(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2008년05월26일
(11) 등록번호 10-0832348
(24) 등록일자 2008년05월20일

(51) Int. Cl.
C07K 14/47 (2006.01) *C07K 16/00* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2006-0116602
(22) 출원일자 2006년11월23일
심사청구일자 2006년11월23일
(56) 선행기술조사문헌
US20030022248 A1*
KR1020060044093 A
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 서천동 1 경희대학교 국제캠퍼스내
(72) 발명자
김상훈
서울시 동대문구 회기동 경희대학교 생물학과
신연남
서울 동대문구 회기동 경희대학교 생물학과
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양부현, 윤여강, 이문섭

전체 청구항 수 : 총 5 항 심사관 : 신원혜

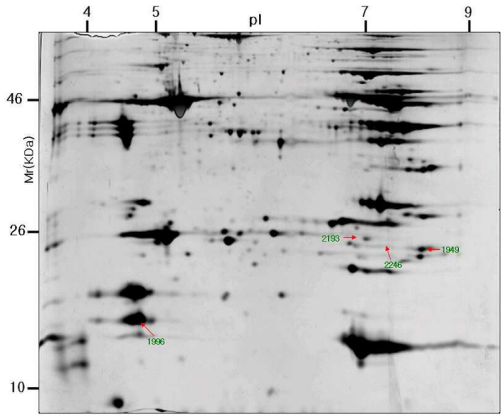
(54) 한우 고급육 선발을 위한 배최장근단면적 관련 바이오 마커단백질

(57) 요 약

본 발명은 고급육 생산을 위한 배최장근단면적 등을 포함한 경제형질과 관련된 바이오마커단백질과 이들을 이용하여 우수한 경제형질을 지닌 한우를 선발하는 방법에 관한 것이다.

본 발명에 따르면, 단백질수준에서 한우의 배최장근단면적 등을 포함한 경제형질과 관련된 바이오마커 단백질을 프로테옴분석 기술을 이용하여 선발한 후 이를 활용하여 새로운 개념의 고급육 생산기술을 정착시킬 수 있다. 또한, 고비용의 표현형 위주의 능력검정작업을 최소화함과 동시에 성장초기나 배아상태에서의 유전전 잠재력과 조기예측이 가능할 수 있는 저비용의 검정방법으로 대치할 수 있다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

이홍구

서울시 관악구 신림동 산56-1 서울대학교 농업생명과학대학

서강석

충남 천안시 성환읍 어룡리 산9 축산연구소 개량평가과

윤두학

경기도 수원시 권선구 오목천동 564 축산연구소

신연남

서울시 동대문구 회기동 경희대학교 생물학과

특허청구의 범위

청구항 1

삭제

청구항 2

배최장근단면적 관련 육종가 추정치가 낮은 등심조직보다 육종가 추정치가 높은 등심조직에서 발현이 상대적으로 증가되는 하기 단백질을 포함하는 한우 고급육 선별용 바이오 마커:

서열번호5, 6 및 7의 트립신 분해된 펩타이드 서열을 모두 포함하는 21-23kDa의 분자량 및 8.2-8.6의 pI를 갖는 아데닐레이트 키나제 I(Adenylate kinase 1, soluble).

청구항 3

제 2항의 바이오마커 단백질 또는 그 면역원성 단편에 특이적으로 결합하는 항체를 유효성분으로 포함하는 한우 고급육 선별용 진단제.

청구항 4

제 3항에 있어서, 상기 항체는 모노클로날 항체인 것을 특징으로 하는 한우 고급육 선별용 진단제.

청구항 5

한우의 등심조직에서 제 2항의 바이오마커 단백질의 존재를 검출하는 단계를 포함하는 한우의 고급육 선별방법.

청구항 6

제 2항의 바이오마커 단백질 또는 그 면역원성 단편에 특이적으로 결합하는 항체를 유효성분으로 포함하는 한우 고급육 선별용 진단키트.

명 세 서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

<8> 본 발명은 축산물등급판정에서의 육량등급 판정의 객관적지표 중 하나인 배최장근단면적 관련 바이오 마커로 사용될 수 있는 단백질 개발에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 배최장근단면적 관련 육종가 추정치가 높은 등심조직과 육종가 추정치가 낮은 등심조직에서 단백질 발현이 상대적으로 증가되거나 감소되는 바이고 마커 단백질과 이를 이용한 성장초기 산육량을 예측할 있는 진단키트에 관한 것이다.

<9> 한우는 기후풍토에 대한 적응력은 강하지만, 성장률이 낮고 후구 발달이 빈약하여 고기생산능력이 작은 단점이 있다. 또한 외국산 소고기 수입의 자율화에 따른 국내산 한우의 경쟁력 제고를 위하여 한우 생산을 고급육 생산으로 전환하게 됨에 따라 1992년부터 한우의 개량목표는 산육능력중심에서 육질중심 개량의 방향을 정하고 종모우를 선발하게 되었다. 국내의 축산분야에서는 현재 이러한 연구방향을 이용하여 가축유전자 대량 분석 사업이 진행 중에 있으나, 단백질체에 대한 연구는 아직 미비한 실정이다.

<10> 최근 고급육 생산을 위하여 도체형질에 대한 조사가 활발히 진행되면서 생체에서의 도체형질에 대한 판단에 관심이 고조되고 있다. 도체형질에는 도체중, 등지방두께, 배최장근단면적, 근내지방도 및 도체율이 포함된다. 현재 생산효율을 높일 수 있는 도체형질 즉 근내지방교잡도(marbling score)의 개량에 큰 관심을 두고 있지만, 축산물등급판정에서의 육량등급 판정의 객관적 지표인 도체중, 배최장근단면적, 등지방두께도 역시 생산효율을 높일 수 있는 관련 요소이다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

<11> 따라서, 따라서, 본 발명의 주된 목적은 고급육 생산을 위한 새로운 바이오 마커 단백질을 제공하는데 있다.

<12> 본 발명의 다른 목적은 상기 바이오 마커 단백질에 대한 항체 및 이를 이용한 진단키트를 제공하는데 있다.

