=0.18$ $\chi^2=8.36$ $P > 0.05$
Albumin	Cheju native horse (n=269)	AA AB BB	42 130 97	42.57 128.88 97.25	$AJ^A=0.40$ $AJ^B=0.60$ $\chi^2=0.02$ $P > 0.05$
	Tsushima native horse (n=25)	AA AB BB	8 10 7	6.76 12.48 5.76	$AJ^A=0.52$ $AJ^B=0.48$ $\chi^2=0.99$ $P > 0.05$
Hemo-globin	Cheju native horse (n=211)	AA AB ^I AB ^{II} B ^I B ^I B ^I B ^{II} B ^{II} B ^{II}	5 32 9 81 68 16	3.04 31.4 13.16 81.16 68.03 14.16	$Hb^A=0.12$ $Hb^{B^I}=0.62$ $Hb^{B^{II}}=0.26$ $\chi^2=2.63$ $P > 0.05$
	Tsushima native horse (n=25)	B ^I B ^I B ^I B ^{II} B ^I X B ^{II} Y B ^{II} B ^{II} B ^{II} X B ^{II} Y XX XY YY	4 8 1 0 8 0 4 0 0 0	2.89 9.52 0.34 1.36 7.84 0.56 2.24 0.01 0.08 0.16	$Hb^{B^I}=0.34$ $Hb^{B^{II}}=0.56$ $Hb^X=0.02$ $Hb^Y=0.08$ $\chi^2=4.5$ $P > 0.05$

Table 3 Continued 2

Catalase	Cheju native horse (n=106)	FF FS SS	19 45 42	10.18 45.35 50.47	$CAT^F=0.31$ $CAT^S=0.69$ $\chi^2=9.06$ $P < 0.05$
	Tsushima native horse (n=25)	FF FS SS	3 16 6	4.84 12.32 7.84	$CAT^F=0.44$ $CAT^S=0.56$ $\chi^2=2.23$ $P > 0.05$
Glyoxalase I	Cheju native horse (n=100)	FF FS SS	25 36 39	18.49 49.02 32.49	$GLO^F=0.43$ $GLO^S=0.57$ $\chi^2=7.05$ $P < 0.05$
	Tsushima native horse (n=25)	FF FS SS	8 10 7	6.76 12.48 5.76	$GLO^F=0.52$ $GLO^S=0.48$ $\chi^2=0.99$ $P > 0.05$
Acid phosphatase	Cheju naive horse (n=98)	FF FS SS	7 76 15	20.65 48.67 28.68	$ACP^F=0.46$ $ACP^S=0.54$ $\chi^2=30.9$ $P < 0.05$
	Tsushima native horse (n=25)	FF FS SS	0 25 0	0.25 0.5 0.25	$ACP^F=0.5$ $ACP^S=0.5$ $\chi^2=1201$ $P < 0.05$
Esterase D	Cheju native horse (n=87)	FF FS SS	10 35 42	8.69 37.61 40.70	$ESD^F=0.32$ $ESD^S=0.68$ $\chi^2=0.41$ $P < 0.05$
	Tsushima native horse (n=25)	FF	25		monomorphic
Glutamate oxaloacetate transaminase	Cheju native horse (n=95)	FF FS SS	20 54 21	21.05 56.84 22.11	$GOT^F=0.49$ $GOT^S=0.51$ $\chi^2=0.25$ $P > 0.05$
	Tsushima native horse (n=25)	FF	25		monomorphic

Table 3 Continued 3

Superoxid dismutase	Cheju native horse (n=100)	SOD-1 SOD-2			monomorphic
	Tsushima native horse (n=25)	SOD-1 SOD-2			monomorphic
Lactate dehydro- genase	Cheju native horse (n=100)	LDH-1 LDH-2 LDH-3 LDH-4			monomorphic
	Tsushima native horse (n=25)	LDH-1 LDH-2 LDH-3 LDH-4			monomorphic
Malate dehydro- genase	Cheju native horse (n=211)	1-1			monomorphic
	Tsushima native horse (n=25)	1-1			monomorphic
Malic enzyme	Cheju native horse (n=211)	FF			monomorphic
	Tsushima native horse (n=25)	FF			monomorphic
Hexokinase	Cheju native horse (n=100)	HK-1 HK-2 HK-3			monomorphic
	Tsushima native horse (n=25)	HK-1 HK-2 HK-3			monomorphic

