(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0050614
(43) 공개일자 2015년05월11일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12Q 1/68 (2006.01) *C12N 15/11* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2013-0129028
(22) 출원일자 2013년10월29일
심사청구일자 2013년10월29일

(71) 출원인
경상대학교산학협력단
경상남도 진주시 진주대로 501 (가좌동)
대한민국(농촌진흥청장)
전라북도 전주시 완산구 농생명로 300 (중동)
(72) 발명자
임현태
대전 유성구 문화원로 13, 111동 303호 (장대동, 드림월드아파트)
이재봉
경상남도 진주시 신안들말길 47, 211동 1002호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
한윤호, 양기혁, 이인행, 김남식

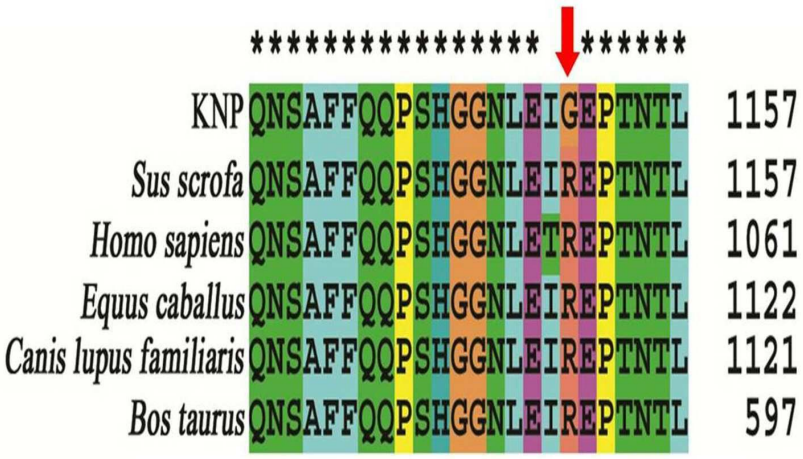
전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 발명의 명칭 **새로운 돼지 등지방두께 진단용 바이오마커 및 그의 선별방법**

(57) 요 약

본 발명은 바이오마커에 관한 것으로 더 상세하게는 서열번호 1의 핵산서열을 갖는 폴리뉴클레오티드에서, 205번째 염기가 G 또는 G인 단일 핵산 다형(SNP)을 검출할 수 있는 검출수단을 포함하는 돼지 등지방 두께 예측용 키트를 제공한다.

대 표 도 - 도3



(72) 발명자

유채경

경상남도 통영시 새미골1길 13-12 (도천동)

정은지

경상남도 사천시 사천읍 선평길 11-44,
평화연립(201호)

박희복

경상남도 진주시 가좌동 143-10번지 302호

조인철

제주 제주시 산록북로 593-50, (오등동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2013-0144
부처명	농촌진흥청
연구관리전문기관	농촌진흥청
연구사업명	차세대 바이오그린 21사업
연구과제명	제주재래흑돼지 기반 참조축군의 강건성과 스트레스 연관 후보유전자 발굴 및 마커 선발
기 여 율	1/1
주관기관	경상대학교
연구기간	2011.05.01 ~ 2014.12.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

서열번호 1의 핵산서열을 갖는 폴리뉴클레오티드에서, 205번째 염기가 G 또는 C인 단일 핵산 다형(SNP)를 검출할 수 있는 검출수단을 포함하는 돼지 등지방 두께 예측용 키트.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 검출수단은 상기 폴리뉴클레오티드에 특이적인 프로브 또는 프라이머 쌍인, 키트.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 프라이머 쌍은 서열번호 2의 핵산서열을 갖는 포워드 프라이머 및 서열번호 3의 핵산서열을 갖는 리버스 프라이머로 구성되는, 키트.

청구항 4

돼지로부터 게놈 DNA를 추출하는 게놈 DNA 추출단계;

상기 게놈 DNA를 대상으로 PCR 반응을 통해 GRIP1을 암호화하는 게놈 핵산분자를 증폭하는 단계; 및

서열번호 1의 핵산서열을 갖는 폴리뉴클레오티드에서 205번째 염기가 G인지 또는 C인지 확인하는 단계를 포함하는 돼지 등지방 두께 예측 방법.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 205번째 염기가 C인 경우, 등지방 두께가 두꺼울 것으로 예측 단계를 추가적으로 포함하는, 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 바이오마커에 관한 것으로 더 상세하게는 새로운 돼지 등지방두께 진단용 바이오마커 및 그의 선별방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 가축 육종은 능력이 우수한 개체를 선발하고 선발된 가축을 이용하여 후대를 생산하고, 다시 이들 후대의 능력을 검정하여 우수한 가축을 선발하는 일련의 과정을 반복하여 수행하고 있다. 기존의 경우 통계적 방법에 따라 가축이 사육과정에서 발현되는 표현형 정보를 바탕으로 육종가치를 추정하고 이를 근거로 선발하는 것을 기본으로 설정되어 왔다. 따라서, 사람들에게 보다 효용성이 높은 가축을 얻기 위해서는 다음 세대의 가축을 생산하는데 쓰일 우수한 종축(breeding stock)을 잘 선발(selection)하여야 한다. 선발을 통한 개량 대상으로 하는 가축의 형질(산유량, 체중 등)은 대부분 많은 수의 유전자에 의해 영향을 받는 양적 형질(quantitative trait)이다. 양적 형질은 일반적으로 많은 수의 유전자에 의하여 영향을 받을 뿐만 아니라 여러 가지 환경요인에 의해서도 상당히 영향을 받는다. 따라서 양적 형질에 있어서는 이에 영향하는 개별적인 유전자 작용이나 특성과 같은 것을 구명하는 것이 질적 형질(qualitative trait)보다 극히 곤란하다. 때문에, 양적 형질의 유전을 연구하는데 통계적 방법이 강력한 수단으로 사용되고 있으며 양적 형질에 영향하는 유전적 요인을 여러 환경 요인으로부터 분리하여 효과적으로 추정하고자 하는 연구가 여러 학자들에 의해 수행되어 왔다. 가축 개량을 위한분자 유전학

