

Research Article

한우 암소 첫 분만일령과 분만간격 형질에 대한 전장유전체 연관성 분석

오승원¹, 구양모², 이승환³, 윤두학^{1,4*}

¹경북대학교 대학원 축산BT학과, ²한국종축개량협회, ³충남대학교 동물자원과학부, ⁴경북대학교 미래동물자원연구원

A Genome-Wide Association Study of Age at First Calving and Calving Interval Trait in Hanwoo Cow (Korean Brown Cattle)

Seungwon Oh¹, Yang Mo Koo², Seung Hwan Lee³, Duhak Yoon^{1,4*}

¹Department of Animal Science & Biotechnology, Graduate School, Kyungpook National University, Sangju 37224, Korea

²Genetic & Breeding Department, Korea Animal Improvement Association, Livestock Hall, Seoul 06668, Korea

³Division of Animal and Dairy Science, Chungnam National University, Daejeon 34148, Korea

⁴Research Institute for Innovative Animal Science, Kyungpook National University, Sangju 37224, Korea

*Corresponding author: dhyoon@knu.ac.kr

ABSTRACT

In this study, we conducted a Genome Wide Association Study (GWAS) analysis of the reproductive traits in Hanwoo cows, Age at First Calving (AFC) and Calving Interval (CI), aiming to pinpoint candidate genes and their functional relevance. A total of 24,977 Hanwoo cows from commercial farms were genotyped using Axiom Bovine 60k version 3 (Affymetrix Inc, 2006). Subsequently, individuals with genotype and phenotype data were selected from this population, resulting in 9,508 cows and 37,999 SNPs for AFC, and 6,442 cows and 38,379 SNPs for CI after Quality Control. Bonferroni correction and False Discovery Rate (FDR) correction were applied to GWAS thresholds, leading to the identification of significant SNP markers for each trait by chromosome. AFC revealed seven SNP markers on five chromosomes, and CI identified three SNP markers on three chromosomes. Sixteen candidate genes were identified from these ten significant SNP markers. Notably, TRNAC-GCA was highlighted as a gene influencing semen quality in bovines and playing a crucial role in cow reproductive traits. Additionally, Gene Ontology (GO) was identified two GO IDs, respectively, in Biological Process (BP), Cellular Component (CC), and Molecular Function (MF) (BP: GO:0030259, GO:0005975; CC: GO:0031982, GO:0005794; MF: GO:0016758, GO:0016757), with no KEGG pathway being identified. These results contribute to advanced understanding of the genetic architecture of reproductive traits and offer valuable SNP markers for breeding programs in Hanwoo cow.

Keywords: GWAS, GO, Hanwoo cow (Korean Brown Cattle), Reproductive traits

INTRODUCTION

우리나라 고유 품종인 한우는 1980년대부터 유전능력 평가 실시하에 유전적으로 우수한 보증씨수소를 선발하고, 보증씨수소의 냉동 정액을 이용하여 전국에서 사육되고 있는 암소를 대상으로 인공수정을 통한 유전적 개량이 이루어지고 있다(Lim et al., 2016; Shin et al., 2018). 그러나 동일한 보증씨수소의 정액을 사용함에도 불구하고 암소의 능력에 따라 후대우의 능력에 차이가 나게 된다(Park et al., 2011). 또한, 한우의 유전적 다양성 보존과 유전적 개량량 증가 및 세대 간격 단축 등을 위해서 암소 개량의 필요성이 두드러지는 상황

이고, 번식능력이 우수한 암소 선발에 대한 인식이 높아지고 있으며, 이에 따라 2010년부터 지역별 한우 암소 검정사업이 추진중에 있다(Lee et al., 2020).

유전체 염기서열 분석 방법의 발전과 함께 인간 유전체 프로젝트(Human Genome Project; HGP)가 완료되어 인간의 유전체 염기서열이 해독되었다(Collins et al., 2003; Venter et al., 2001). 이후 인간뿐만 아니라 소, 닭, 돼지 등 여러 가축에서도 전장유전체 해독이 완료되었다(Consortium, 2004; Liu et al., 2009; Schook et al., 2005). 여러 종의 전장유전체 확보가 가능해지고 DNA microarray 기술이 개발됨에 따라 최근에는 백 만개 이상의 변이에 대한 정보를 빠르게 확인할 수 있는 SNP chip이 개발되어 활용되고 있다. SNP marker 정보를 담고 있는 SNP chip을 이용하여 주요 형질에 영향을 미치는 양적형질좌위 (Quantitative Trait Loci, QTL)을 탐색하고, 후보유전자를 동정하는 전장유전체 연관성분석 (Genome-Wide Association Study, GWAS) 등 다양한 연구가 수행되고 있다.

GWAS는 SNP marker의 유전자형 중 특정형질 및 유전적 변이에 대한 연관성을 탐색하여 유의성이 높은 특정형질 및 유전적변이와 연관된 SNP marker를 발굴하는 분석이다 (Kruglyak, 1999). 가축을 대상으로 한 최초의 GWAS 분석은 젖소의 유량 및 유지방함량을 조절하는 QTL을 밝혀내기 위해 시행되었고(Georges et al., 1995), 한우에서 유전체 해독이 완료된 이후(Lee et al., 2013), 한우 개량에 맞추어 도체형질에 대한 GWAS 연구가 꾸준히 진행되고 있다.(Naserkheil et al., 2020; Srivastava et al., 2020). 이와 달리 한우의 번식형질 관련된 연구는 번식 실태조사, 사양관리 등 환경 요인에 기인하고 있고, 전장유전체 정보를 이용한 GWAS 연구가 부족한 실정이다.

따라서 본 연구는 한우 암소 24,977두에 대한 전장 유전체 정보를 이용하여 GWAS 분석을 통해 번식형질인 첫 분만일령과 분만간격 형질에 대해 유의미한 SNP marker를 확인하고 후보 유전자를 동정하여, Gene Ontology (GO) 분석을 통해 후보 유전자들의 기능이 한우 암소의 번식형질들과 연관성을 나타내는지 조사하기 위하여 실시하였다.

