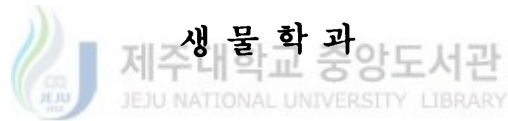


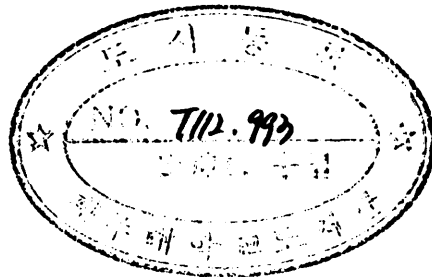
석사학위논문

제주도 재래마 집단에서 혈장 및 적혈구 단백질의 유전적 변이

제주대학교 대학원



고 미 회



1990년 12월

The Genetic Variation of the Plasma and Red cell Proteins in Cheju Native Horse Population

Mi-Hee Ko

(Supervised by Professor Moon-You Oh)



제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

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

DEPARTMENT OF BIOLOGY
GRADUATE SCHOOL
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY

1990. 12

목 차

| | page |
|-------------|------|
| ABSTRACT | 1 |
| I. 서 론 | 3 |
| II. 재료 및 방법 | 7 |
| III. 결 과 | 13 |
| IV. 고 찰 | 24 |
| V. 요 약 | 29 |
| 참고문헌 | 30 |
| 감사의 글 | 36 |

Abstract

In order to clarify the genetic composition and to find possible genetic markers of Cheju native horses, the genetic variation of the nine proteins in the plasma(AI, Pi, Es, Hp) and in the red cell(Hb, PGD, PGM, MDH, ME) were investigated by the gel electrophoretic techniques.

AI: There were two alleles, AI^A and AI^B . The alleles frequencies of AI^A and AI^B were 0.398 and 0.602, respectively($X^2= 0.02$, d.f.= 2, $P> 0.9$).

Pi: Seven Pi alleles (Pi^F , Pi^G , Pi^I , Pi^L , Pi^N , Pi^S and Pi^U) were detected. The gene frequencies of Pi were Pi^F 0.035, Pi^G 0.109, Pi^I 0.020, Pi^L 0.519, Pi^N 0.309, Pi^S 0.006 and Pi^U 0.002, respectively($X^2= 164.8$, d.f.= 21, $P< 0.005$).

Es: There were three alleles, Es^F , Es^I and Es^S . The gene frequencies of Es were Es^F 0.266, Es^I 0.712, and Es^S 0.022, respectively($X^2= 21.28$, d.f. = 3, $P< 0.005$).

Hb: Three alleles, (Hb^A , Hb^{B^I} and $Hb^{B^{II}}$) were found. The gene frequencies of Hb were Hb^A 0.12, Hb^{B^I} 0.62 and $Hb^{B^{II}}$ 0.26, respectively($X^2= 2.63$, d.f.= 3, $P> 0.25$).

PGM: There were two alleles, Pgm^F and Pgm^S . The gene frequencies of PGM were Pgm^F 0.4344 and Pgm^S 0.5656, respectively($X^2= 0.2238$, d.f.= 2, $P> 0.75$).

PGD: There were two alleles, Pgd^F and Pgd^S . The gene frequencies of PGD were Pgd^F 0.823 and Pgd^S 0.177, respectively ($X^2= 7.53$, d.f.= 2, $P < 0.05$).

These proteins(Hp, MDH, ME) showed the monorphic traits in this population. The mean heterozygosity of nine protein loci were calculated as 0.329 ± 0.012 .



제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

I. 서론

동물에서 단백질의 다형현상(polymorphism)에 관한 연구는 전분 겔 전기영동법(Smithies, 1955)이 도입된 이래 많은 종에서 진행되어 왔다. 특히, 인류집단에서 보고된 다형현상은 집단의 유용한 genetic marker로서 이용되고 있다. 따라서, 한 집단에서 단백질의 유전자 조성을 밝히는 것은 집단 유전학적, 진화학적 측면에서 중요하다. 집단 유전학은 생물진화와 직접적인 관계가 있으며, 진화과정의 기본재료는 한 집단이며 개체간 유전적 변이가 중요하다.

세계적으로 현존하는 말의 Genus는 *Equus*이며, 말은 화석 기록에 의한 진화과정이 밝혀졌기 때문에 진화학적으로 중요성을 갖고 있다. 따라서, 말에 대한 집단 유전학적인 연구는 U.S.A., Italy, Australia, Poland, Norway, Sweden 등 여러 나라에서 혈액형 인자, 단백질 및 효소의 유전자 구성과 유전자 빈도의 본포에 관해서 보고된 바 있다(Bowling and Clark, 1985; Cothran et al., 1987; Lubas et al., 1989a).

국내에서도 경주마에서 Tf(Han et al., 1986a), Al(Han et al., 1986b), Pr(Han et al., 1986c), Es(Han et al., 1989), Xk(Han et al., 1990a), Cat, Ca, Ap(Han et al., 1990b) 등의 유전자 빈도에 대한 보고는 있지만, 지리적으로 격리가 잘 되어 있는 제주도 재래마에 대한 연구는 Hp, Tf(정, 1985)에 대한 보고 외에는 다른 단백질의 유전적 변이에 관해서 아직 연구된 바 없으므로 이에 대한 연구가 절실히 요구되고 있다.

Albumin(Al)의 표현형은 Italy 말 집단에서 공우성 대립유전자 Al^A , Al^B

에 의해 지배된다고 보고하였다(Lubas *et al.*, 1984).

Protease inhibitor(Pi)는 산성 pH하의 전분 겔 전기영동 상에서 A1보다 양극으로 이동하여 붙어있는 명칭이나, 후에 protease inhibitor 활성을 갖는다고 보고되었다(Ek, 1977). 이 때부터 Pr의 좌위의 명칭이 Pi로 바뀌었으며, Pi의 pI 범위는 3.74-4.43, 분자량은 55,000-72,000 daltons 범위를 갖는다고 보고하였다(Pollitt and Bell, 1983a). Pi는 Bovine trypsin이나 chymotrypsin의 작용을 억제한다고 알려져 있으며(Patterson and Bell, 1986), 혈장 단백질 중에 대립인자의 수가 가장 많이 알려지고 있다(Braend, 1980; Bell and Patterson, 1987; Pollitt and Bell, 1980; Pollitt and Bell, 1983b, Bell *et al.*, 1984; Ek and Braend, 1984; Patterson and Bell, 1987a, 1987b; Putt and Whitehouse, 1983; Lubas *et al.*, 1989b).

Esterase(Es; EC 3.1.1.2)의 표현형은 Italy 말 집단에서는 Es^F , Es^I , Es^S 공우성인 세 개의 대립인자에 의해 지배되며(Lubas *et al.*, 1984; Lubas *et al.*, 1989a, 1989b; Cothran *et al.*, 1987), Es는 α - , β -naphthylester를 α - 또는 β -naphthol과 salt로 되는 가역적 반응을 촉매한다.

Haptoglobin(Hp)은 많은 포유동물에 존재하는 glycoprotein의 일종으로서, Hb와 결합능력이 있으며, Hp-Hb 복합체는 노의 비철을 통해 철의 과도한 결실을 막아준다(Putnam, 1975).