적 기법의 이용은 DNA 수준에서의 개체의 유전적 소질에 대한 연구를 가능토록 할 수 있을 것이며, 개량 대상형질에 관련된 유전자, 즉 주유전자(major gene) 혹은 양적 형질 유전자좌위(QTL: Quantitative Trait Loci)에 대한 직접적인 선발 혹은 양적 형질 유전자좌위(QTL)에 연관되어 있는 유전적 표지(genetic marker)에 대한 선발을 통해 유전적 소질을 실현시킬 수 있는 도구를 제공할 수 있다. 표현형 정보에만 의존하는 것이 아니라 분자 유전학적인 정보의 추가적인 이용을 통해 유전적 개량을 보다 가속화할 수 있을 것이다. DNA 수준에서의 정보는 생산자뿐만 아니라 육종가들에게도 특정한 주요 변이체를 선발하는데 중요한 정보를 제공해준다. 이러한 DNA 정보는 표지인자 도움 선발(marker-assisted selection; MAS)이라고 하는 양적 형질(quantitative trait)의 선발에 활용될 수 있다. 또한, 분자표지인자는 종축 등의 선발 정확도를 높이고 성별에 제한적인 형질의 선별할 수 있게 하며, 육질과 같은 도체 형질에 대해서 매우 유용하게 활용될 수 있다. 현재까지 몇몇 유전자 또는 표지인자가 실제로 양돈 산업에 활용되고 있다. 지금까지는 종돈을 선발하기 위한 기존 방법으로서 단지 표현형 값에 근거하는 선발 지수식을 사용하였다. 그러나, 최근 분자 표지인자를 활용한 변이체의 선발 또는 도태가 단일 유전자에 의하여 조절되는 형질뿐만 아니라 양적 유전좌위(quantitative trait loci, QTL)에 의해 조절되는 형질에서도 표지인자 도움 선발 (MAS)이 효과적으로 활용될 수 있다는 것이 시뮬레이션을 통해 확인되어 보고되고 있다. 종돈에 있어서 생산성과 관계되는 형질, 즉 경제형질은 복당산자수, 이유두수, 일당증체량, 사료요구율, 등지방 두께, 도체율, 정육율, 체형 및 내구성(연산성)등이 있다. 등지방 두께과 같은 산육 및 도체 형질과 체형에 관련된 형질은 부계라인으로 유전력이 높으며, 등지방 두께의 유전력은 40~55%이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0003] 그러나, 아직까지 분자표지를 이용한 예측용 바이오마커의 개발은 초기단계에 있다. 이에 본 발명은 등지방 두께 예측용 바이오마커에 관한 것으로서, 신규 돼지 등지방 두께 예측용 바이오마커 및 이를 이용한 돼지 등지방 두께의 예측방법을 제공하는 것을 목적으로 한다. 그러나 이러한 과제는 예시적인 것으로, 이에 의해 본 발명의 범위가 한정되는 것은 아니다.

과제의 해결 수단

[0004] 본 발명자들은 돼지 종돈 선발 시 표지인자 도움 선발(marker-assisted selection, MAS)에 활용할 수 있는 돼지 등지방 두께 예측용 바이오마커를 개발하기 위하여 노력을 계속한 결과, 돼지의 GRIP1(Glutamate receptor interacting protein1) 유전자의 과오돌연변이(missense mutation)와 등지방 두께(Back fat thickness, BFT)와 연관이 있음을 확인하였다.

[0005] 본 발명의 일 관점에 따르면, 서열번호 1의 핵산서열을 갖는 폴리뉴클레오티드에서, 205번째 염기가 G 또는 C인 단일 핵산 다형(SNP)를 검출할 수 있는 검출수단을 포함하는 돼지 등지방 두께 예측용 키트가 제공된다.

[0006] 상기 키트에 있어서, 상기 검출수단은 상기 SNP를 검출할 수 있는 프로브 또는 상기 폴리뉴클레오티드를 증폭할 수 있는 프라이머 쌍일 수 있고, 상기 프라이머 쌍은 서열번호 2의 핵산서열을 갖는 포워드 프라이머 및 서열번호 3의 핵산서열을 갖는 리버스 프라이머로 구성될 수 있다.

[0007] 본 발명의 일 관점에 따르면, 돼지로부터 게놈 DNA를 추출하는 게놈 DNA 추출단계;

[0008] 상기 게놈 DNA를 대상으로 PCR 반응을 통해 GRIP1을 암호화하는 게놈 핵산분자를 증폭하는 단계; 및

[0009] 서열번호 1의 핵산서열을 갖는 폴리뉴클레오티드에서 205번째 염기가 G인지 또는 C인지 확인하는 단계를 포함하는 돼지 등지방 두께 예측 방법이 제공된다.

[0010] 상기 방법에 있어서, 상기 205번째 염기가 C일 경우 등지방 두께가 두꺼울 것으로 예측하는 단계가 추가적으로 포함될 수 있다.

발명의 효과

[0011] 상기한 바와 같이 이루어진 본 발명의 일 실시예에 따르면, 등지방 두께는 현재 도체 등급을 평가하는 중요한 요인 중의 하나이므로 우수 종돈의 국내 육성에 크게 기여할 수 있다. 따라서 종축 개량에 있어서 세계적인 추세에 따라 본 발명의 새로운 돼지 등지방두께 진단용 바이오마커는 돼지 선발에 유전적 DNA 마커로서 매우 효과적이다. 물론 이러한 효과에 의해 본 발명의 범위가 한정되는 것은 아니다.

도면의 간단한 설명

[0012] 도 1a 내지 1g는 본 발명의 일 실시예에 따른 랜드레이스(Landrace)와 한국재래돼지(KNP)의 F2 잡종교배 집단의 GRIP1 유전자에 대한 염기서열 결정 결과 나타난 8 개의 엑손성 단일염기 다형성(SNP, single nucleotide polymorphism)의 위치 및 종류를 기준 핵산서열인 GenBank 등록번호 XM_005663960.1에 개시된 핵산서열과 비교하여 나타낸 정렬도이다.

도 2a 내지 2c는 본 발명의 일 실시예에 따른 랜드레이스(Landrace)와 한국재래돼지(KNP)의 F2 잡종교배 집단의 GRIP1 유전자에 대한 염기서열 결정 결과 나타난 8 개의 엑손성 SNP를 반영한 유전자로부터 암호화된 GRIP1 단백질의 아미노산 서열을 기준 아미노산 서열인 GenPept 등록번호 XP_005664017.1에 개시된 아미노산 서열과 비교하여 나타낸 정렬도이다.

