

Research Article

GWAS를 이용한 한우 식육의 pH 농도 연관 후보 유전자 탐색 및 기능해석 연구

김도현, 오재돈*

전북대학교 동물생명공학과

A study on searching for candidate genes associated with pH concentration in Hanwoo meat using GWAS(genome-wide association study) and functional analysis

Do Hyun Kim, Jae Don Oh*

Dept of Animal Biotechnology, Jeonbuk National University, Jeonju 54896, Korea

*Corresponding author: Jae Don Oh. Dept of Animal Biotechnology, Jeonbuk National University, Jeonju 54896, Korea, E-mail :oh5ow@naver.com

ABSTRACT

This study was conducted to explore the genomic information significantly associated with the pH concentration of Hanwoo meat and to perform functional interpretation of the candidate genes. pH concentrations were measured from 135 samples of Hanwoo, and SNP information was generated using the Hanwoo GeneChip v1. The phenotype of pH concentration and SNP information were used in GWAS (Genome-Wide Association Study). A total of 44 significant SNPs were detected in the analysis (p -value < 0.001). Chromosome 29 had the highest number of significant SNPs (6 SNPs), Chromosome 7 with the second-highest number (5 SNPs). Gene ontology (GO) and KEGG pathway analysis using DAVID identified 3 significant GO terms in Biological Process and 1 in Cellular Component. Additionally, a total of 2 pathways were identified through KEGG analysis. The significant candidate genes were found to be closely associated with the regulation of phosphorylase enzymes or mitochondrial energy production functions. These research findings are expected to be useful data for future development of digital breeding technologies.

Key words: genome-wide association study (GWAS), Hanwoo, pH

INTRODUCTION

고밀도 SNP 패널을 이용한 유전체 평가를 통해 가축의 경제형질 유전능력의 예측이 가능하게 되었다(Meuwissen, 2009). 그리고 다양한 형질에 대한 유전체 연관 분석 연구(GWAS: Genome-Wide Association Study)를 통해 양적형질좌위(QTL)의 발굴이 고도화 되고 있다(Hawtader et al., 2017). 한우는 유전체자료 데이터베이스 시스템(농촌진흥청 축산과학원, 2017)을 구축하여 유전능력을 평가하고 이를 씨수소의 선발 체계에 적용하고 있다. 씨수소 선발 체계에 유전체 정보를 활용하면서 씨수소의 유전능력 평가 정확도가 강화되었으며, 유전적 개량량이 지속적으로 상승하는 결과를 얻게 되었다. 한우 씨수소는 4대 도체형질(도체중, 등심단면적, 등지방두께, 근내지방도)과 체형 및 분할육 수율에 관련된 형질을 대상으로 유전체 정보를 이용한 유전능력 평가 정보를 농협경제지주 한우개량사업소 홈페이지에 제공하고 있다.

Received July 07, 2023

Revised September 20, 2023

Accepted September 22, 2023

Copyright © 2023 Journal of Animal Breeding and Genomics.

 This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

페이지(www.limc.co.kr)를 통해 제공하고 있다. 한우 농가단위에서의 유전체 정보의 활용은 국가단위의 씨소 선별 시스템과 연동된 분석 체계를 수립하여, 지자체 및 생산단체 중심으로 유전체 평가 사업이 진행되고 있으며, 주로 4대 도체형질(도체중, 등심단면적, 등지방두께, 근내지방도)을 중심으로 분석이 이루어지고 있다.

최근 한우 가격의 폭락과 생산비용의 증가 그리고 구제역 등 질병 발생으로 한우 산업의 위기가 가중되고 있는 현실이다. 한우는 근육내 지방의 함량을 높게 만들어 육질과 풍미를 높이는 방향으로 개량이 진행되어왔다(Lee et al., 2014). 하지만, 근내지방도를 높이는 방법은 사육기간과 생산비용의 증가를 초래하고 있으며, 변화하는 소비자의 요구에 대응하기에 어려움이 있다. 이러한 한우산업 환경변화에 대응하기 위해 한우의 식육 품질에 대한 연구가 다양하게 진행되고 있으며, 유전체 기반의 대응 기술 개발을 위해 식육의 색상 및 질감과 같은 고기 품질 특성에 대한 GWAS 연구가 보고된바 있다(Lee et al., 2010; Kim et al., 2011; Hyeon et al., 2014; Bedhane et al., 2019). 하지만, 한우 식육의 pH 농도는 식육의 품질에 많은 영향을 미치는 것으로 알려져 있지만, 관련된 연구는 아직 미흡한 수준이다. 육질의 평가는 근내지방도의 등급이 가장 주요한 요인으로 작용하고 있지만, 고기의 색, 보수력, 단백질 함량 등 역시 주요한 요인으로 작용된다. 식육의 pH 농도는 고기의 색과 보수력 그리고 단백질 함량에까지 영향을 미치고 있는 것으로 알려져 매우 주요한 형질 중 하나이다. 특히, 보수력은 식육의 가공 시 제품 수율에 큰 영향을 미치고, 식육의 관능적 품질을 결정하는 풍미와 다즙성 및 연도 등에 영향을 미치는 중요한 요인 중 하나이다(Barge et al., 1991). 따라서 본 연구는 한우 식육의 pH 농도에 영향을 미치는 유전체 정보를 탐색하고 연관 후보유전자들의 기능 해석 연구를 통해 관련 형질의 개량 기술 개발에 필요한 기초 자료를 확보하기 위해 수행되었다.

