

## *HNF4a* 유전자 내 SNP가 한국 재래계의 성장에 미치는 효과 분석

최소영<sup>1</sup> · 양송이<sup>1</sup> · 홍민욱<sup>1</sup> · 손시환<sup>2</sup> · 정동기<sup>3</sup> · 홍영호<sup>4</sup> · 이성진<sup>1\*</sup>

강원대학교 동물생명과학대학<sup>1</sup>, 경남과학기술대학교 동물생명과학과<sup>2</sup>, 제주대학교 생명공학부<sup>3</sup>,  
중앙대학교 생명자원공학부<sup>4</sup>

## Effect of SNP within *HNF4a* Associated with Growth Performance in Korean Native Chickens

So-Young Choi<sup>1</sup>, Song-Yi Yang<sup>1</sup>, Min-Wook Hong<sup>1</sup>, Sea Hwan Sohn<sup>2</sup>, Dong Kee Jeong<sup>3</sup>, Yeong Ho Hong<sup>4</sup> and Sung-Jin Lee<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>College of Animal Life Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea,

<sup>2</sup>Department of Animal Science and Biotechnology, Gyeongnam National University of Science and Technology, Jinju 52725, Korea,

<sup>3</sup>Department of Animal Biotechnology, Jeju National University, Jeju 63243, Korea,

<sup>4</sup>Department of Bioresource and Bioscience, Chung-Ang University, Anseong 17546, Korea

### ABSTRACT

The *HNF4a* (hepatocyte nuclear factor 4, alpha) is a hepatic transcription factor related to the lipid metabolism and regulation of insulin secretion in humans. The current study about commercial broiler reported that the A543G single nucleotide polymorphism (SNP) within *HNF4a* gene has an effect on fat deposition and wing yield in the chicken. This study was performed to investigate the association between the SNP within *HNF4a* gene and growth trait and to verify the applicability as a molecular marker for the improving the performance in Korean native chickens (KNCs). A total of 764 KNCs was collected from the livestock farm of Gyeongnam National University of Science and Technology in Korea and genotyped by PCR-RFLP. The body weight measured at birth, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 15, 16, 18, 20, 24, 28, 32, 36, and 40 weeks of age for the association analysis between chicken growth and the SNP genotype. Statistical analysis of the SNP with phenotypic traits was performed using SAS program. The KNC strain was classified by the genotypes of the A543G SNP. The frequencies of three genotypes were 0.47 (AA), 0.43 (AG) and 0.10 (GG), respectively. The SNP of *HNF4a* has highly significant association ( $p < 0.001$ ) with all-round growth in KNCs. These results suggest that the A543G SNP within *HNF4a* gene could be a genetic marker for the breeding in Korean native chickens.

**(Key words: Korean native chickens, Hepatocyte nuclear factor 4 alpha, SNP, Growth factor)**

### I. 서론

닭고기는 저콜레스테롤, 저칼로리, 저지방이며 고단백

음식으로 사람이 섭취하였을 때, 다른 육류에 비해 상대적으로 영양분을 쉽고 빠르게 얻을 수 있다. 특히 우리가 주변에서 흔히 접할 수 있는 쇠고기, 돼지고기, 닭고기 중 닭

\* Corresponding author: Sung Jin Lee, College of Animal Life Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea, Tel: +82-33-250-8636, E-mail: sjlee@kangwon.ac.kr

고기가 비교적 가격이 저렴하고 다양한 요리방법으로 접하기 좋은 장점이 있다. 농림축산식품부 통계에 따르면 2014년 기준 국내 1인당 연간 닭고기 소비량이 12.6kg에 달하여 상당한 양의 소비가 이루어지고 있음을 알 수 있다(Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs, 2016).

예로부터 재래계(Korean native chicken, KNC)는 한국의 풍토에 적응하여 오랜 기간 산란 및 산육 겸용종으로 사육되어온 재래가축이고 오랫동안 한국인의 주요 단백질 공급원 중 하나였다. 재래계는 외래계에 비해 지방이 적고 단백질 함량이 높다고 알려져 있다(Kong et al., 2006). 하지만 육용을 목적으로 오랫동안 개량된 외래계인 브로일러(Broiler)에 비해 사료 효율이 낮고 성장이 더디며, 근육발달이 적은 것이 특징이다(Choe, 2010). 이와 같이 성장과 산란 등의 경제성이 낮다는 이유로 대다수의 농장에서는 재래계보다 브로일러의 사육을 선호하고 있으며, 현재는 육용을 목적으로 하는 닭고기 시장에서 재래계를 거의 찾아볼 수 없는 실정이다(Ahn and Park, 2002).