도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 GRIP1 단백질의 아미노산 변이 부분을 포함하는 아미노산 서열과 다른 종의 GRIP1 단백질의 아미노산 서열과의 비교를 나타낸 아미노산 정렬도이다. 유전자의 다중 정렬한 결과를 나타낸 그림이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0013] 이하, 실시예 및 실험예를 통해 발명을 상세히 설명한다. 그러나 본 발명은 이하에서 개시되는 실시예 및 실험예에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 수 있는 것으로, 이하 실시예 및 실험예는 본 발명의 개시가 완전하도록 하며, 통상의 지식을 가진 자에게 발명의 범주를 완전히 알려주기 위해 제공되는 것이다.

[0014] **실시예 1: 다형성 검출 및 유전자형(genotyping) 분석**

[0015] 본 발명에서는 GRIP1의 엑손 내의 단일염기다형성(SNP) 마커와 돼지 등지방 두께 관련 형질 간의 관계를 조사하였으며, 랜드레이스(Landrace)와 한국재래돼지(KNP)의 F2 잡종교배 집단을 사용하여, GRIP1 유전자와 등지방 두께 형질의 관계를 평가하는 위치적 후보 유전자(positional candidate gene)의 분석을 수행하였다. 본 발명자에 의한 종래 연구에서 SSC5에 등지방 두께(BFT) 형질에 영향을 미치는 양적 형질 유전자좌위(quantitative trait loci; QTL) 영역(SW1482-SW963)은 GRIP1 유전자를 포함하고 있음을 확인하였다(Yoo *et al., Mol. Biol. Rep.*, 39: 8327-3833, 2012).

[0016] SNP 마커를 검출을 위해 F2의 잡종교배에 사용된 랜드레이스(n=5)와 KNP (n=5)의 게놈 DNA 샘플은 GRIP1 유전자(GenBank Accession No.XM_005663960.1)를 포함하여 전체 게놈을 HiSeq2000 시퀀싱기술(Illumina Inc., 미국)로 재염기서열결정(resequenced)하였다. 그 결과, 돼지 GRIP1 유전자의 cDNA 서열에서 총 8개의 엑손성 SNP 마커를 동정하였고, 상기 8개의 SNP마커는 파이로시퀀싱(pyrosequencing) 방법(Biotage AB, 스웨덴)으로 확인하였다(도 1). 파이로시퀀싱을 위한 프라이머 서열은 표 1과 같다. 이들 중 하나의 비동의 SNP 마커(non-synonymous SNP marker)[c.3451 C> G (G1151R), 서열번호 1]를 확인하였으며(도 2), 상기 SNP는 NCBI SNP 데이터베이스에서 등록번호 rs342221788로 등록된 공지의 SNP임을 확인하였다. 상기 서열번호 1은 돼지 GRIP1 유전자의 엑손 23의 핵산서열의 일부이다. 이에 본 발명자들은 전체 F2 산자(N=1,105)를 대상으로 상기 SNP마커의 유전자형(genotyping)을 파이로시퀀싱 방법을 사용하여 분석하였다. 상기 c.3451 C>G SNP의 유전자형과 소수 대립유전자 빈도(minor allele frequency)는 표 2에 나타난 바와 같다.

표 1

[0017] GRIP1 유전자에서 엑손 시퀀스 변형을 위한 파이로시퀀싱 프라이머 세트

SNP No.	부위	염기서열	서열 번호	크기 (bp)	온도 (℃)
1	exon23	5'-CCCTGTGCTTGCAGTTAATG-3'	2	331	66
		5'-biotin-GACTTCGACTGCTGCCTTGTT-3'	3		
		Seq:5'-CTATAATGTATTAGTGGGTTC-3'	4		
*2	exon18	5'-CCCCAATGACAAATTTCCTG-3'	5	239	63
		5'-biotin-AAGCCCAGTCAGCATCAAGT-3'	6		
*3	exon18	Seq:5'-ACCTTGATTCCCATAGCTGG-3'	7		
4	exon15	5'-TCACACTGCTGGAGGATCTG-3'	8	258	63
		5'-biotin-ACTGGCAAACAAGGGATTTG-3'	9		
		Seq:5'-CATGGAGCAATTGTCCAGC-3'	10		

5	exon13	5'-CTGGCTCCACATCTCCGTAT-3'	11	285	63
		5'-biotin-TGACTGATGCTCCATTCTTCC-3'	12		
		Seq:5'-CACTGCTCGGGATGACAG-3'	13		
6	exon12	5'-CTGTTGTTCCTCCCCCATC-3'	14	271	63
		5'-biotin-CAACCTGTAACATGTGGTTCTAAA-3'	15		
		Seq:5'-GACAGAGTGCTGGCCATTA-3'	16		
7	exon8	5'-TTGCGAAAAGAAGGCACTTT-3'	17	273	63
		5'-biotin-AGACCGACATCAGGCTGAAC-3'	18		
		Seq:5'-ACTTCCACTAGGAGTGGCC-3'	19		
8	exon4	5'-CCTGGGCTTGTATGCTCATC-3'	20	295	63
		5'-biotin-GGCAAAAATACGGTGCATCT-3'	21		
		Seq:5'-AACCTGGCCAAATTCCGCC-3'	22		
내부 시퀀싱 프라이머					
*SNP No. 2및 3은 단일 내부 시퀀싱 프라이머를 사용하여 스크리닝함					

표 2

[0018] GRIP1 유전자의 과오돌연변이(missense mutation)의 유전자형 빈도와 MAF

SNP	부위	유전자형 빈도(동물의 수)			MAF
c.3163 C>G (G1055R)	exon23	CC (219)	CG (652)	GG (355)	0.3966
		0.1786	0.5318	0.2896	

[0019] **실시예2: 연관 규칙 분석(Association analysis)**

[0020] 네 가지 등지방 형질(BF traits)는 1,010두 이상의 F2 동물에서 측정하였다(표 3). 가족 연관(familial relatedness)을 산출하기 위해, 본 발명에서 혼합효과모형(mixed-effect model)을 F2 잡종 교배 집단에서 SNP 유전자형[c.3451 C>G (G1151R)], 성, 산차(parity), 배치(batch) 및 도체중량(carcass weight)의 임의요인(random effect)와 고정요인(fixed effect)으로서 다유전자성 동물효과(polygenic animal effect) 이용 모델을 가지고 ASREML(VSN international, 영국)을 이용하여 SNP 마커와 등지방 두께 형질 사이의 연관성을 분석하였다. 상기 SNP 마커는 BFT($P = 9.814 \times 10^{-14}$), 4번과 5번 흉추 사이의 BFT($P = 1.474 \times 10^{-3}$), 11번과 12번 흉추 사이의 BFT($P = 4.739 \times 10^{-5}$), 마지막 흉추와 첫번째 요추의 BFT($P = 2.031 \times 10^{-12}$)와 연관되었음이 확인되었다(표 3). KNP와 랜드레이스의 F2 잡종교배에서 GRIP1 유전자의 과오돌연변이[c.3451 C>G (G1151R)]와 BFT 사이의 연관분석을 통한 통계, 유전자형-값 및 P-값을 나타낸 것이다(표 3).