Bangham과 Lehmann(1958)은 전분 겔 전기영동을 통해 hemoglobin(Hb)의 다형현상을 보고하였다. Hb의 표현형은 연관된 두 개의 비대립유전자(non-allelic) α -chain genes(5' α_2 - α_1 3')에 의해 결정된다(Osterhoff

and Groenewald, 1984). 따라서, 정상적인 말은 두 개의 α globin genes이 5' α_2 gene 24Tyr60Gln, α_2 gene 24Tyr60Lys 3'을 각각 암호화 한다. 이런 배열은 모든 말 집단에서 검출되는데 이를 A haplotype이라 한다. 그리고 A haplotype 외에도 BI, BII, N, C 등이 검출되고 있다(Bowling *et al.*, 1988; Bowling and Clark, 1985; Cothran *et al.*, 1987; Lubas *et al.*, 1989a, 1989b). A haplotype은 5' α 24Tyr60Gln 3' type 만이 α globin 좌위에 의해 암호화되며, BI, BII는 각각 5' α_2 24Tyr60Lys, α_1 24Tyr60Gln 3', 5' α_2 24Phe60Gln, α_1 24Phe60Lys 3'(BII)를 암호화 한다. 그리고 다른 haplotype C와 N은 α locus 위에 단지 5' α 24Tyr60Lys 3'(C haplotype), 5' α 24Phe60Lys 3'(N haplotype)을 각각 암호화 한다 (Bowling *et al.*, 1988).

6-Phosphogluconate dehydrogenase(PGD; EC 1.1.1.44)는 6-phosphogluconate가 ribulose-5-phosphate로 전환시키는 효소이다. Italy 말 집단에서 공우성 대립인자인, Pgd^F 와 Pgd^S 에 의해 결정되는 표현형 FF, FS, SS가 보고된 바 있다(Tomaszewska-Guszkiewicz, 1987).

Phosphoglucomutase(PGM; EC 2.7.5.1)는 glucose-1-phosphate를 glucose-6-phosphate로 전환시킬때 가역적 반응을 촉매하는 효소이다. Italy 집단에서 PGM의 표현형은 공우성 대립인자인 Pgm^F 와 Pgm^S 에 의해 결정된다 (Lubas *et al.*, 1984; Tomaszewska-Guszkiewicz, 1987; Bowling and Clark, 1985; Cothran *et al.*, 1987; Lubas *et al.*, 1989a, 1989b).

Malate dehydrogenase(MDH; EC 1.1.1.37)은 L-malate가 oxaloacetate로 될 때 가역적인 반응에 관여하는 효소로서 MDH의 유전자 빈도는 아직 보고된 바 없다. 그리고 Malic enzyme(ME; EC 1.1.1.40)은 L-malate가 pyruvate

로 되는 가역적인 반응을 속매한다. 미국의 Standardbred와 Thoroughbred에서 공우성 대립인자 He^F 와 He^S 가 보고된 바 있다(Guttormsen and Weitkamp, et al., 1981; Cothran and MacCluer, 1987).

본 연구는 제주도 재리마 집단의 유전자 조성과 genetic marker를 규명하기 위한 목적의 한 일환으로서 상기 기술한 혈장 단백질(A1, P1, Es, Hp)과 적혈구 단백질(Hb, PGM, PGD, MDH, ME)의 표현형의 본포와 유전자 빈도를 산출하여, 다른 지역 말 집단의 결과와 비교 분석하였다.



II. 재료 및 방법

1. 혈액채취 및 시료준비

제주도에서 사육되고 있는 말의 혈액을 채취한 후 혈액응고를 방지하기 위해 5 ml EDTA-bottle에 넣고, 1500×g에서 5 분간 원심분리하여 혈장과 혈구로 분리하였다. 분리된 혈장은 사용할 때까지 냉동고(-20 °C)에 보관하였다. 그리고 적혈구는 혈구와 동량의 0.9 % NaCl를 넣고, 적혈구가 파괴되지 않게 섞은 후 1500×g에서 5 분간 원심분리하여 세척하였다. 같은 방법으로 3 회의 세척과정을 거친 적혈구는 냉동고(-20 °C)에 보관하였다가 사용하였으며, 전기영동 직전에 0.02 M phosphate buffer, pH 6.8를 동량 넣어 냉동고에서 얼린 후 실온에서 해동시켜 hemolysates를 시료로 사용하였다.

2. 실험방법

1) Albumin(AI) and Protease inhibitor(Pi)

Pollitt와 Bell(1980)의 thin layer acid gradient PAGE 방법을 변형하여 AI와 Pi의 표현형을 분석하였다.

Acrylamide stock solution(30.8 % T, 2.6 % C)은 30 g acrylamide, 0.8

g bis-acrylamide에 증류수 75 ml를 가하여 완전히 녹인 후 여과시킨 다음 최종 부피를 100 ml로 만들어 갈색병에 넣고, 4 °C가 유지되는 곳에 보관하면서 사용하였다. 전기영동을 위한 겔은 separating gel(10 %, 7 cm), separating gel(8 %, 6 cm), sample gel(4 %, 3 cm)이 되도록 gradient를 만들어서 사용하였다. Gel buffer는 0.16 M pyridine, 8.77 M HCl(pH 4.6)를 사용했으며, anode buffer로는 0.0124 M pyridine(pH 4.4) cathode buffer는 0.08 M cacodylic acid, 0.084 M pyridine(pH 5.6)을 이용하였다.

분석될 sample은 plasma 15 μ l, 25 % glycerol BPB solution 15 μ l를 혼합한 후 이 중에서 10 μ l를 apply하였다. 전기영동은 2 °C, 400 V, 6 hrs 조건에서 albumin-BPB complex가 10 % separating gel로 이동할 때까지 실시하였다. 0.25 % Coomassie Brilliant Blue R250으로 염색한 후 10 % acetic acid, 45 % methanol로 탈색시킨 후 분석하였다.

2) Esterase(Es)

Es의 표현형 분석은 Anderson과 Braend(1989)의 IEF-PAGE를 변형하여 실시하였다. IEF gel은 IEF-acrylamide stock sol.(30 % T, 3 % C) 3.75 ml, 증류수 15 ml, glycerol(85 %) 2.25 ml, ampholine(pH 3.5-5.0) 0.6 ml, ampholine(pH 4.0-6.0) 0.6 ml를 섞은 후 vacuume pump로 degassing시킨 후 TEMED 50 μ l, 10 % ammonium persulphate 100 μ l를 넣고 중합시켰다. Anode bridge buffer는 1 M H₃PO₄, cathode bridge buffer는 2 % ampholine(pH 5.0-7.0) sol.을 사용하였다. 전기영동은 2,000 V, 25 mA, 25 W, 10 °C 조건에서 1 시간 동안 prerunning한 후 sample은 5×10 mm sample pieces를 사용하여 혈장 원액 2 μ l를 apply하였다. 30 분간 focusing 한

다음 pieces를 제거한 후 2 시간 30 분간 focusing하였다. 염색은 300 mg Fast Blue RR salt, 2 % α -naphthylacetic acid 6 ml(alcohol에 용해), 0.075 M phosphate buffer(pH 8.0) 400 ml를 섞은 용액에서 10 분간 실시한 후 11.5 % trichloroacetic acid, 35 % sulfosalicylic acid로 1 시간 동안 고정하여, 물로 세척하였다.

3) Haptoglobin(Hp)

Hp의 표현형 분석은 Habib(1983)의 방법을 변형하여 실시하였다. Peacock's stock buffer sol.조성을 0.16 M EDTA, 0.44 M boric acid, 0.44 M Tris, pH 8.29로 만들었으며, bridge buffer와 gel buffer는 Peacock's sol.을 4 : 1로 희석하여 사용했다. Running gel(7 %)은 polyacrylamide stock sol.(30.8 % T, 2.6 % C) 9.3 ml, gel buffer 10 ml, 증류수 18.36 ml, TEMED 200 μ l, 10 % ammonium persulphate 100 μ l를 첨가하여 중합시켰다. 전기영동을 위한 시료는 30 μ l 혈장, 15 μ l hemolysate, 10 mg의 crystal sucrose를 잘 혼합한 후 이 중에서 15 μ l를 sample apply하여, 2 $^{\circ}$ C, 400 V 조건에서 4 시간 동안 전기영동을 실시하였다.

염색은 50 mg benzidine을 DMSO 1 ml에 녹인 후 증류수 300 ml를 첨가하고, 염색 직전 1 ml acetic acid와 1 ml hydrogen peroxide를 첨가하여 30 분간 incubation하였다.

