



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2012-0051813
(43) 공개일자 2012년05월23일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C12Q 1/68 (2006.01) *C12N 15/12* (2006.01)

G01N 33/84 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2010-0113102

(22) 출원일자 2010년11월15일

심사청구일자 2010년11월15일

(71) 출원인

경상대학교산학협력단

경상남도 진주시 진주대로 501 (가좌동)

(72) 발명자

전진태

서울특별시 서초구 방배천로18길 36-18, 401호
(방배동)

임현태

울산광역시 중구 평산4길 68-1 (약사동)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

김순웅

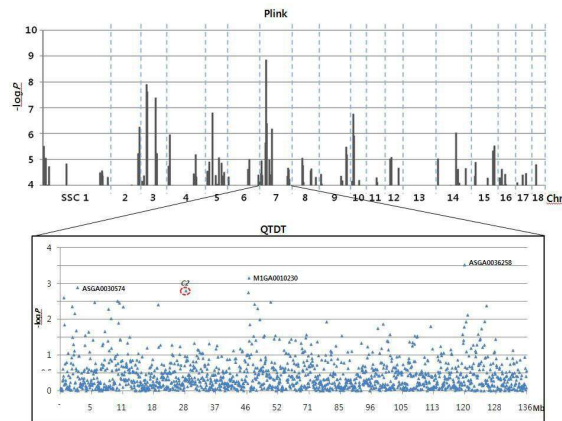
전체 청구항 수 : 총 11 항

(54) 발명의 명칭 돼지 혈청 내 칼슘 이온 농도 예측용 마커

(57) 요약

본 발명은 돼지의 *C2* 유전자의 돌연변이 여부를 측정하는 제제를 포함하는, 돼지 혈청 내 칼슘 이온 농도를 예측하기 위한 마커 검출용 조성물, 상기 조성물을 포함하는 키트, 및 상기 마커를 이용하여 돼지 혈청 내 칼슘 이온 농도를 예측하는 방법에 관한 것으로서, 돼지 보체 요인 유전자인 *C2* 유전자 내에 품종 특이성 변이를 탐색하여, 혈청 내 Ca^{++} 농도를 용이하게 예측하는 효과를 갖는다.

대표도 - 도4



(72) 발명자

서보영

경상남도 진주시 진주대로 936-3 (칠암동)

이재봉

전라남도 순천시 조례동 대주아파트 105동 302호

유채경

경상남도 통영시 새미골1길 13-12 (도천동)

정은지

경상남도 사천시 사천읍 선평길 11-44, 평화맨션 201호

황정혜

경상남도 진주시 진주대로 859, 한주럭키아파트 11동 705호 (주약동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 20070401034029(PJ007142)

부처명 농촌진흥청

연구사업명 바이오그린 21

연구과제명 장기생산용 미니돼지 SLA class III 영역의 genome 서열해독과 유전정보분석

주관기관 건국대학교

연구기간 2010.01.01 ~ 2010.12.31

특허청구의 범위

청구항 1

돼지(*Sus scrofa*) C2 (Complement component 2) 유전자의 미스센스 돌연변이 여부를 측정하는 제제를 포함하는, 돼지 혈청 내 칼슘 이온 농도를 예측하기 위한 마커 검출용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 미스센스 돌연변이는 서열번호 1, 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 5, 또는 서열번호 6으로 기재되는 돼지 C2 유전자의 염기 서열의 1963번째 위치에서 일어나는 것인, 돼지 혈청 내 칼슘 이온 농도를 예측하기 위한 마커 검출용 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 제제가 프라이머인 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 프라이머는 서열번호 15 및 서열번호 16로 기재되는 프라이머 쌍, 및 서열번호 17으로 기재되는 시퀀싱 프라이머인, 돼지 혈청 내 칼슘 이온 농도를 예측하기 위한 마커 검출용 조성물.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항의 조성물을 포함하는, 돼지 혈청 내 칼슘 이온 농도를 예측하기 위한 마커 검출용 키트.

청구항 6

돼지 C2 (Complement component 2) 유전자의 미스센스 돌연변이 여부를 확인하여 돼지 혈청 내 칼슘 이온 농도를 예측하는 방법.

청구항 7

제6항에 있어서,

- (i) 돼지 시료로부터 C2 유전자 DNA를 추출하는 단계;
- (ii) 추출된 DNA를 증폭시키는 단계; 및
- (iii) 증폭된 DNA에 대하여 파이로시퀀싱(pyrosequencing) 법을 수행하여 돌연변이 여부를 확인하는 단계;를 포함하는, 돼지 혈청 내 칼슘 이온 농도를 예측하는 방법.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 (ii) 단계의 DNA 증폭은 서열번호 15 및 서열번호 16으로 기재되는 프라이머 쌍을 사용하여 수행하는 것인, 돼지 혈청 내 칼슘 이온 농도를 예측하는 방법.

청구항 9

제7항에 있어서, 상기 (iii) 단계의 파이로시퀀싱은 서열번호 17로 기재되는 시퀀싱 프라이머를 사용하여 수행하는 것인, 돼지 혈청 내 칼슘 이온 농도를 예측하는 방법.

청구항 10

제7항에 있어서, 상기 (iii) 단계의 돌연변이 여부 확인은 서열번호 1, 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 5, 또는 서열번호 6으로 기재되는 돼지 C2 유전자의 1963번째 염기가 G/G, G/A 및 A/A로 구성된 유전자형인지, 또는 서열번호 8, 서열번호 10, 서열번호 12, 또는 서열번호 14로 기재되는 돼지 C2 유전자의 655 번째 아미노산이 아스파라긴(Asparagine) 또는 아스파르트산(Aspartic acid) 유전자형인지 분석하여 수행하는 것인, 돼지 혈청 내 칼슘 이온 농도를 예측하는 방법.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 분석된 (iii) 단계의 C2 유전자의 1963 번째 염기가 G일 때 또는 655 번째 아미노산이 아스파르트산인 유전자형일 때, 칼슘 이온 농도가 높다고 예측하는 것을 특징으로 하는, 돼지 혈청 내 칼슘 이온 농도를 예측하는 방법.

명세서

기술 분야

[0001] 본 발명은 돼지의 C2 유전자의 돌연변이 여부를 측정하는 제제를 포함하는, 돼지 혈청 내 칼슘 이온 농도를 예측하기 위한 마커 검출용 조성물, 상기 조성물을 포함하는 키트, 및 상기 마커를 이용하여 돼지 혈청 내 칼슘 이온 농도를 예측하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 주조직적합성복합체(major histocompatibility complex; MHC)는 세포 상호작용 및 자신과 비자신의 구별에 중요한 역할을 하는 연관된 유전자들의 집합으로서, 항원제시세포 (antigen presenting cell; APC)가 항원의 일부를 주조직적합체와 결합시킨 후 MHC-항원 peptide 복합체를 T-세포에 제시함으로써 T-세포가 항원을 인식하게 하여 면역반응을 유도하므로, T-세포의 면역반응에 있어서 매우 중요하게 작용한다(Rothbard와 Geffer, 1991; Ierino 등, 1999).

[0003] 이러한 MHC 내에는 조직이식을 받아주는 성질을 결정하는 여러 개의 주조직적합(major histocompatibility)에 관여하는 유전자들이 복합적으로 위치하고 있다. Shiina등 (2004)은 총 239개의 좌위가 인간 염색체 6q21의 3.8 Mb MHC 영역 내에서 확인되었다고 발표하였으며, 염색체 말단 방향에 *HPC5P15* 유전자가 염색체 중심립 방향으로 *KIFC1* 유전자가 사람의 MHC 영역 (이하 HLA; human leukocyte antigen)의 경계임을 보고한 바 있다.

[0004] HLA는 class I, class III, class II 및 class II 확장 영역 등 4개의 세부 지역으로 구분하고 각각의 세부 지역에는 122, 62, 34와 21개의 유전자 좌위가 존재한다. HLA 영역에 존재하는 유전자들을 기능적으로 분류하면 130개의 발현유전자, 17개의 발현유전자 후보군, 4개의 비전사유전자, 88개의 pseudo 유전자로 구분된다. 또한 HLA에는 주조직적합성에 직접적으로 관여하는 HLA-like 유전자의 개수 (45개) 보다는 주조직적합성성에 직접 관여하지 않는 non-HLA 유전자의 수 (194개)가 월등히 많이 존재하고 있다.

[0005] 최근 20여 년 동안 인간의 장기를 대체하기 위한 적당한 동물로서 돼지의 중요성이 높아지면서 돼지의 세포나 기관의 이식, 질병 저항성과 면역반응 관련 연구가 활발하게 진행되고 있으며, 이와 관련하여 사람의 HLA에 해당하는 돼지의 주조직적합성복합체(이하 SLA; swine leukocyte antigen) 유전자들의 영향에 대한 연구결과가 보고되고 있다.

[0006] SLA는 돼지 7번 염색체에 위치하고 있으며, 2.4 Mb의 크기로 class I-class I-중심립-class II/class II 확장 영역-말단의 순으로 위치하고 있다. Renard 등 (2006)은 SLA 영역에서 총 151개의 유전자 좌위 (121개의 기 보고 유전자, 18개의 pseudo유전자, 12개의 신규 유전자 좌위)가 존재함을 보고하였으며, 이 중 123개의 유전자는 사람을 포함하는 다른 포유류에도 존재하는 유전자임이 확인이 되었으나, 28개의 유전자는 돼지에만 특이적으로 존재하는 유전자인 것으로 추정 보고하였다.

[0007] 인간에 있어서 HLA class III 영역은 0.9 Mb의 크기로 62개의 유전자 좌위가 확인되어 약 14 kb마다 하나의 유전자 좌위가 존재하는 유전자가 밀집지역이다. 이 지역에는 classical HLA class I 및 class II 유전자들과 기능이 유사한 유전자들은 존재하고 있지 않아 직접적으로 주조직적합성 반응에 관여하지 않는 것으로 확인되고 있으나, 보체 요인 유전자 *C2*, *C4* 및 *Bf*와 cytokine 유전자 *TNF*, *LTA* 및 *LTB* 유전자 등 체액성 면역과 염증 반응에 관여하는 유전자가 존재한다. 그리고 면역반응과는 그 연관관계가 아직 확실히 밝혀지지 않은 다수의 유전자가 존재하고 있다. 예를 들어 전사조절에 관여하는 *CREBL1*, *BTX19*, *PBX2*, *BAT1*, *VAR2* 등, house-keeping 유전자인 *DOM3Z*, *NEU1*, *AGPAT1* 등, 생합성/전사전달 관여 유전자인 *PPT2*, *DDAH2* 등, 단백질-단백질 상호작용에 관여하는 유전자인 *HSPA1A*, *BAT3*, *BAT8* 등이 HLA class III 영역에 존재하고 있다.

[0008] 돼지의 경우 SLA class III 영역은 Renard등 (2004)에 의하여 Large White 품종의 genomic 서열 분석을 수행하여 65개의 유전자 좌위가 존재하며, 대다수가 HLA class III와 일치하나 4개의 신규유전자가 SLA class III에

존재함을 밝히기도 하였다. SLA class III 영역에 존재하는 보체요인 유전자 *C2*, *C4*와 *Bf* 유전자는 항원항체 반응, 보체반응을 통해 외부 병원을 용해시키는 전통적인 체액성 면역 반응에 필수적인 유전자들이다.

[0009] 상기 체액성 면역 반응의 하나로서, 전형적인 보체결합반응은 보체인자 *C1*에 의하여 촉발된다 (Arlaud 등, 2002). 즉, 여러 분자가 결합된 단백질 용혈소 (protease)는 인지단백질인 *C1q*와 *C1s*-*C1r*-*C1s*-*C1r*로 구성된 촉매부위가 결합된 형태로서, 촉매부위는 Ca^{++} 의존성으로 반드시 Ca^{++} 이 존재하여야 한다. 모든 보체반응은 *C1q* moiety에 의하여 인지되고, 이로 인하여 *C1r*이 자가 활성화된다. 이후 *C1s*가 차례로 활성화됨으로써, *C1*의 기질인 *C2*와 *C4*의 특이적 분해를 일으킨다. 보체반응에 의한 용혈작용의 다른 방식은 lectin pathway를 이용하는 것으로 (Zhang 등, 1999), mannan과 MBL (mannan binding-lectin)으로 둘러싸인 적혈구 (M-E)의 용혈작용은 Ca^{++} 없이도 진행된다. 그러나 이 반응도 MBL이 M-E에 결합할 때에는 반드시 Ca^{++} 가 있어야 한다. 또한, E-M-MBL을 통한 용혈작용은 *C2*와 *C4*의 촉매반응을 반드시 필요로 한다. 즉, *C1q*에 의한 전형적인 용혈작용은 반드시 Ca^{++} 가 존재하여야 하며, E-M-MBL에 의한 용혈작용도 초기 단계 MBL의 형성시 Ca^{++} 가 필수적으로 존재하여야 한다. 따라서, 돼지 생체내 항원항체 반응, 보체반응을 통해 외부 병원을 용해시키는 체액성 면역 반응에는 칼슘 이온이 필수적이며, 돼지의 면역력 정도는 혈청 내 칼슘 농도와 밀접한 연관이 있음을 알 수 있다.

[0010] 그러나 지금까지 돼지의 혈액을 통해 돼지의 면역력 정도를 간단히 판별할 수 있는 방법에 대해서는 밝혀진 바가 없으며, 특히 돼지의 혈청 형질과 *C2* 유전자 간의 상관관계에 대해서는 밝혀진 바가 없었다.

[0011] 이에, 본 발명자는 체액성 면역반응에 관여하는 SLA class III 영역에 존재하는 보체 요인 *C2* 유전자의 변이와 돼지 혈청 형질과의 상관관계를 밝히기 위해, *C2* 유전자의 genomic DNA 서열을 장기이식용 한국재래돼지와 미니돼지에서 분석한 후 기 보고된 Large White와 Duroc품종의 *C2* 유전자 서열과 비교하여 품종 특이성 변이 (단염기다형성, 결실/삽입 등)를 파악한 결과, *C2* 유전자 서열 내 돌연변이가 돼지 혈청 내 Ca^{++} 농도와 높은 연관성이 있음을 확인하였고, 따라서 이러한 *C2* 유전자 서열 내 돌연변이 여부를 돼지 혈청 내 칼슘 이온 농도를 예측하기 위한 마커로 사용할 수 있음을 검증함으로써 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0012] 본 발명의 목적은 돼지의 *C2* 유전자의 돌연변이 여부를 측정하는 제제를 포함하는, 돼지 혈청 내 칼슘 이온 농도를 예측하기 위한 마커 검출용 조성물을 제공하는 것이다.

[0013] 본 발명의 다른 목적은 상기 조성물을 포함하는, 돼지 혈청 내 칼슘 이온 농도를 예측하기 위한 마커 검출용 키트를 제공하는 것이다.

[0014] 본 발명의 또다른 목적은 돼지의 *C2* 유전자의 돌연변이 여부를 확인하여 돼지 혈청 내 칼슘 이온 농도를 예측하는 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0015] 상기 목적을 달성하기 위한 하나의 양태로서, 본 발명은 돼지(*Sus scrofa*) *C2* (Complement component 2) 유전자의 미스센스 돌연변이 여부를 측정하는 제제를 포함하는, 돼지 혈청 내 칼슘 이온 농도를 예측하기 위한 마커 검출용 조성물을 제공한다.

[0016] 본 발명이 대상으로 하는 "*C2* (Complement component 2) 유전자"는 체액성 면역반응에 관여하는 SLA class III 영역에 존재하는 보체 요인 유전자이며, *C2* 단백질은 전형적인 보체 시스템 경로의 일부이다. 상기 보체 시스템에서, 활성화된 *C1*은 *C2*를 *C2a* 및 *C2b*로 쪼개고, 상기 *C2a*는 *C3*의 활성을 이끈다. 상기 *C2*의 결핍은 자가면역 질환과 밀접한 연관이 있는 것으로 알려져 있다.

[0017] 또한, 전형적인 보체결합반응은 보체인자 *C1*에 의하여 촉발되며, 여러 분자가 결합된 단백질 용혈소 (protease)는 인지단백질인 *C1q*와 *C1s*-*C1r*-*C1s*-*C1r*로 구성된 촉매부위가 결합된 형태로서, 촉매부위는 Ca^{++} 의

존성으로 반드시 Ca^{++} 이 존재하여야 한다. 또한, MBL(mannan binding-lectin)이 M-E에 결합하여 E-M-MBL에 의한 용혈작용시에도 초기 단계 MBL의 형성 시 Ca^{++} 가 필수적으로 존재하여야 하며, 상기 E-M-MBL을 통한 용혈작용은 C2와 C4의 촉매반응을 반드시 필요로 한다. 따라서, 이는 생체 내에서의 면역반응과 보체 촉매작용에 혈청 내 Ca^{++} 의 농도가 보다 주요한 항목으로 평가되어야 한다는 것을 입증하는 것이다.

[0018] 본 발명에서 용어, "돌연변이"란 유전자의 배열이나 순서에 이상을 초래하거나, 유전자를 구성하는 염기의 순서가 바뀌어 새로운 형질이 발현되는 경우를 의미하며, 천연의 아미노산 서열의 아미노산 잔기가 다른 잔기로 치환, 결실 및/또는 첨가되어 다양하게 변형된 형태일 수 있으며, 바람직하게는 치환일 수 있다. 또한, 본 발명에서 용어 "미스센스 돌연변이"는 하나의 염기의 변화에 의해 하나의 다른 아미노산이 지정이 되어 단백질에 영향을 주는 형태를 말하며, 구체적인 예로서 C2 유전자 서열상의 염기 A가 G로 돌연변이되면서 C2 유전자의 아미노산 서열의 655번째 아미노산이 아스파라긴에서 아스파르트산으로 변이된 것을 말한다.

[0019] 본 발명에서는 돼지의 SLA class III 영역 내 보체 요인 유전자인 C2 유전자의 변이를 탐색하여, C2 유전자 내에 아미노산 치환의 원인이 되는 미스센스 돌연변이를 동정하고, 이러한 미스센스 돌연변이가 돼지의 혈청 형질과의 연관성을 밝히고자 하였으며, 상기 C2 유전자 내 미스센스 돌연변이가 체액성 면역 반응에 필수적인 혈청 내 Ca^{++} 농도와 밀접한 연관성이 있음을 규명하였다.

[0020] 본 발명의 구체적 실시예에서는 장기이식용 한국재래돼지와 미니돼지에서의 SLA class III 영역에 존재하는 C2 유전자의 genomic DNA 서열을 분석한 후 보고된 Large White와 Duroc품종의 C2 유전자 서열과 비교하여 품종 특이성 변이 (단염기다형성, 결실/삽입 등)를 파악하고, 파악된 품종 특이성 변이들이 돼지의 강건성과 연관성을 갖는 혈액 및 혈청 형질과의 연관성을 규명하기 위해 한국재래돼지 × 랜드레이스 3세대 F₂ 측군에서 측정된 33개의 생화학적 parameter 정보와 C2 유전자에서 파악된 품종 특이성 변이의 유전자형을 파이로시퀀싱(pyrosequencing) 방법을 통해 분석하여, 이에 대한 연관성 분석을 실시한 결과, 엑손 영역 내 1개의 돌연변이가 아미노산 치환을 유발하는 돌연변이로 탐지되었고, 상기 미스센스 돌연변이가 돼지의 혈청 Ca^{++} 농도와의 높은 연관성이 있음을 확인하였다 (도 4 참조).