하지만 최근 들어 재래계 특유의 맛을 원하는 소비자들의 요구가 늘어나고 있으며, 더불어 개체 보존의 필요성과 한국 고유의 유전자원으로서의 가치를 인정받아 그 수를 회복하고 있는 중이다.

특히 최근 분자 생물학적 기법이 발달하면서 가축의 유전적 다형성의 확보와 함께 육종 개량, 경제 형질 등에 영향을 미치는 주요 유전자(quantitative trait locus, QTL)의 특성과 관련한 연구가 많이 진행되어 오고 있다. 특히 단일염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNP)은 유전체상에서 약 1,000개의 염기쌍 중 한 개의 빈도로 나타나는 유전자 변이로, 이 SNP에 의한 개체간의 형질 차이에 관한 연구가 많이 진행되고 있다(Bell, 2002; Jeon et al., 2010; Kong et al., 2006; Lee et al., 2014; Oh et al., 2005; Wang and Moulton, 2001).

사람의 20번 염색체에 위치한 *hepatocyte nuclear factor (HNF) 4a* 유전자는 인체 내 췌장의 베타세포, 간세포, 신장 세포 등에 존재하는 전사인자를 암호화하는 유전자로서 포도당의 이동과 대사에 작용하는 여러 단백질의 발현을 조절하고, 췌장 베타세포의 발생과 분화를 조절함으로써 인슐린 분비를 조절하는 것으로 알려져 있다(Kim and Yoo, 2009a). 또한 현재까지 *HNF4a*의 과발현은 간세포의 지방대사와 연관된 많은 유전자를 유도시키는 작용을 한다고 다수의 논문을 통해 보고되어 왔다(Bell et al., 1991; Li et al., 2000; Muller et al., 2005; Sladek et al., 1990; Wang et al., 2000; Yin et al., 2011). 이러한 인슐린분비 조절 기능과 관련된 *HNF4a*는 특히 인체 내의 아미노산, 지방산, 콜레스테롤, 글루코스 대사와 연관된 많은 유전자를 활성화시키는 역할을 하는 것으로도 알려져 있다.

이와 관련하여 Silva 등(2012)은 브로일러를 대상으로

*HNF4a* 유전자의 A543G SNP을 이용하여 닭의 경제형질과의 연관성을 조사하였고 이를 통해 지방 대사 및 날개 발달과 같은 경제형질과의 유의성을 확인한 바 있다(Silva et al., 2013). 그러나 국내에서 본 유전자를 이용하여 한국 재래계를 대상으로 한 연구는 전무한 실정이다. 또한 육계인 브로일러와 산육혼용종인 재래계는 오랜 육종기간동안 다른 사육 가치를 목적으로 개량되어 왔고 두 종간의 유전적 거리의 차이가 존재하기 때문에 한국재래계를 대상으로 *HNF4a* 유전자의 A543G SNP의 영향력을 검증할 필요가 있다고 보여진다. 따라서 본 연구에서는 *HNF4a* 유전자를 이용하여 재래계의 지방발달과 연관있는 경제형질 중 하나인 생체중과의 연관성을 연구하고 브로일러를 대체할 수 있는 유전자원으로서의 역할을 제시하고자 한다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 공시동물

본 연구는 경남과학기술대학교 부설농장에서 사육되고 있는 한국재래계 764수를 공시하였다. SNP 탐색 및 경제형질과의 연관성 분석을 위해 각 개체의 날개 하정맥에서 혈액추출을 진행하였으며, 생시부터 40주에 걸쳐 2-4주 간격으로 체중을 측정하였다.