4) Haemoglobin(Hb)

Hb분석은 Bowling(1988)의 IEF-PAGE(pH 5.5-8.5) 방법을 변형하여 실시하였다. Anode solution은 0.4 M HEPES, cathode solution으로는 0.1 M NaOH

를 각각 bridge buffer로 사용했다. Sample apply는 hemolysate 10 μ l를 5 \times 10 mm sample pieces에 묻혀 cathode electrode로부터 2 cm 떨어진 지점에 올려 놓고 전기영동은 1,600 V, 50 mA, 25 W, 10 $^{\circ}$ C 조건에서 30 분간 focusing한 후 pieces를 제거하여 2 시간 동안 더 focusing하였다. 전기영동이 끝난 다음 고정액으로 1 시간 동안 고정하여 상온에서 gel dry시킨 후 표현형을 분석하였다.

5) Phosphogluconate dehydrogenase(PGD)

Harris와 Hopkinson(1976)의 starch gel 전기영동법으로 PGD 표현형을 분석하였다. Starch gel(10 %)은 12 g starch, 15.7 ml 0.1 M phosphate buffer(pH 7.0), 증류수 104.3 ml를 혼합하여, 장갑을 낀 상태에서 가지달린 플라스크에서 알코올 램프로 가열한 다음 vacuume pump에서 degassing하여 150 \times 200 \times 5 mm인 gel plate에 부어서 만들었다. Bridge buffer는 0.1 M phosphate buffer(pH 7.0)를 사용하였는데, 전기영동 직전에 cathodal vessel에 10 mg NADP⁺(per buffer 500 ml)를 첨가하였다. Gel buffer는 bridge buffer를 10 : 1로 희석하여 사용했으며, starch를 gel buffer에 혼합하여 가열한 후 degassing하기 전에 4 mg NADP⁺(per buffer 200 ml)를 섞어서 gel를 만들었다. Running은 4 $^{\circ}$ C에서 11.3 V/cm로 4 시간 30 분 실시했다. PGD의 염색은 10 ml 0.5 M Tris/HCl buffer (pH 8.0)에 10 mg 6-phosphogluconate(Na₂ salt), 5 ml 0.2 M MgCl₂, 5 mg MTT, 5 mg PMS를 녹인후 가열한 2 % agar(20 ml)와 다시 섞어서 slice한 겔 표면 위에 부어 1 시간 동안 incubation시켰다.

6) Phosphoglucomutase(PGM)

PGM의 표현형 분석은 Tipler(1982)의 방법을 약간 변형한 IEF-PAGE(pH 5.0-8.0)를 실시했다. IEF gel 조성은 IEF-acrylamide stock sol.(30 % T, 3 % C) 5.66 ml, sucrose 2.65 g, ampholine(pH 5-8) 1.06 ml, 증류수 13.8 ml를 섞은 후 vacuum pump로 degassing해서, TEMED 20 μ l, 10 % ammonium persulphate 40 μ l를 첨가하여 중합시켰다. Anode electrode buffer는 0.4 M HEPES, cathode electrode buffer는 0.1 M NaOH를 사용하였고, prefocusing은 10 $^{\circ}$ C, 1,600 V, 25 mA, 40 W 조건에서 30 분 동안 수행하였다. Hemolysate 10 μ l를 5 \times 10 mm sample pieces에 묻혀 apply했으며, running은 3 시간 동안 실시하였다. PGM의 염색은 15 ml 0.2 M Tris-HCl buffer(pH 8.0)에 2 %가 되도록 agar를 넣고 끓인 후 0.2 M MgCl₂ 3 ml, glucose-1-phosphate 200 mg, NAD⁺ 3 mg, NADP⁺ 3 mg을 잘 섞었다. 여기에 glucose-1,6-diphosphate 1 mg, glucose-6-phosphate dehydrogenase 20 μ l(1000 unit/2 ml buffer), MTT 2 mg, PMS 2 mg을 잘 혼합하여, slice한 겔 표면 위에 부어 어두운 곳에서 1 시간 동안 incubation하였다.

7) Malate dehydrogenase(MDH) and Malic enzyme(ME)

Harris와 Hopkinson(1976) 방법에 의한 starch gel(10 %) 전기영동을 MDH와 ME의 표현형 분석에 사용하였다.

Bridge buffer는 0.155 M Tris, 0.043 M citric acid, (pH 7.0), gel buffer는 bridge buffer를 40 : 1로 희석시켜 사용하였다. Gel plate는 150 \times 200 \times 5 mm로 하였으며, running은 4 $^{\circ}$ C, 150 V 조건에서 4 시간 동안 실시하였다. 염색은 gel를 두 개로 slice하여 각각 MDH와 ME 염색에 사용하였

다.

MDH 염색방법은 75 mg L-malic acid, 12.5 ml, 0.1 M Tris-HCl buffer(pH 8.0)를 섞어서 pH 8.0으로 조정하고, 5 mg NAD⁺, 5 mg MTT, 3 mg PMS를 혼합시켰다. 2 % agar(12.5 ml, 0.1 M Tris-HCl buffer, pH 8.0)를 가열한 후 상기 용액과 잘 섞어서 slice된 gel 표면에 부어 1 시간 동안 incubation시켰다.

ME의 염색은 MDH와는 달리 L-malic acid 100 mg과 0.1 M Tris-HCl buffer, pH 7.0를 잘 섞어서 pH 7.0으로 조정하고 0.2 M MgCl₂, 2.5 ml, 5 mg NADP⁺, MTT 5 mg, PMS 3 mg를 섞어서 2 % agar 용액과 혼합하여 slice gel 위에 부어 incubation시켰다.



III. 결 과

1. 혈장 단백질의 유전적 변이

1) Albumin(AI)의 표현형과 유전자 빈도

AI의 표현형과 유전자 빈도를 조사하기 위하여, Acid gradient polyacrylamide gel 전기영동법을 실시한 결과, band의 이동 정도에 따라 AA, AB, BB 세 가지 표현형이 검출되었다(Fig. 1). AI의 유전자 빈도는 A_1^A 0.398, A_1^B 0.602로 A_1^B 의 빈도가 훨씬 높게 나타났으며, Hardy-Weinberg 법칙에 적합하여($\chi^2 = 0.02$, $P > 0.9$), AI의 유전자 빈도는 평형상태에 있었다(Table 1). AI좌위의 이형접합자(Heterozygote) 비율인 이형접합자 빈도(Heterozygosity)는 0.483이었다.

2) Protease inhibitor(Pi)의 표현형과 유전자 빈도

Pi의 유전적 변이를 조사한 결과, 각 allele들은 major band의 이동도가 가장 빠른 순서에 따라 F, G, I, L, N, S, U로서 본 연구에서 검출된 표현형은 Fig. 1에서와 같이 차례대로 II, GS, GI, GN, GL, FL, FI, FN, FG, LL, LU, NU, NS, NL, NN, IS, IU, IN, IL 등이 관찰되었다. 제주도 제래마의 Pi좌위에서 7 개의 공우성 대립인자에 의해 열 아홉 가지 표현형이 검출되었으며, Pi의 유전자 빈도는 P_i^F 0.035, P_i^G 0.109, P_i^N 0.309, P_i^I 0.020, P_i^L 0.590, P_i^S 0.006, P_i^U 0.002로 각각 산출되었다(Table 1). 7

게 대립인자에서 유전자 빈도가 가장 높은 것은 Pi^L 이며, Pi^U 는 가장 낮게 조사되었다.

Pi 의 heterozygosity는 0.777로서 높은 수치를 보였으며, Hardy-Weinberg 법칙에서 벗어나고 있었다($X^2 = 164.8$, $P < 0.005$).

