

	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2012-0065103 (43) 공개일자 2012년06월20일
(51) 국제특허분류(Int. Cl.) C12N 15/12 (2006.01) C12Q 1/68 (2006.01)		(71) 출원인 고려대학교 산학협력단 서울 성북구 안암동5가 1
(21) 출원번호 10-2010-0126440		(72) 발명자
(22) 출원일자 2010년12월10일		이영식
심사청구일자 2010년12월10일		서울특별시 노원구 덕릉로77길 5, 102동 103호 (중계동, 벽산아파트)
		홍기창
		경기도 남양주시 별내면 청학로68번길 23, 주공@304-303 (뒷면에 계속)
		(74) 대리인
		이문섭

전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 P PARGC1A 유전자 3' UTR 영역의 SNP를 포함하는 돼지의 육질 증가 여부 확인용 DNA 표지인자

(57) 요약

본 발명은 PPARGC1A 유전자 3' UTR 영역의 SNP를 포함하는 돼지의 육질 증가 여부 확인용 DNA 표지인자에 관한 것으로, 더욱 구체적으로 서열번호 1의 염기서열에서 2956번째 C 염기를 포함하는 15 내지 800개의 연속서열로 구성되는 돼지의 육질 증가 여부 확인용 DNA 표지인자에 관한 것이다.

본 발명에 따르면, 상기 SNP는 돼지의 근섬유조성에 차이를 주지 않으면서 육질 특성인 pH의 증가 또는 유리육즙의 감소를 일으켜 육질의 증가에 영향을 준다. 이러한 유전적 변이를 이용하여 돼지의 육질 개량 및 우수 개체의 선별에 유용한 DNA 표지인자를 개발할 수 있다.

대표도 - 도2

```

1 CACAGGTTCT GCGTTACGAC AGTAACACAT CTTTAATCCG CCTAATTCTT GTTGTCTGT
61 AGGTTAAATG CAGGTATTTT AACTCTGTGT GAACGCCAAA CTAAAGTTTA CAGTCTTTCT
121 TTTTGAATTT TGAGTATCTT CTGTTGTAGA ATAAGAATAA TAAAAAAGA CTATTAAGAG
181 CAATAAATTA TTTTAAAGAA ATCGATACTT AGTACATCAT ATTATGTGTT CAAGGACCAG
241 ATGCGTTTCT TATTTTGCCT TTAAAGTTTT GTGATCCAAT TTAAATAAC ATTCTCCTTT
301 TGGCCCTGGA TCGTGGACAT GAGTAAAATA CTTGGGTAT TTTCTTACTT ATCAAAAGAT
361 AACACTGCAG ATTTTCATGTT GAGGATTAAT TTT[T/C]CCCCC TTCTGGCCTG ACAAATATTG
421 TTACCATGAA GATAGTTTTA CTCCATGGAC TTCAAATTGC ATCTAAAATT AGTGCAACGA
481 GAGAATCACT AGACCATCCA AATAGAGCCT TTGTATCTTA TGCAGACACT GTGGGTAGCC
541 CATCAAAATG TAAACTGTGT TCTTTTTATT TTTATTTTAA ATTTTTTGAG AGAATATTG
601 AAATGAACAC ATGCCCATCA TCACTGGAAG CAGATTTTCA CATAGATCTG TAGGATTTT
661 AGATGACCCC GGGCCATTGC CTTCATGCTG TGGTAAGTAC CACATCTACA ATTTTGGTAA
721 CCCGAAC TGG
  
```

(72) 발명자

김준모

서울특별시 용산구 이촌로87길 21, 코오롱아파트
108동 303호 (이촌동)

임도환

경기도 화성시 동탄면 방교리 2리 635-2

홍재상

서울특별시 강동구 고덕로 133, 118동 2402호 (암
사동, 강동 롯데캐슬퍼스트아파트)

임규상

대전광역시 서구 둔산북로 215, 4동 1105호 (둔산
동)

이동현

서울특별시 성북구 보문로26길 83-7, 보승빌딩
301호 (안암동1가)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 201003010611750010200

부처명 농림수산식품부

연구사업명 BIO그린21사업

연구과제명 근육과 지방특이적 돼지 microRNA(miRNA 분리동정 및 marker) 개발

주관기관 고려대학교 산학협력단

연구기간 2010.01.01 ~ 2010.12.31이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 20090076865