[0021] 본 발명의 구체적 실시예에서는 상기 미스센스 돌연변이로서 하기 표 1의 엑손 16번의 58bp 좌위에 위치한 c.1963A>G(N655D)를 탐지하였다. 도 3에서 보듯이, C2 유전자 서열상의 1963번째 염기 A가 G로 돌연변이되면서, 이러한 염기의 변화에 의해 아미노산 서열의 655번째 아미노산이 아스파라긴에서 아스파르트산으로 변이된 것을 알 수 있었다. 또한, 이러한 돌연변이 여부는 다른 품종에서도 동일한 위치에서 확인할 수 있었다 (도 2 참조).

[0022] 발명의 구체적인 실시예에서는 또한, General linear model을 이용하여 C2유전자의 변이가 돼지 혈청 내 칼슘 농도에 영향을 미치는지 여부에 대해 조사한 결과, 혈액내 C2 유전자의 변이가 고도의 유의성 ($P < 0.001$)을 가지고 칼슘 농도에 영향을 미치는 것을 확인하였다. 이러한 결과는 C2 유전자가 칼슘농도 변이를 조절하는 주요 유전자를 나타내는 것이며, 도 5에서 보듯이, GG genotype을 가진 개체들이 칼슘 농도가 높은 유의성을 보이며, AA genotype을 가진 개체에 비해서 고도의 유의성 ($P < 0.001$)을 가지고 칼슘 농도의 차이가 나는 것을 보여주었다.

[0023] 따라서, 상기 결과로부터 본 발명의 C2 유전자의 미스센스 돌연변이를 DNA 마커로 활용할 경우 혈청 내 Ca^{++} 농도를 미리 예측할 수 있어, 돼지의 강건성 여부를 신속하고 간편하게 판단할 수 있음을 알 수 있다. 즉, 돼지 혈청 내 Ca^{++} 의 부족에 따른 면역력 약화로 바이러스 감염, 만성호흡기 질병, 당뇨병, 심장병 등의 질병이 나타날 수 있으며, 항원항체 반응, 보체반응을 통해 외부 병원을 용해시키는 체액성 면역 반응에 필수적인 혈청 내 Ca^{++} 을 C2 유전자의 미스센스 돌연변이를 DNA 마커로 활용할 경우 혈청 내 Ca^{++} 농도를 미리 예측할 수 있어, 돼지의 강건성 여부를 신속하고 용이하게 판단할 수 있을 것이다.

[0024] 구체적인 하나의 예로서, 돼지 혈청 내 돌연변이 여부 확인은 서열번호 1 내지 서열번호 6에 기재된 돼지 C2 유전자의 1963번째 염기가 G/G, G/A 및 A/A로 구성된 유전자형인지, 또는 서열번호 8, 서열번호 10, 서열번호 12, 또는 서열번호 14로 기재되는 돼지 C2 유전자의 655번째 아미노산이 아스파라긴(Asparagine) 또는 아스파르트산(Aspartic acid) 유전자형인지 분석하여 수행할 수 있고, 상기 분석된 C2 유전자의 1963 번째 염기가 G 일 때, 또는 655 번째 아미노산이 아스파르트산인 유전자형일 때 칼슘 이온 농도가 높다고 예측할 수 있다.

[0025] 본 발명에서 상기 조성물에 포함된 제제는 프라이머일 수 있다. 상기 프라이머는 C2 유전자 DNA를 증폭시키는

데 사용되는 서열번호 15 및 서열번호 16으로 기재되는 프라이머 쌍일 수 있으며, 또한 서열번호 17로 기재되는 시퀀싱 프라이머일 수 있다. 상기 시퀀싱 프라이머는 파이로시퀀싱 방법에 의해 변이 여부를 확인할 때 사용될 수 있다.

[0026] 다른 하나의 양태로서, 본 발명은 상기에서 상술한 조성물을 포함하는, 돼지 혈청 내 칼슘 이온 농도를 예측하기 위한 마커 검출용 키트를 제공한다.

[0027] 본 발명의 마커 검출용 키트에는 C2 유전자 내 미스센스 돌연변이 여부 측정을 위한 상기 서열번호 15, 서열번호 16, 및 서열번호 17로 기재되는 프라이머뿐만 아니라, 돌연변이 여부 검출을 위해 당업계에서 일반적으로 사용되는 도구, 시약 등이 포함될 수 있다. 이러한 도구/시약으로는 적합한 담체, 검출 가능한 신호를 생성할 수 있는 표지 물질, 용해제, 세정제, 완충제, 안정화제 등이 포함하나 이로 제한되지 않는다.

[0028] 또한, 본 발명의 키트는 PCR반응, 파이로시퀀싱에 요구되는 성분들을 추가적으로 포함할 수 있다. PCR반응, 파이로시퀀싱에 요구되는 성분으로 dNTP(deoxynucleotide triphosphate), 내열성 중합효소(polymerase), 염화마그네슘 등의 금속이온염, 시퀀나제(sequenase) 또는 파이로시퀀싱법에 의해 얻어진 분석결과에 따른 종별 돼지 비교를 위한 표준 분석도 및 이를 분석한 분석표 등을 들 수 있다.

[0029] 본 발명의 키트는 소량의 시료를 이용하여 단시간 내에 감별이 가능하며, 겔을 이용하지 않는 방법(non-gel based method)으로써 주관적인 요소가 배제된 보다 정확한 진단이 가능할 수 있다.

[0030] 또다른 하나의 양태로서, 본 발명은 돼지 C2 (Complement component 2) 유전자의 미스센스 돌연변이 여부를 확인하여 돼지 혈청 내 칼슘 이온 농도를 예측하는 방법을 제공한다.

[0031] 상기 방법은 (i) 돼지 시료로부터 C2 유전자 DNA를 추출하는 단계; (ii) 추출된 DNA를 증폭시키는 단계; 및 (iii) 증폭된 DNA에 대하여 파이로시퀀싱(pyrosequencing) 법을 수행하여 돌연변이 여부를 확인하는 단계;를 포함할 수 있다.

[0032] 상기 (i) 단계에서 돼지 시료는 돼지 혈액(serum) 또는 혈청일 수 있다. 또한, 돼지 시료로부터 DNA 유전자를 얻기 위하여 돼지의 혈액 또는 혈액으로부터 DNA 유전자 샘플을 분리할 수 있으며, 상기 DNA 유전자 수득방법은 당업계 숙련자에게 알려진 어떠한 방법이나 사용하여 혈액 또는 혈청으로부터 채취 및 분리할 수 있다. 또한, 상기 (ii) 단계의 DNA 증폭은 서열번호 15 및 서열번호 16으로 기재되는 프라이머 쌍을 사용하여 수행할 수 있으며, 상기 (iii) 단계의 파이로시퀀싱은 상기 (ii) 단계에서 얻은 PCR 생성물을 서열번호 17로 기재되는 시퀀싱프라이머를 사용하여 수행할 수 있다.

[0033] 본 발명에서 용어 "파이로시퀀싱" 방법은 정제된 PCR 생산물의 한가닥(single strand)을 주형으로 하여 상기 시퀀싱프라이머와 어닐링(annealing)시킨 뒤, 중아황산염이 처리된 PCR 생산물의 염기서열을 리딩(reading)하여 수행할 수 있다. 이러한 파이로시퀀싱은 DNA 시퀀싱(sequencing)에 이용되기도 하는 SNP 분석방법으로 DNA가 합성되는 동안 방출되는 무기인산(inorganic pyrophosphate: P_{PPi})의 빛(light)을 검출하는 방법이다. 중합반응(Polymerization)시 4개의 dNTPs(deoxynucleotide triphosphates)를 한번에 하나씩 순차적으로 넣어서 반응시키면 중합되는 dNTP에 붙어 있는 무기인산(P_{PPi})은 효소반응으로 빛을 방출한다. <42> 이러한 파이로시퀀싱 방법은 종래의 디데옥시 뉴클레오티드 분석방법과 원리는 비슷하지만, 디데옥시 뉴클레오티드 분석방법은 32p로 표지된 dCTP와 TTP를 이용하여 PCR한 후 radiolabeled products를 15% polyacrylamide gel에 loading 하여 autoradiodiographic film이나 phosphorimage 정량을 해야 하는 번거로움이 있다. 그러나, 본 발명에 따른 파이로시퀀싱 방법은 biotinylated PCR product를 bead를 이용하여 간단히 purify한 후 파이로시퀀싱(pyrosequencing) 장치만으로 신속(25분 정도 소요)하고 정확하게 C 피크(peak)와 T 피크를 정량하고 수치화 여 분석해 주기 때문에 종래의 방법에 비해 빠르고 간편한 방법이다. 또한, 상기 파이로시퀀싱 법은 15분 안에 시료의 동시 분석이 가능한 자동화된 미세역가를 기초로 한 파이로시퀀싱 기구(microtiter-based pyrosequencer instrument)로 실행될 수 있으며, 각 뉴클레오티드의 제조는 약 1분 정도 걸리므로, 유전적 변이의 정확한 서열(sequence)의 측정에 빠른 방법으로 이용될 수 있다.

[0034] 또한, 본 발명에서 프라이머는 안정성을 유지하기 위해, 분말 상태 또는 증류수나 적절한 완충액에 용해된 상

태로 제공될 수 있다. 또한 이후의 실험단계를 위한 정제과정의 효율 및 편리성을 높이기 위해, 비오틴(biotin)이 더 포함될 수 있다. 구체적인 예로서 상기 프라이머 세트 중 서열번호 15로 기재되는 센스 프라이머는 바이오틴 결합성 프라이머일 수 있다. 또한, 상기한 프라이머 이외에도, 필요에 따라 PCR 반응, 파이로시퀀싱 분석에 요구되는 성분들을 더 포함할 수 있다. 구체적으로 PCR 반응에 요구되는 성분은 dNTP(deoxynucleotide triphosphate), 내열성 중합효소(polymerase), 염화마그네슘 등의 금속이온염 등이 될 수 있고, 시퀀싱에 요구되는 성분은 dNTP, sequenase 등이 될 수 있다.

[0035] 본 발명의 구체적 실시예에서는, 먼저, 돼지 SLA class III 영역을 포함하고 있는 한국재래돼지와 미니돼지의 유전자가 pooling 되어 있는 BAC library로부터 BAC clone을 선발하여 자동염기서열분석 장치를 이용해 SLA class III 영역의 서열을 분석하여 완성하였다. 다음으로, SLA class III 영역 내 보체 요인 유전자인 C2 유전자에 내에 품종 특이적 missense 돌연변이를 파악하기 위해 한국재래돼지와 미니돼지 그리고 기존에 보고되어 있는 Large White, Duroc의 염기서열을 CLUSTAL W program을 이용하여 alignment 하여 돌연변이를 탐지하였다. 그 결과, SLA class III 영역 내 보체 요인 유전자인 C2 유전자 내의 exon 영역에서 5개, intron 영역에서 20개의 돌연변이를 탐지하였고, 이중 exon 영역 내 1개의 돌연변이가 아미노산 치환을 유발하는 돌연변이로 탐지되었다. 다음으로는 탐지된 돌연변이 중 보체 요인 유전자인 C2 유전자의 코딩 지역 내에서 아미노산 치환을 유발하는 돌연변이를 선발하고, 혈액 형질과의 연관성을 규명하기 위해 혈액 형질에 대한 정보를 가진 실험집단을 대상으로 혈액을 채취해 genomic DNA를 추출하고, C2 유전자 코딩 지역 내에서 아미노산 치환을 유발하는 돌연변이의 유전자형을 분석하기 위한 프라이머를 제작하고 (표 2 참조) 파이로시퀀싱(pyrosequencing) 방법을 이용하여 유전자형 분석을 실시하였다. 마지막으로, 실험 축군을 대상으로 분석된 아미노산 치환을 유발하는 돌연변이의 유전자형과 혈액 형질과의 연관성을 통계 분석 프로그램 등을 이용하여 돌연변이와 혈액 형질과의 연관성을 동정하였다. 그 결과 보체요인 유전자인 C2 유전자의 미스센스 돌연변이가 (c.1963A<G(N655D)) 돼지의 혈청 Ca^{++} 농도와 높은 연관성이 있음을 확인하였고, 이를 분자 마커로 활용하여 돼지 혈청 내 칼슘 이온 농도를 예측할 수 있었다.

[0036] 본 발명의 구체적인 실시예로서, 상기 (iii) 단계의 돌연변이 여부 확인은 서열번호 1 내지 서열번호 6으로 기재되는 돼지 C2 유전자의 1963번째 염기가 G/G, G/A 및 A/A로 구성된 유전자형인지, 또는 서열번호 8, 서열번호 10, 서열번호 12, 또는 서열번호 14로 기재되는 돼지 C2 유전자의 655 번째 아미노산이 아스파라긴(Asparagine) 또는 아스파르트산(Aspartic acid) 유전자형인지 분석하여 수행할 수 있다 (도 3 참조). 상기 분석된 (iii) 단계의 C2 유전자의 1963 번째 염기가 G일 때, 또는 655 번째 아미노산이 아스파르트산인 유전자형일 때 칼슘 이온 농도가 높다고 예측할 수 있다 (도 5 참조).

[0037] 따라서, 상기 본 발명의 방법에 따를 때, 보체 요인 유전자인 C2 유전자 내에 품종 특이성 변이를 탐색하여, 혈청 내 Ca^{++} 농도를 용이하게 예측할 수 있다. 이는 돼지에서 혈청 내 Ca^{++} 의 부족에 따른 면역력 약화로 바이러스간염, 만성호흡기질환, 당뇨병, 심장병 등의 질병이 나타나는데, 상기 방법에 의해 C2 유전자의 미스센스 돌연변이를 DNA 마커로 사용하여 체액성 면역 반응에 필수적인 혈청 내 Ca^{++} 농도를 용이하게 예측함으로써 돼지의 강건성 판단에 이용할 수 있음을 의미한다.

발명의 효과

[0038] 본 발명은 돼지의 C2 유전자의 돌연변이 여부를 측정하는 제제를 포함하는, 돼지 혈청 내 칼슘 이온 농도를 예측하기 위한 마커 검출용 조성물, 상기 조성물을 포함하는 키트, 및 상기 마커를 이용하여 돼지 혈청 내 칼슘 이온 농도를 예측하는 방법에 관한 것으로서, 돼지 보체 요인 유전자인 C2 유전자 내에 품종 특이성 변이를 탐색하여, 혈청 내 Ca^{++} 농도를 용이하게 예측하는 효과를 갖는다.

도면의 간단한 설명

[0039] 도 1은 SLA class III 영역 내 한국재래돼지와 미니돼지의 C2 유전자의 annotation (Genscan : <http://genes.mit.edu/GENSCAN.html>) 결과를 나타낸 것이다. 18개의 엑손이 존재하며, CpG Islands는 9개였으며, G+C content는 각 53.17%, 53.13% 이다.

도 2는 표 1에 나타난 돼지의 C2 유전자 내에 존재하는 돌연변이에 따른 아미노산 변이를 품종별로 비교한 것이다 (KNP: Korean native pig; Mini: Miniature pig; LW: Large white; Duroc: Duroc을 나타냄).

도 3은 한국재래돼지(Korean native pig)의 C2 유전자의 서열 중 1756 ~ 2205 사이의 염기서열 및 이에 대응

하는 아미노산 서열에서 돌연변이된 부분을 네모 박스로 표시한 것이다.

도 4는 혈청 내 Ca^{++} 농도와 연관성이 있는 DNA 마커를 선별하고 이를 분석하기 위하여 수행한 genome-wide (Plink 1.6) 및 chromosome-wide (QDT) 분석 결과를 나타낸 것이다.

도 5는 General linear model을 이용하여 C2 유전자형의 변이가 혈액 내 C2 칼슘 농도 변이에 영향을 미치는 지 살펴본 결과이다 ($P < 0.001$).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

이하, 본 발명을 실시예를 통하여 상세히 설명하도록 한다. 하기 실시예는 본 발명을 설명하기 위한 일 예에 지나지 않으며, 이에 의하여 본 발명의 범위가 제한되는 것은 아니다.

실시예 1: SLA class III 영역의 염기서열 분석

돼지 SLA class III 영역을 포함하는 한국 재래돼지와 미니돼지의 pooling 되어 있는 BAC library로부터 BAC clone을 선별하였다. BAC clone stock을 배양 한 후 Large-Construct Kit (QIAGEN, USA)를 이용하여 genomic DNA를 추출하였다. DNA를 HydroGen machine을 이용하여 평균 size가 375 kb 정도 shearing 하였다. BKL Reagent Set (Takara, Japan) kit를 이용하여 blunt 반응을 시킨 후, BKL Reagent Set (Takara, Japan) kit를 이용하여 Puc19 (*Sma I*) vector와 BAC clone fragment의 ligation 반응을 하였다. DH10B competent cell을 사용하여 electroporation 한 후, Ampicillin 항생제가 포함된 LB agar plate에 배양하였다.

배양한 형질전환 세포들을 Terrific Broth에 배양한 후, plasmid DNA의 분리정제는 alkaline lysis 방법으로 수행하였다. Sequencing PCR 반응 후 EtOH precipitation 방법으로 정제하여, RISA-384 DNA sequencer (Shimadzu, Japan)를 이용하여 염기서열분석을 수행하였다.

자동염기서열 분석기로부터 전달된 chromatogram file을 Phred 프로그램 (Ewing and Green, 1998; Ewing et al., 1998)을 사용하여 trim-alt 0.01 (P-score ≥ 20)로 base calling 한 후, cross-match 프로그램을 이용하여 vector 서열을 제거하여 분석에 이용할 염기서열을 확보하였으며, Phrap 프로그램으로 assembly 하였다. Phred-Phrap 프로그램을 이용하여 만들어진 contig의 assembly 상태 (depth 및 quality)를 consed와 phrapview 프로그램을 이용하여 확인 후, sequencer 4.7 (Gene Code Corp. USA)을 사용하여 SLA class III 영역의 서열을 완성하였다.

Genscan 프로그램(<http://genes.mit.edu/GENSCAN.html>)을 사용하여 유전자들을 예측 하였으며, 한국재래돼지와 미니돼지의 CpG Islands는 9개이었으며, G+C content는 53.17%, 53.13%였다 (도 1 참조).

Large White는 GenBank(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) database 내에서 기존에 보고되어 있는 C2 유전자의 서열(NM 001101815)을 수집하였고, Duroc의 경우 ensembl(<http://www.ensembl.org>) database 내에서 기존에 보고되어 있는 SLA class III 지역의 서열을 수집하여, Large White의 C2 유전자 서열과 상동성 분석을 통해 Duroc의 C2 유전자 서열을 확보하였다.

실시예 2: C2 유전자와 혈액 내 Ca^{++} 농도의 연관성 분석

C2 유전자 좌위에서의 돌연변이를 검색하기 위해서, CLUSTAL W program을 이용하여 Large White, Duroc, 한국 재래돼지 그리고 미니돼지의 C2 유전자 염기서열을 alignment 하였다. 그 결과 C2 유전자의 엑손과 인트론 영역에서 각각 5개와 20개의 돌연변이를 탐지하였다(표 1 참조). 돌연변이와 형질간의 연관성을 분석하기 위해 유전자 내에 존재하는 돌연변이들 중 아미노산의 변화를 유도하는 미스센스 돌연변이를 조사한 결과, 표 1의 엑손 16번의 58bp 좌위에 위치한 c.1963A<G(N655D)를 탐지하였다. 표 1에서 보면, 파이로시퀀싱 방법이 역방향 분석한 것이므로, 표 1에서 나타난 T는 정방향으로 A를, C는 정방향으로 G를 나타냄을 알 수 있다.