표 3

[0021] GRIP1 유전자 과오돌연변이와 BFT 사이의 연관분석

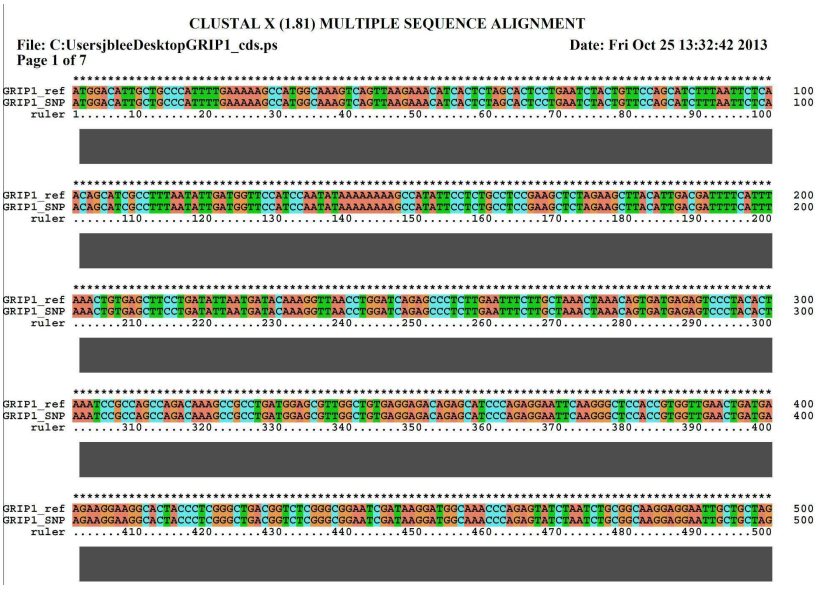
형질	[a]N	평균 (SE)	범위	[b]CC (SE)	[b]CG (SE)	[b]GG (SE)	P-값
BFT (mm)[c]	1,014	22.93 (0.22)	6-48	25.00 (0.90)	23.36 (0.85)	21.56 (0.87)	9.81×10^{-14}
4번과 5번 흉추 사이의 BFT (mm)	1,046	34.02 (0.24)	7-60	35.23 (0.92)	34.47 (0.86)	33.36 (0.89)	1.47×10^{-3}
11번과 12번 흉추 사이의 BFT (mm)	1,046	27.99 (0.23)	5-55	29.25 (0.97)	28.42 (0.92)	27.13 (0.94)	4.74×10^{-5}
마지막 흉추와 첫번째 요추의 BFT(mm)	1,046	26.15 (0.22)	5-49	27.73 (0.89)	26.93 (0.84)	24.63 (0.87)	2.03×10^{-12}
a는 동물의 수, b는 예측된 유전자형 평균값과 혼합효과모형 분석으로부터 획득한 SE, c는 등지방두께=[(11번과 12번 흉추 사이의 BFT)+(마지막 흉추와 첫번째 요추의 BFT)]/2.							

[0022] 표 3에서 나타난 바와 같이, 등지방 두께 형질과 함께 GRIP1 유전자 [c.3451 C>G (G1151R)]가 과오돌연변이(missense mutation)에 연관되어 있고, 특히 유전자형 CC를 갖는 경우 등지방이 더 두꺼움을 알 수 있었다. 결국 기능적인 측면에서 보자면, 엑손 23에 글리신(GGA)에서 아르기닌(CGA)로의 변화는 GRIP1 유전자의 기능에 영향을 주어, 등지방 두께에 영향을 주는 것으로 보인다.

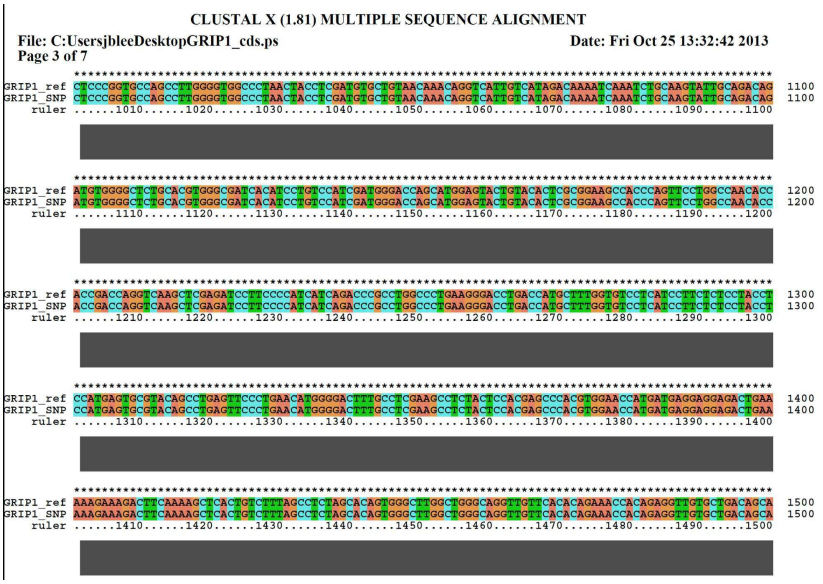
[0023] 아울러, 본 발명자들은 상기 SNP 마커의 중요성을 평가하기 위해 KNP 돼지 GRIP1의 아미노산 서열뿐 만 아니라 인간(NP_001171545.1), 말(XP_001492766.3), 개(XP_003431500.1), 소(XP_603945.5), 돼지(XP_003355559.1)의 단백질을 대상으로 Clustal X.를 이용하여 다중 단백질 서열 정렬분석(multiple protein sequence alignment analysis)을 수행하였다. 그 결과, 도 3에서 나타난 바와 같이, c.3451 C>G (G1151R) 과오돌연변이에서 R은 KNP를 제외한 다른 다양한 종에서 높은 수준으로 보존되어 있고, 따라서, 상기 SNP가 GRIP1 유전자에 있어서 잠재적으로 중요한 역할을 수행함을 시사한다.