부처명 교육과학기술부

연구사업명 일반연구자지원-기본연구

연구과제명 돼지 PPARGC1A 유전자 변이의 근섬유조성 및 육질관련 기능 구명

주관기관 고려대학교 산학협력단

연구기간 2009.05.01 ~ 2010.04.30

특허청구의 범위

청구항 1

서열번호 1의 염기서열에서, 2956번째 C 염기를 포함하는 15 내지 800개의 연속서열로 구성되는 돼지의 육질 증가 여부 확인용 DNA 표지인자.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 DNA 표지인자는 돼지의 근육 내 근섬유조성에 차이를 주지 않으면서 육질 관련 형질인 pH를 증가시키고 유리육즙(drip loss)을 감소시킴으로써 육질을 증가시키는 것을 특징으로 하는 DNA 표지인자.

청구항 3

서열번호 2와 서열번호 3으로 표시된 올리고뉴클레오티드로 구성되는, 돼지 PPARGC1A 유전자의 3' UTR 영역에서 육질 증가 여부 관련 SNP를 탐색하기 위한 프라이머.

청구항 4

제 1항의 DNA 표지인자에 상보적으로 결합하는 프로브(probe)를 포함하는 돼지의 육질 증가 여부 관련 SNP 분석용 키트.

청구항 5

하기 단계들을 포함하는, 돼지의 육질 증가 여부를 확인하는 방법:

- a) 돼지로부터 게놈 DNA를 분리하는 단계;
- b) 상기 a)단계의 DNA를 주형으로 하여 서열번호 1로 표시된 PPARGC1A 유전자의 3' UTR 영역의 2956번째 염기를 포함하는 특정부위를 증폭시키는 단계;
- c) 상기 b)단계에서 증폭된 DNA의 염기서열을 분석하는 단계; 및
- d) 상기 c)단계의 염기서열 결과로부터 서열번호 1의 2956번째 염기가 T 염기에서 C 염기로 치환 여부를 확인하는 단계.

청구항 6

제 5항에 있어서, 상기 b)단계에서 서열번호 2와 서열번호 3으로 표시된 프라이머를 이용하여 증폭시키는 것을 특징으로 하는 방법.

명세서

기술분야

본 발명은 PPARGC1A 유전자 3' UTR 영역의 SNP를 포함하는 돼지의 육질 증가 여부 확인용 DNA 표지인자에 관한 것으로, 더욱 구체적으로 서열번호 1의 염기서열에서 2956번째 C 염기를 포함하는 15 내지 800개의 연속서열로 구성되는 돼지의 육질 증가 여부 확인용 DNA 표지인자에 관한 것이다.

[0001]