Table 4. Allele frequencies for four protein loci in ten equine populations

Population*	Protein loci	Alleles				Number	Reference
		A	I	S	D		
TB	Albumin	0.195	0.000	0.805		100	Bowling et al. (1985)
AR		0.435	0.000	0.565		100	Bowling et al. (1985)
ST		0.615	0.000	0.385		100	Bowling et al. (1985)
MH		0.445	0.000	0.555		82	Bowling et al. (1985)
QH		0.355	0.000	0.645		100	Bowling et al. (1985)
PF		0.402	0.000	0.598		109	Bowling et al. (1985)
PP		0.275	0.000	0.725		100	Bowling et al. (1985)
CH		0.400	0.000	0.600		249	Present study
TA		0.520	0.000	0.480		25	Present study
PZ		0.090	0.000	0.910		96	Ryder et al. (1987)
TB	Transferrin	0.630	0.155		0.190	100	Bowling et al. (1985)
AR		0.290	0.455	0.135	0.120	100	Bowling et al. (1985)
ST		0.245	0.535	0.005	0.215	100	Bowling et al. (1985)
MH		0.299	0.549	0.067	0.085	82	Bowling et al. (1985)
QH		0.415	0.345	0.055	0.185	100	Bowling et al. (1985)
PF		0.271	0.242	0.221	0.266	109	Bowling et al. (1985)
PP		0.295	0.245	0.155	0.305	100	Bowling et al. (1985)
CH		0.290	0.480	0.150	0.090	249	Present study
TA		0.100	0.320	0.400	0.180	25	Present study
PZ		0.200	0.400	0.300	0.100	96	Ryder et al. (1987)

Table 4. continued

Population	* Protein loci	Alleles										Number	Reference
		F	G	I	L	S	F	G	I	S	F		
TB		0.045	0.510	0.185	0.260	0.000						100	Bowling <i>et al.</i> (1985)
AR		0.180	0.220	0.080	0.505	0.015						100	Bowling <i>et al.</i> (1985)
ST		0.005	0.380	0.110	0.505	0.000						100	Bowling <i>et al.</i> (1985)
MH		0.056	0.352	0.179	0.370	0.043						82	Bowling <i>et al.</i> (1985)
QH	Protease	0.045	0.419	0.126	0.395	0.015						100	Bowling <i>et al.</i> (1985)
PF	inhibitor	0.066	0.462	0.042	0.335	0.095						109	Bowling <i>et al.</i> (1985)
PP		0.000	0.455	0.025	0.285	0.235						100	Bowling <i>et al.</i> (1985)
CH		0.100	0.080	0.270	0.310	0.240						249	<i>Present study</i>
TA		0.000	0.120	0.420	0.120	0.340						25	<i>Present study</i>
PZ		0.000	0.820	0.000	0.180	0.000						96	Ryder <i>et al.</i> (1987)
TB		0.065	0.905	0.905	0.035							100	Bowling <i>et al.</i> (1985)
AR		0.055	0.935	0.935	0.010							100	Bowling <i>et al.</i> (1985)
ST		0.210	0.705	0.705	0.085							100	Bowling <i>et al.</i> (1985)
MH		0.286	0.689	0.689	0.043							82	Bowling <i>et al.</i> (1985)
QH	Esterase	0.126	0.834	0.834	0.040							100	Bowling <i>et al.</i> (1985)
PF		0.257	0.701	0.701	0.042							109	Bowling <i>et al.</i> (1985)
PP		0.365	0.465	0.465	0.170							100	Bowling <i>et al.</i> (1985)
CH		0.266	0.712	0.712	0.022							249	<i>Present study</i>
TA		0.360	0.340	0.340	0.300							25	<i>Present study</i>
PZ		0.340	0.590	0.590	0.070							96	Ryder <i>et al.</i> (1987)

*TB: Thoroughbred, QH: Quater horse, AR: Arabian, ST: Standardbred,
 MH: Morgan horse, PF: Paso Fino, PP: Peruvian Paso,
 TA: Tsushima native horse, CH: Cheju native horse, PZ: Przewalskii horse