MATERIALS AND METHODS

1. 공시재료 및 표현형 데이터

본 연구에 이용된 한우는 한국종축개량협회에서 전국 농가단위로 수집한 한우들 중 유전체 데이터와 표현형 데이터를 모두 보유하고 있는 암소 개체들이다. 이 자료는 한우 암소 24,977두로 구성되어 있으며 1차적으로 IQR (Interquartile Range)를 확인하여 표현형 데이터가 정규분포를 따르는 개체들을 선별하였다. 이후 전체 두수 중 첫 분만일령(Age at First Calving; AFC) 형질을 보유하고 있는 9,508두와 분만간격(Calving Interval; CI) 형질을 보유하고 있는 6,442두를 분석에 이용하였다. 첫 분만일령은 초임 암소가 새끼를 분만했을 때 나이(일), 분만간격은 암소가 새끼를 낳고(1산차) 다음 새끼를 낳기(2산차)까지 걸린 일수로 정의한다.

2. 유전체 데이터 및 품질 관리

유전체 정보의 경우 Axiom Bovine 60k version 3 (Affymetrix Inc, 2006) 60,574개의 SNP marker들을 이용하여 24,977두에 대해 유전자형을 결정했다. 이후 Plink v1.9 (Purcell et al., 2007) software로 개체와 SNP marker에 대한 품질 관리(Quality Control, QC)를 진행했으며 QC 기준은 다음과 같다: 1) 상염색체만 선별, 2) 중복된 SNP marker 제거, 3) call rate <0.9, 4) Minor Allele Frequency (MAF) <0.05, 5) Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE) p -value <10⁻⁶. 표현형과 유전체 데이터를 모두 보유한 개체들을 선별하여 첫 분만일령은 9,508두와 SNP marker 37,999개, 분만간격은 6,442두와 SNP marker 38,379개가 추후 분석에 사용되었다.

3. MAF 및 연관불평형 분석

QC 과정 전 SNP marker들을 대상으로 상염색체에 위치한 SNP marker들의 Minor Allele Frequency (MAF)를 확인했다. 연관불평형 (Linkage Disequilibrium, LD) 분석은 연관된 SNP marker간의 재조합 정도를 알아보기 위해 Plink v1.9를 사용하여 각 개체별로 분석하였다. SNP marker간 거리를 0부터 500 kb까지 설정했으며, 제곱 상관 계수(r^2)을 이용했다. MAF와 LD 모두 R(R Core Team, 2023)

로 나타냈다.

4. 전장유전체연관성분석 (GWAS)

최종 선별된 SNP marker들을 대상으로 GCTA v1.94.1 (Yang et al., 2011) software의 혼합선형모형분석(MLMA)을 적용하여 각 형질에 대한 GWAS를 실시했다. MLMA에 고정효과로는 개체의 출생년도, 출생월, 첫 분만 년도, 첫 분만월을 적용했다. 또한 유전체 관계 행렬은 GCTA의 GRM 분석방법으로 계산하여 이용했다. MLM 모델 방정식은 다음과 같다.

$$y = a + bX + g + e$$

여기서, y 는 AFC와 CI의 표현형 벡터, a 는 평균치 벡터, b 는 상가적 고정효과, X 는 SNP marker의 고정효과(0, 1, 그리고 2), g 는 유전체 관계 행렬내 모든 SNP들의 누적효과, e 는 임의의 잔차 벡터를 나타낸다.

5. 위치상 후보유전자 확인

임계수준은 두 종류의 suggestive level로 FDR correction ($((p\text{-value} \times 0.01) / \text{number of SNP marker}) \times 0.01$)과 Bonferroni correction ($1 / \text{number of SNP marker}$)를 이용하였다. 각 형질에 따라 임계수준을 따르는 SNP marker들을 유의미한 SNP marker들로 구분하였다. NCBI database의 Bos_taurus_UMD_3.1.1를 기준으로 SNP marker들과 가장 근접한 유전자들을 탐색했다. 유의적인 SNP marker의 위치를 기준으로 포함되어 있거나 가장 근접한 유전자들을 위치상 후보유전자로 동정하였다.

6. 유전자 집합 분석(Gene Set Enrichment Analysis)

탐색된 후보 유전자들의 특징 및 기능을 확인하기 위해 Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery (DAVID) tool을 이용하여 Gene Ontology (GO)와 Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway 분석을 실시했다.

RESULTS AND DISCUSSION

1. 표현형 데이터 구조

두 번식형질의 평균값(±표준편차)은 첫 분만일령(Age at First Calving, AFC)이 735.22 ± 56.18 (일), 분만간격(Calving Interval, CI)이 367.56 ± 33.91 (일)로 나타났다(Table 1). 평균값을 보면 첫 분만일령의 경우 암소가 태어난 지 약 2년이 되는 시점에서 첫 분만이 진행되었고 분만간격의 경우 1산차와 2산차 간격이 약 1년 정도로 나타났다. 첫 분만일령과 분만간격 형질을 한 달 간격으로 분류하여 살펴보면 다음과 같다(Table 2, Table 3). 첫 분만일령은 AFC5 (711-740d)에 2,319두(24.39%)로 가장 많은 암소가 해당 기간에 첫 분만을 했으며 AFC4-AFC6 (681-770d) 기간동안 약 62%의 암소가 첫 분만을 한 것으로 나타났다. 분만간격은 CI3 (331-360d)에 2,308두(35.83%)로 가장 많은 암소들이 해당되었다. 또한, 약 47.7%의 암소가 분만간격이 1년(365일) 보다 적은 것으로 나타났다. Lopez et al. (2019)는 우리나라 9개 지역에서 사육된 한우 암소 15,355두의 번식형질을 확인했으며 AFC는 752.42 ± 68.34 , CI는 363.11 ± 28.74 로 나타났다. Shin et al. (2021)은 한우 암소 19,565두의 번식형질을 확인했으며 AFC는 730.2 ± 27.6 , CI는 399.0 ± 101.1 로 나타났다. 본 연구결과와 Lopez et al. (2019)의 AFC의 평균값 보다 낮게, CI의 평균값 보다 높게 나타났고, 반대로 Shin et al. (2021)의 AFC의 평균값 보다 높게, CI의 평균값 보다 낮게 나타났다. 동일한 품종의 암소임에도 불구하고 이러한 표현형 정보들의 차이는 수집된 한우 암소의 사육지역, 사육환경, 번식과정 및 인공수정사 등 다양한 환경 체계의 차이 때문에 나타난 것으로 사료된다.