MATERIALS AND METHODS

공시재료 및 표현형 수집

본 연구는 전북도에서 도축된 한우 135마리(거세우 103마리, 수소 5마리, 암소 27마리)를 공시하여 이용하였다. 시험분석을 위하여 한우 도체 채끝등심을 2.5cm 두께로 자르고, 진공 포장하여 4°C에 보관하였다. pH는 도축 후 24시간이 경과된 시점에서 근육시료에 직접 pH meter(NWKmar pH K-21, Germany)를 접촉하여 측정하였다.

SNP 정보의 생산 및 가공

공시재료로 활용된 한우 135마리는 한우 유전자칩 v1(Hanwoo SNP 50K chip version. 1)(Illumina, San Diego, CA, USA)을 사용하여 SNP 정보를 생산하였다. 총 52,195개의 SNP가 확인되었으며, 다음 기준을 기반으로 유전자형 데이터의 품질 관리(QC) 과정을 수행하였다: i) 동일한 유전형을 가진 개체를 IBS(identity by state) 테스트(> 0.99)를 통해 제거, ii) 개체의 유전자형 결측률(Call rate)이 10% 이상인 데이터 제거, iii) 유전자형 최소 빈도가 1% 미만인 SNP를 제거, iv) HWE(Hardy-Weinberg equilibrium)를 유의적으로 벗어나는 SNP 제거($p < 10^{-6}$). 이러한 절차는 PLINK v1.07 (Purcell 등 2007)을 사용하여 수행되었다. (그림 1 참조).

식육의 pH농도 표현형 값에 대한 추정치와 잔차의 분산 그리고 유전모수 추정을 위해 BLUPF90 software package (Misztal et al., 2018)을 이용하였다. BLUPF90 family programs 중 하나인 RENUMF90을 이용하여 QC 데이터의 번호를 재설정하고, AIREMLF90을 이용하여 분산을 추정하였다. 추정된 분산과 유전모수는 분석의 정확도를 높이기 위해 RENUMF90을 이용해 다양한 구성 요소와 함께 잔차를 식별하고 재설정해주었다. 분석을 위해 이용된 혼합모델 방정식은 아래와 같다.

여기서 Y는 총 pH 농도에 대한 표현형 관찰값의 벡터. β 는 도축된 시기(년, 월), 도축 개월령 및 성별(암소, 수소, 거세우)을 선행 공변량으로 포함하는 고정 효과의 벡터. a는 개체효과에 대한 벡터. e는 잔차 효과의 벡터이다. 그리고 X와 Z는 고정효과 및 임의효과에 대한 계수행렬 (Appropriate Incidence Matrices)이다.

PLINK GRAMMAR(mixed model and regression)(Aulchenko et al., 2007)에서 얻은 잔차를 활용하여 한우 식육의 pH 농도 특성에 영향을 미치는 SNP 효과를 추정하였다.