도면

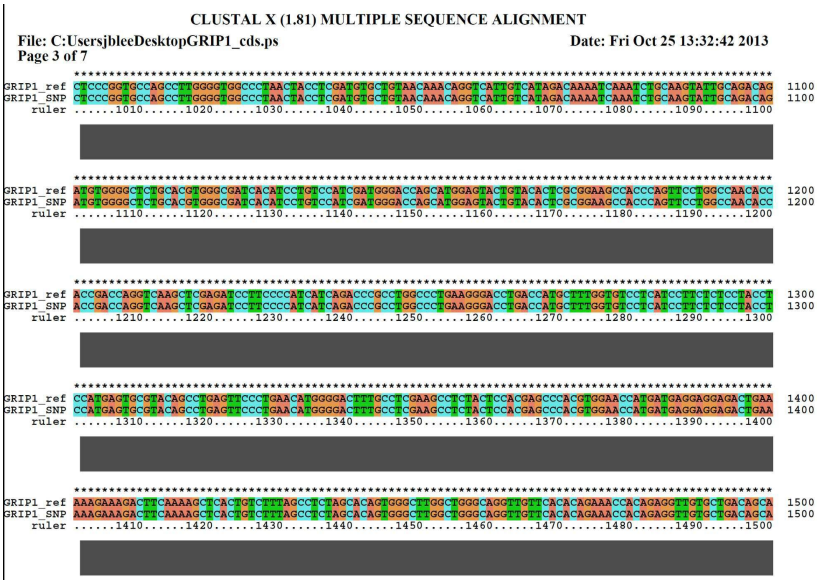
도면1a



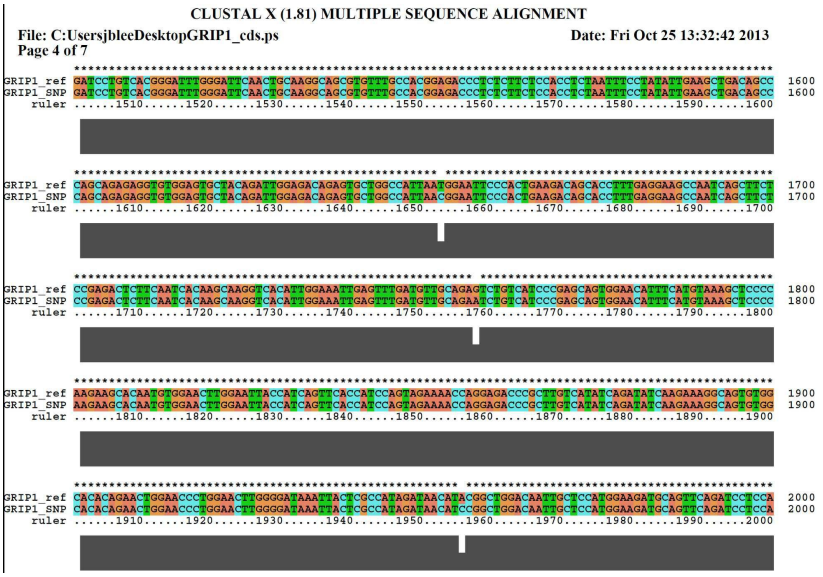
도면1b


CLUSTAL X (1.81) MULTIPLE SEQUENCE ALIGNMENT
File: C:UsersjbleeDesktopGRIP1_cds.ps
Date: Fri Oct 25 13:32:42 2013
Page 3 of 7
GRIP1_ref CTCCCGGTGCCAGCCTTGGGGTGGCCCTAACTACCTCGATGTGCTGTAACAAACAGGTCATTGTCATAGACAAAATCAAATCTGCAAGTATTGCAGACAG 1100
GRIP1_SNP CTCCCGGTGCCAGCCTTGGGGTGGCCCTAACTACCTCGATGTGCTGTAACAAACAGGTCATTGTCATAGACAAAATCAAATCTGCAAGTATTGCAGACAG 1100
ruler .....1010.....1020.....1030.....1040.....1050.....1060.....1070.....1080.....1090.....1100
GRIP1_ref ATGTGGGGCTCTGCACGTGGGCGATCACATCCTGTCCATCGATGGGACCAGCATGGAGTACTGTACACTCGCGGAAGCCACCCAGTTCCTGGCCAACACC 1200
GRIP1_SNP ATGTGGGGCTCTGCACGTGGGCGATCACATCCTGTCCATCGATGGGACCAGCATGGAGTACTGTACACTCGCGGAAGCCACCCAGTTCCTGGCCAACACC 1200
ruler .....1110.....1120.....1130.....1140.....1150.....1160.....1170.....1180.....1190.....1200
GRIP1_ref ACCGACCAGGTCAAGCTCGAGATCCTTCCCCATCATCAGACCCGCCTGGCCCTGAAGGGACCTGACCATGCTTTGGTGTCCTCATCCTTCTCTCCTACCT 1300
GRIP1_SNP ACCGACCAGGTCAAGCTCGAGATCCTTCCCCATCATCAGACCCGCCTGGCCCTGAAGGGACCTGACCATGCTTTGGTGTCCTCATCCTTCTCTCCTACCT 1300
ruler .....1210.....1220.....1230.....1240.....1250.....1260.....1270.....1280.....1290.....1300
GRIP1_ref CCATGAGTGCGTACAGCCTGAGTTCCCTGAACATGGGGACTTTGCCTCGAAGCCTCTACTCCACGAGCCCACGTGGAACCATGATGAGGAGGAGACTGAA 1400
GRIP1_SNP CCATGAGTGCGTACAGCCTGAGTTCCCTGAACATGGGGACTTTGCCTCGAAGCCTCTACTCCACGAGCCCACGTGGAACCATGATGAGGAGGAGACTGAA 1400
ruler .....1310.....1320.....1330.....1340.....1350.....1360.....1370.....1380.....1390.....1400
GRIP1_ref AAAGAAAGACTTCAAAAGCTCACTGTCTTTAGCCTCTAGCACAGTGGGCTTGGCTGGGCAGGTTGTTCACACAGAAACCACAGAGGTTGTGCTGACAGCA 1500
GRIP1_SNP AAAGAAAGACTTCAAAAGCTCACTGTCTTTAGCCTCTAGCACAGTGGGCTTGGCTGGGCAGGTTGTTCACACAGAAACCACAGAGGTTGTGCTGACAGCA 1500
ruler .....1410.....1420.....1430.....1440.....1450.....1460.....1470.....1480.....1490.....1500