Table 1. Descriptive statistics for 2 types of reproductive trait.

Traits	Mean	SD	Median	Max	Min
AFC (days)	735.22	56.18	729	891	591
CI (days)	367.56	33.91	363	465	273

AFC: Age at First Calving, CI: Calving Interval

Table 2. Summary of statistics of AFC in eight categories.

Category	Range (d)	No. of records	Mean	SD	Percentage
AFC1	591-620	109	607.03	8.95	1.15
AFC2	621-650	317	638.45	8.52	3.33
AFC3	651-680	987	667.70	8.50	10.38
AFC4	681-710	1,901	696.28	8.68	19.99
AFC5	711-740	2,319	725.22	8.53	24.39
AFC6	741-770	1,641	754.38	8.54	17.26
AFC7	771-800	963	784.30	8.74	10.13
AFC8	801-891	1,271	837.36	25.70	13.37

AFC: Age at First Calving, SD: Standard Deviation

Table 3. Summary of statistics of CI in six categories.

Category	Range (d)	No. of records	Mean	SD	Percentage
CI1	273-300	22	291.73	8.00	0.34
CI2	301-330	743	321.54	6.55	11.53
CI3	331-360	2,308	345.95	8.33	35.83
CI4	361-390	1,864	373.92	8.54	28.94
CI5	391-420	963	403.83	8.72	14.95
CI6	421-465	542	439.40	12.70	8.41

CI: Calving Interval, SD: Standard Deviation

2. SNP marker 특징

분석에 사용된 SNP marker에 대해서 MAF와 LD의 정도를 확인했다(Figure 1). MAF 결과는 QC 이전의 상염색체에 위치하는 모든 SNP marker들을 대상으로 분석했으므로 0-0.05 범위에 속하는 SNP marker들도 포함되어 있다. 분석 결과, 상염색체상 SNP marker들의 평균 MAF는 0.187 ± 0.165 이었고 0-0.05 범위에서 가장 많은 SNP marker가 나타났으며 0.05-0.5까지 고르게 나타났다. LD는 SNP marker간 거리 기준 0-500 kb내 평균 r^2 값으로 확인했다. 전체 SNP marker간 평균 r^2 은 0.047 ± 0.11 로 나타났고, SNP marker간 거리가 0-50 kb인 범위에서 평균 r^2 이 약 0.50 ± 0.38 에서 0.20 ± 0.26 까지 급격하게 감소하는 경향을 보였다. 한우 암소를 대상으로 Illumina 한우 맞춤형 SNP chip을 사용한 연구결과에서도 MAF의 빈도와 LD의 정도가 본 연구 결과와 비슷한 양상을 나타냈다(Oh & Yoon, 2022). 이는 서로 다른 SNP chip 플랫폼간 SNP marker 호환성에 문제가 없고, 한우 암소 집단의 유전적 다양성과 유전체 구조에는 큰 변화가 없기 때문에 나타난 결과인 것으로 사료된다.

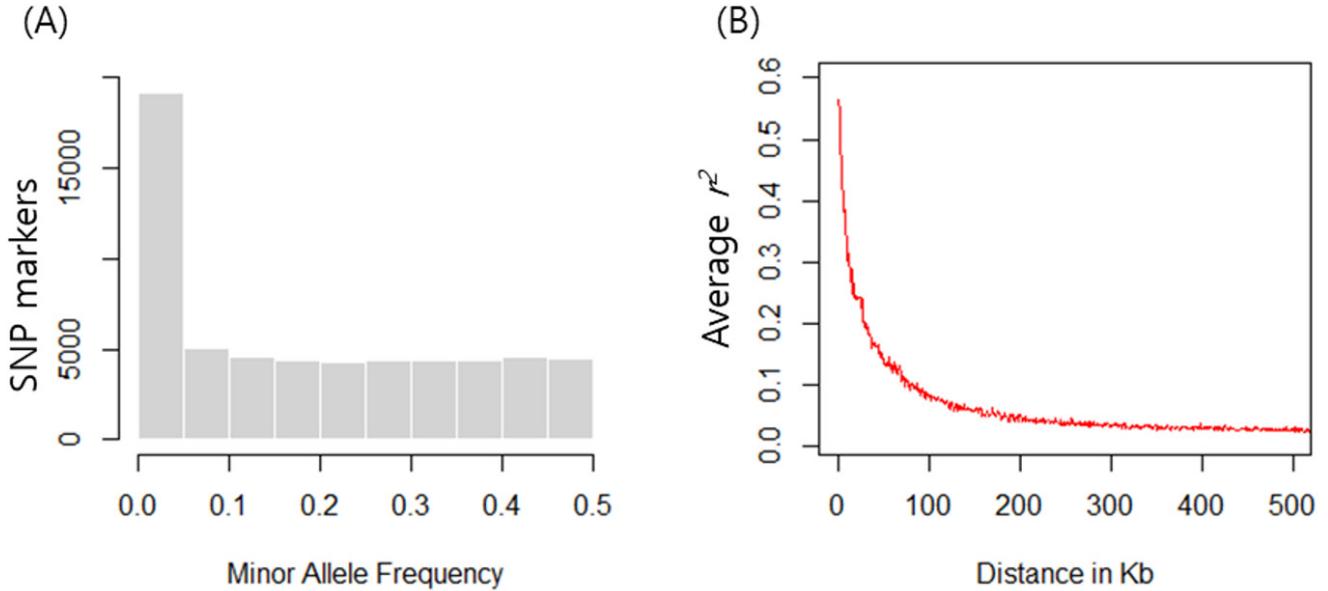


Figure 1. (A) Number of SNP markers by MAF, (B) Average r^2 by distance between SNP markers.