3) Esterase(Es)의 표현형과 유전자 빈도

IEF gel 상에서 major band의 이동도가 바른 순서로 F, I, S인자로 분리되었고, FF, FI, II, IS, FS의 다섯 가지 표현형이 검출되었다(Fig. 2). Es^S 는 세 개의 공우성 대립인자(Es^F , Es^I , Es^S)에 의해 지배되고 있으며, 각각의 유전자 빈도는 Es^F 0.266, Es^I 0.712, Es^S 0.022로서 Es^I 의 빈도가 가장 높음을 알 수 있었다(Table 1). Es 의 heterozygosity는 0.335의 값을 보였고, Hardy-Weinberg 평형상태에서 이탈하였다($X^2 = 21.28$, $P < 0.005$).

4) Haptoglobin(Hp)의 표현형과 유전자 빈도

Polyacrylamide gel 전기영동법을 이용하여 표현형을 분석한 결과 모두 1-1 형으로 monomorphic하였다(Fig. 3).

2. 적혈구 단백질의 유전적 변이

1) Haemoglobin(Hb)의 표현형과 유전자 빈도

Hb의 표현형은 IEF-PAGE(pH5.5-8.5) 상에서 양극 쪽에 생긴 한 개 또는 두 개의 band는 α_2 gene의 산물에 의해, 음극 쪽에 band는 α_1 gene의 산

물에 의해 생긴다(Bowling, 1988). 본 실험에서 Hb의 표현형을 조사한 결과 A/A, A/BI, A/BII, BI/BI, BI/BII, BII/BII, 등 여섯 가지 표현형이 검출되었다(Fig. 4). 표현형은 양극 쪽의 band와 음극 쪽의 band의 강도에 따라 A/A(100:0), A/BI(80:20), A/BII(80:40), BI/BI(60:40), BI/BII(30:30:20:20), BII/BII(60:40)으로 결정하여 유전자 빈도를 산출하였으며, Hb의 유전자 빈도는 Hb^A 0.12, Hb^{BI} 0.62, Hb^{BII} 0.26으로서 Hb^{BI} 이 가장 높게 검출되었다(Table 2). Hb좌위의 heterozygosity는 0.517이었고, Hardy-Weinberg 법칙에 일치함을 보였다($X^2 = 2.63$, $P > 0.25$).

2) Phosphogluconate dehydrogenase(PGD)의 표현형과 유전자 빈도

PGD의 표현형은 starch gel 전기영동법을 이용하여 조사한 결과 FF, FS, SS 세 가지 표현형이 검출되었다(Fig. 5). PGD는 두 개의 공우성 대립인자(Pgd^F , Pgd^S)에 의해 표현형이 지배되고 있으며, 각각의 유전자 빈도는 Pgd^F 0.8231, Pgd^S 0.1769로서 Pgd^F 인자의 빈도가 높게 나타났다. 그리고 PGD의 heterozygosity는 0.344 값을 보였으며, Hardy-Weinberg 법칙에 적합하지 않았다($X^2 = 7.53$, $P < 0.05$).

3) Phosphoglucomutase(PGM)의 표현형과 유전자 빈도

PGM을 분석한 결과 겔 상에 band의 바깥 순서에 따라 FF, FS, SS 표현형이 검출되었다(Fig. 6). PGM은 Pgm^F , Pgm^S 의 두 개의 공우성 대립인자에 의해 표현형이 지배되고 있으며, 유전자 빈도는 Pgm^F 0.4344, Pgm^S 0.5656으로서 Pgm^S 의 빈도가 높으나, 빈도의 차가 비교적 작았다(Table 2). PGM의 heterozygosity는 0.508 값을 보였으며, Hardy-Weinberg 법칙에 일치했다.

$\chi^2 = 0.2338, P > 0.75$).

4) Malate dehydrogenase(MDH)의 표현형과 유전자 빈도

Starch gel 전기영동법으로 MDH의 표현형을 조사한 결과 모두 1-1 형으로 monomorphic하였다(Fig. 7).

5) Malic enzyme(Me)의 표현형과 유전자 빈도

Starch gel 전기영동법으로 Me의 표현형을 분석한 결과 전부 FF형으로서 monomorphic 하였다(Fig. 8).

3. 혈장 및 적혈구 단백질의 평균 이형접합자 빈도

본 연구에서 조사된 제주도 제레마 집단에서 혈장 단백질 좌위(A1, Pi, Es, Hp)의 평균 이형접합자 빈도는 0.399 ± 0.064 , 적혈구 단백질 좌위(Hb, PGD, PGM, MDH, ME)의 평균 이형접합자 빈도는 0.274 ± 0.012 이었고, 9개 단백질 좌위의 평균 Heterozygosity(H)는 0.329 ± 0.012 이었다(Table 3). 두 조직을 비교할 때 혈장 단백질 좌위의 평균 이형접합자 빈도가 적혈구 단백질 좌위의 값보다 높았다.

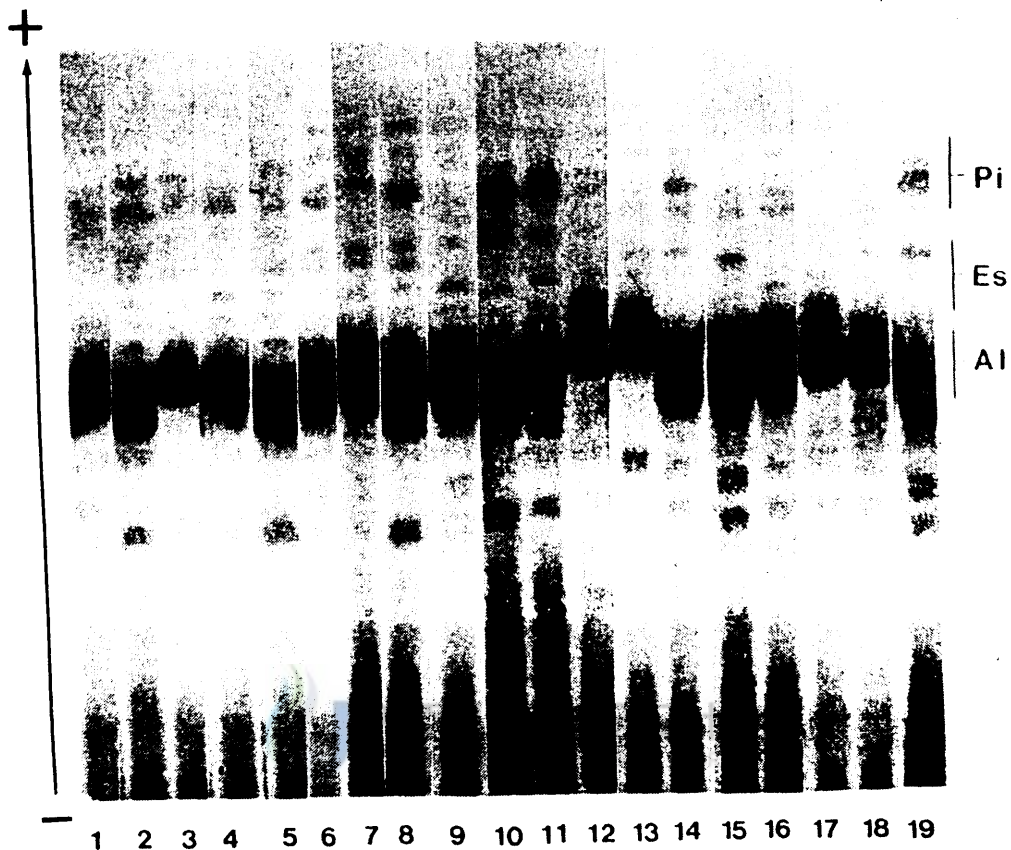


Figure 1. The phenotypes of protease inhibitor(Pi) and albumin(Al) separated on the acid(pH 4.6) gradient polyacrylamide gel in Cheju native horses. The gradient gel was composed of the separating gel (10% and 8%), sample gel(4%). The proteins were analysed by Coomassie Brilliant Blue R250 staining. The phenotypes of Pi and Al in each lane are as follows:

- Pi**: 1—II; 2—GS; 3—GI; 4—GN; 5—GL; 6—FL; 7—FI; 8—FN; 9—FG;
 10—LL; 11—LU; 12—NU; 13—NS; 14—NL; 15—NN; 16—IS; 17—IU;
 18—IN; 19—IL.
- Al**: 3, 12, 13, —AA; 1, 4, 6, 7, 9, 11, 14, 15, 16, 17, 18—AB;
 2, 5, 8, 10, 19—BB.