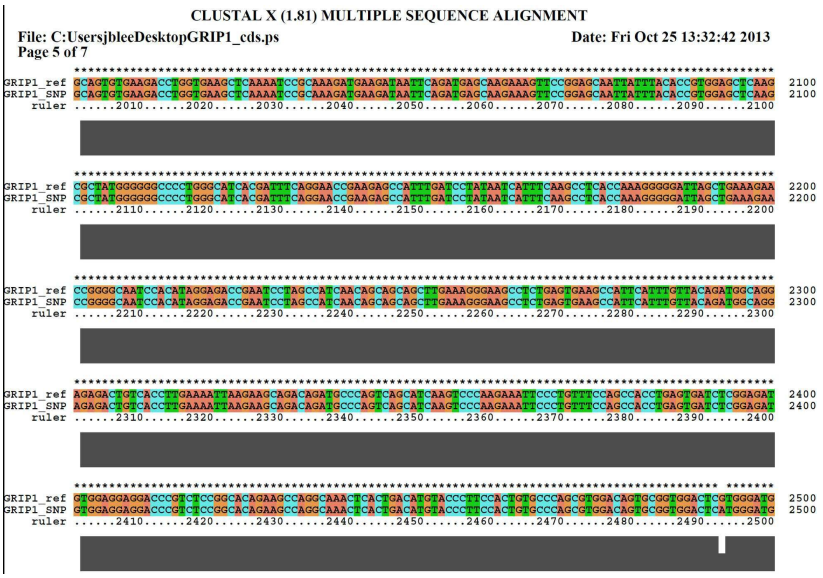
도면1c


CLUSTAL X (1.81) MULTIPLE SEQUENCE ALIGNMENT
File: C:UsersjbleeDesktopGRIP1_cds.ps
Date: Fri Oct 25 13:32:42 2013
Page 3 of 7
GRIP1_ref CTCCCGGTGCCAGCCTTGGGGTGGCCCTAACTACCTCGATGTGCTGTAACAAACAGGTCATTGTCATAGACAAAATCAAATCTGCAAGTATTGCAGACAG 1100
GRIP1_SNP CTCCCGGTGCCAGCCTTGGGGTGGCCCTAACTACCTCGATGTGCTGTAACAAACAGGTCATTGTCATAGACAAAATCAAATCTGCAAGTATTGCAGACAG 1100
ruler .....1010.....1020.....1030.....1040.....1050.....1060.....1070.....1080.....1090.....1100
GRIP1_ref ATGTGGGGCTCTGCACGTGGGCGATCACATCCTGTCCATCGATGGGACCAGCATGGAGTACTGTACACTCGCGGAAGCCACCCAGTTCCTGGCCAACACC 1200
GRIP1_SNP ATGTGGGGCTCTGCACGTGGGCGATCACATCCTGTCCATCGATGGGACCAGCATGGAGTACTGTACACTCGCGGAAGCCACCCAGTTCCTGGCCAACACC 1200
ruler .....1110.....1120.....1130.....1140.....1150.....1160.....1170.....1180.....1190.....1200
GRIP1_ref ACCGACCAGGTCAAGCTCGAGATCCTTCCCCATCATCAGACCCGCCTGGCCCTGAAGGGACCTGACCATGCTTTGGTGTCCTCATCCTTCTCTCCTACCT 1300
GRIP1_SNP ACCGACCAGGTCAAGCTCGAGATCCTTCCCCATCATCAGACCCGCCTGGCCCTGAAGGGACCTGACCATGCTTTGGTGTCCTCATCCTTCTCTCCTACCT 1300
ruler .....1210.....1220.....1230.....1240.....1250.....1260.....1270.....1280.....1290.....1300
GRIP1_ref CCATGAGTGCGTACAGCCTGAGTTCCCTGAACATGGGGACTTTGCCTCGAAGCCTCTACTCCACGAGCCCACGTGGAACCATGATGAGGAGGAGACTGAA 1400
GRIP1_SNP CCATGAGTGCGTACAGCCTGAGTTCCCTGAACATGGGGACTTTGCCTCGAAGCCTCTACTCCACGAGCCCACGTGGAACCATGATGAGGAGGAGACTGAA 1400
ruler .....1310.....1320.....1330.....1340.....1350.....1360.....1370.....1380.....1390.....1400
GRIP1_ref AAAGAAAGACTTCAAAAGCTCACTGTCTTTAGCCTCTAGCACAGTGGGCTTGGCTGGGCAGGTTGTTCACACAGAAACCACAGAGGTTGTGCTGACAGCA 1500
GRIP1_SNP AAAGAAAGACTTCAAAAGCTCACTGTCTTTAGCCTCTAGCACAGTGGGCTTGGCTGGGCAGGTTGTTCACACAGAAACCACAGAGGTTGTGCTGACAGCA 1500
ruler .....1410.....1420.....1430.....1440.....1450.....1460.....1470.....1480.....1490.....1500

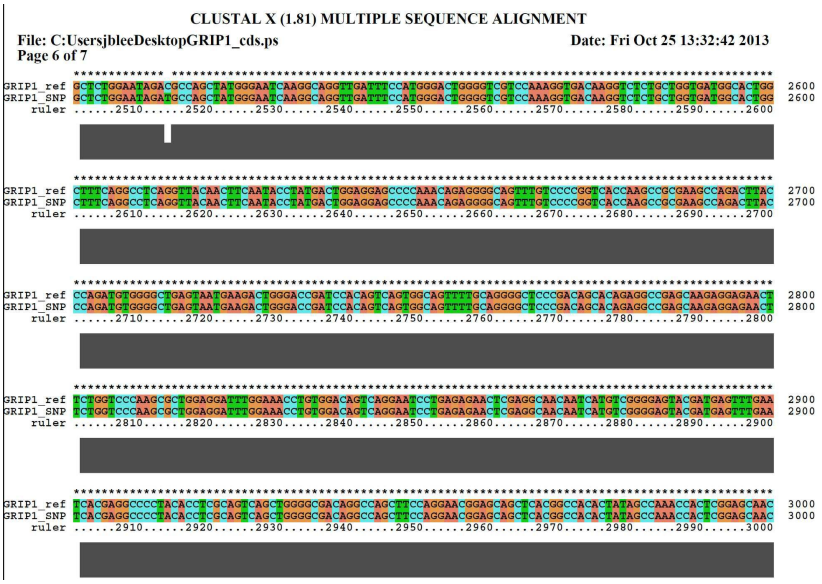
도면1d


CLUSTAL X (1.81) MULTIPLE SEQUENCE ALIGNMENT
File: C:UsersjbleeDesktopGRIP1_cds.ps
Date: Fri Oct 25 13:32:42 2013
Page 4 of 7