발명의 구성 및 작용

<13> 본 발명의 한 양태에 따르면, 본 발명은 배최장근단면적 관련 육종가 추정치가 높은 등심조직과 육종가 추정치가 낮은 등심조직에서 발현이 상대적으로 증가되거나 감소되는 하기 군에서 선택된 단백질을 포함하는 한우 고급육 선별용 바이오 마커를 제공한다:

<14> 서열번호 1의 트립신 분해된 펩타이드 서열을 포함하는 21-23kDa의 분자량 및 8.7-9.1의 pI를 갖는 유사 트로포닌 I (Similar to Troponin I, fast skeletal muscle);

<15> 서열번호 2 및 3의 트립신 분해된 펩타이드 서열을 포함하는 21-23kDa의 분자량 및 4.6-5.0의 pI를 갖는 미오신 조절 경사슬 2 (Myosin regulatory light chain 2, skeletal muscle isoform type 2);

<16> 서열번호 4의 트립신 분해된 펩타이드 서열을 포함하는 25-27kDa의 분자량 및 6.7-7.1의 pI를 갖는 글루타티온 S-트랜스퍼라제 M1 (Glutathione S-transferase M1); 및

<17> 서열번호5, 6 및 7의 트립신 분해된 펩타이드 서열을 포함하는 21-23kDa의 분자량 및 8.2-8.6의 pI를 갖는 아데닐레이트 키나제 I(Adenylate kinase 1, soluble).

<18> 본 발명에서, 상기 첫 번째 내지 세 번째 단백질은 배최장근단면적 관련 육종가 추정치가 높은 등심조직보다 육종가 추정치가 낮은 등심조직에서 발현이 상대적으로 증가되나, 상기 네 번째 단백질은 배최장근단면적 관련 육종가 추정치가 낮은 등심조직보다 육종가 추정치가 높은 등심조직에서 발현이 상대적으로 증가된다.

<19> 본 발명에서, 상기 트립신 분해된 펩타이드란 MS/MS 분석을 위해 트립신으로 분해된 단백질들의 펩타이드를 의미한다. 또한, 상기 분자량과 pI는 2차원 전기영동(Two-dimensional electrophoresis) 상에서 확인된 값으로서 일반적으로 허용되는 실험상의 오차범위를 포함한다.

<20> 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 상기 본 발명의 바이오마커 단백질 또는 그 면역원성 단편에 특이적으로 결합하는 항체를 유효성분으로 포함하는 한우 고급육 선별용 진단제를 제공한다.

<21> 본 발명의 항체는 폴리클로날 항체일 수도 있으나, 모노클로날 항체인 것이 바람직하다. 폴리클로날 항체는 당업자에 알려진 종래방법에 따라 면역원인 바이오 마커 단백질 또는 그 단편을 외부 숙주에 주사함으로써 제조될 수 있다. 외부 숙주는 마우스, 래트, 양, 토끼와 같은 포유동물을 포함한다. 면역원은 근내, 복강내 또는 피하 주사방법으로 주사되며, 일반적으로 항원성을 증가시키기 위한 보조제(adjuvant)와 함께 투여된다. 외부숙주로부터 정기적으로 혈액을 채취하여 향상된 역가 및 항원에 대한 특이성을 보이는 혈청을 수거하거나 이로부터 항체를 분리정제한다.

<22> 모노클로날 항체는 당업자에 알려진 융합에 의한 불멸화된 세포주 생성기술(Koeher and Milstein (1975) Nature, 256:495))에 의해 제조될 수 있다. 그 제조방법을 간단히 설명하면 다음과 같다. 먼저 순수한 단백질을 20 ㎍을 얻어서 Balb/C 쥐에 면역화를 시키거나 펩타이드를 합성하여 소혈청 알부민과 결합시켜 쥐에 면역화 시킨다. 그 후에 쥐에서 분리된 항원-생산 임파구를 인간 또는 마우스의 미엘로마와 융합하여 불멸화된 하이브리도마를 생성하며, 엘라이져(ELISA)방법을 사용하여 원하는 모노클노날 항체를 생성하는 하이브리도마 세포만을 선택하여 증식한 후 배양물로부터 모노클로날 항체를 분리 정제한다.

<23> 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 한우의 등심조직에서 본 발명의 바이오 마커 단백질의 존재를 검출하는 단계를 포함하는, 한우의 고급육 선별방법을 제공한다.

<24> 본 발명의 선별 방법에서, 상기 검출 단계는 한우의 등심조직으로부터 이차원 전기영동(2-DE)으로 바이오마커 단백질의 존재를 직접 검출하거나, 등심조직을 본 발명의 항체와 접촉시켜 항원항체반응을 통해 바이오 마커 단백질의 존재를 간접적으로 확인하는 것을 포함한다. 항원항체반응으로서 현재 널리 알려진 immunoassay 법은 효소면역측정법 (ELISA, Coated tube), 항체결합 magnetic particle을 tube에 결합시킨 다음 antigen-tracer와 난분해성 오염물질을 서로 경쟁적으로 반응시켜 효소반응을 유발시켜 정량 하는 magnetic particle법, 항체결합 latex particle을 이용한 latex particle법 등이 있다.

<25> 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 상기 본 발명의 바이오마커 단백질 또는 그 면역원성 단편에 특이적으로 결합하는 항체를 유효성분으로 포함하는 한우 고급육 선별용 진단키트를 제공한다.

<26> 본 발명의 진단키트는 당업자에 알려진 종래의 제조방법에 의해 제조되며, 전형적으로 동결건조형태의 항체와 버퍼, 안정화제, 불활성 단백질 등을 포함한다. 상기 항체는 방사종(radionuclides), 형광원(fluorescors), 효소(enzymes)등에 의해 표지화될 수 있다.

<27> 본 발명의 단일클론항체는 immunoassay 키트(ELISA, antibody coated tube test, lateral-flow test, potable biosensor)에 다양하게 이용될 수 있을 뿐만 아니라, 보다 높은 특이도와 민감도를 나타내는 항체의 개발을 통한 다양한 경제형질 스펙트럼을 갖는 단백질칩 개발에도 이용될 수 있다.