3. GWAS 및 후보유전자 동정

두 가지 번식형질에 대해 GWAS 분석을 실시한 결과를 QQ-plot과 Manhattan plot으로 나타냈다 (Figure 2). 표현형 데이터의 정규성을 QQ-plot으로 확인한 결과 두 가지 형질 모두 정규분포 하는 것을 확인했다. GWAS에 적용된 임계점은 첫 분만일령이 $FDR\ p < 9.89 \times 10^{-5}$ ($((376/37,999) \times 0.01)$), Bonferroni $p < 2.63 \times 10^{-5}$ ($(1/37,999)$) 이었고, 분만간격은 $FDR\ p < 1.01 \times 10^{-4}$ ($((386/38,379) \times 0.01)$), Bonferroni $p < 2.61 \times 10^{-5}$ ($(1/38,379)$) 이었으며 모두 $-\log_{10}(p)$ 를 적용하였다. 첫 분만일령은 5개의 염색체에서 총 7개의 SNP marker (Chr4:ARS-BFGL-NGS-40546; $p < 3.04 \times 10^{-5}$, Chr9:ARS-BFGL-NGS-29290; $p < 2.34 \times 10^{-5}$, Chr11:ARS-BFGL-NGS-102088; $p < 8.88 \times 10^{-5}$, Chr11:Hapmap35103-BES3_Contig455_1055; $p < 1.68 \times 10^{-5}$, Chr15:ARS-BFGL-NGS-72108; $p < 3.17 \times 10^{-5}$, Chr23:ARS-BFGL-NGS-40685; $p < 3.41 \times 10^{-5}$, Chr23:ARS-BFGL-NGS-55885; $p < 4.49 \times 10^{-5}$), 분만간격은 3개의 염색체에서 각각 하나씩 총 3개의 SNP marker (Chr9:Hapmap32423-BTA-92864; $p < 1.11 \times 10^{-5}$, Chr16:BTB-01612388; $p < 4.61 \times 10^{-5}$, Chr27:ARS-BFGL-NGS-18614; $p < 3.39 \times 10^{-5}$)가 유의미한 것으로 나타났다. 첫 분만일령에서 가장 높은 유의성을 나타낸 SNP marker는 11번 염색체의 Hapmap35103-BES3_Contig455_1055이었고, 분만간격에서는 9번 염색체의 Hapmap32423-BTA-92864으로 확인되었다. Hapmap35103-BES3_Contig455_1055는 젖소의 유지방산 관련 연구에서 유의미한 SNP marker로 나타났다(Cecchinato et al., 2019). 본 분석결과와는 다르게 한우 경산우들의 첫 분만일령을 대상으로 GWAS 분석한 Hyeong et al. (2014)은 Hapmap32423-BTA-92864가 첫 분만일령 형질과 유의미한 SNP marker인 것으로 나타났다. 위 2가지 SNP marker를 제외하고 나머지 SNP marker들과 관련된 선행연구는 확인되지 않았다. 유의적인 SNP marker의 개수가 적게 나타난 것은 번식형질이 여러 환경효과에 영향을 받고 도체형질보다 낮은 유전력을 나타내기 때문인 것으로 사료된다(Lopez et al., 2019)