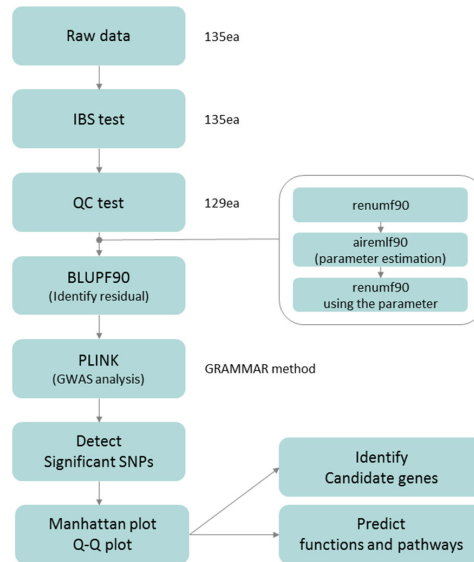


Figure 1. Flow chart related to GWAS analysis using genomic and phenotypic data

유의한 SNP의 식별 및 후보 유전자의 기능 해석

추정된 SNP 효과의 $p\text{-value} < 0.001$ 을 기준으로 표현형과의 유의성이 확인된 SNP를 확보하였다. 유의성이 확인된 SNP들은 Ensembl 데이터베이스의 Bos taurus transfer format(GTF) (version. ARS-UCD1.2.104)을 기준으로 SNP의 하류 및 상류 500 kb 내에서 존재하는 후보 유전자를 특정하여 주석을 달았다. 후보 유전자의 기능에 대한 해석을 위해 Gene Ontology(GO) 및 Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes(KEGG) pathway 분석을 DAVID(Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery)를 이용해 수행하였다.

RESULTS AND DISCUSSION

표현형과 유전자형 자료 분석

공시재료의 유전체 정보를 대상으로 IBS 테스트와 이상치를 제거한 결과 135두 중에 129두를 최종 분석에 활용하였다. 유전체 정보의 QC 이후 공시재료 129두의 식육 pH농도에 대한 기초 통계량을 계산하여 table 1에 제시하였다. 본 연구에 이용된 공시재료의 식육 pH농도는 평균 5.498로 확인되었으며, 최고값이 5.675에서 최저값은 5.395로 확인되었다.

Table 1. The basic statistics for phenotypic data.

Traits	N	Min	Max	Mean	SD
pH	135	5.395	5.675	5.498	0.057

QC 테스트를 통해 총 52,195개의 SNP 중 5,715개의 SNP가 제거되었으며, 최종적으로 46,480개의 SNP 정보를 이용해 식육의 pH농도와 유전체 정보간의 연관성 확인을 위한 GWAS 분석을 수행하였다. QC 이전과 이후의 SNP 수와 간격을 1번에서 29번까지 각 염색체별로 정리하여 table 2에 제시하였다. 분석에 활용 가능한 SNP의 수가 가장 적은 염색체는 28번으로 799개가 확인되었고, 가장 많은 SNP를 보유한 1번 염색체에서는 2,909개가 확인되었다. 전체 SNP 중 약 89.1%가 사용 가능한 SNP로 확인되었으며, SNP 간 평균 거리는 54.343kb로 확인되었다.

Table 2. The number of available SNPs and average interval distance between adjacent SNPs in Bovine SNP50k chip.

BTA	Number of SNPs		Remove Fre. (%)	Mean of Interval SNP	
	Before QC	After QC		Before QC	After QC
1	3,225	2,909	0.902	49.037	54.365
2	2,756	2,444	0.887	49.614	55.94
3	2,582	2,280	0.883	46.937	53.157
4	2,479	2,214	0.893	48.678	54.507
5	2,156	1,912	0.887	56.185	63.359
6	3,158	2,820	0.893	37.698	42.218
7	2,481	2,250	0.907	45.316	49.971
8	2,246	2,011	0.895	50.339	56.224
9	2,077	1,858	0.895	50.802	56.793
10	2,357	2,085	0.885	44.216	49.987
11	2,181	1,915	0.878	49.164	55.997
12	1,651	1,427	0.864	55.118	63.776
13	1,684	1,521	0.903	49.829	55.173
14	2,274	1,965	0.864	36.583	42.338
15	1,681	1,486	0.884	50.437	57.06
16	1,599	1,420	0.888	50.947	57.374
17	1,567	1,386	0.884	47.84	54.07
18	1,303	1,167	0.896	50.231	55.883
19	1,380	1,243	0.901	46.078	51.16
20	1,571	1,388	0.884	45.602	51.618
21	1,398	1,255	0.898	50.893	56.697
22	1,212	1,085	0.895	50.55	56.472
23	1,124	1,019	0.907	46.505	51.175
24	1,230	1,108	0.901	50.745	56.137
25	939	847	0.902	45.633	50.596
26	1,032	922	0.893	49.511	55.324
27	918	823	0.897	49.435	55.149
28	905	799	0.883	51.126	57.873
29	1,029	921	0.895	50.084	55.546
Total	52,195	46,480	0.891	48.453	54.343

GWAS 및 연관 SNP 탐색

GWAS 분석을 위해 BLUPF90을 사용하여 표현형값과 추정값를 계산하고, 두 값 간의 차이인 잔차를 확인하였다(Table 3). 식육의 pH농도의 실제 표본 분위수와 예측된 분위수간의 정규분포 여부를 분위수-분위수 플롯(Quantile-Quantile plot; Q-Q plot)을 이용하여 확인하였다(Figure 2). 한우 식육의 pH농도와 유의적인 연관성을 가진 SNP의 확인을 위해 각 유전변이가 표현형에 미치는 효과의 p 값을 이용하였다. 각 SNP의 유전체상의 위치와 $-\log_{10}(p)$ 을 이용해 Manhattan 플롯을 작성하여 Figure 3과 4에 제시하였다. 분석된 결

Table 3. The basic statistics for results of BLUPF90 analysis.