[0049] [표 1] 돼지의 C2 유전자 내에 존재하는 돌연변이

Loci	Gene	Loci	in gene	Korean native pig	Miniature pig	Large White	Duroc
213411	C2	intron 17	44	G	A	G	G
213536		intron 16	126	C	T	T	T
213731		exon 16	58	C	C	C	T
214646		intron 12	27	G	G	G	A
215290		intron 9	4144	C	T	C	C
215859		intron 9	3575	C	T	C	C
215871		intron 9	3563	C	G	C	C
215877		intron 9	3557	C	A	C	C
215910		intron 9	3524	C	G	C	C
215924		intron 9	3510	C	G	C	C
215938		intron 9	3496	A	T	A	T
215939		intron 9	3495	A	T	A	T
216370		intron 9	3064	G	G	G	A
217018		intron 9	2416	C	T	C	T
221130		intron 7	126	A	G	A	A
221172		intron 7	84	G	T	G	G
221323		exon 7	72	A	A	A	G
223539		intron 3	1663	T	C	T	T
225173		intron 3	29	C	G	C	G
225291		exon 3	97	A	G	A	G
225591		intron 2	370	C	T	C	C
225685		intron 2	276	C	T	C	C
225716		intron 2	245	A	G	A	G
226126		exon 2	45	C	C	C	A
226127		exon 2	44	G	A	G	G

[0050]

[0051]

c.1963A<G(N655D) 변이와 표현 형질간의 연관성 분석을 위해 국립축산과학원 난지축산시험장에서 구축한 시험 축군 526두를 이용하였다. 526두의 구성은 한국재래돼지 18두, 랜드레이스 16두를 교배하여 생산한 F₁ 71두 (KL 32두, LK 39두)와 F₁끼리 교배하여 생산된 F₂ 421두로 구성되어있으며, 이들의 genomic DNA 추출은 혈액 300 μ l를 red cell lysis solution (0.8% ammonium chloride, 10 mM Tris-HCl <pH7.2>) 900 μ l로 처리하여 적혈구를 용혈한 후 회수한 백혈구 세포들을 Miller 등 (1988)의 방법을 일부 변형하여 추출하였고, RNase (인트론, USA)를 처리하여 RNA를 제거하였다. Ethanol 침전법으로 회수한 genomic DNA는 TE buffer에 용해하여 보관하였으며, PCR 증폭을 위한 주형으로 이용하였다. 근육 및 장기 조직으로부터의 genomic DNA 추출은 액체 질소를 이용하여 조직을 완전 분쇄 후 sucrose-proteinase K 방법 (Birren 등, 1997)을 일부 변형하여 추출하였다.

[0052]

시험 축군 내 C2 유전자의 미스센스 돌연변이에 대한 유전자형 분석을 위해서 파이로시퀀싱(pyrosequencing) 분석법을 이용하였다. 파이로시퀀싱 분석을 위해 PCR 반응에 이용할 primer set와 minisequencing primer를 제작하였다 (표 2 참조). Primer를 제작할 때 파이로시퀀싱 분석 시 돌연변이 가까이에 존재하는 다른 nucleotide의 영향을 감소시키기 위해 Forward primer의 5' 에 Biotin을 결합시켰으며 돌연변이 분석은 상보 가닥을 기준으로 수행하였다. PCR 반응은 genomic DNA (25 ng/ μ l) 2 μ l, 10 $\times$ buffer (Genetbio, Korea) 2.5 μ l, dNTP (2.5 mM) 2 μ l, forward와 reverse primer (10 pmol) 각각 1 μ l, Taq DNA polymerase (Genetbio, Korea) 0.1 μ l, 3차 증류수 16.4 μ l를 첨가하여 전체 25 μ l의 반응액을 제조하였으며, PCR 반응조건은 94 $^{\circ}$ C에서 2분간 변성시킨 후 94 $^{\circ}$ C에서 30초, annealing temperature (64 $^{\circ}$ C)에서 45초, 72 $^{\circ}$ C에서 45초를 1 cycle로 하여 35회 반복하였다. PCR 산물의 전처리 과정은 PyroMark MD (USA)에서 제공한 protocol을 이용하였으며, Pyrosequencer (PyroMark MD, USA)를 이용하여 분석하였다. 파이로시퀀싱에 의한 유전자형 분석은 각각의 상보가닥에 대하여 시행하였다.

[0053]

[표 2] C2 유전자의 내 아미노산 치환을 유발하는 돌연변이의 유전자형 분석을 위한 PCR 반응에 이용할 프라 이머 세트와 미니 시퀀싱 프라이머 서열 및 조건

Primer name	Sequences (5'→3')	Annealing Temp
C2 F (Biotin)	ACAAAGTCACGTTCCCAAC	64℃
C2 R	CTTCTCTGGAATCCAGGCTC	
C2 M	TCACCACCTCTCTGACAT	

[0054]

[0055]

선정한 C2 유전자 내 미스센스 돌연변이와 표현 형질과의 연관성을 분석하기에 앞서 각 유전자형의 분포를 조사하기 위해 한국재래돼지 18두와 랜드레이스(Landrace) 16두의 유전자형을 선행 조사하였다. 그 결과 한국재래돼지의 C2 유전자는 T/T, T/C 그리고 C/C type이 각각 3, 11 그리고 4두의 비율로 나타났으며, 랜드레이스는 T/T, T/C 그리고 C/C type이 각각 2, 4 그리고 10두의 비율로 나타나 교배양식을 확인했을 때 F₁과 F₂에서 충분한 정보력 (informativenss)이 있을 것으로 판단되었다 (표 3 참조).

[0056]

[0057]

[표 3] 한국재래돼지와 랜드레이스의 C2 유전자 내 미스센스 돌연변이의 유전자형 분석 결과

Gene	Genotype	Korean native pig	Landrace
C2	T/T	3	2
	T/C	11	4
	C/C	4	10

[0058]

[0059]

또한, 혈청 내 Ca⁺⁺ 농도와 연관성이 있는 DNA 마커를 genome-wide 수준에서 선별하기 위하여 Illumina사의 PorcineSNP60 chip을 이용하여, 시험 축군 526두를 분석하였다. 분석된 자료는 Illumona Genome Studio를 이용하여 편집하고 UltraEdit 15.20과 Microsoft Excel 프로그램을 이용하여 Plink 1.6 통계프로그램에 적합하도록 자료를 변환하였다. 변환된 자료에 별도로 분석된 C2 유전자 돌연변이의 유전자형을 추가하여 최종 입력 자료를 구축하였다. 최종 입력 자료는 Plink를 이용하여 유전자형분석 오류 10% 이상, minor allele 빈도 5% 이하, Hardy-Weinberg 평형 오류 0.001 이하에 해당되는 단염기다형성 마커들은 제거하여, 최종적으로 42,639 개의 단염기다형성 마커를 genome-wide 연관성 분석에 이용하였다. Genome-wide 연관성 분석은 다음의 linear 모델 분석식을 이용하여 Plink 프로그램을 통하여 분석하였다.

[0060]

$$\text{Ca}^{++} \text{ 농도} = \beta_0 + \beta_1 \text{Dom} + \beta_2 \text{Sex} + \varepsilon$$

[0061]

(여기서, $\beta_1 \text{Dom}$ 는 마커의 우성효과에 대한 회귀계수, $\beta_2 \text{Sex}$ 는 성의 효과에 대한 회귀계수 그리고 ε 는 임의의 오차)

[0062]

상기 모델에 의한 분석의 결과는 도 2에서 보는 바와 같이, 7번 염색체상의 C2 유전자가 최고도의 유의성 ($P = 1.40 \times 10^{-9}$)을 보였다. 그러나 분석에 사용한 linear 모델은 실험집단의 혈연관계를 전혀 고려하지 않고 F₂를 혈연관계가 없는 독립적인 개체로 가정하여 분석한 결과로서 보다 정확한 검증을 위하여 집단의 구조를 고려한 chromosome-wide의 2차 분석을 실시하였다. Plink 프로그램을 통해 7번 염색체의 단염기다형성 마커들의 mendel error를 확인하고, 연관불균형 (LD) 값이 0.8 이상인 것을 제거 후 최종 단염기다형성 마커 1,500 개와 C2 유전자 내 미스센스 돌연변이의 유전자형을 chromosome-wide 연관성 분석에 이용하였다.

[0063]

chromosome-wide 분석은 분산성분을 추정하여 양적형질 유전자좌를 추정하는 QDT (Quantitative Transmission Disequilibrium Test) 분석을 사용하였다. QDT는 pair-wise IBD (Identity-by-descent) 확률의 추정과정은 필수적이며, 본 발명에서 사용된 시험 축군처럼 크기가 비교적 크고 (200개체 이상), 교배 방식이 loop를 형성할 경우 Markov chain Monte Carlo (MCMC) algorithm을 이용하여 solution의 추정치를 추론하는 Simwalk2의 프로그램이 효율적인 것으로 알려져 있다. 이에 Simwalk2 프로그램을 이용하여 IBD 추정을

하였다.

[0064] 유전 및 환경 분산 성분의 평가는 $\text{means} = \mu$, $\text{variances} = \text{Ve}$ 를 null model로 $\text{means} = \mu$, $\text{variances} = \text{Ve} + \text{Vg}$ (여기서, μ 는 표현형 평균치, Ve 는 환경분산, Vg 는 유전분산 성분)를 full model로 하고 association을 고려하지 않은 상태에서 산출하였으며, full model의 환경과 유전분산 성분을 이용하여 각 형질의 유전력을 계산하였다. Null model과 full model의 분산성분을 이용한 χ^2 검증에 의하여 유전성분의 통계적 유의성을 산출 하였다. QTDt에서는 $\text{means} = \mu + \text{B} + \text{Bd}$, $\text{variances} = \text{Ve} + \text{Vg} + \text{Va}$ 를 null model로 $\text{means} = \mu + \text{B} + \text{Bd} + \text{W} + \text{Wd}$, $\text{variance} = \text{Ve} + \text{Vg} + \text{Va}$ (여기서, B는 미스센스 돌연변이의 가계 간 상가적 효과, Bd는 미스센스 돌연변이의 가계 간 우성 효과, W는 미스센스 돌연변이의 가계 내 상가적 효과, Wd는 미스센스 돌연변이의 가계 내 우성 효과, Va는 미스센스 돌연변이의 상가적 유전분산 성분) full model로 하여 산출된 평균값에 대한 χ^2 검증에 의하여 미스센스 돌연변이의 표현형에 대한 통계적 유의성을 산출 하였다. 미스센스 돌연변이와 형질과의 연관검증은 $\text{means} = \mu$, $\text{variances} = \text{Ve} + \text{Vg}$ 를 null model로 $\text{means} = \mu$, $\text{variances} = \text{Ve} + \text{Vg} + \text{Va}$ 를 full model로 하는 χ^2 검증에 의하여 진행하였으며, 연관불균형 효과의 검증은 $\text{means} = \mu + \text{B} + \text{W}$, $\text{variances} = \text{Ve} + \text{Vg}$ 를 null model로 $\text{means} = \mu + \text{B} + \text{W}$, $\text{variances} = \text{Ve} + \text{Vg} + \text{Va}$ 를 full model 하는 χ^2 검증에 의하여 수행하였다.

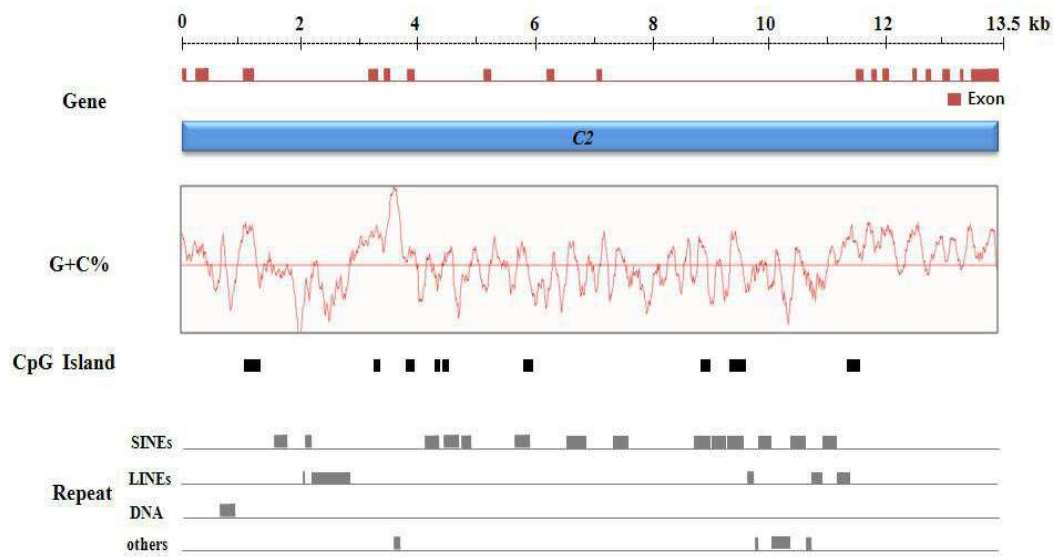
[0065] 상기 모델에 의한 분석의 결과 Ca^{++} 의 평균 $\pm$ 표준오차는 $(12.47 \pm 3.90 \times 10^{-4})$ 이었으며, C2 유전자 내 미스센스 돌연변이의 Ca^{++} 에 유전 및 환경 분산 성분의 평가는 $P = 4.00 \times 10^{-28}$ 의 유성을 보여 유전되어지는 형질로 인정되며, QTDt는 $P = 1.60 \times 10^{-4}$, C2 유전자의 미스센스 돌연변이와 Ca^{++} 농도와의 연관검증은 $P = 4.53 \times 10^{-2}$ 로, 최종적으로 Ca^{++} 와 가장 높은 연관성을 보이는 것으로 추정되었다. 또한 ASGA0030574, MIGA0010230, ASGA0036258는 QTDt 결과에서 높은 연관성을 보였지만, Ca^{++} 과의 연관성 및 연관검증에서 유의적이지 않아, 유의적인 마커에서 제외하였다.

[0066] 또한, General linear model을 이용하여 C2 유전자의 변이가 혈액 내 칼슘 농도 변이에 영향을 미치는가를 살펴본 결과, 도 5에서 보듯이, 고도의 유의성 ($P < 0.001$)을 가지고 칼슘 농도에 영향을 미치는 것을 알 수 있다. 그리고 전체 표현형 변이의 9.0%를 C2 유전자의 변이가 설명하는 것으로 나타났으며, 이는 C2 유전자가 칼슘농도 변이를 조절하는 주요 유전자임을 나타내는 것이다. 또한 GG genotype을 가진 개체들이 칼슘 농도가 높은 유의성을 보이며, AA genotype을 가진 개체에 비해서 고도의 유의성 ($P < 0.001$)을 가지고 농도의 차이가 남을 보여준다. MINITAB program에서 구현 가능한 general linear model을 이용해서 least squares mean과 standard error를 분석하였다.

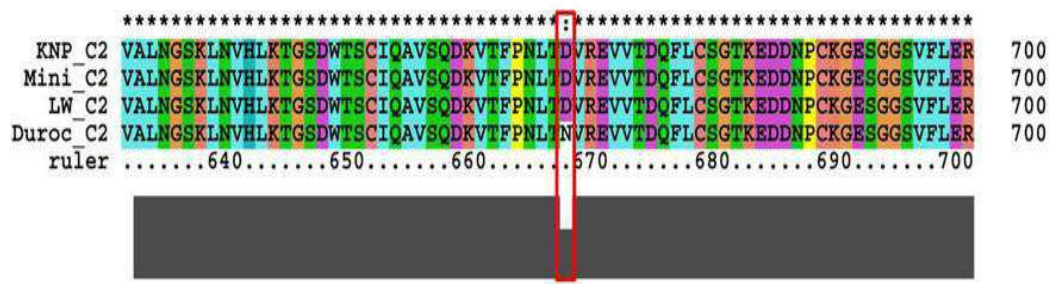
[0067] 따라서 genome-wide 분석의 Plink 와 chromosome-wide 분석의 QTDt의 결과에서 C2 유전자 내 미스센스 돌연변이가 혈청 내 Ca^{++} 농도에서 높은 유의성을 보였다. 따라서 C2 유전자 내 미스센스 돌연변이가 혈청 내 Ca^{++} 농도를 예측할 수 있는 DNA 마커로 사용할 수 있을 것이다.

도면

도면1



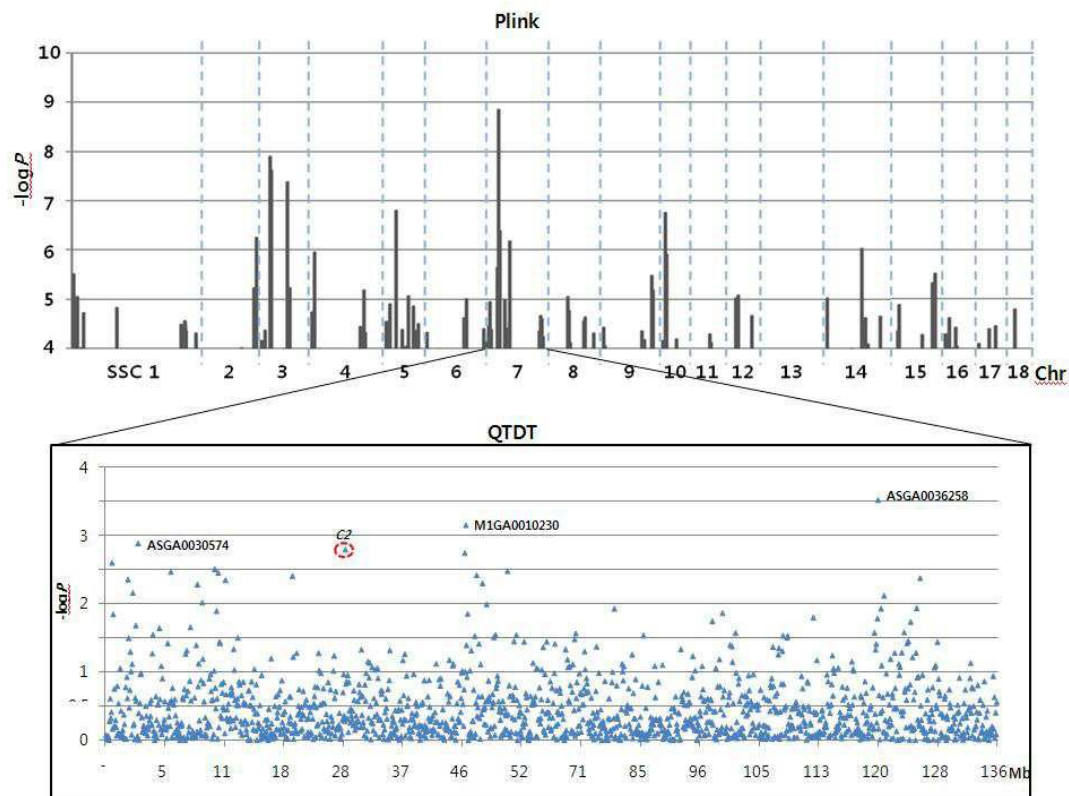
도면2



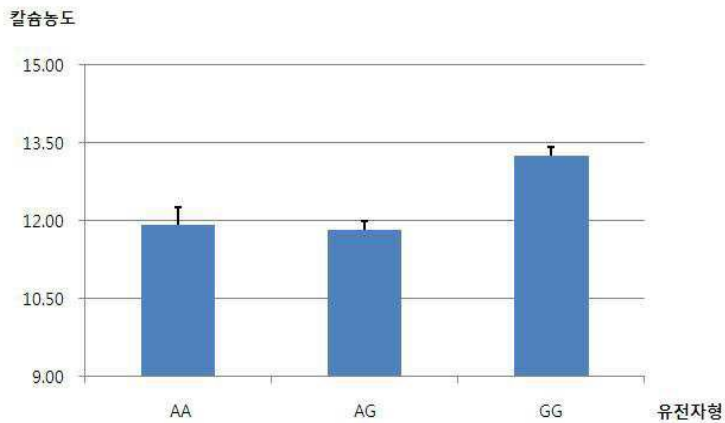
도면3

1756	ACG	GTG	GGG	GCC	AAC	CTG	GCT	CTG	CGG	AGA	CAT	CCA	GGC	AGC	ACC	1800
586	T	V	G	A	N	L	A	L	R	R	H	P	G	S	T	600
1801	TGC	CGA	GAC	CAC	GAG	AAG	GAG	CTT	CTG	AAC	CAA	CTG	AGC	GTT	CCT	1845
601	C	R	D	H	E	K	E	L	L	N	Q	L	S	V	P	615
1846	GCT	CAT	TTT	GTG	GCC	TTG	AAT	GGG	AGC	AAG	CTG	AAT	GTT	CAT	CTC	1890
616	A	H	F	V	A	L	N	G	S	K	L	N	V	H	L	630
1891	AAG	ACA	GGG	TCG	GAT	TGG	ACA	AGC	TGT	ATC	CAG	GCT	GTC	TCC	CAA	1935
631	K	T	G	S	D	W	T	S	C	I	Q	A	V	S	Q	645
1936	GAC	AAA	GTC	ACG	TTC	CCC	AAC	TTG	ACC	GAT	GTC	AGA	GAG	GTG	GTG	1980
646	D	K	V	T	F	P	N	L	T	D	V	R	E	V	V	660
1981	ACA	GAC	CAG	TTC	CTC	TGC	AGC	GGG	ACC	AAG	GAG	GAT	GAC	AAT	CCC	2025
661	T	D	Q	F	L	C	S	G	T	K	E	D	D	N	P	675
2026	TGC	AAG	GGA	GAA	TCT	GGG	GGA	TCC	GTT	TTC	CTT	GAG	CGG	AGA	TTC	2070
676	C	K	G	E	S	G	G	S	V	F	L	E	R	R	F	690
2071	AGG	TTT	TTT	CAG	GTG	GGC	CTG	GTG	AGC	TGG	GGT	CTC	TAC	AGC	CCA	2115
691	R	F	F	Q	V	G	L	V	S	W	G	L	Y	S	P	705
2116	TGC	AGC	AGC	TCC	AAT	AAA	AAC	TTG	CGC	AAA	AAG	GCA	CCC	AGA	GGC	2160
706	C	S	S	S	N	K	N	L	R	K	K	A	P	R	G	720
2161	AGG	ATC	CCA	CCG	CCA	CGA	GAT	TTC	CAC	ATC	AAT	CTC	TTC	CGC	CTG	2205
721	R	I	P	P	P	R	D	F	H	I	N	L	F	R	L	735