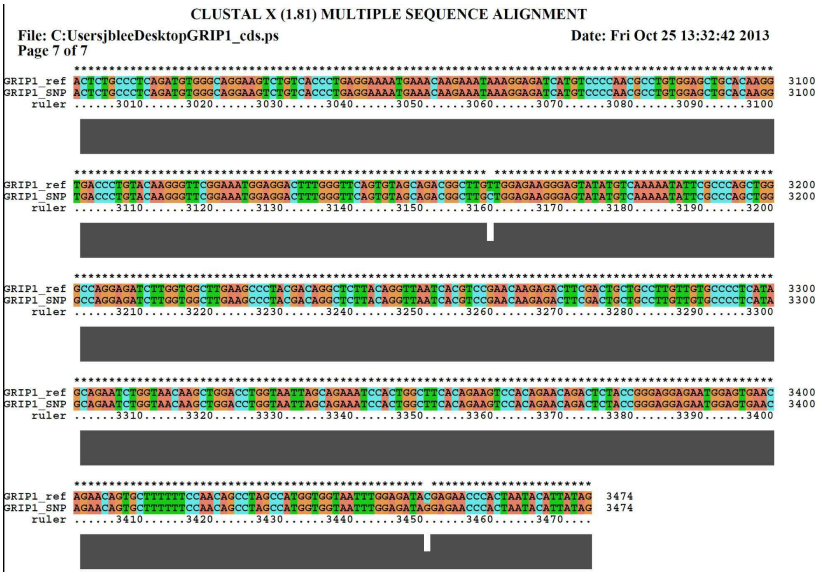
도면1e


CLUSTAL X (1.81) MULTIPLE SEQUENCE ALIGNMENT
File: C:UsersjbleeDesktopGRIP1_cds.ps
Date: Fri Oct 25 13:32:42 2013
Page 5 of 7

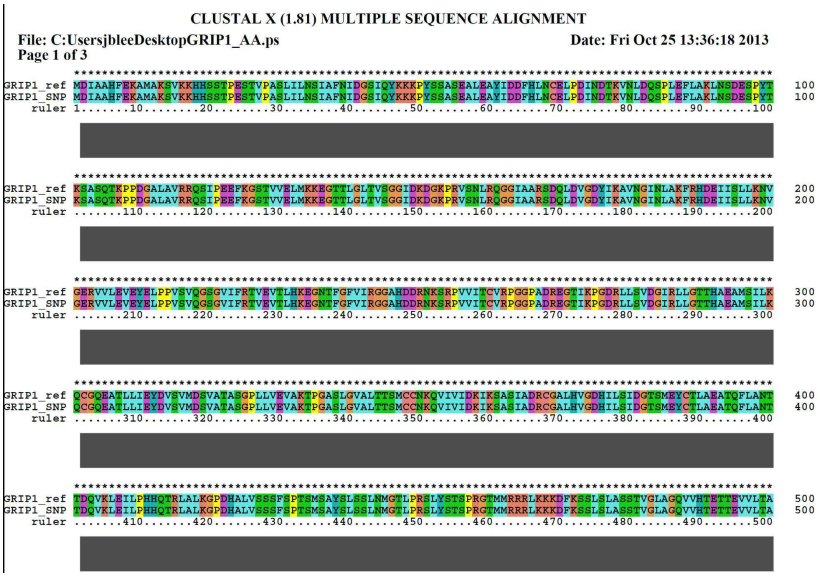
도면1f


CLUSTAL X (1.81) MULTIPLE SEQUENCE ALIGNMENT
File: C:UsersjbleeDesktopGRIP1_cds.ps
Date: Fri Oct 25 13:32:42 2013
Page 6 of 7
GRIP1_ref 2600
GRIP1_SNP 2600
ruler .....2510.....2520.....2530.....2540.....2550.....2560.....2570.....2580.....2590.....2600
GRIP1_ref 2700
GRIP1_SNP 2700
ruler .....2610.....2620.....2630.....2640.....2650.....2660.....2670.....2680.....2690.....2700
GRIP1_ref 2800
GRIP1_SNP 2800
ruler .....2710.....2720.....2730.....2740.....2750.....2760.....2770.....2780.....2790.....2800
GRIP1_ref 2900
GRIP1_SNP 2900
ruler .....2810.....2820.....2830.....2840.....2850.....2860.....2870.....2880.....2890.....2900
GRIP1_ref 3000
GRIP1_SNP 3000
ruler .....2910.....2920.....2930.....2940.....2950.....2960.....2970.....2980.....2990.....3000