Statistics	N	Min	Max	Range	Mean	Median	SE	VAR	Std.dev	Coef.var
pH_observation	129	-0.060	0.062	0.122	0.000	0.000	0.002	0.000	0.020	218.191
pH_estimation	129	5.4	5.680	0.28	5.500	5.499	0.005	0.003	0.057	0.010
pH_residual	129	5.382	5.668	0.286	5.498	5.499	0.005	0.003	0.058	0.011

SE:Standarderror;VAR: Variance; Std.dev: Standard deviation; Coef.var: Coefficient of variation

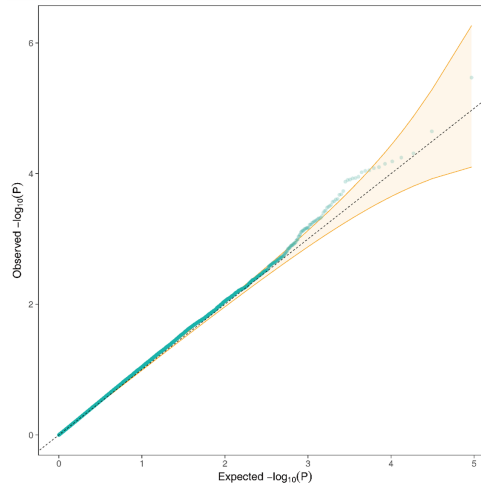


Figure 2. The Q-Q-plot for the studied pH trait. The dotted line represents the 95% concentration band under the null hypothesis no association between trait and SNPs. The green dots represent the P-values.

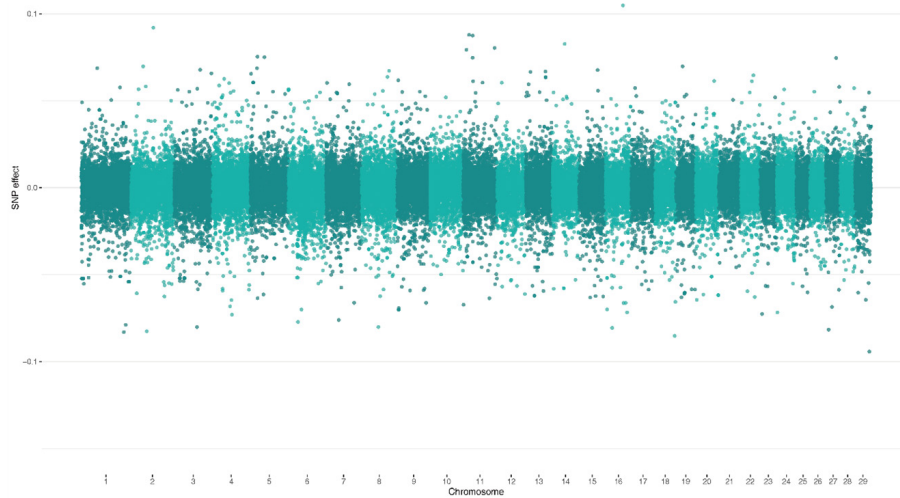


Figure 3. The Manhattan plot of SNP effects for GWAS analysis using GRAMMAR methods in PLINK.

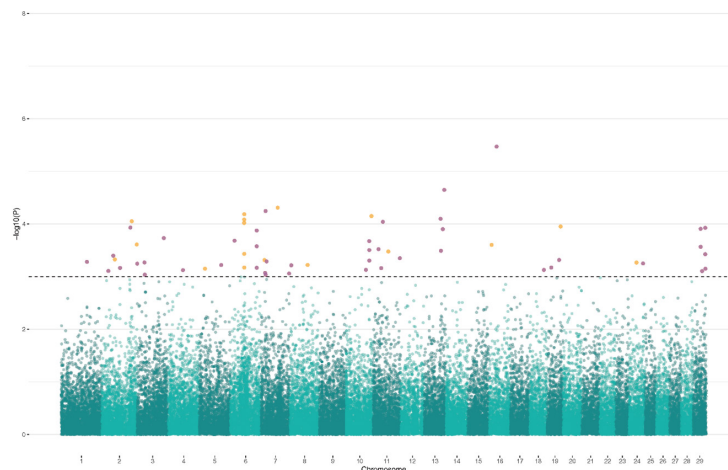


Figure 4. The Manhattan plot of GWAS for pH trait with significance thresholds indicated at $-\log_{10}P > 1 \times 10^{-3}$. The orange dots represent significant SNPs associated with pH trait and purple dots represent genes related to significant SNPs.