<28> 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하기로 한다. 이들 실시예는 단지 본 발명을 예시하기 위한 것이므로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지는 않는다.

<29> 실시예1: 한우 등심내 단백질 추출

<30> 등급판정부위인 13번째 늑골부위를 Spring-loaded biopsy instrument (Biotech Nitra, Slovak)를 이용하여 biopsy 한 뒤 액체질소에 즉시 냉동시키고 분석 전까지 -80℃에 보관하였다. 그림 1에서와 같이 총 146두의 후대검정우의 등심샘플에서 배최장근단면적(EMA), 육종가추정치(EBV)의 순위에 따라 총 146개의 한우 등심조직 중에서 상위 20개와 하위 20개를 각기 고급육과 저급육 그룹으로 선정하여 2차원 전기영동을 실시하였다. 육종가(breeding value, BV)란 다음 세대에 유전적으로 공여 될 수 있는 유전자의 가치 즉 부모로서 어느 개체가 갖고 있는 유전적 가치이다. 또한 이런 육종가의 예측값을 추정육종가(estimated breeding value, EBV)라 한다. 본 발명에서는 아래의 가축개체모형을 후대검정축의 경제형질에 대한 이용하여 MTDFREML Package로 육종가를 분석하였다.

<31> $$Y_{ijk} = \mu + YS_i + L_j + D_{ijk} + A_{ijk} + e_{ijk}$$

<32> 여기서, Y: 관측치, μ: 전체 평균, YS: 연도 - 계절효과, L: 출생지역의 효과, D: 도축일령에 대한 co-variate, A: Animal Effects, e: Random Error 이다.

<33> 이렇게 분석된 배최장근단면적 관련 EBV 수치를 기준으로 총 40두의 후대검정우의 등심샘플에서 배최장근단면적(EMA) 등 육종가주정치(EBV)의 순위에 따라 상위 20개(6.274~2.296)와 하위 20개(2.296~-1.998)를 각기 고급육과 저급육 그룹으로 선정하여 2차원 전기영동을 실시하였다. 상위그룹 EBV의 평균은 3.607이고, 하위그룹 EBV의 평균은 0.515이다.

<34> 실시예 2: IEF(1차원 전기영동)과 2-D 전기영동

<35> (1) First-dimension isoelectric focusing (IEF)

<36> 조직에서 추출한 단백질 100㎍에 80mM DTT, 0.5% IPG buffer를 넣고, rehydration solution으로 조직과 혈청의 전체 부피가 각각 340㎕, 250㎕ 되도록 혼합물을 준비하였다. 사용한 rehydration soluion의 조성은 다음과 같다: Urea 7M, Thiourea 2.8M, CHAPS 4%, Bromophenol blue 0.002%(w/v). Pharmalyte 3~10은 IPG buffer로 대신 사용하며 solution을 만들시에는 첨가하지 않았다. 단 IPG buffer는 각 pH에 맞게 샘플을 rehydration solution에 첨가하여 loading시에 바로 첨가하였다. 준비된 mixture를 깨끗한 holder에 loading 한 후 IPG strip(조직: pH3~10 and 18cm, serum: pH3~10 and 13cm)을 사용하여 isoelectrofocusing을 다음과 같은 조건으로 실시하였다. 12시간동안 Rehydration 시킨 후 500V gradient 조건으로 1시간, 이후 8000V gradient로 1시간 전개 후 마지막으로 13시간동안 8000V steady-n-state level을 실시하였다.

<37> (2) Second-dimension SDS-PAGE

<38> Isoelectrofocusing을 마친 후 각 strip을 1% DTT(Dithiotheitol)와 2.5% IAA(iodoacetamide)로 각각 15분 동안 equilibration buffer(50mM Tris-HCl, pH8.8, 6M Urea, 30% glycerol, 2% SDS, 0.001% Bromophenol blue)를 사용하여 잘 혼합하면서 반응시켰다. Equilibration 시킨 각 strip을 12.5% SDS-PAGE에 올린 후 agrose sealing solution으로 채운 다음 SDS-PAGE 한 장당 2 Watt로 전개시켰다. 전개시킨 SDS-PAGE를 fixing solution (acetate acid 10%, ethanol 40%)에서 약 30분 정도 고정화시켰다.

<39> 실시예 3: 은(silver) 염색 및 이미지 스캐닝, 분석

<40> 고정화된 gel을 sensitizing solution (30% ethanol, 0.125%(w/vglutardialdehyde, 0.2%(w/v) sodium thiosulphate, 6.8% sodium acetate과 30분간 반응시키고 증류수로 세척하였다. 0.25%(w.v)silver nitrate solution으로 다시 20분간 반응시키고 증류수로 세척하였다. 고정화된 gel을 developing solution (2.5%(w/v)

sodium carbonate)과 8분간 반응시키고, 마지막으로 stopping solution 1.46%(w/v) EDTA·Na·$2H_2O$과 반응시켰다. 염색된 gel을 ImageScanner flatbed scanner를 이용하여 scan한 후 각 protein spot을 ImageMaster 2-D melanie software (Amersham Bioscience Inc.)를 사용하여 분석하였다.

<41> 실시예 4: 표현형 및 유전능력과 표지단백질간의 연관성 검토

<42> (후보 표지단백질의 발현양과 경제형질간의 상관 분석 및 유의성 검정)

<43> 배최장근단면적(EMA) 육종가추정치(EBV)의 순위에 따라 선발한 상위 20두 한우와 하위 20두 한우 등심 2차원 전기영동 등 화상의 spot 밀도에 대한 유의성 검증(T-test)을 실시하였고 또한 SAS 8.12 package를 이용하여 spot의 상대밀도와 각 경제형질간의 상관분석을 실시하였다. 하기 표 1은 등심 단백질에 대한 배최장근단면적 관련 유의성 검정 결과 및 상관계수를 나타낸다.