도면4



도면5



서열 목록

<110> INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION GYEONGSANG NATIONAL UNIVERSITY

<120> Marker for predicting serum calcium concentration of *Sus scrofa*

<160> 17

<170> Kopatent In 1.71

<210> 1

<211> 2259

<212> DNA

<213> *Sus scrofa* KNP_C2_A (wild type)

<400> 1

```
atggaccac t gatggtcgt cctttgctg ctgccctgt acccagctt agcgacagcc 60
gtccctcct gccctcagaa cgtgaatatc gcagggggca gtttcaccct cagtaatggc 120
tgggcacctg ggagtatcct cacctactcc tgccccctgg gctattacce attcccgtg 180
```

```
gcataagac tgtgcaacag caacggacag tggcagatcc cgagagccac ccggtcaaca 240
aagccagtct gcaaacctgt tcgtgtcca gcccctgttt cctttgagaa cggcgtgtac 300
accccgcggc tggggtccca tcctgtgggc ggcaacctga cctttgagtg tgaggacggc 360
ttcacgtgc ggggctcgcc cgtgcggcag tgcgccccca atggcatgtg ggtgggggag 420
acggctgtgt gtgataacgg cgccagccac tgcccagacc ctggcatttc tgtgggtgca 480
gtgcggacag ggtctcgctt cggccctggg gacaaggtca ggtaccgtg ctctcgaat 540
ctggtgctga cggggtctat ggagcgagag tgccaggaca acggggtctg gagtgggacg 600
```

```
gaacctatct gccgccagcc ctactcttac gactttcctg aggatgtgac ccccgccctg 660
ggtagctcct tctcccacct ccttgagacc acaaatccca cccagactaa gaagacggag 720
aacgtgggcc gaaaaatata aatccagcgc tccgggcacc tgaacctcta cctgcttctg 780
```

gacgcctctc agagtgtgtc ggaagaggac tttggagtct tcaagaggag cgcctccctc 840
ctggtggaca ggtatcttcag cttttagatc aatattagtg tcgccatcat cacctttgca 900
tcgaagccca aatcatcat gtctgtcctg aaggacaaat cccgggatgt gactgaagtg 960
gtccacagtc tggaaaacat caactataaa gaccatgaaa atggaactgg gaccaacatc 1020

tatgaggccc taaatagtgt ctacatcatg atgaataatc aatgcaaaa tcttggtatg 1080
aacacaatgg cctggcagga aatccgccac gccatcatcc tgctgacaga tggaaagtcc 1140
aacatgggtg gctctccaa gccagctgtt gacaatatca aagagatctt gaacatcaaa 1200
gagaagagga aagactatct ggacatctac gccatcggcg tgggcaacgt ggaggtggac 1260
tggagagaac tgaatgagct gggctccaag aaggatggcg agaggcatgc gtctattctg 1320
aaggacacag aggtctctgag ccaggtcttt gagcacatgc tggatgtctc ccagctcacg 1380
gacacatctt gcggggtagg gaacatgtct gccaatgcct ctgcccagga gaggacaccc 1440

tggcatgtca ctattaagcc caagagccac gagacctgcc ggggggcccct catctctgac 1500
cagtgggtcc tgacagccgc ccactgcttc agccacagcg aggaccactc cctgtggagg 1560
gtcagtgtgg gggatccaa ctccaatgg ggcaaagagt ttcgaattga gaaggcgggtg 1620
atctctctag agttcaatgt ctctgccaag aagcatcagg gaatcccga gtctatggt 1680
gacgacattg cctgtctgaa gctggaccag aaagtgaata tgtccacca cgccaggccc 1740
atctgccttc cctgcacggt gggggccaac ctggctctgc ggagacatcc aggcagcacc 1800
tgccgagacc acgagaagga gcttctgaac caactgagcg ttctgtctca ttttgtggcc 1860

ttgaatggga gcaagctgaa tgttcatctc aagacagggt cggattggac aagctgtatc 1920
caggtgtgtc cccaagacaa agtcacgttc cccaacttga ccaatgtcag agaggtgggtg 1980
acagaccagt tcctctgcag cgggaccaag gaggatgaca atccctgcaa gggagaatct 2040
gggggatccg ttttcttga gcggagattc aggttttttc aggtgggcct ggtgagctgg 2100
ggtctctaca gccatgcag cagctccaat aaaaacttgc gcaaaaaggc acccagaggc 2160
aggatccac cgccacgaga ttccacatc aatctcttcc gcctgcagcc ctggctgagg 2220
cagcacttgg agggcatcct gaacttttta ccctctaa 2259

<210> 2

<211> 2259

<212> DNA

<213> Sus scrofa KNP_C2_G (mutant type)

<400> 2

atggaccac tgatggtcgt cctttgcctg ctgccctgt acccaggctt agcgacagcc 60

gctccctcct gccctcagaa cgtgaatatc gcagggggca gtttcaccct cagtaatggc	120
tgggcacctg ggagtatcct cactactcct tgcctcctgg gctattaccc attcccgggtg	180
gcatcaagac tgtgcaacag caacggacag tggcagatcc cgagagccac ccggtcaaca	240
aagccagtct gcaaacctgt tcgctgtcca gccctgttt cctttgagaa cggcgtgtac	300
accccgccgc tggggtccca tctgtgggc ggcaacctga cctttgagtg tgaggacggc	360
ttcacgtgc ggggctcgcc cgtgcggcag tgcgccccca atggcatgtg ggatggggag	420
acggctgtgt gtgataacgg cgccagccac tgcccagacc ctggcatttc tgtgggtgca	480
gtgcggacag ggtctcgctt cggccctggg gacaaggtca ggtaccgctg ctctcgaat	540
ctggtgctga cggggtctat ggagcgagag tgccaggaca acggggtctg gagtgggacg	600
gaaccatct gccgccagcc ctactcttac gactttcctg aggatgtgac ccccgccctg	660
ggtacctctt tctccacct ccttgagacc acaaatccca cccagactaa gaagacggag	720
aacgtgggcc gaaaaatata aatccagcg tccgggcacc tgaacctcta cctgcttctg	780
gacgcctctc agagtgtgtc ggaagaggac tttggagtct tcaagaggag cgcctccctc	840
ctggtggaca ggatcttcag ctttgagatc aatattagt tgcctcatcat cacctttgca	900
tcgaagccca aaatcatcat gtctgtctctg aaggacaaat cccgggatgt gactgaagt	960
gtccacagtc tggaaaacat caactataaa gaccatgaaa atggaactgg gaccaacatc	1020
tatgaggccc taaatagtgt ctacatcatg atgaataatc aaatgcaaaa tcttggtatg	1080
aacacaatgg cctggcagga aatccgccac gccatcatcc tgcagacaga tggaaagtcc	1140
aacatgggtg gctctcccaa gccagctgtt gacaatatca aagagatctt gaacatcaaa	1200
gagaagagga aagactatct ggacatctac gccatcggcg tgggcaacgt ggaggtggac	1260
tggagagaac tgaatgagct gggctccaag aaggatggcg agaggcatgc gttcattctg	1320
aaggacacag aggtctctgag ccaggtcttt gagcacatgc tggatgtctc ccagctcacg	1380
gacaccatct gcggggtagg gaacatgtct gccaatgcct ctgcccagga gaggacaccc	1440
tggcatgtca ctattaagcc caagagccac gagacctgcc ggggggcccct catctctgac	1500
cagtgggtcc tgacagccgc ccaatgcttc agccacagcg aggaccactc cctgtggagg	1560
gtcagtgtgg gggatcccaa ctccaatgg ggcaaagagt ttcgaattga gaaggcgggtg	1620
atctcctcag agttcaatgt ctctgccaag aagcatcagg gaatcccga gttctatggt	1680
gacgacattg cctgtctgaa gctggaccag aaagtgaaaa tgtccacca cgccaggccc	1740
atctgccttc cctgcacggt gggggccaac ctggctctgc ggagacatcc aggcagcacc	1800
tgccgagacc acgagaagga gctttctgaac caactgagcg ttctgtctca ttttgtggcc	1860
ttgaatggga gcaagctgaa tgttcatctc aagacagggt cggattggac aagctgtatc	1920

caggctgtct cccaagacaa agtcacgttc cccaacttga ccatgtcag agagggtgtg	1980
acagaccagt tcctctgcag cgggaccaag gaggatgaca atccctgcaa gggagaatct	2040
gggggatccg ttttccttga gcggagattc aggttttttc aggtgggcct ggtgagctgg	2100
ggtctctaca gcccatgcag cagctccaat aaaaacttgc gcaaaaaggc acccagaggc	2160
aggatccac cgccacgaga tttccacatc aatctcttcc gcctgcagcc ctggctgagg	2220
cagcacttgg agggcatcct gaacttttta ccctctaa	2259
<210> 3	
<211> 2259	
<212> DNA	
<213> Sus scrofa KNP_C2_R (heterotype)	
<400> 3	
atggaccac tgatgtcgt cctttgcctg ctgccctgt acccaggctt agcgacagcc	60
gtccctcct gccctcagaa cgtgaatatc gcagggggca gtttcacct cagtaatggc	120
tgggcacctg ggagtatcct cactactcc tgccccctgg gctattacc attcccgtg	180
gcatcaagac tgtgcaacag caacggacag tggcagatcc cgagagccac ccggtcaaca	240
aagccagtct gcaaacctgt tcgtgttcca gccctgttt cctttgagaa cggcgtgtac	300
accccgccgc tggggtccca tctgtgggc ggcaacctga cctttgagt tgaggacggc	360
ttcacgtgc ggggctcgcc cgtgcggcag tgcgcccc atggcatgt ggatggggag	420
acggctgtgt gtgataacgc cgccagccac tgcccagacc ctggcatttc tgtgggtgca	480
gtcgggacag ggtctcgtt cggccctggg gacaaggtca ggtaccgtg ctctcgaat	540
ctggtgtga cggggtctat ggagcgagag tgccaggaca acggggtctg gagtgggacg	600
gaacctatc gccgccagcc ctactcttac gactttctg aggatgtgac ccccgccctg	660
ggtacctct tctccacct ccttgagacc acaaatccca cccagactaa gaagacggag	720
aacgtgggcc gaaaaatata aatccagcgc tccgggcacc tgaacctcta cctgttctg	780
gacgcctctc agagtgtgtc ggaagaggac tttggagtct tcaagaggag cgcctccctc	840
ctggtggaca ggatcttcag ctttgagatc aatattagt tcgccatcat cacctttgca	900
tcgaagccca aatcatcat gtctgtcctg aaggacaaat cccgggatgt gactgaagtg	960
gtccacagtc tggaaaacat caactataaa gaccatgaaa atggaactgg gaccaacatc	1020
tatgagggcc taaatagtgt ctacatcatg atgaataatc aaatgcaaaa tcttggtatg	1080
aacacaatgg cctggcagga aatccgccac gccatcatcc tgctgacaga tggaaagtec	1140
aacatgggtg gctctccaa gccagctgtt gacaatatca aagagatctt gaacatcaaa	1200

gagaagagga aagactatct ggacatctac gccatcggcg tgggcaacgt ggaggtggac	1260
tggagagaac tgaatgagct gggctccaag aaggatggcg agaggcatgc gttcattctg	1320
aaggacacag aggtctctgag ccaggtcttt gagcacatgc tggatgtctc ccagctcacg	1380
gacaccatct gcggggtagg gaacatgtct gccaatgcct ctgcccagga gaggacaccc	1440
tggcatgtca ctattaagcc caagagccac gagacctgcc gggggggcct catctctgac	1500
cagtgggtcc tgacagccgc ccactgcttc agccacagcg aggaccactc cctgtggagg	1560
gtcagtgtgg gggatccaa ctccaatgg ggcaaagagt ttcgaattga gaaggcgggtg	1620
atctctcag agttcaatgt ctctgccaag aagcatcagg gaatcccga gttctatggt	1680
gacgacattg ccttgcigaa gctggaccag aaagtgaata tgtccacca cgccaggccc	1740
atctgccttc cctgcacggt gggggccaac ctggctctgc ggagacatcc aggcagcacc	1800
tgccgagacc acgagaagga gcttctgaac caactgagcg ttcctgctca ttttgtggcc	1860
ttgaatggga gcaagctgaa tgttcatctc aagacagggt cggattggac aagctgtatc	1920
caggctgtct cccaagacaa agtcacgttc cccaacttga ccratgtcag agaggtggtg	1980
acagaccagt tcctctgcag cgggaccaag gaggatgaca atccctgcaa gggagaatct	2040
gggggatccg ttttcttga gcggagattc aggttttttc aggtgggcct ggtgagctgg	2100
ggtctctaca gccatgcag cagctccaat aaaaacttgc gcaaaaaggc acccagaggc	2160
aggatccac cgccacgaga ttccacatc aatctcttcc gcctgcagcc ctggctgagg	2220
cagcacttgg agggcatcct gaacttttta ccctctaa	2259
<210> 4	
<211> 2259	
<212> DNA	
<213> Sus scrofa Land_C2_A (wild type)	
<400> 4	
atggaccac tgatggtcgt cctttgcctg ctgccctgt acccaggctt agcgacagcc	60
gtccctcct gccctcagaa cgtgaatctc gcagggggca gtttcacct cagtaatggc	120
tgggcacctg ggagtatcct cactactcc tgccccctgg gctattacc attcccgggtg	180
gcatcaagac tgtgcaacag caacggacag tggcagatcc cgagagccac ccggtcaaca	240
aagccagtct gcaaacctgt tcgtgtcca gccctgttt cctttgagaa cggcgtgtac	300
acccgcggc tggggtccca tcctgtgggc ggcaacctga cctttgagtg tgaggacggc	360
ttcacgtgc ggggctcgc cgtgcggcag tctgccccca atggcatgtg ggatggggag	420
acggctgtgt gtgataacgg cgccagccac tgcccagacc ctggcatttc tgtgggtgca	480

gtgcggacag ggctctgctt cggccctggg gacaaggta ggtaccgctg ctctcgaat 540
ctggtgctga cggggtctat ggagcgagag tgccaggaca acggggtctg gagtgggacg 600
gaacccatct gccgccagcc ctactcttac gactttcctg aggatgtgac ccccgccctg 660
ggtacctcct tctccacct ccttgagacc acaaatccca ccagactaa gaagacggag 720

aacgtgggcc gaaaaataca aatccagcgc tccgggcacc tgaacctcta cctgcttctg 780
gacgcctctc agagtgtgtc ggaagaggac tttggagtct tcaagaggag cgcctccctc 840
ctggtggaca ggatcttcag ctttgagatc aatattagtg tcgcatcat cacctttgca 900
tcgaagccca aaatcatcat gtctgtcctg aaggacaaat cccgggatgt gactgaagtg 960
gtccacagtc tggaaaacat caactataaa gaccatgaaa atggaactgg gaccaacatc 1020
tatgaggccc taaatagtgt ctacatcatg atgaataatc aaatgcaaaa tcttggtatg 1080
aacacaatgg cctggcagga aatccgccac gccatcatcc tgctgacaga tggaaagtcc 1140

aacatgggtg gctctcccaa gccagctgtt gacaatatca aagagatctt gaacatcaaa 1200
gagaagagga aagactatct ggacatctac gccatcggcg tgggcaacgt ggaggtggac 1260
tggagagaac tgaatgagct gggctccaag aaggatggcg agaggcatgc gtctattctg 1320
aaggacacag aggtcttgag ccaggtcttt gacacatgc tggatgtctc ccagctcacg 1380
gacaccatct gcggggtagg gaacatgtct gccaatgcct ctgcccagga gaggacaccc 1440
tggcatgtca ctattaagcc caagagccac gagacctgcc ggggggcct catctctgac 1500
cagtgggtcc tgacagccgc ccatgtctc agccacagcg aggaccactc cctgtggagg 1560

gtcagtgtgg gggatcccaa ctccaatgg ggcaaagagt ttcgaattga gaaggcgggtg 1620
atctctcag agttcaatgt ctctccaag aagcatcagg gaatcccga gtctatggt 1680
gacgacattg ccctgtgaa gctggaccag aaagtgaata tgtccacca cgccaggccc 1740
atctgccttc cctgcacgtt gggggccaac ctggtctgc ggagacatcc aggcagcacc 1800
tgccgagacc acgagaagga gcttctgaac caactgagcg ttctgtctca tttgtggcc 1860
ttgaatggga gcaagctgaa tgttcatctc aagacagggt cggattggac aagctgtatc 1920
caggctgtct cccaagaaa agtcacgttc cccaactga ccaatgtcag agaggtggtg 1980

acagaccagt tcctctgcag cgggaccaag gaggatgaca atccctgcaa gggagaatct 2040
gggggatccg ttttcttga gcggagattc aggtttttc aggtgggcct ggtgagctgg 2100
ggtctctaca gccatgcag cagctccaat aaaaacttgc gcaaaaaggc acccagaggc 2160
aggatccac cgccacgaga tttccacatc aatctcttcc gcctgcagcc ctggctgagg 2220
cagcacttgg agggcatcct gaacttttta cccctctaa 2259