### 2. Genomic DNA 추출

공시동물의 혈액샘플로부터 gDNA 추출을 위해 1X Red Blood Cell Lysing Buffer(Sigma-Aldrich, USA) 90 $\mu$ l, 적혈구 시료 10 $\mu$ l, 1X SSC 100 $\mu$ l를 각각 첨가한 후 상온에서 10분간 반응하였다. 이렇게 만들어진 혈구 희석액에 G-spin™ Total DNA Extraction Mini Kit(Intron Biotechnology, Korea)를 이용하여 닭의 gDNA를 추출하였다. 이 후의 gDNA 추출 과정은 제품의 표준 절차에 따라 실험을 진행하였다. 추출이 완료된 gDNA는 NanoDrop ND-2000(NanoDrop Technologies, USA)을 이용하여 흡광도를 이용한 농도를 측정하였고, -20 $^{\circ}$ C에 보관하였다.

### 3. *HNF4a* 유전자의 primer 설계 및 합성

재래계의 *HNF4a* 유전자의 A543G SNP 유전자형 확인을 위해 Silva 등(2012)이 연구한 선행논문을 바탕으로 primer sequence를 GeneBank(Accession No. NC\_006107.4)에서 검토하였으며, 실험에 이용된 primer 염기서열 정보는 Table 1에 제시한 바와 같다.

Table 1. Sequences of primer set and annealing temperature for the PCR

	Primer sequences	Annealing Temp. (°C)
Forward	5'-ATT GCC CAG GCC TTC ATA AGG GTA-3'	60
Reverse	5'-AAA TAG AGA CTC GTC ACG GGT GCA-3'	

#### 4. *HNF4a* 유전자의 PCR 증폭

*HNF4a* 유전자형 분석을 위해 총 764수의 재래계 DNA 샘플을 이용하여 PCR 증폭을 진행하였다. PCR은 Veriti® 96-Well Fast Thermal Cycler(Applied Biosystems, USA)를 이용하였으며, 다음과 같은 조건으로 실험하였다. PCR 반응액은 DNA template 50ng, primer 각 5pM, dNTP 0.1mM, MgCl<sub>2</sub> 1.5mM, 10X PCR buffer, Taq DNA polymerase 1U을 첨가한 후 최종 20μl 맞추어 주었다. PCR cycle은 최초 94°C에 10분 변성을 한 뒤, 94°C에서 30초, 60°C에서 30초, 72°C에서 60초 씩 총 35cycle을 반복하였고 마지막으로 72°C에서 10분간 반응을 하였다.

#### 5. PCR-RFLP 분석에 의한 *HNF4a* A543G SNP의 유전자형 확인

앞서 Silva 등(2012)이 발표한 *HNF4a* 유전자의 SNP 유전자형이 재래계에서도 나타나는지 확인하기 위해 PCR-RFLP를 진행하였다. PCR 산물 10μl와 제한효소 *Xho* I (Fermentas Life Sciences, USA) 1U을 이용하고 총량은 30 μl로 정하여 37°C에서 5분 활성화하였다. 얻어진 최종 산물의 확인을 위해 ethidium bromide 용액으로 염색한 2% agarose gel에 Genesta™ DNA ladder(GeneAll Biotechnology, Korea)와 함께 전기영동하고 UV transilluminator를 이용하여 절편의 양상을 분석하였다.

#### 6. 통계분석

공시축의 경제형질 관련 성적에 대한 *HNF4a* 유전자의 SNP 유전자형 분석에서 통계분석은 SAS 9.2 Package(SAS Institute, USA)를 이용하여 PROC GLM 방법으로 통계분석하였으며, SNP 유전자형 효과의 유의성이 나타난 형질에 대해서는 Duncan's multiple range test에 의한 유전자형별 유의성 검정을 실시하였다. 통계분석에 이용한 모형은 다음과 같다.

$$Y_{ij} = \mu + G_i + \varepsilon_{ij}$$

여기서  $Y_{ij}$ 는 경제형질 관측치,  $\mu$ 는 형질의 전체평균,  $G_i$ 는 유전자형 효과,  $\varepsilon_{ij}$ 는 임의오차를 나타낸다.