<44> [표 1]

Spot No.	CW	EMA	BF	MS
1949	-0.419	-0.449*	-0.374	ns
1996	-0.396	-0.479*	-0.320	ns
2193	-0.437	-0.861**	-0.7903	0.903
2246	-0.968	0.979*	0.36944	0.654

<45>

<46> 도체중(CW), 배최장근단면적(EMA), 등지방두께(BF) , 근내지방도(MS)

<47> ns: not significant, **: significant P<0.01, *: significant P<0.05

<48> 실시예 5: 질량분석기를 이용한 단백질 동정

<49> 이미지 분석을 통하여 단백질 발현 패턴에 차이가 보이는 spot을 선별한 다음, gel에서 해당 spot부분을 blue tip을 이용하여 분리하였다. 분리된 spot들은 30mM potassium ferricyanide와 100mM sodium thiosulfat를 1:1로 섞은 용액에 담궈 destaining 시켰다. destaining 된 spots을 100mM ammomium bicarbonate, pH 7.8 용액과 acetonitrile 용액을 사용하여 전처리 하고 trypsin과 반응시켰다. trypsin이 처리된 spots을 Voyager-DE™ STR Biospectrometry Workstation 모델의 MALDI-TOFor ESI-Q-TOF를 이용하여 동정하였다. 하기 표 2는 ESI-Q-TOF를 이용해 확인한 등심 후보 표지단백질 목록이다.

<50> [표 2]

<51>

Spot No.	Protein Name	NCBI Accession No.	Identification Method	Experimental Mr(Da)/pI	Sequence coverage(%)	Reference
1949	Similar to Troponin I, fast skeletal muscle	XP_582883	ESI-Q-TOF	21561/8.88	7	Low EMA
1996	Myosin regulatory light chain 2, skeletal muscle isoform type 2 (G2) (DTNB) (MLC-2)	P02608	ESI-Q-TOF	19128/4.82	17	Low EMA
2193	Glutathione S-transferase M1	NP_787019	ESI-Q-TOF	25789/6.90	5	Low EMA
2246	Adenylate kinase 1, soluble	NP_001013600	ESI-Q-TOF	21764/8.40	23	High EMA

<52> High EMA: 고급육 경제형질을 표시함. Low EMA: 저급육 경제형질을 표시함.

<53> 상기와 같이 동정된 단백질들의 아미노산 서열은 NCBInr 데이타베이스(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/)를 서치하여 유사 트로포닌 I (Similar to Troponin I, fast skeletal muscle)은 서열번호 8, 미오신 조절 경사슬 2 (Myosin regulatory light chain 2, skeletal muscle isoform type 2)는 서열번호 9, 글루타티온 S-트랜스퍼라제 M1 (Glutathione S-transferase M1)은 서열번호 10, 아데닐레이트 키나제 I(Adenylate kinase 1, soluble)은 서열번호 11의 아미노산 서열을 갖는 것을 확인하였다.

발명의 효과

<54> 이상 설명한 바와 같이, 본 발명에 따르면, 단백질수준에서 한우의 배최장근단면적 등을 포함한 경제형질과 관련된 바이오마커 단백질을 프로테옴분석 기술을 이용하여 선발한 후 이를 활용하여 새로운 개념의 고급육 생산 기술을 정착시킬 수 있다. 또한, 고비용의 표현형 위주의 능력검정작업을 최소화함과 동시에 성장초기나 배아상태에서의 유전전 잠재력과 조기예측이 가능할 수 있는 저비용의 검정방법으로 대치할 수 있다.

도면의 간단한 설명

<1> 도 1은 한우 등심에서 발현하는 근육단백질을 나타내는 2-D 전기영동이미지이다.

<2> 도 2는 도 1의 화살표 영역의 배최장근단면적 (EMA) 관련 육종가 추정치(EBV)가 높은 등심조직(high EMA group)과 낮은 등심조직(low EMA group)에서의 스팟을 확대한 것이다.

<3> 도 3은 도2에서 확인한 스팟들의 볼륨강도 (volume intensity)를 비교한 그래프이다.

<4> 도 4a는 스팟 1949의 ESI-Q-TOF 질량분석 결과를 MASCOT 서치 프로그램을 이용하여 단백질 동정한 결과이고, 도 4b는 서열번호 1의 펩타이드의 MS/MS fragmentation 스펙트럼이다.

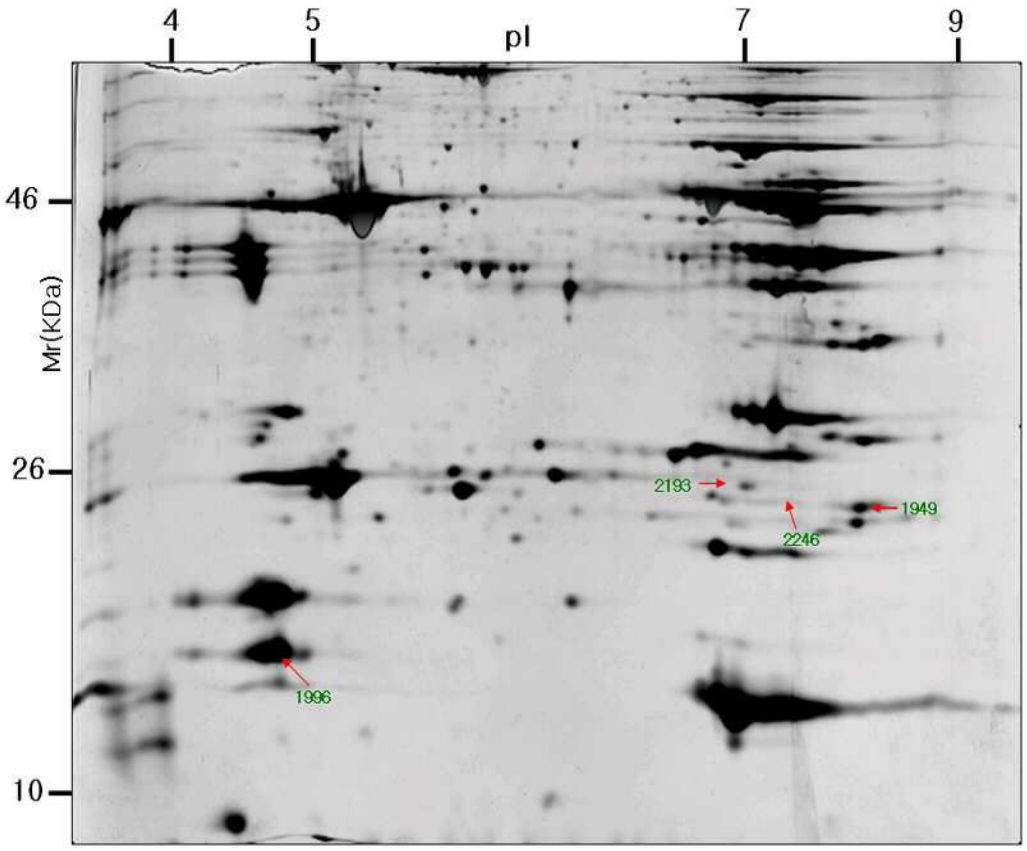
<5> 도 5a는 스팟 1996의 ESI-Q-TOF 질량분석 결과를 MASCOT 서치 프로그램을 이용하여 단백질 동정한 결과이고, 도 5b와 5c는 서열번호 2 및 3의 펩타이드의 MS/MS fragmentation 스펙트럼이다.