<210> 5

<211> 2259

<212> DNA

<213> Sus scrofa Land_C2_G (mutant type)

<400> 5

atggaccac tgatggtcgt cctttgcctg ctgcccctgt acccaggctt agcgacagcc 60

gctccctcct gccctcagaa cgtgaataat gcagggggca gtttcaccct cagtaatggc 120

tgggcacctg ggagtatcct cacctactcc tgccccctgg gctattacce attcccgtg 180

gcatacaagc tgtgcaacag caacggacag tggcagatcc cgagagccac ccggtcaaca 240

aagccagtct gcaaacctgt tcgctgtcca gccctgttt cctttgagaa cggcgtgtac 300

accccgggc tggggtccca tctgtgggc ggcaacctga cctttgagtg tgaggacggc 360

ttcacgtgc ggggctcgcc cgtgcggcag tgcgccccca atggcatgtg ggatggggag 420

acggctgtgt gtgataacgg cgccagccac tgcccagacc ctggcatttc tgtgggtgca 480

gtgcggacag ggctcgtctt cggccctggg gacaaggcca ggtaccgctg ctctcgaat 540

ctggtgctga cggggtctat ggagcgagag tgccaggaca acggggtctg gagtgggacg 600

gaacctatct gccgccagcc ctactcttac gactttcttg aggatgtgac ccccgccctg 660

ggtacctcct tctccacct ccttgagcc acaaatccca cccagactaa gaagacggag 720

aacgtgggcc gaaaaatata aatccagcgc tccgggcacc tgaacctcta cctgcttctg 780

gacgcctctc agagtgtgtc ggaagaggac tttggagtct tcaagaggag cgcctcctc 840

ctggtggaca ggatcttcag ctttgagatc aatattagtg tcgccatcat cacctttgca 900

tcgaagccca aaatcatcat gtctgtcctg aaggacaaat cccgggatgt gactgaagtg 960

gtccacagtc tggaaaacat caactataaa gaccatgaaa atggaactgg gaccaacatc 1020

tatgaggccc taaatagtgt ctacatcatg atgaataatc aatgcaaaa tcttggtatg 1080

aacacaatgg cctggcagga aatccgccac gccatcatcc tgctgacaga tggaaagtcc 1140

aacatgggtg gctctccaa gccagctgtt gacaatatca aagagatctt gaacatcaaa 1200

gagaagagga aagactatct ggacatctac gccatcggcg tgggcaacgt ggaggtggac 1260

tggagagaac tgaatgagct gggctccaag aaggatggcg agaggcatgc gttcattctg 1320

aaggacacag aggtctctgag ccaggtcttt gagcacatgc tggatgtctc ccagctcacg 1380

gacacctatc gcggggtagg gaacatgtct gccaatgcct ctgcccagga gaggacaccc 1440

tggcatgtca ctattaagcc caagagccac gagacctgcc ggggggcccct catctctgac 1500

cagtgggtcc tgacagccgc ccaactgttc agccacagcg aggaccactc cctgtggagg 1560

gtcagtgtgg gggatccaa ctccaatgg ggcaaagagt ttcgaattga gaaggcgggtg 1620

atctctcag agttcaatgt ctctgccaag aagcatcagg gaatcccga gtctatggt	1680
gacgacattg cctgtctgaa gctggaccag aaagtgaata tgtccacca cgccaggccc	1740
atctgccttc cctgcacggt gggggccaac ctggctctgc ggagacatcc aggcagcacc	1800
tgccgagacc acgagaagga gcttctgaac caactgagcg ttcctgtca ttttgtggcc	1860
ttgaatggga gcaagctgaa tgttcatctc aagacagggt cggattggac aagctgtatc	1920
caggctgtct cccaagacaa agtcacgttc cccaacttga ccgatgtcag agagggtgtg	1980
acagaccagt tcctctgcag cgggaccaag gaggatgaca atccctgcaa gggagaatct	2040
gggggatccg ttttcttga gcggagattc aggttttttc aggtgggcct ggtgagctgg	2100
ggtctctaca gcccatgcag cagctccaat aaaaacttgc gcaaaaaggc acccagaggc	2160
aggatccac cgccacgaga ttccacatc aatctcttcc gcctgcagcc ctggctgagg	2220
cagcacttgg agggcatcct gaacttttta ccctctaa	2259
<210> 6	
<211> 2259	
<212> DNA	
<213> Sus scrofa Land_C2_R (heterotype)	
<400> 6	
atggaccac tgatggtcgt cctttgcctg ctgccctgt acccaggctt agcgacagcc	60
gtccctcct gccctcagaa cgtgaatata gcagggggca gtttcaccct cagtaatggc	120
tgggcacctg ggagtatcct cactactcc tgccccctgg gctattacc attcccgtg	180
gcatcaagac tgtgcaacag caacggacag tggcagatcc cgagagccac ccggtcaaca	240
aagccagtct gcaaacctgt tcgtgtcca gccctgttt cctttgagaa cggcgtgtac	300
accccgccg tgggtccca tcctgtgggc ggcaacctga cctttgagt tgaggacggc	360
ttcacgtgc ggggctcgcc cgtgcggcag tgcgcccc atggcatgt ggatggggag	420
acggctgtgt gtgataacgg cgccagccac tgcccagacc ctggcatttc tgtgggtgca	480
gtgcggacag ggtctcgtt cgccctggg gacaaggtca ggtaccgtg ctctcgaat	540
ctggtgctga cggggtctat ggagcgagag tgccaggaca acggggtctg gaggggacg	600
gaaccatct gccgccagcc ctactcttac gactttcctg aggatgtgac ccccgccctg	660
ggtacctct tctccacct ccttgagacc acaaatccca ccagactaa gaagacggag	720
aacgtgggcc gaaaaatata aatccagcg tccgggcacc tgaacctcta cctgttctg	780
gacgcctctc agagtgtgtc ggaagaggac tttggagtct tcaagaggag cgcctccctc	840
ctggtggaca ggatcttcag ctttgagatc aatattagt tcgcatcat cacctttgca	900

tcgaagccca aaatcatcat gtctgtcctg aaggacaaat cccgggatgt gactgaagtg 960
gtccacagtc tggaaaacat caactataaa gaccatgaaa atggaactgg gaccaacatc 1020
tatgaggccc taaatagtgt ctacatcatg atgaataatc aaatgcaaaa tcttggtatg 1080

aacacaatgg cctggcagga aatccgccac gccatcatcc tgctgacaga tggaaagtcc 1140
aacatgggtg gctctcccaa gccagctgtt gacaatatca aagagatctt gaacatcaaa 1200
gagaagagga aagactatct ggacatctac gccatcggcg tgggcaacgt ggaggtggac 1260
tggagagaac tgaatgagct gggctccaag aaggatggcg agaggcatgc gttcattctg 1320
aaggacacag aggtcttgag ccaggtcttt gagcacatgc tggatgtctc ccagctcacg 1380
gacaccatct gcggggtagg gaacatgtct gccaatgcct ctgccagga gaggacaccc 1440
tggcatgtca ctattaagcc caagagccac gagacctgcc ggggggcct catctctgac 1500

cagtgggtcc tgacagccgc cactgtctc agccacagcg aggaccactc cctgtggagg 1560
gtcagtgtgg gggatcccaa ctccaatgg ggcaaagagt ttcgaattga gaaggcggtg 1620
atctctcag agttcaatgt ctctccaag aagcatcagg gaatcccga gtctatggt 1680
gacgacattg cctgtctgaa gctggaccag aaagtgaata tgtccacca cgccaggccc 1740
atctgccttc cctgcacggt gggggccaac ctggctctgc ggagacatcc aggcagcacc 1800
tgccgagacc acgagaagga gcttctgaac caactgagcg ttcctgtca ttttgtggcc 1860
ttgaatggga gcaagctgaa tgttcattc aagacagggt cggattggac aagctgtatc 1920

caggctgtct cccaagacaa agtcacgttc cccaactga ccratgtcag agagggtgtg 1980
acagaccagt tctctgcag cgggaccaag gaggatgaca atccctgcaa gggagaatct 2040
gggggatccg ttttcttga gcggagattc aggttttttc aggtgggcct ggtgagctgg 2100
ggtctctaca gccatgcag cagctccaat aaaaacttgc gcaaaaaggc acccagaggc 2160
aggatccac cgccacgaga ttccacatc aatctcttcc gcctgcagcc ctggctgagg 2220
cagcacttgg agggcatcct gaacttttta cccctctaa 2259

<210> 7
<211> 2256
<212> DNA

<213> Sus scrofa KNP_C2_A (wild type)
<220><221> CDS
<222> (1)..(2256)
<400> 7

atg gac cca ctg atg gtc gtc ctt tgc ctg ctg ccc ctg tac cca ggc 48

Met Asp Pro Leu Met Val Val Leu Cys Leu Leu Pro Leu Tyr Pro Gly	
1 5 10 15	
tta gcg aca gcc gct ccc tcc tgc cct cag aac gtg aat atc gca ggg	96
Leu Ala Thr Ala Ala Pro Ser Cys Pro Gln Asn Val Asn Ile Ala Gly	
20 25 30	
ggc agt ttc acc ctc agt aat ggc tgg gca cct ggg agt atc ctc acc	144
Gly Ser Phe Thr Leu Ser Asn Gly Trp Ala Pro Gly Ser Ile Leu Thr	
35 40 45	
tac tcc tgc ccc ctg ggc tat tac cca ttc ccg gtg gca tca aga ctg	192
Tyr Ser Cys Pro Leu Gly Tyr Tyr Pro Phe Pro Val Ala Ser Arg Leu	
50 55 60	
tgc aac agc aac gga cag tgg cag atc ccg aga gcc acc cgg tca aca	240
Cys Asn Ser Asn Gly Gln Trp Gln Ile Pro Arg Ala Thr Arg Ser Thr	
65 70 75 80	
aag cca gtc tgc aaa cct gtt cgc tgt cca gcc cct gtt tcc ttt gag	288
Lys Pro Val Cys Lys Pro Val Arg Cys Pro Ala Pro Val Ser Phe Glu	
85 90 95	
aac ggc gtg tac acc ccg cgg ctg ggg tcc cat cct gtg ggc ggc aac	336
Asn Gly Val Tyr Thr Pro Arg Leu Gly Ser His Pro Val Gly Gly Asn	
100 105 110	
ctg acc ttt gag tgt gag gac ggc ttc acg ctg cgg ggc tgc ccc gtg	384
Leu Thr Phe Glu Cys Glu Asp Gly Phe Thr Leu Arg Gly Ser Pro Val	
115 120 125	
cgg cag tgt cgc ccc aat ggc atg tgg gat ggg gag acg gct gtg tgt	432
Arg Gln Cys Arg Pro Asn Gly Met Trp Asp Gly Glu Thr Ala Val Cys	
130 135 140	
gat aac ggc gcc agc cac tgc cca gac cct ggc att tct gtg ggt gca	480
Asp Asn Gly Ala Ser His Cys Pro Asp Pro Gly Ile Ser Val Gly Ala	
145 150 155 160	
gtg cgg aca ggg tct cgc ttc ggc cct ggg gac aag gtc agg tac cgc	528
Val Arg Thr Gly Ser Arg Phe Gly Pro Gly Asp Lys Val Arg Tyr Arg	

165	170	175	
tgc tcc tcg aat ctg gtg ctg acg ggg tct atg gag cga gag tgc cag			576
Cys Ser Ser Asn Leu Val Leu Thr Gly Ser Met Glu Arg Glu Cys Gln			
180	185	190	
gac aac ggg gtc tgg agt ggg acg gaa ccc atc tgc cgc cag ccc tac			624
Asp Asn Gly Val Trp Ser Gly Thr Glu Pro Ile Cys Arg Gln Pro Tyr			
195	200	205	
tct tac gac ttt cct gag gat gtg acc ccc gcc ctg ggt acc tcc ttc			672
Ser Tyr Asp Phe Pro Glu Asp Val Thr Pro Ala Leu Gly Thr Ser Phe			
210	215	220	
tcc cac ctc ctt gga gcc aca aat ccc acc cag act aag aag acg gag			720
Ser His Leu Leu Gly Ala Thr Asn Pro Thr Gln Thr Lys Lys Thr Glu			
225	230	235	240
aac gtg ggc cga aaa ata caa atc cag cgc tcc ggg cac ctg aac ctc			768
Asn Val Gly Arg Lys Ile Gln Ile Gln Arg Ser Gly His Leu Asn Leu			
245	250	255	
tac ctg ctt ctg gac gcc tct cag agt gtg tcg gaa gag gac ttt gga			816
Tyr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Gln Ser Val Ser Glu Glu Asp Phe Gly			
260	265	270	
gtc ttc aag agg agc gcc tcc ctc ctg gtg gac agg atc ttc agc ttt			864
Val Phe Lys Arg Ser Ala Ser Leu Leu Val Asp Arg Ile Phe Ser Phe			
275	280	285	
gag atc aat att agt gtc gcc atc atc acc ttt gca tcg aag ccc aaa			912
Glu Ile Asn Ile Ser Val Ala Ile Ile Thr Phe Ala Ser Lys Pro Lys			
290	295	300	
atc atc atg tct gtc ctg aag gac aaa tcc cgg gat gtg act gaa gtg			960
Ile Ile Met Ser Val Leu Lys Asp Lys Ser Arg Asp Val Thr Glu Val			
305	310	315	320
gtc cac agt ctg gaa aac atc aac tat aaa gac cat gaa aat gga act			1008
Val His Ser Leu Glu Asn Ile Asn Tyr Lys Asp His Glu Asn Gly Thr			
325	330	335	

ggg acc aac atc tat gag gcc cta aat agt gtc tac atc atg atg aat	1056
Gly Thr Asn Ile Tyr Glu Ala Leu Asn Ser Val Tyr Ile Met Met Asn	
340 345 350	
aat caa atg caa aat ctt ggt atg aac aca atg gcc tgg cag gaa atc	1104
Asn Gln Met Gln Asn Leu Gly Met Asn Thr Met Ala Trp Gln Glu Ile	
355 360 365	
cgc cac gcc atc atc ctg ctg aca gat gga aag tcc aac atg ggt ggc	1152
Arg His Ala Ile Ile Leu Leu Thr Asp Gly Lys Ser Asn Met Gly Gly	
370 375 380	
tct ccc aag cca gct gtt gac aat atc aaa gag atc ttg aac atc aaa	1200
Ser Pro Lys Pro Ala Val Asp Asn Ile Lys Glu Ile Leu Asn Ile Lys	
385 390 395 400	
gag aag agg aaa gac tat ctg gac atc tac gcc atc ggc gtg ggc aac	1248
Glu Lys Arg Lys Asp Tyr Leu Asp Ile Tyr Ala Ile Gly Val Gly Asn	
405 410 415	
gtg gag gtg gac tgg aga gaa ctg aat gag ctg ggc tcc aag aag gat	1296
Val Glu Val Asp Trp Arg Glu Leu Asn Glu Leu Gly Ser Lys Lys Asp	
420 425 430	
ggc gag agg cat gcg ttc att ctg aag gac aca gag gct ctg agc cag	1344
Gly Glu Arg His Ala Phe Ile Leu Lys Asp Thr Glu Ala Leu Ser Gln	
435 440 445	
gtc ttt gag cac atg ctg gat gtc tcc cag ctc acg gac acc atc tgc	1392
Val Phe Glu His Met Leu Asp Val Ser Gln Leu Thr Asp Thr Ile Cys	
450 455 460	
ggg gta ggg aac atg tct gcc aat gcc tct gcc cag gag agg aca ccc	1440
Gly Val Gly Asn Met Ser Ala Asn Ala Ser Ala Gln Glu Arg Thr Pro	
465 470 475 480	
tgg cat gtc act att aag ccc aag agc cac gag acc tgc cgg ggg gcc	1488
Trp His Val Thr Ile Lys Pro Lys Ser His Glu Thr Cys Arg Gly Ala	
485 490 495	
ctc atc tct gac cag tgg gtc ctg aca gcc gcc cac tgc ttc agc cac	1536

Leu Ile Ser Asp Gln Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Phe Ser His	
500	505
510	
agc gag gac cac tcc ctg tgg agg gtc agt gtg ggg gat ccc aac tcc	1584
Ser Glu Asp His Ser Leu Trp Arg Val Ser Val Gly Asp Pro Asn Ser	
515	520
525	
caa tgg ggc aaa gag ttt cga att gag aag gcg gtg atc tcc tca gag	1632
Gln Trp Gly Lys Glu Phe Arg Ile Glu Lys Ala Val Ile Ser Ser Glu	
530	535
540	
ttc aat gtc tct gcc aag aag cat cag gga atc ccg gag ttc tat ggt	1680
Phe Asn Val Ser Ala Lys Lys His Gln Gly Ile Pro Glu Phe Tyr Gly	
545	550
555	560
gac gac att gcc ctg ctg aag ctg gac cag aaa gtg aaa atg tcc acc	1728
Asp Asp Ile Ala Leu Leu Lys Leu Asp Gln Lys Val Lys Met Ser Thr	
565	570
575	
cac gcc agg ccc atc tgc ctt ccc tgc acg gtg ggg gcc aac ctg gct	1776
His Ala Arg Pro Ile Cys Leu Pro Cys Thr Val Gly Ala Asn Leu Ala	
580	585
590	
ctg cgg aga cat cca ggc agc acc tgc cga gac cac gag aag gag ctt	1824
Leu Arg Arg His Pro Gly Ser Thr Cys Arg Asp His Glu Lys Glu Leu	
595	600
605	
ctg aac caa ctg agc gtt cct gct cat ttt gtg gcc ttg aat ggg agc	1872
Leu Asn Gln Leu Ser Val Pro Ala His Phe Val Ala Leu Asn Gly Ser	
610	615
620	
aag ctg aat gtt cat ctc aag aca ggg tgc gat tgg aca agc tgt atc	1920
Lys Leu Asn Val His Leu Lys Thr Gly Ser Asp Trp Thr Ser Cys Ile	
625	630
635	640
cag gct gtc tcc caa gac aaa gtc acg ttc ccc aac ttg acc aat gtc	1968
Gln Ala Val Ser Gln Asp Lys Val Thr Phe Pro Asn Leu Thr Asn Val	
645	650
655	
aga gag gtg gtg aca gac cag ttc ctc tgc agc ggg acc aag gag gat	2016
Arg Glu Val Val Thr Asp Gln Phe Leu Cys Ser Gly Thr Lys Glu Asp	

660 665 670

gac aat ccc tgc aag gga gaa tct ggg gga tcc gtt ttc ctt gag cgg 2064

Asp Asn Pro Cys Lys Gly Glu Ser Gly Gly Ser Val Phe Leu Glu Arg

675 680 685

aga ttc agg ttt ttt cag gtg ggc ctg gtg agc tgg ggt ctc tac agc 2112

Arg Phe Arg Phe Phe Gln Val Gly Leu Val Ser Trp Gly Leu Tyr Ser

690 695 700

cca tgc agc agc tcc aat aaa aac ttg cgc aaa aag gca ccc aga ggc 2160

Pro Cys Ser Ser Ser Asn Lys Asn Leu Arg Lys Lys Ala Pro Arg Gly

705 710 715 720

agg atc cca ccg cca cga gat ttc cac atc aat ctc ttc cgc ctg cag 2208

Arg Ile Pro Pro Pro Arg Asp Phe His Ile Asn Leu Phe Arg Leu Gln

725 730 735

ccc tgg ctg agg cag cac ttg gag ggc atc ctg aac ttt tta ccc ctc 2256

Pro Trp Leu Arg Gln His Leu Glu Gly Ile Leu Asn Phe Leu Pro Leu

740 745 750

<210> 8

<211> 752

<212> PRT

<213> Sus scrofa KNP_C2_A (wild type)