### III. 결과 및 고찰

사람의 20번 염색체에 위치한 *Hepatocyte nuclear factor (HNF) 4a* 유전자는 췌장 베타세포의 발생, 분화에 중요한 역할을 하는 전사인자로서, 포도당의 이동과 대사에 작용하는 여러 단백질의 발현을 조절하고, 췌장 베타세포의 발생과 분화를 조절함으로써 인슐린분비를 조절하는 것으로 알려져 있다(Kim and Yoo, 2009b). 또한 *HNF4a* 유전자의 변이는 췌장 베타세포의 기능 장애를 일으켜 인슐린의 분비능 장애를 일으키는 당뇨병의 한 형태인 Maturity-onset diabetes of the young(MODY)를 발생시키는 주요 유전자들 중 하나로 알려져 있다. 하지만 *HNF4a* 유전자는 지금까지 사람을 대상으로 한 연구만이 진행되어 왔으며, 당뇨병과 인슐린 관련 기능과의 구명에만 초점이 맞춰져 왔다. 하지만 최근 들어 지방대사와 관련한 연구가 발표되었는데, 특히 Yin 등(2011), Hayhurst 등(2001)은 *HNF4a* 유전자는 사람에게 좋지 않은 지방대사에 관여하는 몇몇 유전자들 중 하나이고, 지방의 이동과 대사과정이 활성화되는데 연관이 있다고 밝힌바 있다. 이에 착안하여 Silva 등(2012)은 육용종 닭 중 하나인 브로일러를 대상으로 한 *HNF4a* 유전자와의 유의성 분석에서 복부지방과 날개 발달의 발현과의 연관성을 증명해낸바 있으며, 2013년에는 추가실험을 통하여 브로일러의 생시체중과 생체중에도 영향을 미친다는 것을 보고한 바 있다(Silva et al., 2013).

닭의 *HNF4a* 유전자는 20번 염색체 내 11,483~12,235bp 사이에 위치하고 있으며, 그 중 A543G SNP은 6번 intron에 위치하고 있다. 본 연구에서는 Silva 등(2012)이 발표한 *HNF4a* 유전자의 A543G SNP 정보를 기초로 하여 한국 재래계에서 SNP을 탐색하였고 더불어 유전적 다형성 및 경제형질과의 연관성을 연구하고 그 결과를 비교분석하였다. 경남과학기술대학교 부설농장에서 사육되고 있는 재래계 764수에 대하여 경제형질과의 연관성을 확인하기 위해 혈액을 채취하고, 생시부터 40주까지 2-4주 간격으로 체중을 측정하였다. 채취가 완료된 각 혈액으로부터 gDNA를 추출하였고, 이 gDNA를 이용하여 *HNF4a* 유전자의 6번

intron의 특정부위를 증폭시켜 PCR 산물을 얻어냈다. PCR 산물의 총 길이는 722bp로 A543G SNP의 유전자형에 따라 3가지 절편이 관측되었다. AA 유전자형은 722bp로 1개의 단편, GG 유전자형은 185, 537bp로 2개의 단편, 마지막으로 AG 유전자형은 185, 537, 722bp의 총 3개 단편으로 구분된다. 절편의 확인은 2% agarose gel을 이용한 전기영동을 수행하였으며, UV 흡광도 측정을 통하여 결과를 판정하였다.

PCR-RFLP 방법으로 분석한 재래계의 SNP 유전자형의 출현 빈도를 살펴보면, AA genotype이 0.47로 가장 높게 나타났으며, AG genotype이 0.43으로 그 뒤를 이었다. 반면 GG genotype은 상대적으로 매우 낮은 빈도(0.1)를 보여주었음을 알 수 있었다. 또한 SNP 대립유전자 빈도를 살펴보면 A 대립유전자가 0.68로 G 대립유전자에 비해 약 두 배 정도의 차이를 보이는 것으로 관측되었다(Table 2).

*HNF4a* 유전자의 A543G SNP의 유전자형이 재래계의 각 주차별 생체중(body weight)에 어떠한 영향을 미치는지 확인하기 위해 연관성 분석을 실시하였다(Table 3, Fig. 1). 본 연구 결과, 생시체중을 포함한 재래계의 모든 일령별 체중에서 AA 유전자형의 측정치가 AG, GG 유전자형보다 높은 값을 보여주었다. 특히 AA 유전자형의 체중 측정값은 GG 유전자형에 비해 약 50% 높은 증가율을 보여주었다. 또한 생시체중을 포함한 모든 주차별 측정값이 유의적으로 높았다( $p < 0.001$ ). 위와 같은 결과는 특히 A 대립유전자가 복부 지방과 생시체중 증체 효과에 영향을 미친다고 보고한 Silva 등(2012, 2013)의 연구결과와도 유사한 것으로 나타나, *HNF4a* 유전자의 A543G SNP이 한국 재래계와 브로일러의 증체량 증가에 있어서 중요한 마커가 될 수 있는 가능성을 확인하였다.