<6> 도 6a는 스팟 2193의 ESI-Q-TOF 질량분석 결과를 MASCOT 서치 프로그램을 이용하여 단백질 동정한 결과이고, 도 6b는 서열번호 4의 펩타이드의 MS/MS fragmentation 스펙트럼이다.

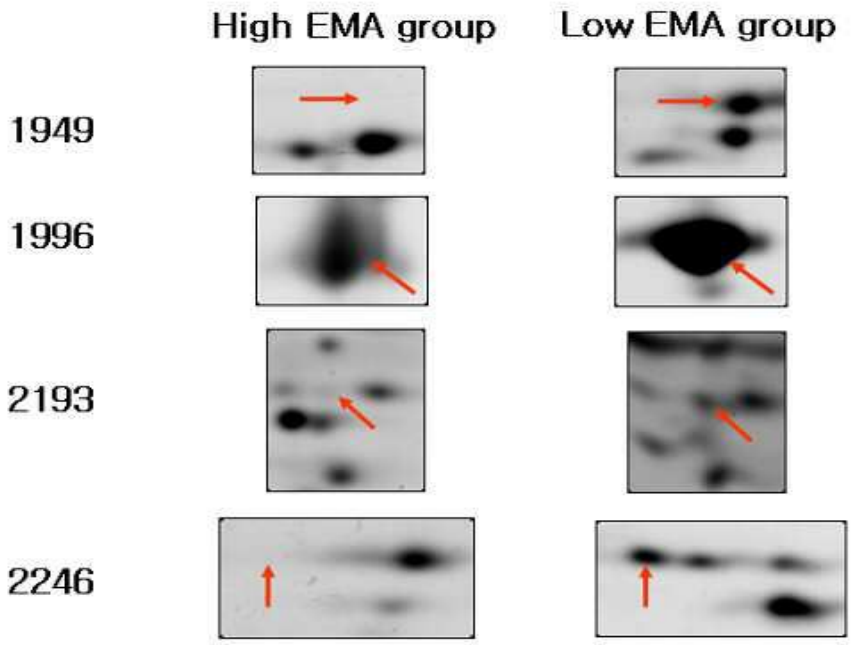
<7> 도 7a는 스팟 2246의 ESI-Q-TOF 질량분석 결과를 MASCOT 서치 프로그램을 이용하여 단백질 동정한 결과이고, 도 7b와 7c, 7d는 각각 서열번호 5, 6, 7의 펩타이드의 MS/MS fragmentation 스펙트럼이다.

도면

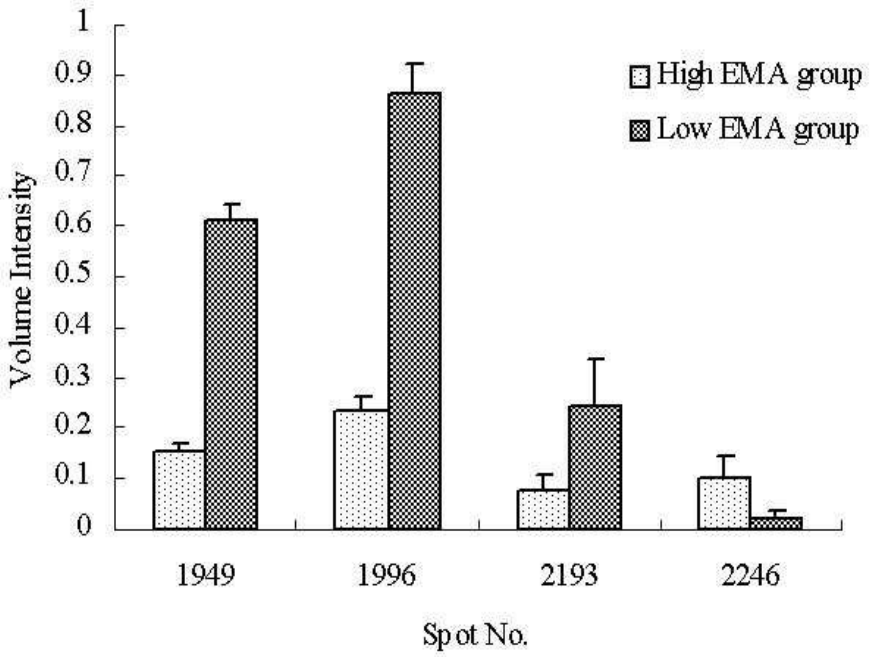
도면1



도면2


High EMA group
Low EMA group
1949
1996
2193
2246

도면3


Volume Intensity
1
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
High EMA group
Low EMA group
1949
1996
2193
2246
Spot No.