<400> 8

Met Asp Pro Leu Met Val Val Leu Cys Leu Leu Pro Leu Tyr Pro Gly

1 5 10 15

Leu Ala Thr Ala Ala Pro Ser Cys Pro Gln Asn Val Asn Ile Ala Gly

20 25 30

Gly Ser Phe Thr Leu Ser Asn Gly Trp Ala Pro Gly Ser Ile Leu Thr

35 40 45

Tyr Ser Cys Pro Leu Gly Tyr Tyr Pro Phe Pro Val Ala Ser Arg Leu

50 55 60

Cys Asn Ser Asn Gly Gln Trp Gln Ile Pro Arg Ala Thr Arg Ser Thr

65 70 75 80

Lys Pro Val Cys Lys Pro Val Arg Cys Pro Ala Pro Val Ser Phe Glu
 85 90 95
 Asn Gly Val Tyr Thr Pro Arg Leu Gly Ser His Pro Val Gly Gly Asn
 100 105 110
 Leu Thr Phe Glu Cys Glu Asp Gly Phe Thr Leu Arg Gly Ser Pro Val
 115 120 125

 Arg Gln Cys Arg Pro Asn Gly Met Trp Asp Gly Glu Thr Ala Val Cys
 130 135 140
 Asp Asn Gly Ala Ser His Cys Pro Asp Pro Gly Ile Ser Val Gly Ala
 145 150 155 160
 Val Arg Thr Gly Ser Arg Phe Gly Pro Gly Asp Lys Val Arg Tyr Arg
 165 170 175
 Cys Ser Ser Asn Leu Val Leu Thr Gly Ser Met Glu Arg Glu Cys Gln
 180 185 190
 Asp Asn Gly Val Trp Ser Gly Thr Glu Pro Ile Cys Arg Gln Pro Tyr

 195 200 205
 Ser Tyr Asp Phe Pro Glu Asp Val Thr Pro Ala Leu Gly Thr Ser Phe
 210 215 220
 Ser His Leu Leu Gly Ala Thr Asn Pro Thr Gln Thr Lys Lys Thr Glu
 225 230 235 240
 Asn Val Gly Arg Lys Ile Gln Ile Gln Arg Ser Gly His Leu Asn Leu
 245 250 255
 Tyr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Gln Ser Val Ser Glu Glu Asp Phe Gly
 260 265 270

 Val Phe Lys Arg Ser Ala Ser Leu Leu Val Asp Arg Ile Phe Ser Phe
 275 280 285
 Glu Ile Asn Ile Ser Val Ala Ile Ile Thr Phe Ala Ser Lys Pro Lys
 290 295 300
 Ile Ile Met Ser Val Leu Lys Asp Lys Ser Arg Asp Val Thr Glu Val
 305 310 315 320
 Val His Ser Leu Glu Asn Ile Asn Tyr Lys Asp His Glu Asn Gly Thr
 325 330 335

Gly Thr Asn Ile Tyr Glu Ala Leu Asn Ser Val Tyr Ile Met Met Asn

340 345 350

Asn Gln Met Gln Asn Leu Gly Met Asn Thr Met Ala Trp Gln Glu Ile

355 360 365

Arg His Ala Ile Ile Leu Leu Thr Asp Gly Lys Ser Asn Met Gly Gly

370 375 380

Ser Pro Lys Pro Ala Val Asp Asn Ile Lys Glu Ile Leu Asn Ile Lys

385 390 395 400

Glu Lys Arg Lys Asp Tyr Leu Asp Ile Tyr Ala Ile Gly Val Gly Asn

405 410 415

Val Glu Val Asp Trp Arg Glu Leu Asn Glu Leu Gly Ser Lys Lys Asp

420 425 430

Gly Glu Arg His Ala Phe Ile Leu Lys Asp Thr Glu Ala Leu Ser Gln

435 440 445

Val Phe Glu His Met Leu Asp Val Ser Gln Leu Thr Asp Thr Ile Cys

450 455 460

Gly Val Gly Asn Met Ser Ala Asn Ala Ser Ala Gln Glu Arg Thr Pro

465 470 475 480

Trp His Val Thr Ile Lys Pro Lys Ser His Glu Thr Cys Arg Gly Ala

485 490 495

Leu Ile Ser Asp Gln Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Phe Ser His

500 505 510

Ser Glu Asp His Ser Leu Trp Arg Val Ser Val Gly Asp Pro Asn Ser

515 520 525

Gln Trp Gly Lys Glu Phe Arg Ile Glu Lys Ala Val Ile Ser Ser Glu

530 535 540

Phe Asn Val Ser Ala Lys Lys His Gln Gly Ile Pro Glu Phe Tyr Gly

545 550 555 560

Asp Asp Ile Ala Leu Leu Lys Leu Asp Gln Lys Val Lys Met Ser Thr

565 570 575

His Ala Arg Pro Ile Cys Leu Pro Cys Thr Val Gly Ala Asn Leu Ala

580 585 590
 Leu Arg Arg His Pro Gly Ser Thr Cys Arg Asp His Glu Lys Glu Leu
 595 600 605
 Leu Asn Gln Leu Ser Val Pro Ala His Phe Val Ala Leu Asn Gly Ser
 610 615 620
 Lys Leu Asn Val His Leu Lys Thr Gly Ser Asp Trp Thr Ser Cys Ile

 625 630 635 640
 Gln Ala Val Ser Gln Asp Lys Val Thr Phe Pro Asn Leu Thr Asn Val
 645 650 655
 Arg Glu Val Val Thr Asp Gln Phe Leu Cys Ser Gly Thr Lys Glu Asp
 660 665 670
 Asp Asn Pro Cys Lys Gly Glu Ser Gly Gly Ser Val Phe Leu Glu Arg
 675 680 685
 Arg Phe Arg Phe Phe Gln Val Gly Leu Val Ser Trp Gly Leu Tyr Ser
 690 695 700

Pro Cys Ser Ser Ser Asn Lys Asn Leu Arg Lys Lys Ala Pro Arg Gly
 705 710 715 720
 Arg Ile Pro Pro Pro Arg Asp Phe His Ile Asn Leu Phe Arg Leu Gln
 725 730 735
 Pro Trp Leu Arg Gln His Leu Glu Gly Ile Leu Asn Phe Leu Pro Leu
 740 745 750

<210> 9
 <211> 2256
 <212> DNA
 <213> Sus scrofa Land_C2_A (wild type)
 <220><221> CDS
 <222> (1)..(2256)

<400> 9
 atg gac cca ctg atg gtc gtc ctt tgc ctg ctg ccc ctg tac cca ggc 48
 Met Asp Pro Leu Met Val Val Leu Cys Leu Leu Pro Leu Tyr Pro Gly
 1 5 10 15
 tta gcg aca gcc gct ccc tcc tgc cct cag aac gtg aat atc gca ggg 96

Leu Ala Thr Ala Ala Pro Ser Cys Pro Gln Asn Val Asn Ile Ala Gly	
20 25 30	
ggc agt ttc acc ctc agt aat ggc tgg gca cct ggg agt atc ctc acc	144
Gly Ser Phe Thr Leu Ser Asn Gly Trp Ala Pro Gly Ser Ile Leu Thr	
35 40 45	
tac tcc tgc ccc ctg ggc tat tac cca ttc ccg gtg gca tca aga ctg	192
Tyr Ser Cys Pro Leu Gly Tyr Tyr Pro Phe Pro Val Ala Ser Arg Leu	
50 55 60	
tgc aac agc aac gga cag tgg cag atc ccg aga gcc acc cgg tca aca	240
Cys Asn Ser Asn Gly Gln Trp Gln Ile Pro Arg Ala Thr Arg Ser Thr	
65 70 75 80	
aag cca gtc tgc aaa cct gtt cgc tgt cca gcc cct gtt tcc ttt gag	288
Lys Pro Val Cys Lys Pro Val Arg Cys Pro Ala Pro Val Ser Phe Glu	
85 90 95	
aac ggc gtg tac acc ccg cgg ctg ggg tcc cat cct gtg ggc ggc aac	336
Asn Gly Val Tyr Thr Pro Arg Leu Gly Ser His Pro Val Gly Gly Asn	
100 105 110	
ctg acc ttt gag tgt gag gac ggc ttc acg ctg cgg ggc tcg ccc gtg	384
Leu Thr Phe Glu Cys Glu Asp Gly Phe Thr Leu Arg Gly Ser Pro Val	
115 120 125	
cgg cag tgt cgc ccc aat ggc atg tgg gat ggg gag acg gct gtg tgt	432
Arg Gln Cys Arg Pro Asn Gly Met Trp Asp Gly Glu Thr Ala Val Cys	
130 135 140	
gat aac ggc gcc agc cac tgc cca gac cct ggc att tct gtg ggt gca	480
Asp Asn Gly Ala Ser His Cys Pro Asp Pro Gly Ile Ser Val Gly Ala	
145 150 155 160	
gtg cgg aca ggg tct cgc ttc ggc cct ggg gac aag gtc agg tac cgc	528
Val Arg Thr Gly Ser Arg Phe Gly Pro Gly Asp Lys Val Arg Tyr Arg	
165 170 175	
tgc tcc tcg aat ctg gtg ctg acg ggg tct atg gag cga gag tgc cag	576
Cys Ser Ser Asn Leu Val Leu Thr Gly Ser Met Glu Arg Glu Cys Gln	

180	185	190	
gac aac ggg gtc tgg agt ggg acg gaa ccc atc tgc cgc cag ccc tac			624
Asp Asn Gly Val Trp Ser Gly Thr Glu Pro Ile Cys Arg Gln Pro Tyr			
195	200	205	
tct tac gac ttt cct gag gat gtg acc ccc gcc ctg ggt acc tcc ttc			672
Ser Tyr Asp Phe Pro Glu Asp Val Thr Pro Ala Leu Gly Thr Ser Phe			
210	215	220	
tcc cac ctc ctt gga gcc aca aat ccc acc cag act aag aag acg gag			720
Ser His Leu Leu Gly Ala Thr Asn Pro Thr Gln Thr Lys Lys Thr Glu			
225	230	235	240
aac gtg ggc cga aaa ata caa atc cag cgc tcc ggg cac ctg aac ctc			
Asn Val Gly Arg Lys Ile Gln Ile Gln Arg Ser Gly His Leu Asn Leu			768
245	250	255	
tac ctg ctt ctg gac gcc tct cag agt gtg tcg gaa gag gac ttt gga			816
Tyr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Gln Ser Val Ser Glu Glu Asp Phe Gly			
260	265	270	
gtc ttc aag agg agc gcc tcc ctc ctg gtg gac agg atc ttc agc ttt			864
Val Phe Lys Arg Ser Ala Ser Leu Leu Val Asp Arg Ile Phe Ser Phe			
275	280	285	
gag atc aat att agt gtc gcc atc atc acc ttt gca tcg aag ccc aaa			912
Glu Ile Asn Ile Ser Val Ala Ile Ile Thr Phe Ala Ser Lys Pro Lys			
290	295	300	
atc atc atg tct gtc ctg aag gac aaa tcc cgg gat gtg act gaa gtg			960
Ile Ile Met Ser Val Leu Lys Asp Lys Ser Arg Asp Val Thr Glu Val			
305	310	315	320
gtc cac agt ctg gaa aac atc aac tat aaa gac cat gaa aat gga act			
Val His Ser Leu Glu Asn Ile Asn Tyr Lys Asp His Glu Asn Gly Thr			1008
325	330	335	
ggg acc aac atc tat gag gcc cta aat agt gtc tac atc atg atg aat			1056
Gly Thr Asn Ile Tyr Glu Ala Leu Asn Ser Val Tyr Ile Met Met Asn			
340	345	350	

aat caa atg caa aat ctt ggt atg aac aca atg gcc tgg cag gaa atc	1104
Asn Gln Met Gln Asn Leu Gly Met Asn Thr Met Ala Trp Gln Glu Ile	
355 360 365	
cgc cac gcc atc atc ctg ctg aca gat gga aag tcc aac atg ggt ggc	1152
Arg His Ala Ile Ile Leu Leu Thr Asp Gly Lys Ser Asn Met Gly Gly	
370 375 380	
tct ccc aag cca gct gtt gac aat atc aaa gag atc ttg aac atc aaa	1200
Ser Pro Lys Pro Ala Val Asp Asn Ile Lys Glu Ile Leu Asn Ile Lys	
385 390 395 400	
gag aag agg aaa gac tat ctg gac atc tac gcc atc ggc gtg ggc aac	1248
Glu Lys Arg Lys Asp Tyr Leu Asp Ile Tyr Ala Ile Gly Val Gly Asn	
405 410 415	
gtg gag gtg gac tgg aga gaa ctg aat gag ctg ggc tcc aag aag gat	1296
Val Glu Val Asp Trp Arg Glu Leu Asn Glu Leu Gly Ser Lys Lys Asp	
420 425 430	
ggc gag agg cat gcg ttc att ctg aag gac aca gag gct ctg agc cag	1344
Gly Glu Arg His Ala Phe Ile Leu Lys Asp Thr Glu Ala Leu Ser Gln	
435 440 445	
gtc ttt gag cac atg ctg gat gtc tcc cag ctc acg gac acc atc tgc	1392
Val Phe Glu His Met Leu Asp Val Ser Gln Leu Thr Asp Thr Ile Cys	
450 455 460	
ggg gta ggg aac atg tct gcc aat gcc tct gcc cag gag agg aca ccc	1440
Gly Val Gly Asn Met Ser Ala Asn Ala Ser Ala Gln Glu Arg Thr Pro	
465 470 475 480	
tgg cat gtc act att aag ccc aag agc cac gag acc tgc cgg ggg gcc	1488
Trp His Val Thr Ile Lys Pro Lys Ser His Glu Thr Cys Arg Gly Ala	
485 490 495	
ctc atc tct gac cag tgg gtc ctg aca gcc gcc cac tgc ttc agc cac	1536
Leu Ile Ser Asp Gln Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Phe Ser His	
500 505 510	
agc gag gac cac tcc ctg tgg agg gtc agt gtg ggg gat ccc aac tcc	1584

Ser Glu Asp His Ser Leu Trp Arg Val Ser Val Gly Asp Pro Asn Ser	
515 520 525	
caa tgg ggc aaa gag ttt cga att gag aag gcg gtg atc tcc tca gag	1632
Gln Trp Gly Lys Glu Phe Arg Ile Glu Lys Ala Val Ile Ser Ser Glu	
530 535 540	
ttc aat gtc tct gcc aag aag cat cag gga atc ccg gag ttc tat ggt	1680
Phe Asn Val Ser Ala Lys Lys His Gln Gly Ile Pro Glu Phe Tyr Gly	
545 550 555 560	
gac gac att gcc ctg ctg aag ctg gac cag aaa gtg aaa atg tcc acc	1728
Asp Asp Ile Ala Leu Leu Lys Leu Asp Gln Lys Val Lys Met Ser Thr	
565 570 575	
cac gcc agg ccc atc tgc ctt ccc tgc acg gtg ggg gcc aac ctg gct	1776
His Ala Arg Pro Ile Cys Leu Pro Cys Thr Val Gly Ala Asn Leu Ala	
580 585 590	
ctg cgg aga cat cca ggc agc acc tgc cga gac cac gag aag gag ctt	1824
Leu Arg Arg His Pro Gly Ser Thr Cys Arg Asp His Glu Lys Glu Leu	
595 600 605	
ctg aac caa ctg agc gtt cct gct cat ttt gtg gcc ttg aat ggg agc	1872
Leu Asn Gln Leu Ser Val Pro Ala His Phe Val Ala Leu Asn Gly Ser	
610 615 620	
aag ctg aat gtt cat ctc aag aca ggg tgc gat tgg aca agc tgt atc	1920
Lys Leu Asn Val His Leu Lys Thr Gly Ser Asp Trp Thr Ser Cys Ile	
625 630 635 640	
cag gct gtc tcc caa gac aaa gtc acg ttc ccc aac ttg acc aat gtc	1968
Gln Ala Val Ser Gln Asp Lys Val Thr Phe Pro Asn Leu Thr Asn Val	
645 650 655	
aga gag gtg gtg aca gac cag ttc ctc tgc agc ggg acc aag gag gat	2016
Arg Glu Val Val Thr Asp Gln Phe Leu Cys Ser Gly Thr Lys Glu Asp	
660 665 670	
gac aat ccc tgc aag gga gaa tct ggg gga tcc gtt ttc ctt gag cgg	2064

Asp Asn Pro Cys Lys Gly Glu Ser Gly Gly Ser Val Phe Leu Glu Arg
675 680 685
aga ttc agg ttt ttt cag gtg ggc ctg gtg agc tgg ggt ctc tac agc 2112
Arg Phe Arg Phe Phe Gln Val Gly Leu Val Ser Trp Gly Leu Tyr Ser
690 695 700
cca tgc agc agc tcc aat aaa aac ttg cgc aaa aag gca ccc aga ggc 2160
Pro Cys Ser Ser Ser Asn Lys Asn Leu Arg Lys Lys Ala Pro Arg Gly
705 710 715 720
agg atc cca ccg cca cga gat ttc cac atc aat ctc ttc cgc ctg cag 2208
Arg Ile Pro Pro Pro Arg Asp Phe His Ile Asn Leu Phe Arg Leu Gln
725 730 735
ccc tgg ctg agg cag cac ttg gag ggc atc ctg aac ttt tta ccc ctc 2256
Pro Trp Leu Arg Gln His Leu Glu Gly Ile Leu Asn Phe Leu Pro Leu
740 745 750
<210> 10
<211> 752
<212> PRT
<213> Sus scrofa Land_C2_A (wild type)
<400> 10
Met Asp Pro Leu Met Val Val Leu Cys Leu Leu Pro Leu Tyr Pro Gly
1 5 10 15
Leu Ala Thr Ala Ala Pro Ser Cys Pro Gln Asn Val Asn Ile Ala Gly
20 25 30
Gly Ser Phe Thr Leu Ser Asn Gly Trp Ala Pro Gly Ser Ile Leu Thr
35 40 45
Tyr Ser Cys Pro Leu Gly Tyr Tyr Pro Phe Pro Val Ala Ser Arg Leu
50 55 60
Cys Asn Ser Asn Gly Gln Trp Gln Ile Pro Arg Ala Thr Arg Ser Thr
65 70 75 80
Lys Pro Val Cys Lys Pro Val Arg Cys Pro Ala Pro Val Ser Phe Glu
85 90 95
Asn Gly Val Tyr Thr Pro Arg Leu Gly Ser His Pro Val Gly Gly Asn