**Table 2. Allele and genotype frequencies for the A543G SNP within *HNF4a* gene in Korean native chickens**

HNF4a	Allele frequency		Genotype frequency		
	A	G	AA	AG	GG
A543G	0.68	0.32	0.47	0.43	0.1

**Table 3. Association of the A543G SNP within *HNF4a* gene with body weight in Korean native chickens**

	Birth weight	BW <sup>1)</sup> 2	BW 4	BW 6
AA	45.29±0.23	193.59±1.39	447.9±3.00	787.96±6.14
AG	43.41±0.27	169.68±1.14	389.38±2.91	674.72±5.87
GG	40.47±0.45	131.9±1.5	282.41±3.39	484.79±5.05
p-value	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
	BW 8	BW 10	BW 12	BW 14
AA	1087.27±8.37	1385.11±9.97	1780.73±12.82	2007.69±15.33
AG	930.45±7.93	1218.82±10.00	1539.66±11.62	1741.01±13.13
GG	672.3±7.22	928.38±9.56	1151.95±11.98	1284.3±13.12
p-value	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
	BW16	BW 18	BW 20	BW 24
AA	2166.06±16.96	2352.37±18.28	2522.85±20.91	2888.78±22.2
AG	1915.35±16.00	2058.38±16.77	2172.28±18.61	2437.82±17.81
GG	1434.38±14.68	1537.71±16.72	1590.1±20.17	1890.43±23.55
p-value	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
	BW 28	BW 32	BW 36	BW 40
AA	2941.59±21.46	2980.89±23.27	2955.3±26.59	3315.12±32.42
AG	2475.25±15.85	2499.9±16.73	2496.68±17.72	2751.04±21.92
GG	2007.59±23.18	1966.06±33.23	1960.31±23.98	2142.57±22.01
p-value	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

<sup>1)</sup>BW means body weight at 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 24, 28, 32, 36, 40 weeks of the age.

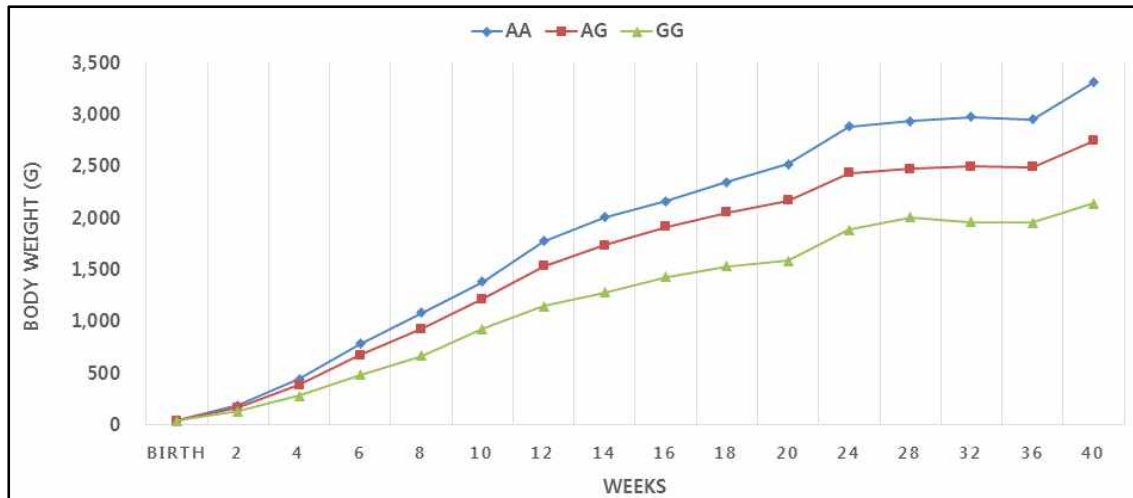


Fig. 1. Body weight change according to the three genotype from birth to 40 weeks

이와 같은 결과를 종합하였을 때, *HNF4a* 유전자의 A543G SNP는 재래계에 있어서 생시체중 및 생체중의 발달에 영향을 미친다는 것을 알 수 있었으며, 경제형질 중 생시체중과 증체량 개선을 위한 선발에 있어서 중요한 후보 유전자 마커가 될 것이라 사료된다.