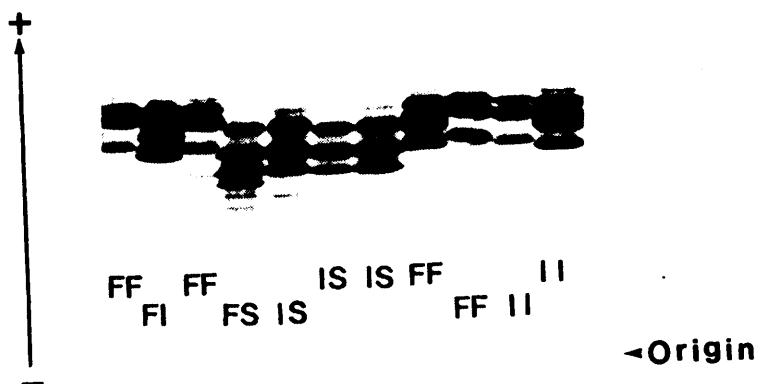


Figure 2. The zymograms of serum esterase(Es) separated by isoelectric focusing(pH 3.5—6.0) in Cheju native horses. Five phenotypes are detected as follows(from left to right); FF, FI, FF, FS, IS, IS, IS, FF, FF, II, II.

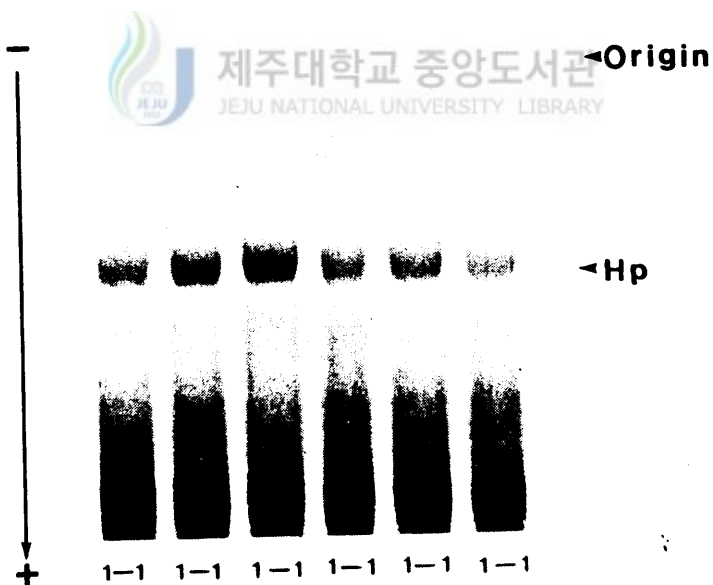


Figure 3. The phenotype of plasma haptoglobin(Hp) separated on polyacrylamide gel(7%), followed by benzidine stained in Cheju native horses.

Table 1. The distributions of phenotypes and gene frequencies in plasma proteins from Cheju native horses

| Protein | Phenotype | | | Gene Frequency |
|-----------------------------------|--|---|--|--|
| | Phenotypes | Observed | Expected | |
| Albumin(AI) (n=269) | AA AB BB | 42(15.6) 130(48.3) 97(36.1) | 42.57 128.88 97.25 | $A_1^A = 0.398$ $A_1^B = 0.602$ $\chi^2 = 0.02, P > 0.9$ |
| Protease inhibitor(Pi) (n=269) | FF FG FN FI FL FS FU GG GN GI GL GS GU NN NI NL NS NU II IL IS IU LL LS LU SS SU UU | 0 4(1.5) 4(1.5) 2(0.7) 9(3.3) 0 0 0 4(1.5) 1(0.4) 50(18.6) 0 0 12(4.5) 2(0.7) 129(48.0) 3(1.1) 0 3(1.1) 0 0 0 45(16.7) 0 1(0.4) 0 0 0 | 0.33 2.08 5.86 0.39 9.85 0.11 0.04 3.24 18.21 1.20 30.61 0.33 0.11 25.60 3.39 86.07 0.93 0.32 0.11 5.70 0.06 0.02 72.35 1.56 0.53 0 0 0 | $P_i^F = 0.035$ $P_i^G = 0.109$ $P_i^N = 0.309$ $P_i^I = 0.020$ $P_i^L = 0.519$ $P_i^S = 0.006$ $P_i^U = 0.002$ $\chi^2 = 164.8, P < 0.005$ |
| Esterase(Es) (n=269) | FF FI II IS FS SS | 32(11.9) 78(29.0) 147(54.6) 11(4.1) 1(0.4) 0 | 19.00 101.80 136.33 8.54 0.14 0.13 | $E_s^F = 0.266$ $E_s^I = 0.712$ $E_s^S = 0.022$ $\chi^2 = 21.28, P < 0.005$ |
| Haptoglobin (Hp) (n=269) | 1-1 | 269 | | $H_p^1 = 1.0$ |

Percentages are in parentheses.

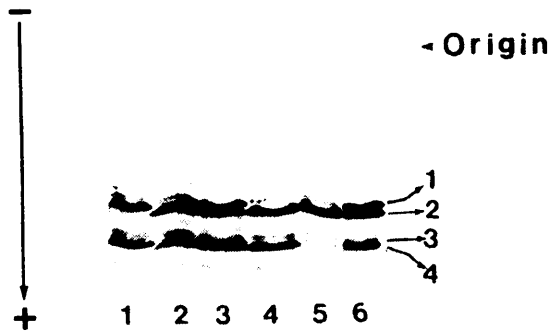


Figure 4. The phenotypes of haemoglobin separated by isoelectric focusing (pH 5.5—8.5). The proportions of the fast (band 1, 2) and slow (band 3, 4) haemoglobin fractions are distinctive as follows: A/BI (80:20), A/BII (30:50:20), BI/BI (60:40), BI/BII (30:30:20:20), BII/BII (60:40). The left to right: 1) BII/BII, 2) A/BII, 3) B/BII, 4) BI/BI, 5) A/A, 6) A/BII

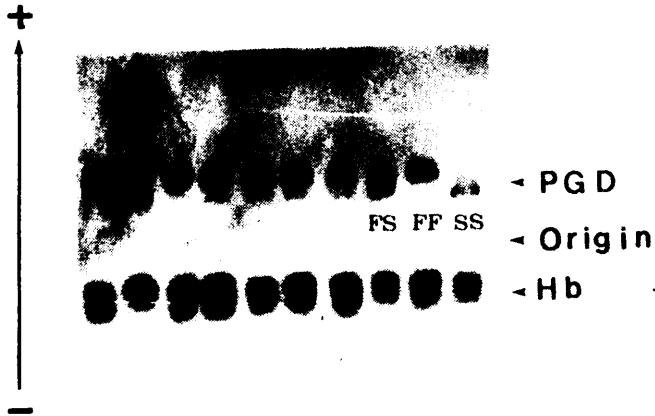


Figure 5. The zymograms of phosphogluconate dehydrogenase(6-PGD) separated by starch gel electrophoresis(0.1 M phosphate buffer, pH 7.0) in Cheju native horses. Three phenotypes are detected as follows(from left to right); FS, FF, SS.