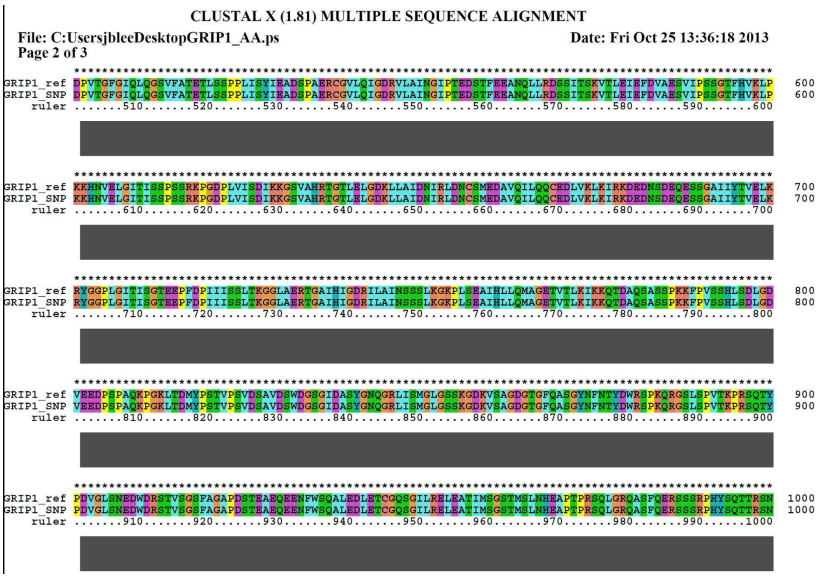
도면1g


CLUSTAL X (1.81) MULTIPLE SEQUENCE ALIGNMENT
File: C:UsersjbleeDesktopGRIP1_cds.ps
Date: Fri Oct 25 13:32:42 2013
Page 7 of 7
GRIP1_ref 3100
GRIP1_SNP 3100
ruler .....3010.....3020.....3030.....3040.....3050.....3060.....3070.....3080.....3090.....3100
GRIP1_ref 3200
GRIP1_SNP 3200
ruler .....3110.....3120.....3130.....3140.....3150.....3160.....3170.....3180.....3190.....3200
GRIP1_ref 3300
GRIP1_SNP 3300
ruler .....3210.....3220.....3230.....3240.....3250.....3260.....3270.....3280.....3290.....3300
GRIP1_ref 3400
GRIP1_SNP 3400
ruler .....3310.....3320.....3330.....3340.....3350.....3360.....3370.....3380.....3390.....3400
GRIP1_ref 3474
GRIP1_SNP 3474
ruler .....3410.....3420.....3430.....3440.....3450.....3460.....3470....

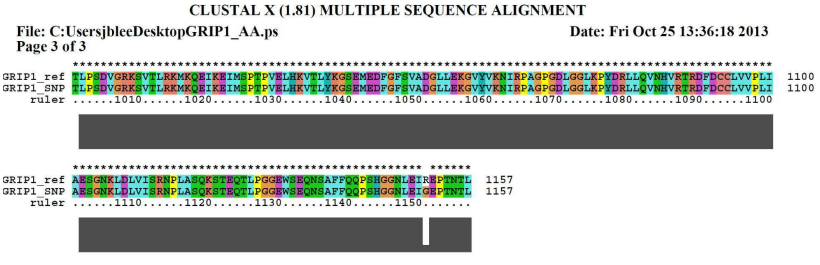
도면2a



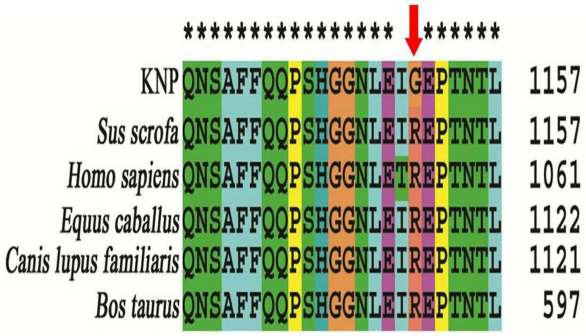
도면2b



도면2c



도면3



서 열 목 록

<110> Industry-Academic Cooperation Foundation Gyeongsang University

<120> Novel biomarker and method for predicting back fat traits in pigs

<130> PD13-0693

<160> 22

<170> KopatentIn 2.0

<210> 1

<211> 484

<212> DNA

<213> Sus scrofa

<400> 1

gttaatcacg tccgaacaag agacttcgac tgctgccttg ttgtgcccct catagcagaa 60

tctggtaaca agctggacct ggtaattagc agaaatccac tggcttcaca gaagtccaca 120

gaacagactc taccgggagg agaatggagt gaacagaaca gtgctttttt ccaacagcct 180

agccatggtg gtaatttgga gatacgagaa cccactaata cattatagca atgcttttta 240

taaagcagga caaaagacaa tatctacatg gtgctaaaaa aaaaaatccc tttaagattt 300

ctgtgccatt tgatgcacag ataatcacgt ggcattaact gcaagcacag gggtctttta 360

aatctcatgg ctcatgttca cgtccctttt caagttgaag aggtttcttt gttgacgatc 420

actaaggtat atgacaggca atcccctgcc aagctcaagg gtacagaaaa aaacaaacaa 480

aaaa 484

<210> 2

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Forward Primer for GRIP1 exon 23

<400> 2

ccctgtgctt gcagttaatg 20

<210> 3

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Reverse Primer for GRIP1 exon 23

<400> 3

gacttcgact gctgccttgt t 21

<210> 4

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Primer for sequencing GRIP1 exon 23

<400

> 4

ctataatgta ttagtgggtt c 21

<210> 5

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Forward Primer for GRIP1 exon 18

<400> 5

ccccaatgac aaatttcctg 20

<210> 6

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Reverse Primer for GRIP1 exon 18

<400> 6

aagcccagtc agcatcaagt 20

<210> 7

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Primer for sequencign GRIP1 exon 18

<400> 7

accttgattc ccatagctgg 20

<210> 8

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Forward Primer for GRIP1 exon 15

<400> 8

tcacactgct ggaggatctg 20

<210> 9

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223

> Reverse Primer for GRIP1 exon 15

<400> 9

actggcaaac aagggatttg 20

<210> 10

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Primer for sequencing GRIP1 exon 15

<400> 10

catggagcaa ttgtccagc 19

<210> 11

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Forward Primer for GRIP1 exon 13

<400> 11

ctggctccac atctccgtat 20

<210> 12

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Reverse Primer for GRIP1 exon 13

<400> 12

tgactgatgc tccattcttc c 21

<210> 13

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Primer for sequencing GRIP1 exon 13

<400> 13

cactgctcgg gatgacag 18

<210> 14

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220

><223> Forward Primer for GRIP1 exon 12

<400> 14

ctgttgttcc tcccccatc 19

<210> 15

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Reverse Primer for GRIP1 exon 12

<400> 15

caacctgtaa catgtggttc taaa 24

<210> 16

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Primer for sequencing GRIP1 exon 12

<400> 16

gacagagtgc tggccatta 19

<210> 17

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Forward Primer for GRIP1 exon 8

<400> 17

ttgcgaaaag aaggcacttt 20

<210> 18

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Reverse Primer for GRIP1 exon 8

<400> 18

agaccgacat caggctgaac 20

<210> 19

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223

> Primer for sequencing GRIP1 exon 8

<400> 19

acttccacta ggagtggcc 19

<210> 20

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Reverse Primer for GRIP1 exon 4

<400> 20

cctgggcttg tatgctcatc 20

<210> 21

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Forward Primer for GRIP1 exon 4

<400> 21

ggcaaaaata cggtgcatct 20

<210> 22

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Primer for sequencing GRIP1 exon 4

<400> 22

aacctggcca aattccgcc 19