100	105	110
Leu Thr Phe Glu Cys Glu Asp Gly Phe Thr Leu Arg Gly Ser Pro Val		
115	120	125
Arg Gln Cys Arg Pro Asn Gly Met Trp Asp Gly Glu Thr Ala Val Cys		
130	135	140
Asp Asn Gly Ala Ser His Cys Pro Asp Pro Gly Ile Ser Val Gly Ala		
145	150	155
Val Arg Thr Gly Ser Arg Phe Gly Pro Gly Asp Lys Val Arg Tyr Arg		
165	170	175
Cys Ser Ser Asn Leu Val Leu Thr Gly Ser Met Glu Arg Glu Cys Gln		
180	185	190
Asp Asn Gly Val Trp Ser Gly Thr Glu Pro Ile Cys Arg Gln Pro Tyr		
195	200	205
Ser Tyr Asp Phe Pro Glu Asp Val Thr Pro Ala Leu Gly Thr Ser Phe		
210	215	220
Ser His Leu Leu Gly Ala Thr Asn Pro Thr Gln Thr Lys Lys Thr Glu		
225	230	235
Asn Val Gly Arg Lys Ile Gln Ile Gln Arg Ser Gly His Leu Asn Leu		
245	250	255
Tyr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Gln Ser Val Ser Glu Glu Asp Phe Gly		
260	265	270
Val Phe Lys Arg Ser Ala Ser Leu Leu Val Asp Arg Ile Phe Ser Phe		
275	280	285
Glu Ile Asn Ile Ser Val Ala Ile Ile Thr Phe Ala Ser Lys Pro Lys		
290	295	300
Ile Ile Met Ser Val Leu Lys Asp Lys Ser Arg Asp Val Thr Glu Val		
305	310	315
Val His Ser Leu Glu Asn Ile Asn Tyr Lys Asp His Glu Asn Gly Thr		
325	330	335
Gly Thr Asn Ile Tyr Glu Ala Leu Asn Ser Val Tyr Ile Met Met Asn		
340	345	350
Asn Gln Met Gln Asn Leu Gly Met Asn Thr Met Ala Trp Gln Glu Ile		

355 360 365
 Arg His Ala Ile Ile Leu Leu Thr Asp Gly Lys Ser Asn Met Gly Gly
 370 375 380
 Ser Pro Lys Pro Ala Val Asp Asn Ile Lys Glu Ile Leu Asn Ile Lys
 385 390 395 400
 Glu Lys Arg Lys Asp Tyr Leu Asp Ile Tyr Ala Ile Gly Val Gly Asn
 405 410 415
 Val Glu Val Asp Trp Arg Glu Leu Asn Glu Leu Gly Ser Lys Lys Asp
 420 425 430

 Gly Glu Arg His Ala Phe Ile Leu Lys Asp Thr Glu Ala Leu Ser Gln
 435 440 445
 Val Phe Glu His Met Leu Asp Val Ser Gln Leu Thr Asp Thr Ile Cys
 450 455 460
 Gly Val Gly Asn Met Ser Ala Asn Ala Ser Ala Gln Glu Arg Thr Pro
 465 470 475 480
 Trp His Val Thr Ile Lys Pro Lys Ser His Glu Thr Cys Arg Gly Ala
 485 490 495
 Leu Ile Ser Asp Gln Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Phe Ser His

 500 505 510
 Ser Glu Asp His Ser Leu Trp Arg Val Ser Val Gly Asp Pro Asn Ser
 515 520 525
 Gln Trp Gly Lys Glu Phe Arg Ile Glu Lys Ala Val Ile Ser Ser Glu
 530 535 540
 Phe Asn Val Ser Ala Lys Lys His Gln Gly Ile Pro Glu Phe Tyr Gly
 545 550 555 560
 Asp Asp Ile Ala Leu Leu Lys Leu Asp Gln Lys Val Lys Met Ser Thr
 565 570 575

 His Ala Arg Pro Ile Cys Leu Pro Cys Thr Val Gly Ala Asn Leu Ala
 580 585 590
 Leu Arg Arg His Pro Gly Ser Thr Cys Arg Asp His Glu Lys Glu Leu
 595 600 605

Leu Asn Gln Leu Ser Val Pro Ala His Phe Val Ala Leu Asn Gly Ser
610 615 620

Lys Leu Asn Val His Leu Lys Thr Gly Ser Asp Trp Thr Ser Cys Ile
625 630 635 640

Gln Ala Val Ser Gln Asp Lys Val Thr Phe Pro Asn Leu Thr Asn Val

645 650 655
Arg Glu Val Val Thr Asp Gln Phe Leu Cys Ser Gly Thr Lys Glu Asp
660 665 670

Asp Asn Pro Cys Lys Gly Glu Ser Gly Gly Ser Val Phe Leu Glu Arg
675 680 685

Arg Phe Arg Phe Phe Gln Val Gly Leu Val Ser Trp Gly Leu Tyr Ser
690 695 700

Pro Cys Ser Ser Ser Asn Lys Asn Leu Arg Lys Lys Ala Pro Arg Gly
705 710 715 720

Arg Ile Pro Pro Pro Arg Asp Phe His Ile Asn Leu Phe Arg Leu Gln
725 730 735

Pro Trp Leu Arg Gln His Leu Glu Gly Ile Leu Asn Phe Leu Pro Leu
740 745 750

<210> 11

<211> 2256

<212> DNA

<213> Sus scrofa KNP_C2_G (mutant type)

<220><221> CDS

<222> (1)..(2256)

<400> 11

atg gac cca ctg atg gtc gtc ctt tgc ctg ctg ccc ctg tac cca ggc 48

Met Asp Pro Leu Met Val Val Leu Cys Leu Leu Pro Leu Tyr Pro Gly

1 5 10 15
tta gcg aca gcc gct ccc tcc tgc cct cag aac gtg aat atc gca ggg 96

Leu Ala Thr Ala Ala Pro Ser Cys Pro Gln Asn Val Asn Ile Ala Gly

20 25 30
ggc agt ttc acc ctc agt aat ggc tgg gca cct ggg agt atc ctc acc 144

Gly Ser Phe Thr Leu Ser Asn Gly Trp Ala Pro Gly Ser Ile Leu Thr	
35 40 45	
tac tcc tgc ccc ctg ggc tat tac cca ttc ccg gtg gca tca aga ctg	192
Tyr Ser Cys Pro Leu Gly Tyr Tyr Pro Phe Pro Val Ala Ser Arg Leu	
50 55 60	
tgc aac agc aac gga cag tgg cag atc ccg aga gcc acc cgg tca aca	240
Cys Asn Ser Asn Gly Gln Trp Gln Ile Pro Arg Ala Thr Arg Ser Thr	
65 70 75 80	
aag cca gtc tgc aaa cct gtt cgc tgt cca gcc cct gtt tcc ttt gag	288
Lys Pro Val Cys Lys Pro Val Arg Cys Pro Ala Pro Val Ser Phe Glu	
85 90 95	
aac ggc gtg tac acc ccg cgg ctg ggg tcc cat cct gtg ggc ggc aac	336
Asn Gly Val Tyr Thr Pro Arg Leu Gly Ser His Pro Val Gly Gly Asn	
100 105 110	
ctg acc ttt gag tgt gag gac ggc ttc acg ctg cgg ggc tgc ccc gtg	384
Leu Thr Phe Glu Cys Glu Asp Gly Phe Thr Leu Arg Gly Ser Pro Val	
115 120 125	
cgg cag tgt cgc ccc aat ggc atg tgg gat ggg gag acg gct gtg tgt	432
Arg Gln Cys Arg Pro Asn Gly Met Trp Asp Gly Glu Thr Ala Val Cys	
130 135 140	
gat aac ggc gcc agc cac tgc cca gac cct ggc att tct gtg ggt gca	480
Asp Asn Gly Ala Ser His Cys Pro Asp Pro Gly Ile Ser Val Gly Ala	
145 150 155 160	
gtg cgg aca ggg tct cgc ttc ggc cct ggg gac aag gtc agg tac cgc	528
Val Arg Thr Gly Ser Arg Phe Gly Pro Gly Asp Lys Val Arg Tyr Arg	
165 170 175	
tgc tcc tcg aat ctg gtg ctg acg ggg tct atg gag cga gag tgc cag	576
Cys Ser Ser Asn Leu Val Leu Thr Gly Ser Met Glu Arg Glu Cys Gln	
180 185 190	
gac aac ggg gtc tgg agt ggg acg gaa ccc atc tgc cgc cag ccc tac	624
Asp Asn Gly Val Trp Ser Gly Thr Glu Pro Ile Cys Arg Gln Pro Tyr	

195	200	205	
tct tac gac ttt cct gag gat gtg acc ccc gcc ctg ggt acc tcc ttc			672
Ser Tyr Asp Phe Pro Glu Asp Val Thr Pro Ala Leu Gly Thr Ser Phe			
210	215	220	
tcc cac ctc ctt gga gcc aca aat ccc acc cag act aag aag acg gag			720
Ser His Leu Leu Gly Ala Thr Asn Pro Thr Gln Thr Lys Lys Thr Glu			
225	230	235	240
aac gtg ggc cga aaa ata caa atc cag cgc tcc ggg cac ctg aac ctc			768
Asn Val Gly Arg Lys Ile Gln Ile Gln Arg Ser Gly His Leu Asn Leu			
245	250	255	
tac ctg ctt ctg gac gcc tct cag agt gtg tcg gaa gag gac ttt gga			816
Tyr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Gln Ser Val Ser Glu Glu Asp Phe Gly			
260	265	270	
gtc ttc aag agg agc gcc tcc ctc ctg gtg gac agg atc ttc agc ttt			864
Val Phe Lys Arg Ser Ala Ser Leu Leu Val Asp Arg Ile Phe Ser Phe			
275	280	285	
gag atc aat att agt gtc gcc atc atc acc ttt gca tcg aag ccc aaa			912
Glu Ile Asn Ile Ser Val Ala Ile Ile Thr Phe Ala Ser Lys Pro Lys			
290	295	300	
atc atc atg tct gtc ctg aag gac aaa tcc cgg gat gtg act gaa gtg			960
Ile Ile Met Ser Val Leu Lys Asp Lys Ser Arg Asp Val Thr Glu Val			
305	310	315	320
gtc cac agt ctg gaa aac atc aac tat aaa gac cat gaa aat gga act			1008
Val His Ser Leu Glu Asn Ile Asn Tyr Lys Asp His Glu Asn Gly Thr			
325	330	335	
ggg acc aac atc tat gag gcc cta aat agt gtc tac atc atg atg aat			1056
Gly Thr Asn Ile Tyr Glu Ala Leu Asn Ser Val Tyr Ile Met Met Asn			
340	345	350	
aat caa atg caa aat ctt ggt atg aac aca atg gcc tgg cag gaa atc			1104
Asn Gln Met Gln Asn Leu Gly Met Asn Thr Met Ala Trp Gln Glu Ile			
355	360	365	

cgc cac gcc atc atc ctg ctg aca gat gga aag tcc aac atg ggt ggc	1152
Arg His Ala Ile Ile Leu Leu Thr Asp Gly Lys Ser Asn Met Gly Gly	
370 375 380	
tct ccc aag cca gct gtt gac aat atc aaa gag atc ttg aac atc aaa	1200
Ser Pro Lys Pro Ala Val Asp Asn Ile Lys Glu Ile Leu Asn Ile Lys	
385 390 395 400	
gag aag agg aaa gac tat ctg gac atc tac gcc atc ggc gtg ggc aac	1248
Glu Lys Arg Lys Asp Tyr Leu Asp Ile Tyr Ala Ile Gly Val Gly Asn	
405 410 415	
gtg gag gtg gac tgg aga gaa ctg aat gag ctg ggc tcc aag aag gat	1296
Val Glu Val Asp Trp Arg Glu Leu Asn Glu Leu Gly Ser Lys Lys Asp	
420 425 430	
ggc gag agg cat gcg ttc att ctg aag gac aca gag gct ctg agc cag	1344
Gly Glu Arg His Ala Phe Ile Leu Lys Asp Thr Glu Ala Leu Ser Gln	
435 440 445	
gtc ttt gag cac atg ctg gat gtc tcc cag ctc acg gac acc atc tgc	1392
Val Phe Glu His Met Leu Asp Val Ser Gln Leu Thr Asp Thr Ile Cys	
450 455 460	
ggg gta ggg aac atg tct gcc aat gcc tct gcc cag gag agg aca ccc	1440
Gly Val Gly Asn Met Ser Ala Asn Ala Ser Ala Gln Glu Arg Thr Pro	
465 470 475 480	
tgg cat gtc act att aag ccc aag agc cac gag acc tgc cgg ggg gcc	1488
Trp His Val Thr Ile Lys Pro Lys Ser His Glu Thr Cys Arg Gly Ala	
485 490 495	
ctc atc tct gac cag tgg gtc ctg aca gcc gcc cac tgc ttc agc cac	1536
Leu Ile Ser Asp Gln Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Phe Ser His	
500 505 510	
agc gag gac cac tcc ctg tgg agg gtc agt gtg ggg gat ccc aac tcc	1584
Ser Glu Asp His Ser Leu Trp Arg Val Ser Val Gly Asp Pro Asn Ser	
515 520 525	
caa tgg ggc aaa gag ttt cga att gag aag gcg gtg atc tcc tca gag	1632

Gln Trp Gly Lys Glu Phe Arg Ile Glu Lys Ala Val Ile Ser Ser Glu	
530 535 540	
ttc aat gtc tct gcc aag aag cat cag gga atc ccg gag ttc tat ggt	1680
Phe Asn Val Ser Ala Lys Lys His Gln Gly Ile Pro Glu Phe Tyr Gly	
545 550 555 560	
gac gac att gcc ctg ctg aag ctg gac cag aaa gtg aaa atg tcc acc	1728
Asp Asp Ile Ala Leu Leu Lys Leu Asp Gln Lys Val Lys Met Ser Thr	
565 570 575	
cac gcc agg ccc atc tgc ctt ccc tgc acg gtg ggg gcc aac ctg gct	1776
His Ala Arg Pro Ile Cys Leu Pro Cys Thr Val Gly Ala Asn Leu Ala	
580 585 590	
ctg cgg aga cat cca ggc agc acc tgc cga gac cac gag aag gag ctt	1824
Leu Arg Arg His Pro Gly Ser Thr Cys Arg Asp His Glu Lys Glu Leu	
595 600 605	
ctg aac caa ctg agc gtt cct gct cat ttt gtg gcc ttg aat ggg agc	1872
Leu Asn Gln Leu Ser Val Pro Ala His Phe Val Ala Leu Asn Gly Ser	
610 615 620	
aag ctg aat gtt cat ctc aag aca ggg tgc gat tgg aca agc tgt atc	1920
Lys Leu Asn Val His Leu Lys Thr Gly Ser Asp Trp Thr Ser Cys Ile	
625 630 635 640	
cag gct gtc tcc caa gac aaa gtc acg ttc ccc aac ttg acc gat gtc	1968
Gln Ala Val Ser Gln Asp Lys Val Thr Phe Pro Asn Leu Thr Asp Val	
645 650 655	
aga gag gtg gtg aca gac cag ttc ctc tgc agc ggg acc aag gag gat	2016
Arg Glu Val Val Thr Asp Gln Phe Leu Cys Ser Gly Thr Lys Glu Asp	
660 665 670	
gac aat ccc tgc aag gga gaa tct ggg gga tcc gtt ttc ctt gag cgg	2064
Asp Asn Pro Cys Lys Gly Glu Ser Gly Gly Ser Val Phe Leu Glu Arg	
675 680 685	
aga ttc agg ttt ttt cag gtg ggc ctg gtg agc tgg ggt ctc tac agc	2112

Arg Phe Arg Phe Phe Gln Val Gly Leu Val Ser Trp Gly Leu Tyr Ser
690 695 700

cca tgc agc agc tcc aat aaa aac ttg cgc aaa aag gca ccc aga ggc 2160

Pro Cys Ser Ser Ser Asn Lys Asn Leu Arg Lys Lys Ala Pro Arg Gly
705 710 715 720

agg atc cca ccg cca cga gat ttc cac atc aat ctc ttc cgc ctg cag 2208

Arg Ile Pro Pro Pro Arg Asp Phe His Ile Asn Leu Phe Arg Leu Gln
725 730 735

ccc tgg ctg agg cag cac ttg gag ggc atc ctg aac ttt tta ccc ctc 2256

Pro Trp Leu Arg Gln His Leu Glu Gly Ile Leu Asn Phe Leu Pro Leu
740 745 750

<210> 12

<211> 752

<212> PRT

<213> Sus scrofa KNP_C2_G (mutant type)

<400> 12

Met Asp Pro Leu Met Val Val Leu Cys Leu Leu Pro Leu Tyr Pro Gly
1 5 10 15

Leu Ala Thr Ala Ala Pro Ser Cys Pro Gln Asn Val Asn Ile Ala Gly
20 25 30

Gly Ser Phe Thr Leu Ser Asn Gly Trp Ala Pro Gly Ser Ile Leu Thr
35 40 45

Tyr Ser Cys Pro Leu Gly Tyr Tyr Pro Phe Pro Val Ala Ser Arg Leu
50 55 60

Cys Asn Ser Asn Gly Gln Trp Gln Ile Pro Arg Ala Thr Arg Ser Thr
65 70 75 80

Lys Pro Val Cys Lys Pro Val Arg Cys Pro Ala Pro Val Ser Phe Glu
85 90 95

Asn Gly Val Tyr Thr Pro Arg Leu Gly Ser His Pro Val Gly Gly Asn
100 105 110

Leu Thr Phe Glu Cys Glu Asp Gly Phe Thr Leu Arg Gly Ser Pro Val
115 120 125

Arg Gln Cys Arg Pro Asn Gly Met Trp Asp Gly Glu Thr Ala Val Cys
130 135 140

Asp Asn Gly Ala Ser His Cys Pro Asp Pro Gly Ile Ser Val Gly Ala
145 150 155 160

Val Arg Thr Gly Ser Arg Phe Gly Pro Gly Asp Lys Val Arg Tyr Arg
165 170 175

Cys Ser Ser Asn Leu Val Leu Thr Gly Ser Met Glu Arg Glu Cys Gln
180 185 190

Asp Asn Gly Val Trp Ser Gly Thr Glu Pro Ile Cys Arg Gln Pro Tyr
195 200 205

Ser Tyr Asp Phe Pro Glu Asp Val Thr Pro Ala Leu Gly Thr Ser Phe
210 215 220

Ser His Leu Leu Gly Ala Thr Asn Pro Thr Gln Thr Lys Lys Thr Glu
225 230 235 240

Asn Val Gly Arg Lys Ile Gln Ile Gln Arg Ser Gly His Leu Asn Leu
245 250 255

Tyr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Gln Ser Val Ser Glu Glu Asp Phe Gly
260 265 270

Val Phe Lys Arg Ser Ala Ser Leu Leu Val Asp Arg Ile Phe Ser Phe
275 280 285

Glu Ile Asn Ile Ser Val Ala Ile Ile Thr Phe Ala Ser Lys Pro Lys
290 295 300

Ile Ile Met Ser Val Leu Lys Asp Lys Ser Arg Asp Val Thr Glu Val
305 310 315 320

Val His Ser Leu Glu Asn Ile Asn Tyr Lys Asp His Glu Asn Gly Thr
325 330 335

Gly Thr Asn Ile Tyr Glu Ala Leu Asn Ser Val Tyr Ile Met Met Asn
340 345 350

Asn Gln Met Gln Asn Leu Gly Met Asn Thr Met Ala Trp Gln Glu Ile
355 360 365

Arg His Ala Ile Ile Leu Leu Thr Asp Gly Lys Ser Asn Met Gly Gly
370 375 380

Ser Pro Lys Pro Ala Val Asp Asn Ile Lys Glu Ile Leu Asn Ile Lys

385 390 395 400

Glu Lys Arg Lys Asp Tyr Leu Asp Ile Tyr Ala Ile Gly Val Gly Asn

405 410 415

Val Glu Val Asp Trp Arg Glu Leu Asn Glu Leu Gly Ser Lys Lys Asp

420 425 430

Gly Glu Arg His Ala Phe Ile Leu Lys Asp Thr Glu Ala Leu Ser Gln

435 440 445

Val Phe Glu His Met Leu Asp Val Ser Gln Leu Thr Asp Thr Ile Cys

450 455 460

Gly Val Gly Asn Met Ser Ala Asn Ala Ser Ala Gln Glu Arg Thr Pro

465 470 475 480

Trp His Val Thr Ile Lys Pro Lys Ser His Glu Thr Cys Arg Gly Ala

485 490 495

Leu Ile Ser Asp Gln Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Phe Ser His