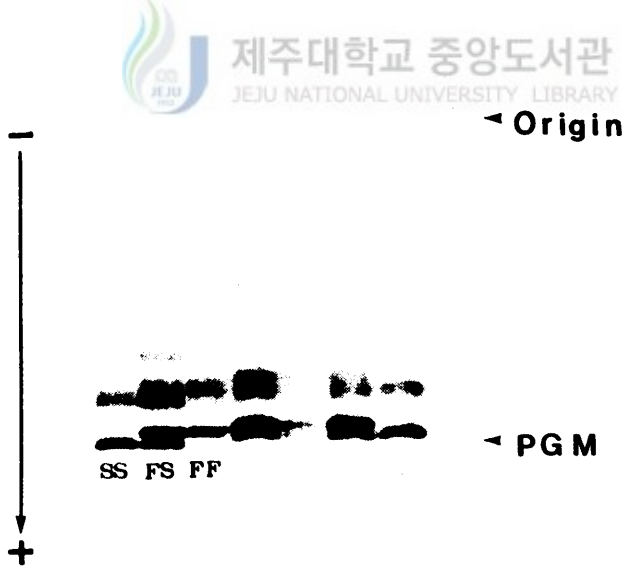


Figure 6. The zymograms of phosphoglucomutase(PGM) separated by isoelectric focusing(pH 5—8) in Cheju native horses. Three phenotypes are detected as follows(from left to right); SS, FS, FF.



Figure 7. The zymograms of malate dehydrogenase(MDH) separated by starch gel electrophoresis(0.1 M Tris—0.043 M citric acid, pH 7.0) in Cheju native horses. MDH are monomorphic.



Figure 8. The zymograms of malic enzyme(ME) separated by starch gel electrophoresis(0.1 M Tris—0.043 M citric acid, pH 7.0) in Cheju native horses. ME are monomorphic.

Table 2. The distributions of phenotypes and gene frequencies in red cell proteins from Cheju native horses

| Protein | Phenotype | | | Gene frequency |
|---|-----------|-----------|----------|---|
| | Phenotype | Observed | Expected | |
| Haemoglobin(Hb) (n=211) | AA | 5(2.4) | 3.14 | $Hb^A = 0.12$ $Hb^{B1} = 0.62$ $Hb^{B11} = 0.26$ $\chi^2 = 2.63, P > 0.25$ |
| | ABI | 32(15.2) | 31.4 | |
| | ABII | 9(43.0) | 13.16 | |
| | BIBI | 81(38.4) | 81.16 | |
| | BIBII | 68(32.2) | 68.03 | |
| | BIIBII | 16(7.6) | 14.16 | |
| Phosphogluconate dehydrogenase (PGD) (n=212) | FF | 138(65.1) | 143.03 | $Pgd^F = 0.8231$ $Pgd^S = 0.1769$ $\chi^2 = 7.53, P < 0.05$ |
| | FS | 73(34.4) | 61.74 | |
| | SS | 1(0.5) | 6.63 | |
| Phosphogluco- mutase(PGM) (n=183) | FF | 33(18.0) | 34.53 | $Pgm^F = 0.4344$ $Pgm^S = 0.5656$ $\chi^2 = 0.2238, P > 0.75$ |
| | FS | 93(50.8) | 89.92 | |
| | SS | 57(31.2) | 58.54 | |
| Malate dehydro- genase(MDH) (n=211) | 1-1 | 211 | | $Mdh^1 = 1.0$ |
| Malic enzyme (ME) (n=211) | FF | 211 | | $Me^F = 1.0$ |

Percentages are in parentheses.

Table 3. Mean heterozygosity of plasma and red cell proteins in Cheju native horse population

| Tissue | Mean Heterozygosity(H) |
|----------|------------------------|
| Plasma | 0.399 ± 0.064 |
| Red Cell | 0.274 ± 0.077 |
| Total | 0.329 ± 0.012 |

IV. 고찰

제주도 제리마에서 9종의 단백질 좌위에 대한 유전적 변이를 분석한 결과 Al, Pi, Es, PGD, PGM 등 여섯 개의 좌위는 polymorphic하였으며, Hp, MDH, ME 등 세 개의 좌위는 monomorphic하였다.

Albumin(Al)은 두 개의 대립인자($A1^A$, $A1^B$)가 검출되었으며, $A1^B$ 빈도가 더 높았는데 이는 Italy의 여러 품종과 같은 경향을 보인 반면(Table 4), Austrian이나(Schleger, 1973), Norwegian-Warmblood(Braend and Storset, 1978)와는 반대되는 경향을 보였다.

Protease inhibitor(Pi)의 유전적 변이는 일곱 개의 공우성 대립인자(Pi^F , Pi^G , Pi^I , Pi^L , Pi^N , Pi^S , Pi^U)에 의해 표현형이 지배되며, Pi의 유전자 빈도를 Australia의 Thoroughbred의 것과 비교해 보면, Pi^F , Pi^I , Pi^S , Pi^U 의 빈도는 낮았고, Pi^G , Pi^L , Pi^N 의 빈도는 높았다(Table 4). 제리마에서 7 개의 공우성 대립인자에 의해 나올 수 있는 표현형이 28 가지이나, 19 개의 표현형 만이 관찰되었으며, FF, GG, SS, UU 등 4 가지의 homozygotes와 FS, FU, GS, GU, NU, IL, IS, IU, LS 등 9 가지 heterozygotes가 검출되지 않았다. Pi의 Heterozygosity가 0.727로서 높게 산출되었고, Hardy-Weinberg 평형상태에서 이탈현상을 보였다.

Esterase(Es)는 Es^F , Es^I , Es^S , 세 개의 공우성 대립인자에 의해서 다섯 가지 표현형이 검출되었으나, SS형이 검출되지 않았고, Hardy-Weinberg 평형상태에서 이탈하였다. 각각의 대립인자 빈도를 비교할 때 Es^I 의 빈도가 가장 높게 산출되었다. Italian-Arabian에서 Es^I 의 유전자 빈도가 다른 집

단보다 높으며, Italian-Sanfratelliani에서는 Es^I 빈도가 가장 낮은 반면에 타 집단보다 Es^F 의 빈도가 높았다(Table 4). Es 의 유전자 빈도는 Italy 품종과의 비교에서 Giara의 빈도와 가장 유사하게 나타났다.

제주 제리마에서는 Hemoglobin(Hb)의 대립인자 중에서 Hb^B 의 빈도가 가장 높게 나타난 반면에, USA-Arabian과 Italian-Arabian 두 집단에서는 Hb^B 의 유전자 빈도가 높게 나타났으며, USA-Trotter와 Norwegian-Warmblood Trotter 두 집단에서는 Hb^{B1} 빈도가 Hb^B 빈도보다 높게 나타났다. Norwegian-Trotter에서는 Hb^A 와 Hb^B 는 타 집단에 비해 높고 서로 비슷한 빈도를 보였다.

Phosphogluconate dehydrogenase(PGD)의 대립인자(Pgd^F , Pgd^S) 중에서 Pgd^F 빈도가 높게 나타났으며, Polish-Arabian은 다른 집단과 반대로 Pgd^S 의 빈도가 높았다. Polish-Thoroughbred 집단에서는 Pgd^F 와 Pgd^S 의 두 대립인자 빈도가 유사하였고, Polish-Anglo Arabian과 Polish-Primitive에서는 두 유전자 빈도가 같았다. Italian 품종에서는 Pgd^F 의 빈도가 대체적으로 높았고, Italian-Giara에서 Pgd^S 빈도가 가장 높게 나타났다(Table 5).

PGM의 유전자 빈도 본포는 Pgm^F 과 Pgm^S 의 빈도가 유사하나 Pgd^S 의 빈도가 다소 높게 나타났다. 그리고 타 집단에서는 Pgm^S 의 빈도가 Pgm^F 의 비해 높게 나타났으나, Italian-Giara는 monomorphic하여 Pgm^S 만 검출되었다(Table 5).

Malic enzyme(ME)의 유전적 변이는 monomorphic한 반면에 USA의 Standardbred와 Thoroughbred에서는 Me^F 의 빈도가 높게 나타났으며, polymorphic하여 제리마와 다른 양상을 보였다(Table 5).

Malate dehydrogenase(MDH)와 Haptoglobin(Hp)는 자료가 없는 관계로 다

은 집단과 비교할 수 없었으며, 각각의 좌위의 유전자 빈도를 비교한 결과 집단 간에 변이차가 있었다. 제주도 재래마에서 9종의 단백질 좌위 유전자 빈도를 조사한 결과 Al, Hb, PGM 등은 Hardy-Weinberg equilibrium 상태에 있었으나, Pi, Es, PGD은 이탈현상을 보였는데 그 이유는 확실하지 않다.