#### IV. 요약

*HNF4a* 는 지방대사 및 인슐린 분비조절과 연관된 전사 인자를 암호화하는 유전자로 사람에게 있어서 많은 연구를 통해 구조와 역할이 밝혀져 있다. 가금에 있어서는, 외래 육계를 대상으로 *HNF4a* 유전자의 A543G SNP과 닭의 지방 축적 및 날개부위 발달과의 연관성이 보고 된 바 있으나 재래계와 외래계와의 유전적 거리를 감안하였을 때 재래계를 대상으로 SNP마커의 활용성을 검토할 필요가 있다. 본 논문은 *HNF4a* 유전자를 닭의 성장과 연관된 후보 유전자로 선정하였으며 재래계 집단 내에서 *HNF4a* 유전자 A543G SNP의 효과를 확인하고자 하였다. 경남과학기술대학교에서 사육중인 재래계 764수의 혈액으로부터 닭의 DNA를 추출하였으며 생시체중과 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 24, 28, 32, 36, 40주령에 각각 개체의 체중을 측정하여 연관성 분석에 이용하였다. 유전자형 분석은 PCR-RFLP방법을 이용하였으며 얻어진 개체의 유전자형과 성적데이터를 기반으로 통계적인 연관성 분석을 수행하였다. 재래계 집단내에서 *HNF4a* 유전자 g.A543G SNP에 따라 3가지 유전자형(AA, AG, GG)으로 구분되었으며 AA 유전자형을 가진 그룹이 다른 두 유전자형 그룹보다 체중이 높게 나타났으며 유전자 변이와 체중간의 매우 유의적

인 차이를 확인 할 수 있었다( $p < 0.001$ ). 따라서 본 논문은 *HNF4a* 유전자상에 존재하는 A543G 유전자변이가 기존의 통계육종의 보조적인 수단으로서 한국재래계의 개체선발에 도움이 될 수 있을 것이라 제안하는 바이다.

#### 사사

본 논문은 Golden Seed Project 종축사업(과제 번호: PJ0099252016)의 지원으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

#### V. REFERENCES

1. Ahn, D. H. and Park, S. Y. 2002. Studies on Components Related to Taste such as free amino acids and nucleotides in Korean native chicken Meat. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 31(4):547-552.
2. Bell, G. I., Xiang, K. S., Newman, M. V., Wu, S. H., Wright, L. G., Fajans, S. S., Spielman, R. S. and Cox, N. J. 1991. Gene for non-insulin-dependent diabetes mellitus (maturity-onset diabetes of the young subtype) is linked to DNA polymorphism on human chromosome 20q. Proc. Natl. Acad. Sci. 88(4):1484-1488.
3. Bell, J. I. 2002. Single nucleotide polymorphism and disease gene mapping. Arthritis Res. 4(3):S273-S278.
4. Choe, J. H., Nam, K. C., Jung, S., Kim, B. N., Yun, H. J. and Jo, C. R. 2010. Differences in the quality