Table 5. Average heterozygosity for four protein loci in ten equine populations

Population	Average heterozygosity
Thoroughbred(TB)	0.400
Quater horse(QH)	0.463
Arabian(AR)	0.506
Standardbred(ST)	0.531
Morgan horse(MH)	0.474
Paso Fino(PF)	0.552
Peruvian Paso(PP)	0.567
Tsushima native horse(TA)	0.420
Cheju native horse(CH)	0.529
Przewalskii horse(PZ)	0.571

IV. 고찰

현재 제주도에는 2000여 두에 달하는 말이 사육되고 있으며 본 연구에서는 제주 경마장으로부터 공급받은 100여 두의 혈액을 재료로 사용하였다. 그리고 쓰시마에는 90여 두의 재래마가 사육되고 있는데, 이 가운데에서 25두의 혈액을 공급받아 시료로 사용하였다.

본 연구는 형태적으로 유사해서 같은 소형마로 구분되는 제주 재래마와 쓰시마 재래마에서 혈액 단백질의 다형을 이용하여 유전학적 관계를 알아 보기 위해 16개의 loci를 비교한 결과 SOD, LDH, HK, MDH, ME의 5개 loci에서는 두 집단에서 모두 monomorphic함을 보였고, EsD, GOT, AcP loci에서 제주 재래마 집단에서는 polymorphic($EsD: E_aD^f=0.32, E_sD^s=0.68, GOT: G_oT^f=0.49, G_oT^s=0.51, AcP: A_cP^f=0.46, A_cP^s=0.54$)하였지만 쓰시마 재래마에서는 monomorphic 하였다.

Polymorphic 한 좌위에서 유전자 빈도(Table 3)를 분석하여 Hardy-Weinberg 평형 상태에 적용시켜 본 결과 제주 재래마에서 혈장에 존재하는 Es($P < 0.05$)와 적혈구에 존재하는 Cat($P < 0.05$), GLO I($P < 0.05$), AcP($P < 0.05$), EsD($P < 0.05$)가 유의성이 인정되어 평형 상태에서 벗어났고, 쓰시마 재래마에서는 AcP($P < 0.05$)에서만 유의성이 인정되어 Hardy-Weinberg 평형 상태에서 벗어났다.

그리고 유전자 빈도(Table 3)를 이용한 computer program에 의해 계산된 평균

이형접합자 빈도는 제주 재래마에서 0.375로 쓰시마 재래마의 0.304보다 다소 높은 값을 나타냈다. 이렇게 제주 재래마집단에서 평균 이형 접합자 빈도가 높은 것은 쓰시마 재래마 집단에서 보다 더 많은 단백질 좌위에서 다형 현상을 나타냈기 때문으로 생각된다.

Nei(1983)방법에 의해 계산된 Da 값은 유전자 빈도(Table 3)를 이용하는 데 0에서 1 사이의 값이 존재하며, 그 값이 적을수록 두 집단이 진화적으로 같은 시기에 분지되었음을 뜻한다. 제주 재래마집단과 쓰시마 재래마집단에서 Da 값과 유전자 동일성(gene identity)은 각각 0.107과 0.868로 나타났다. 여기서 두 집단은 거의 같은 시기에 진화적으로 분지되었고, 높은 유전자 상동성을 갖고 있음이 추정된다. 따라서 두 집단의 진화 유전학적인 거리는 매우 가깝다고 생각된다.

현재 가축화된 말(*E. caballus*)의 기원으로 보는 몽고 야생마(*E. przewalsky*)와 미국에서 품종화된 7개의 말 집단(Thoroughbred, Arabian, Standardbred, Morgan, Quarter horse, Paso Fino, Peruvian Paso)의 이미 보고된(Bowling *et al.*, 1985) 단백질 좌위와 본 연구의 결과와 공통되는 단백질 좌위의 유전자 빈도(Table 4)를 이용하여 Nei(1983)의 computer program에 의해 평균 이형접합자 빈도(average heterozygosity)가 계산되었고(Table 5). Da 값에 대한 phylogenetic tree(그림 17)를 만들었다. 평균 이형접합자 빈도의 비교에서는 미국의 Thoroughbred 집단이 0.40으로 가장 작은 값을 보였고, 쓰시마 재래마집단이 0.42로 Thoroughbred 집단 보다 약간 높은 값을 보였다. 그리고 제주 재래마집단이 0.57로 가장 높은 값을 나타냈다.