인류집단에서는 효소와 단백질의 다형현상에 대한 많은 연구가 보고되었으며 특히, Harris는 유럽인 집단에서 104 개의 효소 유전자 좌위를 전기영동적 분석한 결과 24 개(23 %)의 좌위가 다형현상을 보이며, 좌위 당 평균 이형접합자 빈도는 0.063이라고 보고하였다(Harris, 1980). 국내에서도 제주도인 집단의 혈장 단백질의 이형접합자 빈도(0.076)와 적혈구 단백질의 이형접합자 빈도(0.033)를 보고한 바 있다(Oh et al., 1988, 1989). 재래마에서도 혈장 단백질에서의 평균 이형접합자 빈도(0.399 ± 0.064)가 적혈구 단백질(0.274 ± 0.077)보다 높았다. 이처럼 혈장의 이형접합자 빈도가 높은 사실은 혈장 단백질 좌위에 대한 선택압이 적혈구 단백질 좌위보다 적다는 사실을 암시한다.

궁극적으로 제주도 재래마의 유전적 조성을 규명하기 위해서는 더 많은 단백질 좌위에 대한 연구가 필요하며, 형태학적인 측면의 연구와 염색체, DNA 수준에서의 연구가 병행되어야 할 것으로 사료된다. 아울러 본 연구결과, Pi, Hb, PGM, ME는 제주 재래마의 genetic marker로서 이용될 가능성은 있지만, 정확한 재래마의 유전적 특징을 파악하려면 품종 간, 많은 집단과의 비교가 필수적이며 특히, Mongoloid와의 비교가 시급하다고 사료된다.

Table 4. Gene frequencies of Albumin(AI) Protease inhibitor and Esterase(Es) in plasma from various horse population

| Population | Gene frequency | | | | | | | | | | Reference | |
|------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------|----------------------|
| | Al ^A | Al ^B | Pi ^F | Pi ^G | Pi ^I | Pi ^L | Pi ^N | Pi ^S | Pi ^U | Es ^S | | |
| Italian | | | | | | | | | | | | |
| Arabian(n=346) | 0.353 | 0.647 | | | | | | | | | | Lubas et al.(1989b) |
| Maremmani(n=248) | 0.425 | 0.575 | | | | | | | | | | Lubas et al.(1984) |
| Sanfratellani (n=108) | 0.388 | 0.612 | | | | | | | | | | " |
| Sardinian A. A. (n=303) | 0.300 | 0.700 | | | | | | | | | | " |
| Giara(n=64) | 0.380 | 0.620 | | | | | | | | | | Present study |
| Cheju native horse(n=269) | 0.398 | 0.602 | | | | | | | | | | |
| Australian | | | Pi ^F | Pi ^G | Pi ^I | Pi ^L | Pi ^N | Pi ^S | Pi ^U | | | |
| Thoroughbred (n=750) | | | 0.062 | 0.019 | 0.071 | 0.427 | 0.200 | 0.091 | 0.130 | | | Pollitt & Bell(1980) |
| Thoroughbred (n=1500) | | | 0.057 | 0.030 | 0.077 | 0.447 | 0.177 | 0.079 | 0.133 | | | Scott(1977) |
| Cheju native horse(n=269) | | | 0.035 | 0.109 | 0.020 | 0.519 | 0.309 | 0.006 | 0.002 | | | Present study |
| Italian | | | Es ^F | Es ^I | Es ^S | | | | | | | |
| Arabian(n=346) | | | 0.059 | 0.911 | 0.031 | | | | | | | Lubas et al.(1989b) |
| Maremmani(n=248) | | | 0.201 | 0.749 | 0.050 | | | | | | | Lubas et al.(1989a) |
| Sanfratellani (n=108) | | | 0.357 | 0.571 | 0.072 | | | | | | | " |
| Sardinian A. A. (n=303) | | | 0.190 | 0.838 | 0.072 | | | | | | | " |
| Giara(n=64) | | | 0.180 | 0.710 | 0.110 | | | | | | | Present study |
| Cheju native horse(n=269) | | | 0.266 | 0.712 | 0.022 | | | | | | | |

Table 5. Gene frequencies of proteins in red cells from various horse populations

| Population | Gene frequency | | | | Reference |
|--------------------------------|----------------|--------------|--------------|--------------|---------------------------------|
| | Hb A | Hb BI | Hb BII | | |
| Arabian in USA (n=4344) | 0.004 | 0.552 | 0.445 | | Bowling <i>et al.</i> (1988) |
| Peruvian paso in USA (n=106) | 0.118 | 0.467 | 0.415 | | Lubas <i>et al.</i> (1989b) |
| Italian Arabian (n=346) | 0.003 | 0.559 | 0.398 | | Cothran <i>et al.</i> (1987) |
| Trotter in USA (n=600) | 0.071 | 0.425 | 0.504 | | Braend <i>et al.</i> (1983) |
| Norwegian Trotter (n=360) | 0.24 | 0.47 | 0.29 | | " |
| Warmblood Trotter (n=274) | 0.06 | 0.45 | 0.49 | | Present study |
| Cheju native horse (n=211) | 0.12 | 0.62 | 0.26 | | " |
| | <i>Ped F</i> | <i>Ped S</i> | <i>Ped P</i> | <i>Ped S</i> | |
| Polish Arabian (n=1290) | 0.290 | 0.710 | 0.260 | 0.740 | Tomaszewska-Guszkiewicz (1987) |
| Polish Thoroughbred (n=1192) | 0.576 | 0.433 | 0.002 | 0.998 | " |
| Polish Angloarabian (n=638) | 0.88 | 0.12 | 0.017 | 0.983 | " |
| Polish Primitive (n=185) | 0.88 | 0.12 | 0.13 | 0.87 | Lubas <i>et al.</i> (1984) |
| Italian Maremmani (n=248) | 0.780 | 0.220 | 0.147 | 0.853 | " |
| Italian Sanfratellani (n=108) | 0.860 | 0.140 | 0.083 | 0.917 | " |
| Italian Sardinian A.A. (n=303) | 0.632 | 0.368 | 0.034 | 0.966 | " |
| Italian Giara (n=64) | 0.949 | 0.051 | 0 | 1.0 | Lubas <i>et al.</i> (1989b) |
| Italian Arabian (n=346) | 0.615 | 0.385 | 0.106 | 0.894 | Romagnoli <i>et al.</i> (1984) |
| Italian Trotter (n=1000) | 0.762 | 0.238 | 0.131 | 0.869 | Podiachouk <i>et al.</i> (1975) |
| French Trotter (n=780) | 0.788 | 0.212 | 0.054 | 0.946 | Cothran <i>et al.</i> (1987) |
| Trotter in USA (n=600) | 0.795 | 0.205 | 0.191 | 0.809 | Present study |
| Cheju native horse (n=183) | 0.823 | 0.177 | 0.434 | 0.566 | " |
| | <i>Me F</i> | <i>Me S</i> | | | |
| Standardbred in USA | 0.94 | 0.06 | | | Guttormsen & Weitkamp (1981) |
| Thoroughbred in USA | 0.91 | 0.09 | | | " |
| Cheju native horse | 1.0 | | | | Present study |

V. 요약

제주도 제리마에서 여러가지 전기영동법을 이용한 혈장 및 적혈구 단백질 9종의 유전적 변이를 조사하여, 유전적 조성과 genetic marker를 밝혔다.

A_1 은 A_1^A , A_1^B 의 두 개의 대립인자가 존재하며, 유전자 빈도는 A_1^A 0.398, A_1^B 0.602로 나타났다($X^2 = 0.02$, d.f. = 2, $P < 0.9$).