- characteristics between commercial Korean native chickens and Broilers. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* 30(1):13-19.
5. Hayhurst, G. P., Lee, Y. H., Lambert, G., Ward, J. M. and Gonzalez, F. J. 2001. Hepatocyte nuclear factor 4 $\alpha$  (nuclear receptor 2A1) is essential for maintenance of hepatic gene expression and lipid homeostasis. *Mol. Cell. Biol.* 21(4):1393-1403.
  6. Jeon, H. J., Choe, J. H., Jung, Y. K., Kruk, Z. A. Lim, D. G. and Jo, C. R. 2010. Comparison of the chemical composition, textural characteristics, and sensory properties of North and South Korean native chickens and commercial Broilers. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* 30(2):171-178.
  7. Kong, H. S., Oh, J. D., Lee, J. K., Jo, J., Sang, B. D., Choi, C. H., Kim, S. D., Lee, S. J., Yeon, S. H., Jeon, J. G. and Lee, H. K. 2006. Genetic variation and relationships of Korean native chicken and foreign breeds using 15 microsatellite markers. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 19(11):1546-1550.
  8. Kim, S. W. and Yoo, M. 2009a. Association of hepatocyte nuclear factor-4 $\alpha$  polymorphisms with type 2 diabetes in Koreans. *J. Life Sci.* 19(3):362-365.
  9. Kim, S. W. and Yoo, M. 2009b. Association of Hepatocyte Nuclear Factor-4 $\alpha$  (HNF-4 $\alpha$ ) Polymorphisms (rs1884614) with type 2 diabetes in Korean population. *Biomed. Sci. Lett.* 15(1):101-103.
  10. Li, J., Ning, G. and Duncan, S. A. 2000. Mammalian hepatocyte differentiation requires the transcription factor HNF-4 $\alpha$ . *Genes Dev.* 14:464-474.
  11. Lee, J. Y., Choi, S. Y., Kim, C. D., Hong, Y. H., Jeong, D. K. and Lee, S. J. 2014. Effects of c.494A>C and c.267T>G SNPs in *OCX-32* gene of Korean native chicken on egg production traits. *Korean J. Poult. Sci.* 41(3):191-196.
  12. Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs. 2016. Major Statistics for Agricultural Product 2016.
  13. Muller, Y. L., Indante, A. M., Hanson, R. L., Love-Gregory, L., Knowler, W., Bogardus, C. and Baier, L. J. 2005. Variants in hepatocyte nuclear factor 4 $\alpha$  are modestly associated with type 2 diabetes in Pima Indians. *Diabetes.* 54(10):3035-3039.
  14. Oh, S. D., Lee, J. H., Hong, Y. S., Lee, S. J., Lee, S. G., Kong, H. S., Sang, B. D., Choi, S. H., Cho, B. W., Jeon, G. J. and Lee, H. K. 2005. The +1316 T/T genotype in the exon 3 of uncoupling protein gene is associated with daily percent lay in Korean native chicken. *Korean J. Poult. Sci.* 32(4):239-244.
  15. Sladek, F. M., Zhong, W. M., Lai, E. and Darnell, J. E. 1990. Liver-enriched transcription factor HNF-4 is a novel member of the steroid hormone receptor superfamily. *Genes Dev.* 4(12b):2353-2365.
  16. Silva, V. H., Pandolfi, J. R. C., Godoy, T. F., Peixoto, J. O., Tessmann, A. L. and Ledur, M. C. 2012. A SNP in the hepatocyte nuclear factor 4 gene associated with carcass traits in males from a paternal Broiler line. *Worlds Poult. Sci. J. suppl.* 1, GB\_2012sp96\_1.
  17. Silva, V. H., Pandolfi, J. R. C., Godoy, T. F., Peixoto, J. O., Tessmann, A. L., Cantão, M. E. and Ledur, M. C. 2013. Hepatocyte nuclear factor 4 gene associated with bone traits and birth weight in male chickens. *Proceeding of Brazilian-International Congress of Genetics, Brazil*, p.27.
  18. Wang, H., Malchler, P., Antiriozzi, P. A., Hanenfeldt, K. A. and Wollheim, C. B. 2000. Hepatocyte nuclear factor 4 $\alpha$  regulates the expression of pancreatic  $\beta$ -cell genes implicated in glucose metabolism and nutrient-induced insulin secretion. *J. Biol. Chem.* 275(46):35953-35959.
  19. Wang, Z. and Moutl, J. 2001. SNPs, Protein structure, and disease. *Hum Mutat.* 17:263-270.
  20. Yin, L., Ma, H., Ge, X., Edwards, P. A. and Zhang, Y. 2011. Hepatic hepatocyte nuclear factor 4 $\alpha$  is essential for maintaining triglyceride and cholesterol homeostasis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 31(2):328-336.
- (Received 08 September 2016, Revised 21 September 2016, Accepted 22 September 2016)