도면4a

Match to: **gi|109104980** Score: **30**
PREDICTED: similar to Troponin I, fast skeletal muscle (Troponin I, fast-twitch isoform) [Macaca mulatta]
Found in search of C:\YOO\06ms197_1949_716.0100035.dta

Nominal mass (M_r): **21470**; Calculated pI value: **8.86**
NCBI BLAST search of gi|109104980 against nr
Unformatted sequence string for pasting into other applications

Taxonomy: Macaca mulatta

Fixed modifications: Carbamidomethyl (C)
Variable modifications: Oxidation (M)
Cleavage by Trypsin: cuts C-term side of KR unless next residue is P
Sequence Coverage: 7%

Matched peptides shown in **Bold Red**

```
    1 MGDEEKRNRA ITARRQHLKS VMLQIAATEL EKEESRREAE KQNYLSEHCP
   51 PLHIPGSMSE VQELCKQLHA KIDAAEEEKY DMEVKVQKSS KELEDMNQKL
  101 FDLRGKFKRP PLRRVRMSAD AMLKALLGSK HKVCMDLRAN LKQVKKEDTE
  151 KERDLRDVGD WRKNIEEKSG MEGRKKMFES ES
```

Show predicted peptides also

Sort Peptides By ◉ Residue Number ○ Increasing Mass ○ Decreasing Mass

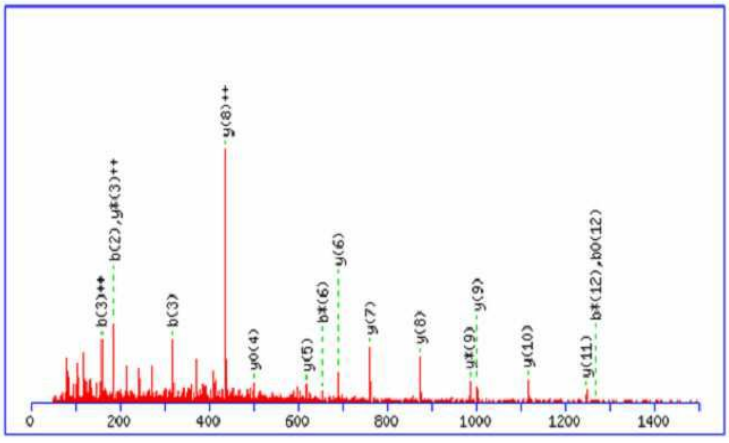
Start - End	Observed	Mr(expt)	Mr(calc)	Delta	Miss	Sequence	
20 - 32	716.8039	1431.5933	1431.7643	-0.1710	0	K.SVMLQIAATELEK.E	(Ions score 30)

도면4b

MS/MS Fragmentation of **SVMLQIAATELEK**
Found in gi|109104980, PREDICTED: similar to Troponin I, fast skeletal muscle (Troponin I, fast-twitch isoform) [Macaca mulatta]

Match to Query 1: 1431.593274 from(716.803913,2+)
From data file C:\YOO\06ms197_1949_716.0100035.dta

Click mouse within plot area to zoom in by factor of two about that point
Or, Plot from 0 to 1500 Da



도면5a

Match to: **gi|127176** Score: **126**
Myosin regulatory light chain 2, skeletal muscle isoform type 2 (G2) (DTNB) (MLC-2)
Found in search of C:\MASSLYNX\LC AUTO ANALYSIS\InPAC\05MS90\05MS90_59.txt

Nominal mass (M_r): **19128**; Calculated pI value: **4.82**
NCBI BLAST search of gi|127176 against nr
Unformatted sequence string for pasting into other applications

Taxonomy: Oryctolagus cuniculus
Links to retrieve other entries containing this sequence from NCBI Entrez:
gi|1637 from Oryctolagus cuniculus

Fixed modifications: Carbamidomethyl (C)
Variable modifications: Oxidation (M)
Cleavage by Trypsin: cuts C-term side of KR unless next residue is P
Sequence Coverage: **17%**

Matched peptides shown in **Bold Red**

```
   1 MAPKKAKRRA AAEGGSSNVF SMFDQTQIQE FKEAFTVIDQ NRDGIIDKED
  51 LRDTFAAMGR LNVKNEELDA MMKEASGPIN FTVFLTMFGE KLKGADPEDV
 101 ITGAFKVLDP EGKGTIKKQF LEELLTTQCD RFSQEEIKNM WAAFPPDVGG
 151 NVDYKNICYV ITHGDAKDQE
```

Show predicted peptides also

Sort Peptides By ◉ Residue Number ○ Increasing Mass ○ Decreasing Mass

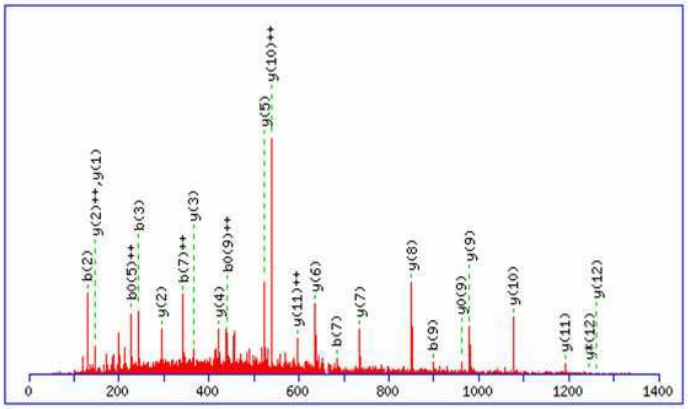
Start - End	Observed	Mr(expt)	Mr(calc)	Delta	Miss	Sequence	
94 - 106	660.3739	1318.7333	1318.6404	0.0928	0	GADPEDVITGAFK	(Ions score 79)
139 - 155	941.0039	1879.9933	1879.8562	0.1370	0	NMWAAFPPDVGGNVDYK	(Ions score 48)

도면5b

MS/MS Fragmentation of GADPEDVITGAFK
Found in gi|127176, Myosin regulatory light chain 2, skeletal muscle isoform type 2 (G2) (DTNB) (MLC-2)

Match to Query 1: 1318.733273 from(660.373912,2+)
From data file C:\MASSLYNX\LC AUTO ANALYSIS\InPAC\05MS90\05MS90_59.txt