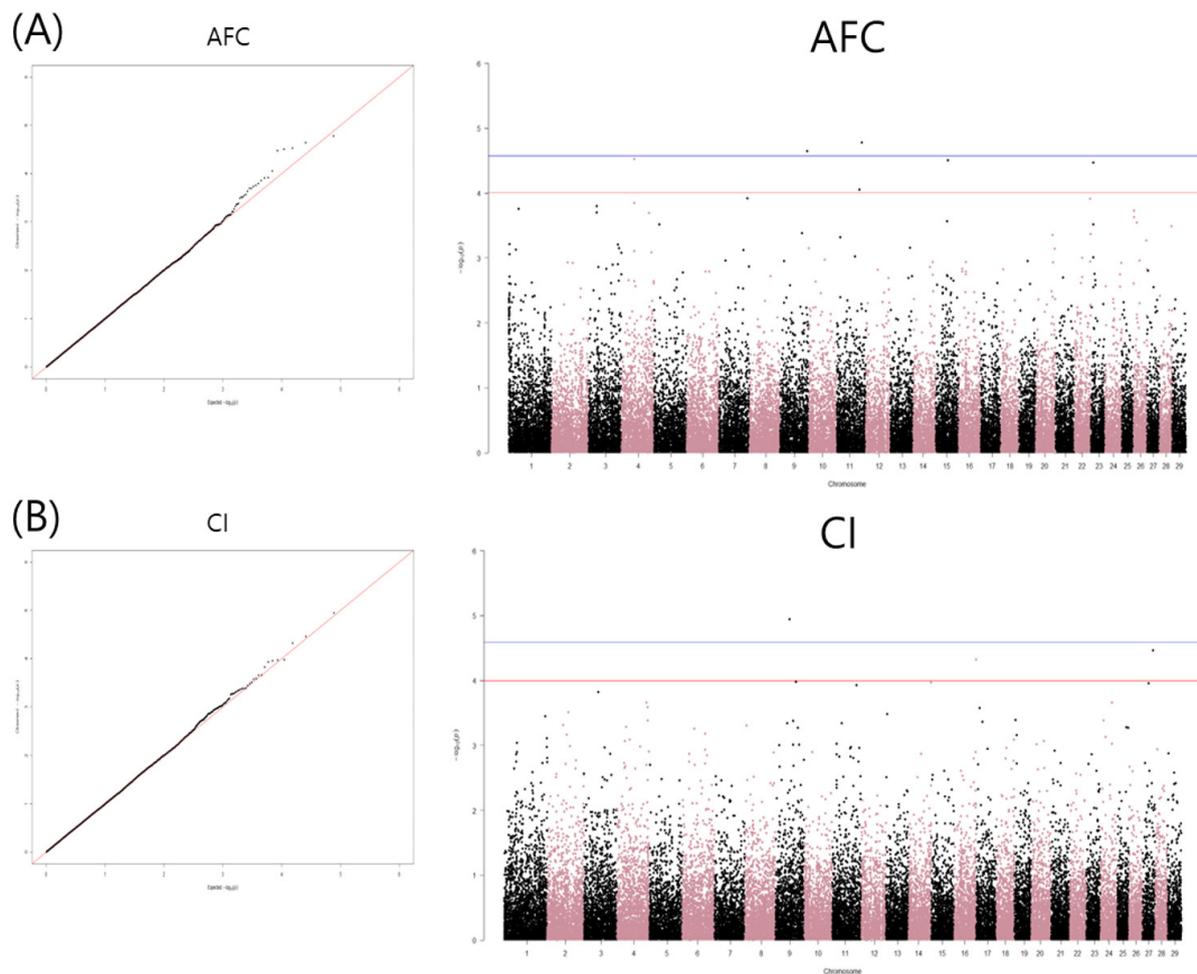


Figure 2. The Manhat plot of GWAS for reproductive traits with significance thresholds indicated at $-\log_{10}P$. (A) AFC: $p < 2.63 \times 10^{-5}$ (blue), $p < 9.89 \times 10^{-5}$ (red), (B) CI: $p < 2.61 \times 10^{-5}$ (blue), $p < 1.01 \times 10^{-4}$ (red).

후보 유전자를 동정하고자 *Bos taurus* genome (Bos_taurus_UMD_3.1.1) 기준으로 탐색하여 유의미하게 나타난 10개의 SNP marker들로부터 총 16개의 후보유전자들을 동정하였다(Table 4). 첫 분만일령에서는 10개의 후보유전자들(LOC104972036, LOC10190805, TRNAC-GCA (transfer RNA cysteine (anticodon GCA)), LOC104973449, LOC782101, LOC527409, GGTA1 (Alpha-Galactosyltransferase 1 (glycoprotein)), SYT9 (Synaptotagmin 9), ANKS1A (Ankyrin Repeat And Sterile Alpha Motif Domain Containing 1A), TCP11 (T-complex 11)), 분만간격에서는 6개의 후보유전자들(LOC781989, TRNAS-GGA (Transfer RNA serine (anticodon GGA)), LOC101904592, CAMSAP2 (Calmodulin Regulated Spectrin Associated Protein Family Member 2), SH2D4A (SH2 Domain Containing 4A), LOC104970724)을 확인했다.

Table 4. The list of significant SNPs for two reproductive traits.

Trait	Chr	SNP ID	rs number	Allele	Position	SE	p-value	-log(p)	Candidate genes
AFC	4	ARS-BFGL-NGS-40546	rs109934047	G/A	47,869,938	0.188	3.04E-05	4.52	LOC104972036
	9	ARS-BFGL-NGS-29290	rs109880330	A/C	100,892,769	0.223	2.34E-05	4.63	LOC101908095, TRNAC-GCA
	11	ARS-BFGL-NGS-102088	rs109539195	A/G	83,796,925	0.179	8.88E-05	4.05	LOC104973449, LOC782101
	11	Hapmap35103-BES3_Contig455_1055	rs43710111	A/G	92,297,411	0.338	1.68E-05	4.77	LOC527409, GGTA1
	15	ARS-BFGL-NGS-72108	rs42621160	G/A	46,058,920	0.183	3.17E-05	4.50	SYT9
	23	ARS-BFGL-NGS-40685	rs109902639	A/C	8,998,867	0.191	3.41E-05	4.47	ANKS1A
	23	ARS-BFGL-NGS-55885	rs109568295	G/A	9,020,371	0.191	4.49E-05	4.35	TCP11
	CI	9	Hapmap32423-BTA-92864	rs41606134	A/G	52,133,642	0.618	1.11E-05	4.95
16		BTB-01612388	rs42729612	G/A	81,238,066	0.677	4.61E-05	4.34	LOC101904592, CAMSAP2
27		ARS-BFGL-NGS-18614	rs109807388	G/A	38,109,791	0.684	3.39E-05	4.47	SH2D4A, LOC104970724

Chr: chromosome, SE: Standard Error, AFC: Age at First Calving, CI: Calving Interval, Position is in base pair (bp)