Da 값에 대한 phylogenetic tree는 크게 세 개의 cluster를 이루었다. 미국

말 집단들이 하나의 cluster를 이루었고, 본 연구의 결과인 제주 재래마집단과 쓰시마 재래마집단이 하나의 cluster를 이루었다. 그리고 이 두 cluster는 몽고 야생마(*E. przewalskii*) cluster($Da = 0.202$)에서 분지되고 있음을 볼 수 있었다.

제주 재래마와 일본 재래마의 계통 유전학에 관한 연구에서는 일본 재래마의 기원을 제주도로 보았다. 그리고 체형, 모색, 혈액형이 다른 섬 집단(Tokara, Ryuku)의 재래마와 유사하였지만, 어떤 모색과 혈액형에서는 대륙집단(Kiso, Hokkaido)재래마와 비슷한 것은 제주 재래마의 기원이 하나로 일치하지 않는 것이라고 보고하였다(Nozawa *et al.*, 1970).

그리고 동아시아와 유럽 경주마 집단에서 혈액 단백질 변이를 분석한 결과에 의하면 Mori(1929)와 Hayashida(1958, 1968)의 추론과는 다른, 한국과 일본의 말은 두 가지 경로를 통해 유입되었다고 했다(Nozawa *et al.*, 1976). 즉, 남중국에서는 소형마(Small-sized horse)가 그리고 북중국과 한국 대륙으로부터는 중형마(Medium-sized horse)가 유입되었다고 했다.

현재에도 제주 재래마와 쓰시마 재래마의 기원에 대해서는 학자들간에 차이는 있지만 크게 두 가지 경로로 요약된다. 즉, 중국과 몽고 지역에서 유입되었을 것으로 추정된다.

현재 제주 재래마와 쓰시마 재래마가 소형마에 속하는 유전적 형질은 오랜 기간 그 지역의 자연환경에 적응된 결과라 볼 수 있다. 제주 재래마와 쓰시마 재래마는 형태적으로 유사한 공통적 특징을 갖으며, 여러 연구 결과들과 더불어 본 연구의 혈액 단백질의 다형에 의한 유전적 비교에서도 가까운 위치에 있음을 알 수 있었다.

V. 요약

제주 재래마와 쓰시마 재래마의 혈액 단백질에서 16개 단백질 좌위(Trypsin inhibitor : Ti, Chymotrypsin inhibitor : CTi, Albumin : Al, Esterase : Es, Tranferrin : Tf, Hemoglobin : Hb, Catalase : Cat, Esterase D : EsD, Glutamate oxaloacetate transaminase : GOT, Glyoxalase : GLO, Acid phosphatase : AcP, Superoxide dismutase : SOD, Lactate dehydrogenase : LDH, Hexokinase : HK, Malate dehydrogenase : MDH, Malic enzyme : ME)의 다형현상을 분석한 결과 5개의 단백질 좌위(SOD, LDH, HK, MDH, ME)에서는 두 집단에서 모두 monomorphic 했고, EsD, AcP, GOT 좌위에서는 쓰시마 재래마에서만 monomorphic 했다.

Polymorphism을 나타내는 좌위에서 유전자 빈도를 분석하여 평균 이형접합자 빈도를 분석한 결과 제주 재래마에서는 0.375로 쓰시마 재래마의 0.304 보다 다소 높게 나타났다. Nei 방법에 의한 Da distance 와 유전자 동일성(gene identity)은 각각 0.108과 0.868로 분석되었다.

그리고 이미 보고된 미국말 집단들과 본 연구 결과를 Da distance 에 의한 phylogenetic tree 는 크게 세 개의 cluster를 이루었다. 즉 미국말 집단들이 하나의 cluster 를 이루었고 제주 재래마집단과 쓰시마 재래마집단이 하나의 cluster를 이루었으며, 이 두 cluster 는 현존 말(*E. caballus*)의 기원으로 보는 몽고 야생마(*E. przewalskii*) cluster에서 분지됨을 볼 수 있다.