과에서 $p\text{-값} < 0.001$ 을 기준으로 총 44개의 SNP에서 한우 식육의 pH농도와 유의적인 연관성이 확인되었으며, table 4에 각각의 SNP에 대한 주요 정보를 정리하여 제시하였다. 한우 식육의 pH농도와 연관된 유의적인 효과가 확인된 SNP는 29번 염색체에서 6개로

Table 4. Significant SNPs and associated genes (pH)

SNP_id	SNP (Minor/Major)	Chr	Genomic Position	estimate	stdev	P-value	-logP	nAA	nAB	nBB	$\sigma^2(\text{SNP})/\sigma^2(\text{trait})$	Gene_Name
BTB-00044397	[A/G]	1	100,172,966	-0.0365	0.0103	0.0005	3.2814	2	31	97	0.0917	SERPINI1
ARS-BFGL-NGS-25825	[G/A]	2	44,455,898	0.0285	0.0078	0.0004	3.3969	9	44	77	0.0873	NEB
ARS-USMARC-Parent-DQ786757-rs29019900	[A/G]	2	111,155,237	-0.0300	0.0076	0.0001	3.9318	13	65	52	0.1212	SGPP2
BTB-00085949	[A/G]	2	25,359,234	-0.0249	0.0072	0.0008	3.1084	26	70	34	0.0915	MYO3B, ENSBTAG00000049842
Hapmap50975-BTA-47969	[G/A]	2	70,753,898	0.0287	0.0082	0.0007	3.1649	7	44	79	0.0844	MARCO, SCTR
BTA-67336-no-rs	[G/A]	3	29,238,010	-0.0420	0.0118	0.0005	3.2688	1	23	106	0.0907	DENN2C, SYTG, MAGI3
Hapmap42634-BTA-68567	[G/A]	3	883,580	-0.0343	0.0097	0.0006	3.2461	2	40	88	0.0978	POU2F1
INRA-346	[A/C]	3	104,311,603	-0.0283	0.0073	0.0002	3.7328	16	65	49	0.1107	ENSBTAG00000049296
rs449977379	[A/G]	3	30,345,469	-0.0538	0.0158	0.0009	3.0376	0	14	116	0.0869	MAGI3, CTNBP2NL
ARS-BFGL-NGS-99336	[C/A]	4	57,375,930	-0.0258	0.0075	0.0008	3.1230	14	60	56	0.0879	IMMP2L
Hapmap44404-BTA-74461	[A/G]	5	85,574,578	0.0231	0.0066	0.0006	3.2198	25	52	53	0.0754	BCAT1, SOX5, NSBTAG00000048719
ARS-BFGL-NGS-117296	[G/A]	6	102,321,627	-0.0302	0.0077	0.0001	3.8758	10	38	82	0.0933	NUD19, PPP2R2C
BTB-00247173	[A/G]	6	16,171,428	0.0441	0.0115	0.0002	3.6832	0	30	100	0.1170	RPL34
Hapmap22686-BTC-044345	[A/C]	6	102,367,174	-0.0235	0.0067	0.0007	3.1683	23	52	55	0.0765	AFF1, PPP2R2C
Hapmap26278-BTC-044471	[A/G]	6	102,286,424	-0.0347	0.0092	0.0003	3.5769	5	27	98	0.0868	PPP2R2C
ARS-BFGL-NGS-107132	[A/C]	7	109,076,621	0.0275	0.0080	0.0009	3.0594	9	48	73	0.0843	TMEM232
ARS-BFGL-NGS-117086	[G/A]	7	15,804,730	-0.0247	0.0072	0.0008	3.0717	18	62	50	0.0844	ODAD3, ARHGEF18
ARS-BFGL-NGS-17196	[G/A]	7	21,462,645	0.0286	0.0080	0.0005	3.2885	19	81	30	0.1202	GN7, MOB3A
ARS-BFGL-NGS-32467	[G/A]	7	17,777,622	0.0230	0.0068	0.0009	3.0350	32	62	36	0.0783	C3
ARS-BFGL-NGS-66143	[C/A]	7	17,754,418	0.0336	0.0081	0.0001	4.2451	7	48	75	0.1211	TRIP10
ARS-BFGL-NGS-68739	[A/G]	8	4,988,343	-0.0312	0.0089	0.0006	3.2153	5	36	89	0.0835	GALNTL6
ARS-BFGL-NGS-117807	[A/C]	10	89,365,394	-0.0300	0.0084	0.0005	3.3043	7	34	89	0.0798	SNW1, NRXN3 ENSBTAG00000054532