첫 분만일령에서 가장 유의미하게 나타난 11번 염색체의 Hapmap35103-BES3_Contig455_1055 근처에 위치한 GGTA1은 이종간 장기 이식 시 수여자에게 면역거부 반응을 일으키고 가축에서는 주로 돼지를 이용한 연구가 진행중에 있으며 태아 섬유 아세포에서 잘 발현되는 특징이 있다(Lai & Prather, 2002). 다음으로 유의미하게 나타난 9번 염색체의 ARS-BFGL-NGS-29290 근처에 위치한 TRNAC-GCA는 많은 선행연구에서 확인되었다. 특히, 소의 성장과 사료 효율성(King et al., 2022), 소 정자의 질(Kamiński et al., 2016), 경산우의 재분만(Melo et al., 2017) 등에 영향을 미치는 것으로 확인되었고, 또한 이 유전자와 가까이 위치한 QTL들이 도체중과 근육내 유기물질(크로뮴, 철) 농도에 큰 영향을 주는 것으로 나타났다(Júnior et al., 2016; Tizioto et al., 2015). 15번 염색체의 SYT-9는 칼슘과 인지질 부착 기능을 하며 암컷 쥐의 난포자극호르몬 방출과 발정 주기 및 배란에 영향을 미치는 것으로 나타났다(Roper et al., 2015). 소의 경우에는 비유 지속성과 관련 있는 것으로 확인되었다(Lázaro et al., 2023). 23번 염색체의 ANKS1A는 상피의 성장 인자 수용체를 지니며 인간에게 제2형 당뇨병과 관상동맥질환 유발에 영향을 미치는 것으로 확인되었고(Jia et al., 2019), 소에서는 소의 체고와 유방의 깊이에 연관된 것으로 나타났다(Fang et al., 2019). 23번 염색체의 TCP11에서도 소의 체고와 유방의 깊이에 영향을 미치는 것으로 나타났으며(Jiang et al., 2018), 인간의 자궁경부암 세포 발생과 발달을 유의하게 억제하는 것으로 나타났다(Wang et al., 2023). 분만간격에서 가장 유의미하게 나타난 9번 염색체의 Hapmap32423-BTA-92864 근처에 위치한 TRNAS-GGA는 Buffalo의 유생산 형질 연관성 분석에서 우유, 지방 그리고 단백질 생산에 영향을 끼치는 것으로 나타났다(Venturini et al., 2014). 27번 염색체의 SH2D4A는 Holstein 연구에서 잔여 사료 섭취량과 연관된 것으로 나타났다(Hardie et al., 2017). 다음으로 16번 염색체의 CAMSAP2는 비중심체 미세소관의 음극 말단에 붙는 특징이 있고, 미세소관의 원동력, 구조 및 중합을 조절할 수 있으며 세포 분열, 이동 및 분화에도 영향을 미치는 것으로 확인되었다(Jiang et al., 2014).

다른 종이 가축들과 직접적인 연관성을 나타낸 여러 유전자들이 확인되었으며 암소와 관련된 유전자들은 TRNAC-GCA (경산우의 재분만, 도체중, 근육내 유기물 농도), SYT-9 (암소의 비유 지속성), TRNAS-GGA (유생산 관련성)으로 확인되었다. 이중에서 TRNAC-GCA는 암소의 산차수와 재분만 횟수에 따라 농가의 소득 규모가 달라지고, 근육내 유기물 함량이 높을수록 후대우의 도체성적에 긍정적인 영향을 줄 수 있을 것으로 보인다. 그러나 본 연구에서 목표한 첫 분만일령 및 분만간격 형질들과 직접적으로 연관성을 나타내는 유전자들은 확인되지 않았다. 이는 암소의 번식형질 관련 GWAS 선행연구가 부족하기 때문인 것으로 보이며 특히 한우에 대한 연구가 조속히 이루어져야 할 것으로 사료된다.

4. Gene Ontology

한우 암소에서 확인된 16개 후보 유전자들의 유전자 기능 분포를 확인하기 위해 생물학적 경로(Biological Process, BP), 세포 구성요인(Cellular Component, CC) 그리고 분자적 기능(Molecular Function, MF) 세 가지 수준으로 Gene Ontology (GO) 분석을 한 결과, 총 3개의 유전자에서 6개의 GO ID가 확인되었다(Table 5). BP와 관련된 기능들은 lipid glycosylation (GO:0030259)과 carbohydrate metabolic process (GO:0005975), CC와 관련된 기능들은 vesicle (GO:0031982)과 golgi apparatus (GO:0005794)이 확인되었는데, 대부분의 단백질 및 지질 당화 반응은 골지체가 발생지이자 담당이기 때문에 GO:0030259와 GO:0005794가 나타난 것으로 보인다 (Stanley, 2011). 특히, GO:0005975는 탄수화물 잔류물을 다른 분자에 첨가하여 셀룰로스와 헤미셀룰로스 유도체를 포함한 탄수화물과 관련된 화학적 반응과 경로를 나타내는 주요 대사 과정으로서 메탄을 생산하는 대사 과정에 중요하게 작용한다. 최근 전세계가 탄소중립을 선언하여 축산분야도 가축으로부터 발생하는 탄소와 메탄을 줄이기 위한 연구들이 진행 중에 있으므로 주요 GO ID인 것으로 판단된다. MF와 관련된 기능들은 transferase activity, transferring hexosyl groups (GO:0016758), transferase activity, transferring glycosyl groups (GO:0016757)와 같은 전이효소 활성화 기작과 관련된 기능들이 확인되었다. 또한, 첫 분만일령 형질의 GGTA1가 모든 GO ID에서 나타났다. KEGG pathway 분석결과 GO ID들과 연관된 경로는 확인되지 않았다. 한우의 체내에 지질과 탄수화물이 함량이 많을 경우 암소의 인공수정 실패와 같은 번식 능력에 부정적인 영향을 줄 수 있는데(Park et al., 2013), 한우 암소의 개량이 유생산이 주목적이지 아니기 때문에 번식 능력을 저해하지 않도록 지질과 탄수화물 관련 대사 조절이 필요할 것으로 사료된다.

Table 5. The list of GO analysis of candidate genes associated with reproductive traits from GWAS.

GO ID	Description	Genes	p-value	Fold Enrichment	Gene symbol
Biological Process					
GO:0030259	Lipid glycosylation	2	5.00E-03	345.3	GGTA1, LOC527409
GO:0005975	Carbohydrate metabolic process	2	4.20E-02	40.3	GGTA1, LOC527409
Cellular Component					
GO:0031982	Vesicle	2	2.30E-02	76.2	GGTA1, LOC527409
GO:0005794	Golgi apparatus	3	2.40E-02	10.4	GGTA1, CAMSAP2, LOC527409
Molecular Function					
GO:0016758	Transferase activity, transferring hexosyl groups	2	5.20E-03	322	GGTA1, LOC527409
GO:0016757	Transferase activity, transferring glycosyl groups	2	1.50E-02	111.1	GGTA1, LOC527409