참고문헌

- Andersen, A. E. and M. Braend. 1989. Polymorphism of Esterase in plasma of foxes. *Hereditas*. 110:109-111.
- Ashton and Kristjansson. 1966. New Genetic Variants of Transferrins and Haptoglobins in pigs. *Nature*. 210:1274-1275.
- Bangham, A. D. and H. Lehmann. 1958. "Multiple" Hemoglobins in the horse. *Nature*. 181:267-269.
- Bell, K. and S. D. Patterson. 1987. Current status of the equine plasma protease inhibitory system. *Animal Genetics*. sup. 1 18:43-46.
- Bell, K., S. D. Patterson and C. C. Pollitt. 1984. The plasma protease inhibitor system(Pi) of Standardbred horses. *Animal Blood Groups and Biochem. Genet.* 15:191-206.
- Bowling, A. T. and R. S. Clark. 1985. Blood group and protein polymorphism gene frequencies for seven breeds of horses in the United States. *Animal Blood Groups and Biochem. Genet.* 16:93-108.
- Bowling, A. T., A. M. Scott, J. Flint and J. B. Clegg. 1988. Novel alpha hemoglobin haplotypes in horse. *Animal Genetics*. 19:87-101.
- Braend, M., 1965. Nomenclature of polymorphic protein systems. *Nature*. 206:1067.
- Braend, M. and E. Johansen. 1983. Hemoglobin types in Norwegian

-
- horses. *Animal Blood Groups and Biochem. Genet.* 14:305-307.
- Ek, N and M. Braend. 1984. Studies on the equine protease inhibitors. *Animal Blood Groups and Biochem. Genet.* 15:151-154.
- Guttormsen, S. A. and L. R. Weitkamp. 1981. Equine marker gene:polymorphism for soluble erythrocyte malic enzyme. *Animal Blood Groups and Biochem. Genet.* 12:53-57.
- Han, S. K., E. Y. Chung and H. I. Kang. 1986a. Studies on blood groups in Racing Horses. I. Genetic polymorphism of serum transferrin. *Korean J. Anim. Sci.* 28(7):453-461.
- _____. 1986b. Studies on blood groups in race horses. II.Genetic polymorphism of serum albumin. *Kor. J. Anim. Sci.* 28(7):462-467.
- _____. 1986c. Studies on blood groups in race horses. III.Genetic polymorphism of serum prealbumin. *Kor. J. Anim. Sci.* 28(11):701-707.
- _____. 1989. Studies on blood groups in race horses. IV.Genetic polymorphism of serum esterase isozyme. *Kor. J. Anim. Sci.* 31(2):132-138.
- _____. 1990a. Studies on blood groups in race horses. V.Genetic polymorphism of serum XK protein. *Kor. J. Anim. Sci.*32(2):61-65.
- _____. 1990b. Studies on blood groups in race horse. VI.Genetic polymorphism of red cell catalase,carbonic anhydregenase and phosphatase isozyme systems. *Kor. J. Anim. Sci.* 32(2):66-73.

-
- Hayashida, S., 1958. Systematic studies on the Japanese native horse. *Jan. Zootch. Sci.* 36:233-242.
- Hayashida, S., 1968. Origin and phylogeny of livestock in Japanese people and Southern Culture. pp. 385-402.
- Lee K.M. 1961. Biostatistic study on the type of the Cheju Horse in qoelpart. *Kor. J. Anim. Sic.*,3:63-73.
- Mori, T. 1929. Ancestry of Korea native horses(a preliminary report). *Japan. J. Zooth. Sci.* 4:90-112.
- Kang M.H. 1965. Historical and Morphological Studies on the Korean Horse. *Kor. J. Anim. Sci.* 11(4):351-379.
- Oh, M. Y., Kim, S. S. Hong and C. C. Lee. 1988. Studies on the Genetic variation of plasma proteins in Cheju population of Korea. *Kor. J. Genet.* 9:206-214.
- 1989. A study on the genetic variations in erythrocyte lysates by two-dimensional gel electrophoresis. *Kor. J. Genet.* 11:137-146.
- Oh, M. Y., M. H. Ko, G. O. Kim, S. J. Kim, C. C. Chung and K. I. Kim. 1992. Genetic variations of the blood proteins in Cheju native horse. *Kor. J. Genetics.* 14:39-50.
- Nei, M. 1987. *Molecular evolutionary genetics.* ISBN 0-231-06320-2:208-253.
- Nozawa, K., K. Esaki, N. Wakasugi and S. Hayashida. 1965. Genetical studies on the native farm animals in Japan and her adjacent localities. I. Gene constitution of the island type native horse. *Japan. J. Zootch. Sci.* 36:233-242.