ARS-BFGL-NGS-5132	[A/G]	10	76,293,117	-0.0232	0.0067	0.0007	3.1283	27	57	46	0.0775	PPP2R5E, SYNE2
BTB-00442996	[A/G]	10	89,393,861	-0.0318	0.0086	0.0003	3.5047	6	35	89	0.0883	NRXN3
Hapmap40024-BTA-79338	[A/C]	10	89,269,899	-0.0315	0.0082	0.0002	3.6747	7	38	85	0.0935	SPTLC2
ARS-BFGL-NGS-29433	[G/A]	11	104,043,185	0.0302	0.0084	0.0004	3.3503	6	51	73	0.0987	NACC2, SARDH
ARS-BFGL-NGS-90348	[C/A]	11	20,897,395	-0.0239	0.0064	0.0003	3.5214	31	52	47	0.0827	RMDN2, SOS1
BTB-00468020	[G/A]	11	31,464,382	0.0612	0.0176	0.0007	3.1610	0	11	119	0.0897	GTF2AIL
Hapmap46632-BTA-89801	[T/A]	11	37,954,548	0.0495	0.0122	0.0001	4.0414	2	15	113	0.0979	EML6, CLHCL
ARS-BFGL-BAC-898	[G/A]	13	65,445,282	0.0296	0.0080	0.0003	3.4909	8	54	68	0.1017	SAMHD1
ARS-BFGL-NGS-107747	[A/G]	13	78,343,210	-0.0382	0.0087	0.0000	4.6474	4	47	79	0.1435	ADNP
ARS-BFGL-NGS-41119	[A/G]	13	72,674,575	-0.0315	0.0080	0.0001	3.9024	8	42	80	0.1016	SGK2, OSER1, RIMS4
BTA-33314-no-rs	[G/A]	13	63,939,752	0.0634	0.0155	0.0001	4.0989	0	14	116	0.1210	RAIY, PIGU
Hapmap30619-BTA-38329	[G/A]	16	27,894,801	-0.0339	0.0070	0.0000	5.4702	18	64	48	0.1610	DNAH14
BTA-43816-no-rs	[A/G]	18	55,256,431	0.0345	0.0100	0.0007	3.1267	1	43	86	0.1006	FAM83E
ARS-BFGL-NGS-29103	[G/A]	19	48,536,450	-0.0257	0.0072	0.0005	3.3170	25	67	38	0.0962	BPTF
Hapmap39489-BTA-44619	[A/C]	19	17,964,542	-0.0316	0.0091	0.0007	3.1734	4	40	86	0.0889	MYO1D, RHOT1
BTA-117811-no-rs	[C/A]	24	54,299,083	-0.0379	0.0107	0.0006	3.2511	1	32	97	0.0966	CUPIN1, CCDC68, TCF4
ARS-BFGL-NGS-101626	[A/G]	29	47,478,209	-0.0425	0.0107	0.0001	3.9270	2	25	103	0.1059	PPPIA1, SHANK2
ARS-BFGL-NGS-14050	[A/G]	29	47,499,900	-0.0265	0.0072	0.0004	3.4257	14	50	66	0.0870	SHANK2
ARS-BFGL-NGS-24873	[C/G]	29	29,615,691	0.0410	0.0103	0.0001	3.9080	1	36	93	0.1237	SRPRA
ARS-BFGL-NGS-42102	[G/A]	29	48,054,630	0.0259	0.0075	0.0007	3.1506	26	74	30	0.0992	SHANK2
BTA-65384-no-rs	[C/A]	29	29,595,613	0.0448	0.0119	0.0003	3.5661	1	22	107	0.0991	FAM118B
UA-IFASA-5609	[C/A]	29	35,202,899	-0.0645	0.0187	0.0008	3.1051	0	9	120	0.0827	NTM

가장 많은 수가 확인되었고, 7번 염색체에서는 5개로 두 번째로 많은 SNP가 확인되었다. 29번 염색체의 경우 유전자형의 QC 이후 분석에 이용된 SNP의 수가 921개(table 2)로 염색체의 크기가 상대적으로 작은 것에 비해, 식육의 pH농도에 연관된 SNP의 수가 가장 많이 나타난 것으로 확인되었다. 또한 한우 식육의 조직감(meat texture)과 육색(meat colour)과 연관된 유전체 분석 결과 29번 염색체에서 다수의 연관된 후보 유전자를 탐색되었음이 보고된바 있다(Bedhane et al., 2019). 두 번째로 많은 5개의 연관 SNP가 확인된 7번 염색체에서는 QC 이후 분석된 SNP의 수는 2,250개로 확인되었다.