GO: Gene Ontology

SUMMARY

본 연구는 한우 암소의 번식형질 중 첫 분만일령과 분만간격에 대한 GWAS와 GO 분석을 실시했다. 그 결과, 첫 분만일령에서 7개, 분만간격에서 3개의 유의적인 SNP marker들을 확인하였으며 이들로부터 총 16개의 후보 유전자를 동정하였다. 그 중 첫 분만일령에서 TRNAC-GCA는 경산우의 재분만에 영향을 미치는 것으로 나타났고, SYT-9는 난포자극호르몬 방출과 발정 주기 및 배란에 영향을 미치며 특히 소에서는 비유 지속성과 관련된 것으로 나타났으며 TCP11는 소의 체고와 유방의 깊이와 관련된 것으로 보고되었다. 분만간격에서 TRNAS-GGA와 SH2D4A는 유용종과 관련된 특징을 지닌 것으로 보고되었다. Gene Ontology 분석결과에서 탄수화물과 지질 대사 관련 GO ID가 확인되었으며 이는 한우 암소에서 번식 능력과 여러 대사간 밀접한 관련이 있는 것으로 판단된다. 번식 능력과 간접적으로 영향을 미치는 결과들을 확인했으며 본 연구결과를 바탕으로 하여 지속적인 추가 연구를 실시하고 암소에 적용할 수 있는 개량 모델을 구축한다면 암소의 유전체 특성과 구조를 기반으로 한 개량의 전략 수립이 가능해질 것으로 사료된다.

ACKNOWLEDGEMENT

본 연구는 한국종축개량협회 ‘한우암소 번식형질 유전체 육종가 활용에 대한 검증 연구’의 지원에 의해 이루어진 것이며 연구비 지원에 감사드립니다.

REFERENCES

- Cecchinato, A., Macciotta, N. P. P., Mele, M., Tagliapietra, F., Schiavon, S., Bittante, G., & Pegolo, S. (2019). Genetic and genomic analyses of latent variables related to the milk fatty acid profile, milk composition, and udder health in dairy cattle. *Journal of dairy science*, 102(6), 5254-5265.
- Collins, F. S., Morgan, M., & Patrinos, A. (2003). The Human Genome Project: lessons from large-scale biology. *science*, 300(5617), 286-290.
- Consortium, I. C. G. S. (2004). Sequence and comparative analysis of the chicken genome provide unique perspectives on vertebrate evolution. *Nature*, 432(7018), 695-716.
- Fang, L., Zhou, Y., Liu, S., Jiang, J., Bickhart, D. M., Null, D. J., Li, B., Schroeder, S. G., Rosen, B. D., & Cole, J. B. (2019). Comparative analyses of sperm DNA methylomes among human, mouse and cattle provide insights into epigenomic evolution and complex traits. *Epigenetics*, 14(3), 260-276.
- Georges, M., Nielsen, D., Mackinnon, M., Mishra, A., Okimoto, R., Pasquino, A. T., Sargeant, L. S., Sorensen, A., Steele, M. R., & Zhao, X. (1995). Mapping quantitative trait loci controlling milk production in dairy cattle by exploiting progeny testing. *Genetics*, 139(2), 907-920.
- Hardie, L., VandeHaar, M., Tempelman, R., Weigel, K., Armentano, L., Wiggans, G., Veerkamp, R., De Haas, Y., Coffey, M., & Connor, E. (2017). The genetic and biological basis of feed efficiency in mid-lactation Holstein dairy cows. *Journal of dairy science*, 100(11), 9061-9075.
- Hyeong, K.-E., Iqbal, A., & Kim, J.-J. (2014). A genome wide association study on age at first calving using high density single nucleotide polymorphism chips in Hanwoo (*Bos taurus coreanae*). *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 27(10), 1406.
- Jia, X., Yang, Y., Chen, Y., Xia, Z., Zhang, W., Feng, Y., Li, Y., Tan, J., Xu, C., & Zhang, Q. (2019). Multivariate analysis of genome-wide data to identify potential pleiotropic genes for type 2 diabetes, obesity and coronary artery disease using MetaCCA. *International journal of cardiology*, 283, 144-150.
- Jiang, J., Cole, J. B., Da, Y., VanRaden, P. M., & Ma, L. (2018). Fast Bayesian fine-mapping of 35 production, reproduction and body conformation traits with imputed sequences of 27K Holstein bulls. *BioRxiv*, 428227.
- Jiang, K., Hua, S., Mohan, R., Grigoriev, I., Yau, K. W., Liu, Q., Katrukha, E. A., Altelaar, A. M., Heck, A. J., & Hoogenraad, C. C. (2014). Microtubule minus-end stabilization by polymerization-driven CAMSAP deposition. *Developmental cell*, 28(3), 295-309.
- Júnior, G. F., Costa, R., De Camargo, G., Carvalheiro, R., Rosa, G., Baldi, F., Garcia, D., Gordo, D., Espigolan, R., & Takada, L. (2016). Genome scan for postmortem carcass traits in Nellore cattle. *Journal of Animal Science*, 94(10), 4087-4095.
- Kamiński, S., Hering, D. M., Oleński, K., Lecewicz, M., & Kordan, W. (2016). Genome-wide association study for sperm membrane integrity in frozen-thawed semen of Holstein-Friesian bulls. *Animal reproduction science*, 170, 135-140.
- King, F. J. M., Visser, C., & Banga, C. (2022). Genetic characterization of Mozambican Nguni cattle and their relationship with indigenous populations of South Africa. *Livestock Science*, 264, 105044.
- Kruglyak, L. (1999). Prospects for whole-genome linkage disequilibrium mapping of common disease genes. *nature genetics*, 22(2), 139-144.
- Lai, L., & Prather, R. S. (2002). Progress in producing knockout models for xenotransplantation by nuclear transfer. *Annals of medicine*, 34(7), 501-506.
- Lázaro, S. F., Tonhati, H., Oliveira, H. R., Silva, A. A., Scalez, D. C., Nascimento, A. V., Santos, D. J., Stefani, G., Carvalho, I. S., & Sandoval, A. F. (2023). Genetic parameters and genome-wide association studies for mozzarella and milk production traits, lactation length, and lactation persistency in Murrah buffaloes. *Journal of dairy science*.
- Lee, C., Choi, J., Shin, H., & Kim, J. (2020). Genetic prediction of Hanwoo carcass traits in Kangwon regional Hanwoo cow test farms. *Ann Anim Resour Sci*, 31, 1-12.
- Lee, T., Cho, S., Seo, K. S., Chang, J., Kim, H., & Yoon, D. (2013). Genetic variants and signatures of selective sweep of Hanwoo population (Korean native cattle). *BMB reports*, 46(7), 346.