-
- Nozawa, K. and K. Kondo. 1970. Gene constitution of Cheju native horses and its phylogenetic relationships with Japanese native horses. SABRAO News Letter. 7-18.
- Nozawa, K., T. Shotake and Y. Qhkura. 1975. Blood protein polymorphisms and population structure of the Japanese macaque (*Macaca fuscata*) Isozymes IV. Genetics and Evolution.
- Nozawa, K., T. Shotake and Y. Qhkura. 1976. Blood protein variations within and between the east Asian and European horse populations. Z. Tierzuchtg Zuchtgsbiol. 93:60-74.
- Patterson, S. D. and K. Bell. 1985. Quantitative analysis of hemoglobin types in Australian horses. Animal Blood Groups and Biochem. Genet. 16:236-242.
- 1986. The equine protease inhibitory system(Pi): Abnormal expression of Pi^f , Pi^l and Pi^s . Biochem. Genetics. 18:167-180.
- 1987a. ISO-DALT characterization of 12 new equine plasma protease inhibition(Pi) alleles. Animal Genetics. 18:167-180.
- 1987b. Frequencies of plasma protease inhibitor alleles in Austalian horse breeds and the recognition of two new alleles. Animal Genetics. 18:181-186.
- Pollitt, C. C. and K. Bell. 1980. Protease inhibitor system in horses: classification and detection of a new allele. Animal Blood Groups and Biochem. Genet. 11:235-244.

-
- Pollitt, C. C. and K. Bell. 1983a. Characterization of the α_1 -protease inhibitor system in Thoroughbred horse plasma by horizontal two-dimensional(ISO-DALT) electrophoresis. 1. protein staining. *Animal Blood Groups and Biochem. Genet.* 14:83-105.
- 1983b. Characterization of the α_1 -protease inhibitor system in Thoroughbred horse plasma by horizontal two-dimensional(ISO-DALT) electrophoresis. 2. protease inhibitor. *Animal Blood Groups and Biochem. Genet.* 14:107-118.
- Putt, W. and D. B. Whitehouse. 1983. Genetics of for plasma protein loci in *Equus przewalskii*: new alleles at the prealbumin, postalbumin and transferrin loci. *Animal blood Groups and Biochem. Genet.* 14:7-16.
- Sandberg, K. 1979. Studies on blood groups and genetic protein polymorphism of the horse. ISSN 0347-9706, ISBN 91-576-0246-8.
- Shotake, T., 1967. A study of Hokkaido native horses. *Rep. Res. Group Native Farm Anim.* 2:79-83.
- Shin, T. k., K. C. Yang, S. H. Kim. 1993. An Osteological Finding of Equine Bones Excavated from Kwaji Archaeological Site in Cheju-do. *Cheju Univ. Jour(Nature Sci.)* 37:85-90.
- Yang, Y. H., C. J. Jung, H. J. Lee and T. S. Kang. 1991. Studies on the classification for the Registration of the Cheju Native Horse I. Body measurements by location, sex and age. II. The effect of the registration grade on the body measurements. *Kor. J. Anim. Sci.*(6): 418-422, 438-443.

감사의 글

먼저 본 논문을 만들 수 있도록 기회를 주신 오문유 교수님께 감사드립니다. 그리고 논문이 완성되기까지 세심한 배려를 아끼지 않으신 김원택 교수님, 김세제 교수님께 감사드립니다.

항상 관심과 사랑으로 지도해주신 허인옥 교수님, 이 용필 교수님, 오덕철 교수님, 김문홍 교수님, 이화자 교수님, 고석찬 교수님께 감사드립니다.

무한한 미래를 위해 도약하는 우리 유전학 실험실 가족에게 고마움을 전하며 특히 많은면으로 가르침과 도움을 주신 김기욱선생님, 고미희선생님께 고마움을 전합니다.

항상 양보와 이해로 격려해 준 언니와 형부, 동생들 그리고 소중한 친구들에게 고마움을 전합니다.

끝으로 오늘의 나를 만들어 주신 부모님께 이 조그마한 결실을 드립니다.