Click mouse within plot area to zoom in by factor of two about that point
Or, Plot from 0 to 1400 Da

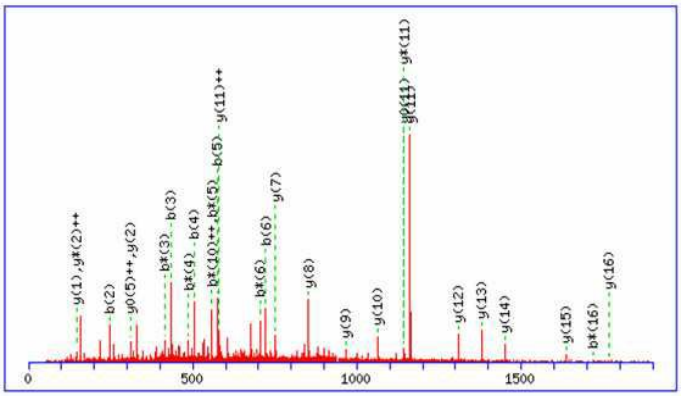


도면5c

MS/MS Fragmentation of NMWAAFPPDVGGNVDYK
Found in gi|127176, Myosin regulatory light chain 2, skeletal muscle isoform type 2 (G2) (DTNB) (MLC-2)

Match to Query 2: 1879.993273 from(941.003912,2+)
From data file C:\MASSLYNX\LC AUTO ANALYSIS\InPAC\05MS90\05MS90_59.txt

Click mouse within plot area to zoom in by factor of two about that point
Or, Plot from 0 to 1900 Da



도면6a

Match to: **gi|28461273** Score: **36**
glutathione S-transferase M1 [Bos taurus]
Found in search of C:\YOO\06MS197_2193_829.0100026.dta

Nominal mass (M_r): **25789**; Calculated pI value: **6.90**
NCBI BLAST search of gi|28461273 against nr
Unformatted sequence string for pasting into other applications

Taxonomy: Bos taurus
Links to retrieve other entries containing this sequence from NCBI Entrez:
gi|75074573 from Bos taurus
gi|7582395 from Bos taurus
gi|73586890 from Bos taurus

Fixed modifications: Carbamidomethyl (C)
Variable modifications: Oxidation (M)
Cleavage by Trypsin: cuts C-term side of KR unless next residue is P
Sequence Coverage: **5%**

Matched peptides shown in **Bold Red**

```
   1 MPMILGYWDI RGLAHAIRLL LEYTDTNYEE RQYSVGDAPD YDRSQWLNEK
  51 FKLGLDFPNL PYLIDGTHKL TQSNAILRYI ARKHNLCGET EEEMIRVDIL
 101 ENQVMDVRLA MARICYSPDF EKLKPGFLKE IPEKIKLFSE FLGKRPWFAG
 151 DKLTYVDFLV YDVLDMHRIF EPKCLDAFPN LKDFISRFEG LKKISAYMKS
 201 SRFLPGPLFM KLAVWGNK
```

Show predicted peptides also

Sort Peptides By ◉ Residue Number ○ Increasing Mass ○ Decreasing Mass

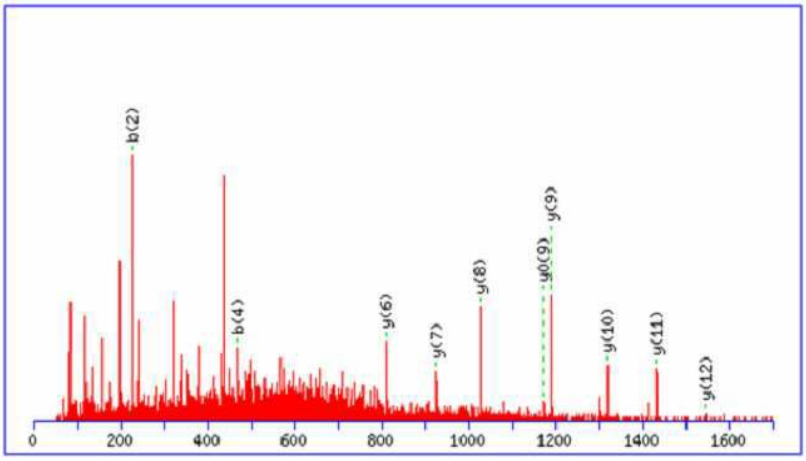
Start - End	Observed	Mr(expt)	Mr(calc)	Delta	Miss	Sequence
19 - 31	829.8039	1657.5933	1657.7835	-0.1902	0	R.LLLEYTD

도면6b

MS/MS Fragmentation of LLLEYTDTNYEER
Found in gi|28461273, glutathione S-transferase M1 [Bos taurus]

Match to Query 1: 1657.593274 from(829.803913,2+)
From data file C:\YOO\06MS197_2193_829.0100026.dta

Click mouse within plot area to zoom in by factor of two about that point
Or, Plot from 0 to 1700 Da



도면7a

Match to: **gi|61888850** Score: **68**
adenylate kinase 1, soluble [Bos taurus]
Found in search of C:\MASSLYNX\LC AUTO ANALYSIS\05ms107_8.pkl

Nominal mass (M_r): **21764**; Calculated pI value: **8.40**
NCBI BLAST search of gi|61888850 against nr
Unformatted sequence string for pasting into other applications

Taxonomy: Bos taurus
Links to retrieve other entries containing this sequence from NCBI Entrez:
gi|109940090 from Bos taurus
gi|59858267 from Bos taurus
gi|92097535 from Bos taurus

Fixed modifications: Carbamidomethyl (C)
Variable modifications: Oxidation (M)
Cleavage by Trypsin: cuts C-term side of KR unless next residue is P
Sequence Coverage: **23%**