- Lim, K.-S., Park, B.-H., Choi, T.-J., Lim, D., & Cho, Y.-M. (2016). Carrier testing for autosomal recessive hereditary disorder in Korean proven bulls. *Journal of Biomedical and Translational Research*, 17(4), 85-90.
- Liu, Y., Qin, X., Song, X.-Z. H., Jiang, H., Shen, Y., Durbin, K. J., Lien, S., Kent, M. P., Sodeland, M., & Ren, Y. (2009). Bos taurus genome assembly. *BMC genomics*, 10(1), 1-11.
- Lopez, B. I., Son, J.-H., Seo, K., & Lim, D. (2019). Estimation of genetic parameters for reproductive traits in Hanwoo (Korean Cattle). *Animals*, 9(10), 715.
- Melo, T. P. d., De Camargo, G. M. F., De Albuquerque, L. G., & Carvalheiro, R. (2017). Genome-wide association study provides strong evidence of genes affecting the reproductive performance of Nelore beef cows. *Plos one*, 12(5), e0178551.
- Naserkheil, M., Bahrami, A., Lee, D., & Mehrban, H. (2020). Integrating single-step GWAS and bipartite networks reconstruction provides novel insights into yearling weight and carcass traits in hanwoo beef cattle. *Animals*, 10(10), 1836.
- Oh, S., & Yoon, D. (2022). Analysis of Linkage Disequilibrium and Estimation of Effective Population Size in Hanwoo Cow Population. *Journal of Animal Breeding and Genomics*, 6(4), 253-264.
- Park, S., Kim, H., Lee, Y.-S., Kim, J.-W., Kim, J. B., Song, Y.-H., Lee, H.-K., & Lee, S.-J. (2013). Studies on the failure Rate of Artificial Insemination in Korean Native Cows. *Reproductive and Developmental Biology*, 37(1), 23-27.
- Park, S., Lee, S., Lee, K., Shin, Y., Song, Y., & Lee, S. (2011). Analysis of reproduction and breeding status in Gangwon east area. *Annals of Animal Resources Sciences*, 22, 1-5.
- Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M. A., Bender, D., Maller, J., Sklar, P., De Bakker, P. I., & Daly, M. J. (2007). PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *The American journal of human genetics*, 81(3), 559-575.
- R Core Team, R. (2023). R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. <http://www.R-project.org/>
- Roper, L. K., Briguglio, J. S., Evans, C. S., Jackson, M. B., & Chapman, E. R. (2015). Sex-specific regulation of follicle-stimulating hormone secretion by synaptotagmin 9. *Nature communications*, 6(1), 8645.
- Schook, L. B., Beever, J. E., Rogers, J., Humphray, S., Archibald, A., Chardon, P., Milan, D., Rohrer, G., & Eversole, K. (2005). Swine Genome Sequencing Consortium (SGSC): a strategic roadmap for sequencing the pig genome. *Comparative and functional genomics*, 6(4), 251-255.
- Shin, E., Lee, S., & Yoon, D. (2018). Accuracy of genomic estimated breeding value with Hanwoo cows in the commercial farms. *J Agric Life Sci*, 52, 91-98.
- Shin, S., Lee, J., & Do, C. (2021). Genetic relationship of age at first calving with conformation traits and calving interval in Hanwoo cows. *Journal of animal science and technology*, 63(4), 740.
- Srivastava, S., Srikanth, K., Won, S., Son, J.-H., Park, J.-E., Park, W., Chai, H.-H., & Lim, D. (2020). Haplotype-based genome-wide association study and identification of candidate genes associated with carcass traits in Hanwoo cattle. *Genes*, 11(5), 551.
- Stanley, P. (2011). Golgi glycosylation. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 3(4), a005199.
- Tizioto, P. C., Taylor, J. F., Decker, J. E., Gromboni, C. F., Mudadu, M. A., Schnabel, R. D., Coutinho, L. L., Mourão, G. B., Oliveira, P. S., & Souza, M. M. (2015). Detection of quantitative trait loci for mineral content of Nelore longissimus dorsi muscle. *Genetics Selection Evolution*, 47, 1-9.
- Venter, J. C., Adams, M. D., Myers, E. W., Li, P. W., Mural, R. J., Sutton, G. G., Smith, H. O., Yandell, M., Evans, C. A., & Holt, R. A. (2001). The sequence of the human genome. *science*, 291(5507), 1304-1351.
- Venturini, G., Cardoso, D., Baldi, F., Freitas, A., Aspilcueta-Borquis, R., Santos, D., Camargo, G., Stafuzza, N., Albuquerque, L., & Tonhati, H. (2014). Association between single-nucleotide polymorphisms and milk production traits in buffalo. *Genet. Mol. Res*, 13(4), 10256-10268.
- Wang, F., Song, S., Guo, B., Li, Y., Wang, H., Fu, S., Wang, L., Zhe, X., Li, H., & Li, D. (2023). Increased TCP11 gene expression can inhibit the proliferation, migration and promote apoptosis of cervical cancer cells. *BMC cancer*, 23(1), 853.
- Yang, J., Lee, S. H., Goddard, M. E., & Visscher, P. M. (2011). GCTA: a tool for genome-wide complex trait analysis. *The American journal of human genetics*, 88(1), 76-82.