P_i 는 7개의 대립인자 P_i^F , P_i^G , P_i^I , P_i^L , P_i^N , P_i^S , P_i^U 등이 제주도 제리마에서 검출되었다. P_i 의 유전자 빈도는 P_i^F 0.035, P_i^G 0.109, P_i^I 0.020, P_i^L 0.519, P_i^N 0.309, P_i^S 0.006, P_i^U 0.002로 산출되었다($X^2 = 164.8$, d.f. = 21, $P < 0.005$).

E_s 는 세 개의 대립인자 E_s^F , E_s^I , E_s^S 가 검출되었고, 이들의 유전자 빈도는 각각 0.266, 0.712, 0.022로 산출되었다($X^2 = 21.28$, d.f. = 3, $P > 0.005$).

H_b 은 H_b^A , $H_b^{B_1}$, $H_b^{B_{11}}$ 세 개의 인자가 검출되었고, H_b 의 유전자 빈도는 H_b^A 0.12, $H_b^{B_1}$ 0.62, $H_b^{B_{11}}$ 0.26으로 나타났다($X^2 = 2.63$, d.f. = 3, $P > 0.25$).

PGM 은 Pgm^F , Pgm^S 두 개의 대립인자가 검출되었고, PGM 의 유전자 빈도는 Pgm^F 0.4344, Pgm^S 0.5656이었다($X^2 = 0.2338$, d.f. = 2, $P > 0.75$).

PGD 는 Pgd^F , Pgd^S 두 개의 대립인자가 검출되었고, 유전자 빈도는 Pgd^F 0.823, Pgd^S 0.177로 산출되었다($X^2 = 7.53$, d.f. = 2, $P < 0.05$).

제주도 제리마에서 H_p , MDH , ME 3종의 단백질은 monomorphic하였다. 9종의 단백질 좌위의 평균 이형접합자 빈도는 0.329 ± 0.012 이었다.

참고문헌

- Andersen, A.E. and M. Braend. 1989. Polymorphism of Esterases in plasma of foxes. *Hereditas*. 110: 109-111.
- Bangham, A.D. and H. Lehmann. 1958. "Multiple" Haemoglobins 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 haemoglobin haplotypes in horse. *Animal Genetics*. 19: 87-101.
- Braend, M., 1965. Nomenclature of polymorphic protein systems. *Nature*. 206: 1067.
- Braend, M., 1980. Irregular transmissions in the acidic prealbumin(Pr) system of the horse. *Animal Blood Groups and Biochem. Genet.* 11: 109-112.
- Braend, M. and E. Johansen. 1983. Haemoglobin types in Norwegian hor-

- ses. *Animal Blood Groups and Biochem. Genet.* 14: 305-307.
- Cothran, E.G., J.W. MacCluer, L.R. Weitkamp and E. Bailey. 1987. Genetic differentiation associated with gait within American Standardbred horses. *Animal Genetics.* 18: 285-296.
- 정 안 나, 1985. 제주도산 조랑말 혈청 중에 Haptoglobin과 Transferrin Phenotype의 분포에 관한 연구. 제주대학교. 교육대학원. 석사학위 논문.
- Ek, N and M. Braend. 1984. Studies on the nature of the equine protease inhibitors. *Animal Blood Groups and Biochem. Genet.* 15: 151-154.
- Guttormsen, S.A. and L.R. Weitkamp. 1981. Equine marker genes: polymorphism for soluble erythrocyte malic enzyme. *Animal Blood Groups and Biochem. Genet.* 12: 53-57.
- Habib, Z. and H. Eiberg. 1983. Determination of common haptoglobin phenotypes in Egyptians and Danes by means of non-carcinogenic stain reagents. *Hereditas.* 98: 219-223.
- 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. Korean J. Anim. Sci. 32(2): 61-65.

1990b. Studies on blood groups in race horse. VI. Genetic polymorphism of red cell catalase, carbonic anhydrase and phosphatase isozyme systems. Kor. J. Anim. Sci. 32(2): 66-73.

Harris, H., 1980. The principle of human biochemical genetics 3rd revised ed. New York, Elsevier, North-holland, pp. 316-405.

Harris, H. and D.A.Hopkinson. 1976. Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics, North-Holland, Amsterdam.

Lubas, G., B. Gugliucci, G. Mengozzi and T. De Berardinis. 1984. Genetic markers in the blood of four Italian horse breeds. Animal Blood Groups and Biochem. Genet. 15: 133-13

Lubas, G., C. Cristofalo, M. Orlandi, B. Gugliucci and A.J. Delgadillo. 1989a. Characterization of South Tyrol Hafliner and Noriker horse breeds by means of blood Genetic markers. Animal Genetics sup.1 20: 12-13.

Lubas, G., K. Tomaszowska-Guszkiewicz, B. Gugliucci, A. Delgrosso and S. Gorilli-Fagiolini. 1989b. Blood Genetic markers in Italian Arab groups bred in Europe. *Animal Genetics* sup.1 20: 13-14.

Oh, M.Y., S.J. 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.

Osterhoff, D.R. and J. Groenewald. 1984. Horse haemoglobin phenotyping by agarose gel isoelectric focusing comparison of Thoroughbreds with other Equidae. *Animal Blood Groups and Biochem. Genet.* 15: 37-40.

Patterson, S.D. and K. Bell. 1985. Quantitative analysis of haemoglobin types in Australian horses. *Animal Blood Groups and Biochem. Genet.* 16: 239-242.

_____ 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 inhi-

- bifactor alleles in Australian 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 $\alpha 1$ -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 $\alpha 1$ -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.
- Putnam, F.W., 1977. "The plasma protein." vol.II. pp 2-38. Academic Press, New York.
- Putt, W. and D.B. Whitehouse. 1983. Genetics of four plasma protein loci in *Equus przewalskii*: new alleles at the prealbumin, postalbumin and transferrin loci. *Animal Blood Groups and Biochem. Genet.* 14: 7-16.
- Romagnoli, A., G. Lubas, G. Mengozzi and G. Guidi. 1984. Genetic markers in the blood of the Italian Standardbred Trotter horse. *Animal Blood Groups and Biochem. Genet.* 15: 137-141.
- Smithies, O., 1955. Zone electrophoresis in starch gels group variat-

ions in the serum protein of normal human adults. *Biochem. J.* 61: 629-641.

Tipler, T.D., S. Dunn and T. Jenkins. 1982. Phosphoglucosmutase first locus polymorphism as Revealed by Isoelectric focusing in Southern Africa. *Hum. Hered.* 32: 80-93.

Tomaszewska-Guszkiewicz, K., 1987. Genetic variation of the 6-PGD, PGM and PHI system in four breeds of horses in poland. *Sup.1.* 18: 70.

Uriel, J. and J. Berges. 1968. Characterization of natural inhibitors trypsin and chymotrypsin by electrophoresis in Acrylamide agarose gels. *Nature.* 218: 578-580.

Weitkamp, L.R, S.A. Guttormsen and P. Costello-Leary. 1982. Equine gene mapping: close linkage between the loci for soluble malic enzyme and Xk(Pa). *Animal Blood Groups and Biochem. Genet.* 13: 279-284.

감사의 글

논문이 완성되기까지 조언과 격려로 지도해주신 오문유 교수님께 감사를 드립니다. 바쁘신 중에서도 세심하게 심사를 해주신 김원택 교수님과 김세재 교수님께 감사를 드립니다.

많은 가르침을 주신 허인욱 교수님, 오덕철 교수님, 이용필 교수님, 김문홍 교수님, 이화자 교수님, 고석찬 교수님께 감사를 드립니다. 그리고, 본 논문이 완성되기까지 여러모로 도움을 주신 정창조 교수님과 김규일 교수님께 진심으로 감사를 드립니다.

또한 적혈구 단백질 전기영동 실험에 많은 도움을 주신 김기욱 학생과 유전학 실험실 후배들에게 감사를 드립니다.

항상 사랑과 이해로 보살펴 주신 어머니와 형제들에게 진심으로 감사를 드리며, 사랑스런 조카들과 친구들에게 고마움을 전합니다.