후보 유전자 기능 분석

DAVID를 이용한 gene ontology(GO)와 KEGG pathway 분석을 통해 식육의 pH농도와 연관된 유전자의 기능을 확인하여 Table 5와 Table 6에 제시하였다.

Table 5. The results of gene ontology (GO) analysis of candidate genes associated with pH trait from GWAS analysis.

Biological Process					
GO ID	Description	#Genes	Fold Enrichment	P-value	Gene Name
GO:0007420	brain development	4	10.984	0.005	IMMP2L, ODAD3, SCTR, BPTF
GO:0007264	small GTPase mediated signal transduction	3	11.534	0.027	RHOT1, ARHGEF18, SOS1
GO:1902017	regulation of cilium assembly	2	34.398	0.056	ODAD3, SYNE2
Cellular Component					
GO ID	Description	#Genes	Fold Enrichment	P-value	Gene Name
GO:0000159	protein phosphatase type 2A complex	2	43.191	0.044	PPP2R2C, PPP2R5E

Table 6. The results of KEGG pathway analysis of candidate genes associated with total collagen contents trait from GWAS analysis.

KEGG ID	Description	#Genes	Fold Enrichment	P-value	Gene Name
bta04071	Sphingolipid signaling pathway	4	10.042	0.006	PPP2R2C, SPTLC2, PPP2R5E, SGPP2
bta04151	PI3K-Akt signaling pathway	5	3.974	0.032	PPP2R2C, PPP2R5E, GNG7, SOS1, SGK2

GO 분석 결과 Biological Process에서는 3개의 GO에서 9개의 유전자를 확인하였다. Cellular Component에서는 1개의 GO에서 2개의 유전자를 확인하였다. 식육의 pH농도와 유의적인 연관성이 확인된 SNP의 GO 분석 결과 총 4개의 GO에서 11개의 유전자가 확인되었으며, 중복된 유전자의 수를 제외하면 총 10개의 유전자가 확인되었다. 가장 많은 GO가 확인된 ODAD3 유전자는 brain development(GO:0007420), regulation of cilium assembly(GO:1902017)에서 기능이 확인되었다. GO와 KEGG 모두에서 기능이 확인된 유전자는 총 3개(SOS1, PPP2R2C, PPP2R5E)가 확인 되었으며, SOS1 유전자는 small GTPase mediated signal transduction(GO:0007264)에서, PPP2R2C와 PPP2R5E 유전자는 protein phosphatase type 2A complex(GO:0000159)에서 기능이 확인되었다.

KEGG 분석에서는 총 2개의 pathway에서 9개의 유전자가 확인되었으며, 중복된 유전자의 수를 제외하면 7개의 유전자가 확인 되었다. 두 개의 pathway 모두에서 확인된 유전자는 PPP2R2C와 PPP2R5E으로 Sphingolipid signaling pathway(bta04071)와 PI3K-Akt signaling pathway(bta04151)에서 확인되었다.

PPP2R2C와 PPP2R5E 유전자는 단백질 인산화 조절, 세포 주기 제어 그리고 신경 신호 전달과 관련된 기능이 알려져 있다. 두 유전자 모두 단백질 인산화효소 2A(Protein Phosphatase 2A, PP2A) 복합체의 구성원 중 하나로, 특정 단백질의 인산화 조절을 통해 세포 주기의 진행을 조절하고, 신호 전달 경로와 다양한 생물학적 프로세스에 관여하고 있다(Grochola et al., 2009; Hyodo et al., 2016; Xiao et al., 2021).

SOS1 유전자는 RAS 신호전달 경로와 Rho GTPase 활성화, 세포 운동 및 이동 조절 그리고 신호전달 조절과 관련된 주요 기능을 수행하는 것으로 알려져 있다. 이는 세포의 생리적 반응, 성장, 분화, 이동성 등 다양한 생물학적 프로세스에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Choudhry et al., 2012; Rybicka et al., 2015).

GWAS 분석을 통해 식육의 pH농도와 연관성이 확인된 후보 유전자들의 기능 해석 분석 결과, 가장 많이 확인된 GO와 KEGG pathway는 인산화 효소의 조절 관련 기능과 신호전달 관련 기능에서 핵심적으로 연관되어 있음이 확인되었다. 세포내의 인산화 효소들은 근육의 수축, 신경세포의 기능, 화학적인 신호변환 및 에너지(ATP) 생성 등의 중요한 역할을 수행하고 있다. 식육은 근육조직으로 구성되어 있기 때문에 이러한 인산화 효소의 조절은 식육의 품질에 영향을 미칠것으로 이해된다. 본 연구를 통해 확인된 후보 유전자 및 기능 해석 정보들은 향후 식육의 품질과 관련된 형질을 개발하고, 이를 개량하기 하기 위한 디지털 육종 기술 개발 과정에 유용한 자료로 활용될 것으로 기대된다.