Matched peptides shown in **Bold Red**

```
     1 MEEKLKKTKI IFVVGGPGSG KGTQCEKIVQ KYGYTHLSTG DLLRAEVSSG
    51 SARGKMLSEI MEKGQLVPLE TVLDMLRDAM VAKVDTSKGF LIDGYPREVQ
   101 QGEEFERRIA QPTLLLYVDA GPETMTKRLL KRGETSGRVD DNEETIKKRL
   151 ETYYKATEPV IAFYEKRGIV RKVNAEGSVD NVFSQVCTHL DALK
```

Show predicted peptides also

Sort Peptides By (•) Residue Number ( ) Increasing Mass ( ) Decreasing Mass

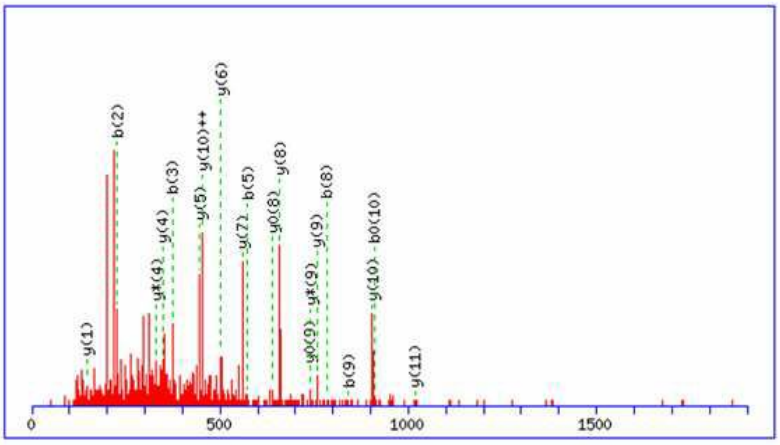
Start - End	Observed	Mr(expt)	Mr(calc)	Delta	Miss	Sequence	
10 - 21	565.4064	1128.7982	1129.6495	-0.8512	0	K.IIFVVGGPGSGK.G	(Ions score 32)
64 - 77	792.5276	1583.0406	1582.8752	0.1654	0	K.GQLVPLETVLDMLR.D	(Ions score 17)
109 - 127	1031.1667	2060.3188	2060.0863	0.2325	0	R.IAQPTLLLYVDAGPETMTK.R	(Ions score 19)

도면7b

MS/MS Fragmentation of IIFVVGGPGSGK
Found in gi|61888850, adenylate kinase 1, soluble [Bos taurus]

Match to Query 7: 1128.798248 from(565.406400,2+) intensity(2376.4858)
From data file C:\MASSLYNX\LC AUTO ANALYSIS\05ms107_8.pkl

Click mouse within plot area to zoom in by factor of two about that point
Or, Plot from 0 to 1900 Da

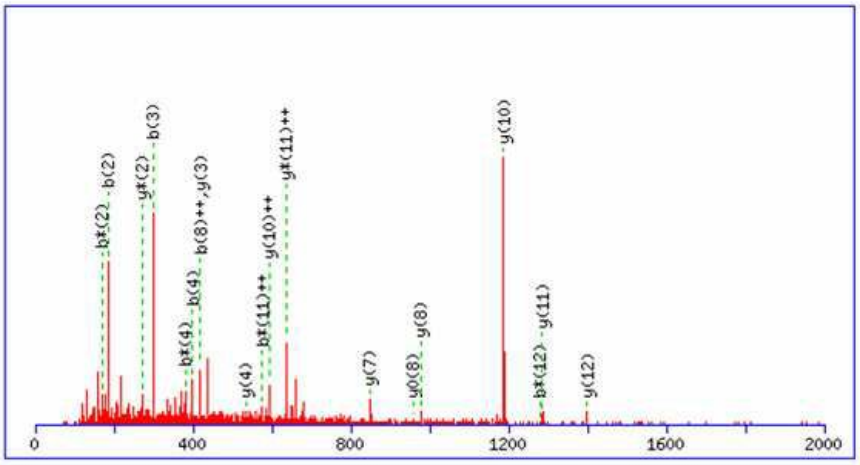


도면7c

MS/MS Fragmentation of GQLVPLETVLDMLR
Found in gi|61888850, adenylate kinase 1, soluble [Bos taurus]

Match to Query 8: 1583.040648 from(792.527600,2+) intensity(3528.8433)
From data file C:\MASSLYNX\LC AUTO ANALYSIS\05ms107_8.pkl

Click mouse within plot area to zoom in by factor of two about that point
Or, Plot from 0 to 2000 Da

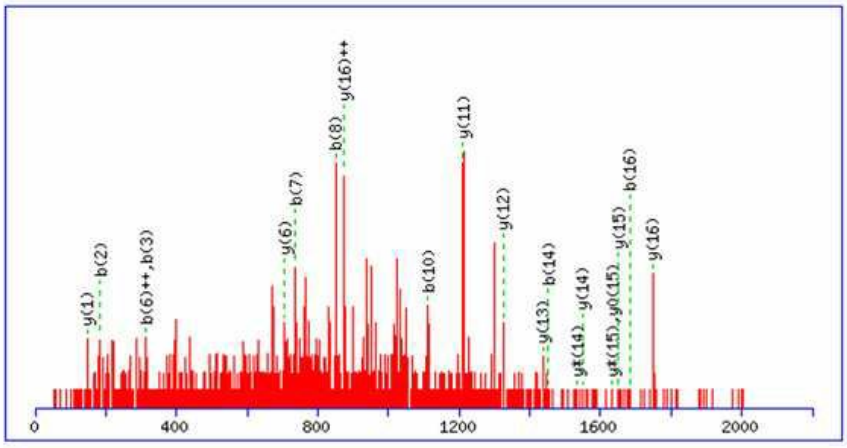


도면7d

MS/MS Fragmentation of IAQPTLLLYVDAGPETMTK
Found in gi|61888850, adenylate kinase 1, soluble [Bos taurus]

Match to Query 10: 2060.318848 from(1031.166700,2+) intensity(1990.5275)
From data file C:\MASSLYNX\LC AUTO ANALYSIS\05ms107_8.pkl

Click mouse within plot area to zoom in by factor of two about that point
Or, Plot from 0 to 2200 Da



서 열 목 록

서열목록 전자파일 첨부