500 505 510

Ser Glu Asp His Ser Leu Trp Arg Val Ser Val Gly Asp Pro Asn Ser

515 520 525

Gln Trp Gly Lys Glu Phe Arg Ile Glu Lys Ala Val Ile Ser Ser Glu

530 535 540

Phe Asn Val Ser Ala Lys Lys His Gln Gly Ile Pro Glu Phe Tyr Gly

545 550 555 560

Asp Asp Ile Ala Leu Leu Lys Leu Asp Gln Lys Val Lys Met Ser Thr

565 570 575

His Ala Arg Pro Ile Cys Leu Pro Cys Thr Val Gly Ala Asn Leu Ala

580 585 590

Leu Arg Arg His Pro Gly Ser Thr Cys Arg Asp His Glu Lys Glu Leu

595 600 605

Leu Asn Gln Leu Ser Val Pro Ala His Phe Val Ala Leu Asn Gly Ser

610 615 620

Lys Leu Asn Val His Leu Lys Thr Gly Ser Asp Trp Thr Ser Cys Ile

625 630 635 640
 Gln Ala Val Ser Gln Asp Lys Val Thr Phe Pro Asn Leu Thr Asp Val
 645 650 655
 Arg Glu Val Val Thr Asp Gln Phe Leu Cys Ser Gly Thr Lys Glu Asp
 660 665 670
 Asp Asn Pro Cys Lys Gly Glu Ser Gly Gly Ser Val Phe Leu Glu Arg

 675 680 685
 Arg Phe Arg Phe Phe Gln Val Gly Leu Val Ser Trp Gly Leu Tyr Ser
 690 695 700
 Pro Cys Ser Ser Ser Asn Lys Asn Leu Arg Lys Lys Ala Pro Arg Gly
 705 710 715 720
 Arg Ile Pro Pro Pro Arg Asp Phe His Ile Asn Leu Phe Arg Leu Gln
 725 730 735
 Pro Trp Leu Arg Gln His Leu Glu Gly Ile Leu Asn Phe Leu Pro Leu
 740 745 750

<210> 13
 <211> 2256
 <212> DNA
 <213> Sus scrofa Land_C2_G (mutant type)
 <220><221> CDS
 <222> (1)..(2256)
 <400> 13

atg gac cca ctg atg gtc gtc ctt tgc ctg ctg ccc ctg tac cca ggc 48
 Met Asp Pro Leu Met Val Val Leu Cys Leu Leu Pro Leu Tyr Pro Gly
 1 5 10 15
 tta gcg aca gcc gct ccc tcc tgc cct cag aac gtg aat atc gca ggg 96
 Leu Ala Thr Ala Ala Pro Ser Cys Pro Gln Asn Val Asn Ile Ala Gly
 20 25 30
 ggc agt ttc acc ctc agt aat ggc tgg gca cct ggg agt atc ctc acc 144
 Gly Ser Phe Thr Leu Ser Asn Gly Trp Ala Pro Gly Ser Ile Leu Thr
 35 40 45
 tac tcc tgc ccc ctg ggc tat tac cca ttc ccg gtg gca tca aga ctg 192

Tyr Ser Cys Pro Leu Gly Tyr Tyr Pro Phe Pro Val Ala Ser Arg Leu	
50 55 60	
tgc aac agc aac gga cag tgg cag atc ccg aga gcc acc cgg tca aca	240
Cys Asn Ser Asn Gly Gln Trp Gln Ile Pro Arg Ala Thr Arg Ser Thr	
65 70 75 80	
aag cca gtc tgc aaa cct gtt cgc tgt cca gcc cct gtt tcc ttt gag	288
Lys Pro Val Cys Lys Pro Val Arg Cys Pro Ala Pro Val Ser Phe Glu	
85 90 95	
aac ggc gtg tac acc ccg cgg ctg ggg tcc cat cct gtg ggc ggc aac	336
Asn Gly Val Tyr Thr Pro Arg Leu Gly Ser His Pro Val Gly Gly Asn	
100 105 110	
ctg acc ttt gag tgt gag gac ggc ttc acg ctg cgg ggc tgc ccc gtg	384
Leu Thr Phe Glu Cys Glu Asp Gly Phe Thr Leu Arg Gly Ser Pro Val	
115 120 125	
cgg cag tgt cgc ccc aat ggc atg tgg gat ggg gag acg gct gtg tgt	432
Arg Gln Cys Arg Pro Asn Gly Met Trp Asp Gly Glu Thr Ala Val Cys	
130 135 140	
gat aac ggc gcc agc cac tgc cca gac cct ggc att tct gtg ggt gca	480
Asp Asn Gly Ala Ser His Cys Pro Asp Pro Gly Ile Ser Val Gly Ala	
145 150 155 160	
gtg cgg aca ggg tct cgc ttc ggc cct ggg gac aag gtc agg tac cgc	528
Val Arg Thr Gly Ser Arg Phe Gly Pro Gly Asp Lys Val Arg Tyr Arg	
165 170 175	
tgc tcc tcg aat ctg gtg ctg acg ggg tct atg gag cga gag tgc cag	576
Cys Ser Ser Asn Leu Val Leu Thr Gly Ser Met Glu Arg Glu Cys Gln	
180 185 190	
gac aac ggg gtc tgg agt ggg acg gaa ccc atc tgc cgc cag ccc tac	624
Asp Asn Gly Val Trp Ser Gly Thr Glu Pro Ile Cys Arg Gln Pro Tyr	
195 200 205	
tct tac gac ttt cct gag gat gtg acc ccc gcc ctg ggt acc tcc ttc	672
Ser Tyr Asp Phe Pro Glu Asp Val Thr Pro Ala Leu Gly Thr Ser Phe	

210	215	220	
tcc cac ctc ctt gga gcc aca aat ccc acc cag act aag aag acg gag			720
Ser His Leu Leu Gly Ala Thr Asn Pro Thr Gln Thr Lys Lys Thr Glu			
225	230	235	240
aac gtg ggc cga aaa ata caa atc cag cgc tcc ggg cac ctg aac ctc			768
Asn Val Gly Arg Lys Ile Gln Ile Gln Arg Ser Gly His Leu Asn Leu			
	245	250	255
tac ctg ctt ctg gac gcc tct cag agt gtg tgc gaa gag gac ttt gga			816
Tyr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Gln Ser Val Ser Glu Glu Asp Phe Gly			
	260	265	270
gtc ttc aag agg agc gcc tcc ctc ctg gtg gac agg atc ttc agc ttt			864
Val Phe Lys Arg Ser Ala Ser Leu Leu Val Asp Arg Ile Phe Ser Phe			
	275	280	285
gag atc aat att agt gtc gcc atc atc acc ttt gca tgc aag ccc aaa			912
Glu Ile Asn Ile Ser Val Ala Ile Ile Thr Phe Ala Ser Lys Pro Lys			
	290	295	300
atc atc atg tct gtc ctg aag gac aaa tcc cgg gat gtg act gaa gtg			960
Ile Ile Met Ser Val Leu Lys Asp Lys Ser Arg Asp Val Thr Glu Val			
305	310	315	320
gtc cac agt ctg gaa aac atc aac tat aaa gac cat gaa aat gga act			1008
Val His Ser Leu Glu Asn Ile Asn Tyr Lys Asp His Glu Asn Gly Thr			
	325	330	335
ggg acc aac atc tat gag gcc cta aat agt gtc tac atc atg atg aat			1056
Gly Thr Asn Ile Tyr Glu Ala Leu Asn Ser Val Tyr Ile Met Met Asn			
	340	345	350
aat caa atg caa aat ctt ggt atg aac aca atg gcc tgg cag gaa atc			1104
Asn Gln Met Gln Asn Leu Gly Met Asn Thr Met Ala Trp Gln Glu Ile			
	355	360	365
cgc cac gcc atc atc ctg ctg aca gat gga aag tcc aac atg ggt ggc			1152
Arg His Ala Ile Ile Leu Leu Thr Asp Gly Lys Ser Asn Met Gly Gly			
	370	375	380

tct	ccc	aag	cca	gct	ggt	gac	aat	atc	aaa	gag	atc	ttg	aac	atc	aaa	1200
Ser	Pro	Lys	Pro	Ala	Val	Asp	Asn	Ile	Lys	Glu	Ile	Leu	Asn	Ile	Lys	
385					390					395					400	
gag	aag	agg	aaa	gac	tat	ctg	gac	atc	tac	gcc	atc	ggc	gtg	ggc	aac	1248
Glu	Lys	Arg	Lys	Asp	Tyr	Leu	Asp	Ile	Tyr	Ala	Ile	Gly	Val	Gly	Asn	
				405					410					415		
gtg	gag	gtg	gac	tgg	aga	gaa	ctg	aat	gag	ctg	ggc	tcc	aag	aag	gat	1296
Val	Glu	Val	Asp	Trp	Arg	Glu	Leu	Asn	Glu	Leu	Gly	Ser	Lys	Lys	Asp	
			420					425					430			
ggc	gag	agg	cat	gcg	ttc	att	ctg	aag	gac	aca	gag	gct	ctg	agc	cag	1344
Gly	Glu	Arg	His	Ala	Phe	Ile	Leu	Lys	Asp	Thr	Glu	Ala	Leu	Ser	Gln	
		435					440					445				
gtc	ttt	gag	cac	atg	ctg	gat	gtc	tcc	cag	ctc	acg	gac	acc	atc	tgc	1392
Val	Phe	Glu	His	Met	Leu	Asp	Val	Ser	Gln	Leu	Thr	Asp	Thr	Ile	Cys	
	450					455				460						
ggg	gta	ggg	aac	atg	tct	gcc	aat	gcc	tct	gcc	cag	gag	agg	aca	ccc	1440
Gly	Val	Gly	Asn	Met	Ser	Ala	Asn	Ala	Ser	Ala	Gln	Glu	Arg	Thr	Pro	
465				470						475					480	
tgg	cat	gtc	act	att	aag	ccc	aag	agc	cac	gag	acc	tgc	cgg	ggg	gcc	1488
Trp	His	Val	Thr	Ile	Lys	Pro	Lys	Ser	His	Glu	Thr	Cys	Arg	Gly	Ala	
			485					490					495			
ctc	atc	tct	gac	cag	tgg	gtc	ctg	aca	gcc	gcc	cac	tgc	ttc	agc	cac	1536
Leu	Ile	Ser	Asp	Gln	Trp	Val	Leu	Thr	Ala	Ala	His	Cys	Phe	Ser	His	
			500					505				510				
agc	gag	gac	cac	tcc	ctg	tgg	agg	gtc	agt	gtg	ggg	gat	ccc	aac	tcc	1584
Ser	Glu	Asp	His	Ser	Leu	Trp	Arg	Val	Ser	Val	Gly	Asp	Pro	Asn	Ser	
		515					520				525					
caa	tgg	ggc	aaa	gag	ttt	cga	att	gag	aag	gcg	gtg	atc	tcc	tca	gag	1632
Gln	Trp	Gly	Lys	Glu	Phe	Arg	Ile	Glu	Lys	Ala	Val	Ile	Ser	Ser	Glu	
	530					535				540						
ttc	aat	gtc	tct	gcc	aag	aag	cat	cag	gga	atc	ccg	gag	ttc	tat	ggt	1680

Pro Cys Ser Ser Ser Asn Lys Asn Leu Arg Lys Lys Ala Pro Arg Gly
 705 710 715 720
 agg atc cca ccg cca cga gat ttc cac atc aat ctc ttc cgc ctg cag 2208
 Arg Ile Pro Pro Pro Arg Asp Phe His Ile Asn Leu Phe Arg Leu Gln
 725 730 735
 ccc tgg ctg agg cag cac ttg gag ggc atc ctg aac ttt tta ccc etc 2256
 Pro Trp Leu Arg Gln His Leu Glu Gly Ile Leu Asn Phe Leu Pro Leu
 740 745 750

<210> 14

<211> 752

<212> PRT

<213> Sus scrofa Land_C2_G (mutant type)

<400> 14

Met Asp Pro Leu Met Val Val Leu Cys Leu Leu Pro Leu Tyr Pro Gly
 1 5 10 15
 Leu Ala Thr Ala Ala Pro Ser Cys Pro Gln Asn Val Asn Ile Ala Gly
 20 25 30
 Gly Ser Phe Thr Leu Ser Asn Gly Trp Ala Pro Gly Ser Ile Leu Thr
 35 40 45
 Tyr Ser Cys Pro Leu Gly Tyr Tyr Pro Phe Pro Val Ala Ser Arg Leu
 50 55 60
 Cys Asn Ser Asn Gly Gln Trp Gln Ile Pro Arg Ala Thr Arg Ser Thr
 65 70 75 80
 Lys Pro Val Cys Lys Pro Val Arg Cys Pro Ala Pro Val Ser Phe Glu
 85 90 95
 Asn Gly Val Tyr Thr Pro Arg Leu Gly Ser His Pro Val Gly Gly Asn
 100 105 110
 Leu Thr Phe Glu Cys Glu Asp Gly Phe Thr Leu Arg Gly Ser Pro Val
 115 120 125
 Arg Gln Cys Arg Pro Asn Gly Met Trp Asp Gly Glu Thr Ala Val Cys
 130 135 140
 Asp Asn Gly Ala Ser His Cys Pro Asp Pro Gly Ile Ser Val Gly Ala

145 150 155 160
 Val Arg Thr Gly Ser Arg Phe Gly Pro Gly Asp Lys Val Arg Tyr Arg
 165 170 175
 Cys Ser Ser Asn Leu Val Leu Thr Gly Ser Met Glu Arg Glu Cys Gln
 180 185 190
 Asp Asn Gly Val Trp Ser Gly Thr Glu Pro Ile Cys Arg Gln Pro Tyr

 195 200 205
 Ser Tyr Asp Phe Pro Glu Asp Val Thr Pro Ala Leu Gly Thr Ser Phe
 210 215 220
 Ser His Leu Leu Gly Ala Thr Asn Pro Thr Gln Thr Lys Lys Thr Glu
 225 230 235 240
 Asn Val Gly Arg Lys Ile Gln Ile Gln Arg Ser Gly His Leu Asn Leu
 245 250 255
 Tyr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Gln Ser Val Ser Glu Glu Asp Phe Gly
 260 265 270

 Val Phe Lys Arg Ser Ala Ser Leu Leu Val Asp Arg Ile Phe Ser Phe
 275 280 285
 Glu Ile Asn Ile Ser Val Ala Ile Ile Thr Phe Ala Ser Lys Pro Lys
 290 295 300
 Ile Ile Met Ser Val Leu Lys Asp Lys Ser Arg Asp Val Thr Glu Val
 305 310 315 320
 Val His Ser Leu Glu Asn Ile Asn Tyr Lys Asp His Glu Asn Gly Thr
 325 330 335
 Gly Thr Asn Ile Tyr Glu Ala Leu Asn Ser Val Tyr Ile Met Met Asn

 340 345 350
 Asn Gln Met Gln Asn Leu Gly Met Asn Thr Met Ala Trp Gln Glu Ile
 355 360 365
 Arg His Ala Ile Ile Leu Leu Thr Asp Gly Lys Ser Asn Met Gly Gly
 370 375 380
 Ser Pro Lys Pro Ala Val Asp Asn Ile Lys Glu Ile Leu Asn Ile Lys
 385 390 395 400
 Glu Lys Arg Lys Asp Tyr Leu Asp Ile Tyr Ala Ile Gly Val Gly Asn

				405				410				415			
Val	Glu	Val	Asp	Trp	Arg	Glu	Leu	Asn	Glu	Leu	Gly	Ser	Lys	Lys	Asp
420								425				430			
Gly	Glu	Arg	His	Ala	Phe	Ile	Leu	Lys	Asp	Thr	Glu	Ala	Leu	Ser	Gln
435								440				445			
Val	Phe	Glu	His	Met	Leu	Asp	Val	Ser	Gln	Leu	Thr	Asp	Thr	Ile	Cys
450								455				460			
Gly	Val	Gly	Asn	Met	Ser	Ala	Asn	Ala	Ser	Ala	Gln	Glu	Arg	Thr	Pro
465				470				475				480			
Trp	His	Val	Thr	Ile	Lys	Pro	Lys	Ser	His	Glu	Thr	Cys	Arg	Gly	Ala
485								490				495			
Leu	Ile	Ser	Asp	Gln	Trp	Val	Leu	Thr	Ala	Ala	His	Cys	Phe	Ser	His
500								505				510			
Ser	Glu	Asp	His	Ser	Leu	Trp	Arg	Val	Ser	Val	Gly	Asp	Pro	Asn	Ser
515								520				525			
Gln	Trp	Gly	Lys	Glu	Phe	Arg	Ile	Glu	Lys	Ala	Val	Ile	Ser	Ser	Glu
530								535				540			
Phe	Asn	Val	Ser	Ala	Lys	Lys	His	Gln	Gly	Ile	Pro	Glu	Phe	Tyr	Gly
545				550				555				560			
Asp	Asp	Ile	Ala	Leu	Leu	Lys	Leu	Asp	Gln	Lys	Val	Lys	Met	Ser	Thr
565								570				575			
His	Ala	Arg	Pro	Ile	Cys	Leu	Pro	Cys	Thr	Val	Gly	Ala	Asn	Leu	Ala
580								585				590			
Leu	Arg	Arg	His	Pro	Gly	Ser	Thr	Cys	Arg	Asp	His	Glu	Lys	Glu	Leu
595								600				605			
Leu	Asn	Gln	Leu	Ser	Val	Pro	Ala	His	Phe	Val	Ala	Leu	Asn	Gly	Ser
610								615				620			
Lys	Leu	Asn	Val	His	Leu	Lys	Thr	Gly	Ser	Asp	Trp	Thr	Ser	Cys	Ile
625				630				635				640			
Gln	Ala	Val	Ser	Gln	Asp	Lys	Val	Thr	Phe	Pro	Asn	Leu	Thr	Asp	Val
645								650				655			

Arg Glu Val Val Thr Asp Gln Phe Leu Cys Ser Gly Thr Lys Glu Asp
660 665 670
Asp Asn Pro Cys Lys Gly Glu Ser Gly Gly Ser Val Phe Leu Glu Arg
675 680 685
Arg Phe Arg Phe Phe Gln Val Gly Leu Val Ser Trp Gly Leu Tyr Ser
690 695 700

Pro Cys Ser Ser Ser Asn Lys Asn Leu Arg Lys Lys Ala Pro Arg Gly
705 710 715 720
Arg Ile Pro Pro Pro Arg Asp Phe His Ile Asn Leu Phe Arg Leu Gln
725 730 735
Pro Trp Leu Arg Gln His Leu Glu Gly Ile Leu Asn Phe Leu Pro Leu
740 745 750

<210> 15
<211> 20
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Forward primer for C2 (Biotin)
<400> 15

Ala Cys Ala Ala Ala Gly Thr Cys Ala Cys Gly Thr Thr Cys Cys Cys
1 5 10 15
Cys Ala Ala Cys
20

<210> 16
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Reverse primer for C2
<400> 16

cttctctgga atccaggctc 20
<210> 17
<211> 18
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Sequencing primer for C2

<400> 17

tcaccacctc tctgacat

18