ACKNOWLEDGMENTS

본 논문은 농촌진흥청 2025 축산현안대응기술 고도화 사업(PJ01621803)의 일환으로 수행되었습니다.

REFERENCES

- Aulchenko YS, de Koning DJ, Haley C. 2007. Genomewide rapid association using mixed model and regression: a fast and simple method for genomewide pedigree-based quantitative trait loci association analysis. *Genetics*. 177:577–85.
- Bedhane M, van der Werf J, Gondro C, Duijvesteijn N, Lim D, Park B, and Clark S. 2019. Genome-wide association study of meat quality traits in Hanwoo beef cattle using imputed whole-genome sequence data. *Frontiers in Genetics*. 10:1235.
- Barge MT, Destefanis G, Toscano GP, and Brugiapaglia, A. 1991. Two reading techniques of the filter paper press method for measuring meat water-holding capacity. *Meat science*. 29(2):183-189.
- Choudhry KS, Grover M, Tran AA, O'Brian Smith E, Ellis KJ, Lee BH. 2012. Decreased bone mineralization in children with Noonan syndrome: another consequence of dysregulated RAS MAPKinase pathway?. *Mol Genet Metab*. 106(2):237-240.
- Grochola LF, Vazquez A, Bond EE, Würfl P, Taubert H, Müller TH, Levine AJ, and Bond GL. 2009. Recent natural selection identifies a genetic variant in a regulatory subunit of protein phosphatase 2A that associates with altered cancer risk and survival. *Clinical Cancer Research*. 15(19):6301-6308.
- Hawladar AM, Priscila B, Dajeong L, Park B, and Gondro C. 2017. A guide to imputation of low density single nucleotide polymorphism data up to sequence level. *J. Anim. Breed. Genomics*. 1:59-68.
- Hyodo T, Ito S, Asano-Inami E, Chen D, and Senga T. 2016. A regulatory subunit of protein phosphatase 2A, PPP2R5E, regulates the abundance of microtubule crosslinking factor 1. *The FEBS journal*. 283(19):3662-3671.
- Hyeong KE, Lee YM, Kim YS, Nam K, Jo C, Lee KH, et al. 2014. A whole genome association study on meat palatability in hanwoo. *Asian-Australasian J. Anim. Sci*. 27(9):1219.
- Kim Y, Ryu J, Woo J, Kim J, Kim C, and Lee C. 2011. Genome-wide association study reveals five nucleotide sequence variants for carcass traits in beef cattle. *Anim. Genet*. 42(4):361-365.
- Lee SH, Park BH, Sharma A, Dang CG, Lee SS, Choi TJ, et al. 2014. Hanwoo cattle: origin, domestication, breeding strategies and genomic selection. *J. Anim. Sci. Technol*. 56(1):1-8.
- Meuwissen, TH. 2009. Accuracy of breeding values of 'unrelated' individuals predicted by dense SNP genotyping. *Genet. Selection*. 41:1-9.
- Misztal I, Tsuruta S, Lourenco D, Aguilar I, Legarra A, and Vitezica Z. 2014. Manual for BLUPF90 family of program. Athens: University of Georgia, 199. http://nce.ads.uga.edu/wiki/lib/exe/fetch.php?media=blupf90_all7.pdf
- Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, Thomas L, Ferreira MA, Bender D, Maller J, Sklar P, de Bakker PI, Daly MJ, and Sham PC. 2007. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *Am. J. Hum. Genet*. 81(3):559-575.
- Rybicka A, Mucha J, Majchrzak K, Taciak B, Hellmen E, Motyl T, and Krol M. 2015. Analysis of microRNA expression in canine mammary cancer stem-like cells indicates epigenetic regulation of transforming growth factor-beta signaling. *J Physiol Pharmacol*. 66(1):29-37.

- Xiao G, Lian G, Wang T, Chen W, Zhuang W, Luo L, Wang H, and Xie L. 2021. Zinc-mediated activation of CREB pathway in proliferation of pulmonary artery smooth muscle cells in pulmonary hypertension. *Cell Commun Signal*. 19(1):1-16.
- 농촌진흥청 국립축산과학원. 2017. 한우 유전체 자료 데이터베이스 시스템 구축(정책제안).