배경 기술

- [0002] 근섬유조성을 포함하는 근섬유특성은 유전적인 요인에 의해 크게 영향을 받는다. 특히, 돼지의 경우 근세포조성의 유전력이 근섬유형별로 37~58%로써 높고, 육질관련 형질과의 유전상관 관계도 높기 때문에 유전적인 개량을 통해서 각 개체의 근세포조성의 조절이 가능할 것으로 판단되고 있다 (Larzul, C. et al. 1997. J. AnimSci. 75: 3126-3137.). DNA 표지인자를 이용한 선발방법인 MAS(Marker Assisted Selection)는 가축의 육종에 있어서 선발의 정확도를 높이고 개량속도를 증가시켜, 유전적 개량량을 극대화할 수 있는 방법으로서 최근 첨단분자유종기법으로 각광받고 있다. 근섬유조성의 변이가 대부분 유전적 요인에 의해 발생한다는 점은 MAS를 접목한 개량이 매우 효율적일 수 있음을 시사한다.
- [0003] 그러나 근세포 특성은 도체의 등심근에서만 측정이 가능한 형질로서, 생체에서의 측정이 불가능하다. 따라서 이를 위주로 한 선발과 개량을 위해서는 도축을 하지 않고도 개체의 근세포 특성을 예측할 수 있는 방법이 필요하다. 바로 이러한 점에서 DNA 표지인자의 개발이 근본적으로 요구되며, 후보유전자의 개발과 유전자 구조 분석을 통한 유전자원 확보가 필수적으로 선행되어야 한다.
- [0004] PPARGC1A(Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1) 유전자는 PGC1의 전구체로서 적응대사량(adaptive thermogenesis)과 지방세포 분화(adipocyte differentiation)에 깊게 관여함으로써 동물의 에너지대사에 깊게 관여하여, 가축의 육질관련 후보유전자로 최근 거론되고 있다 (Erkens, T. et al. 2006. BMC Biotechnol 6: 41). 더욱이, 이 유전자가 근섬유 타입 I 형성을 유도하는 주요한 역할을 하는 것으로 보고됨으로써 (Lin, J. et al. 2002. Nature 418: 797-801), 본 발명자들은 PPARGC1A 유전자를 근섬유조성, 특히 타입 I 형성에 관여하고 육질향상과 관련이 있는 후보유전자로 선정하였다.
- [0005] 최근 5년간에 걸쳐 동물과 식물을 포함한 모든 후생동물(metazoan)의 유전체 (genome)로부터 21-25 뉴클레오티드(nucleotide, nt)의 길이를 갖는 다양한 마이크로 RNA (MicroRNA, miRNA)들이 발견된다는 것이 보고되어 있다. 이 miRNA들은 단백질을 생산하지 않고, 대신 염기서열 상보적인 표적(target) 유전자들의 발현을 억제한다 (Bartel D. P., 2004, Cell 116:281-297).
- [0006] miRNA는 미성숙의 일차 전사체 (primary transcript)로 최초 생성된 후, 두 개의 서로 다른 리보뉴클레아제 (ribonuclease, RNase) III 효소들인 Drosha와 Dicer에 의해 핵과 세포질에서 잇따라 프로세싱(processing)되어 성숙된 miRNA를 형성한다 (Lee Y. et al., 2003, Nature 425:415-419, Bernstein E. et al., 2001, Nature 409:363-366). 성숙된 miRNA들은 RISC (RNA-Induced Silencing Complex)내로 들어가 그들의 염기서열 상보적인 표적 mRNA를 찾는 안내자 역할을 하고, 염기서열 상보성 정도에 따라 표적 mRNA들의 번역 억제 (translational repression) 또는 분해(degradation)를 야기한다 (He L. et al., 2004, Nat Rev Genet. 5:522-531). 동물의 경우 miRNA는 표적 mRNA의 3' UTR에 존재하는 결합부위(binding site)와 불완전염기쌍형성(imperfect base pairing)을 통해 번역 억제를 하는 것으로 보고되어 있다 (Bartel D. P., 2004, Cell 116:281-297).
- [0007] miRNA는 염기서열 상보적인 표적 mRNA의 3' UTR에 RISC 복합체가 결합할 수 있도록 안내자 역할을 함으로써 그 표적 유전자의 발현을 억제해 유도한다. 따라서 표적 유전자 3' UTR 부위의 염기서열 변화가 존재한다면 특정 miRNA에 의한 발현억제가 증가할 수도 있고 반대로 감소할 수도 있다. 이러한 표적 유전자의 염기서열 변화로 인해 miRNA에 의한 발현조절 차이가 생긴다는 것이 이미 보고된 바 있다 (Clop A. et al., 2006, Nat Genet 38:813-818).
- [0008] 본 발명에서는 돼지의 품종별로 실제 적응생산능력과 육질형질을 측정하고, PPARGC1A 유전자를 근섬유조성, 특히 타입 I 형성에 관여하고 육질향상과 관련이 있는 후보유전자로 선정하여 3' UTR 영역에서 유전자형 분석 결과를 토대로 연관성 분석을 실시하였다. 이를 통해서 PPARGC1A 유전자의 3' UTR 영역에서 SNP를 탐색하고 그에 따른 육질 향상관련 기능을 규명하였고, 관련 DNA 표지인자로서 효용성을 검증하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0009] 따라서, 본 발명의 주된 목적은 돼지의 PPARGC1A 유전자의 3' UTR 영역에 존재하는 SNP를 이용하여 육질을 향상시키는 육질 증가 관련 DNA 표지인자 및 이를 이용한 SNP 분석용 키트를 제공하는 데 있다.

[0010] 본 발명의 다른 목적은 상기 육질 증가 관련 DNA 표지인자를 이용한 돼지의 육질 증가 여부를 확인하는 방법을 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

[0011] 본 발명의 한 양태에 따르면, 본 발명은 서열번호 1의 염기서열에서, 2956번째 C 염기를 포함하는 15 내지 800개의 연속서열로 구성되는 돼지의 육질 증가 여부 확인용 DNA 표지인자를 제공한다.

[0012] 본 발명자들은, 서열번호 1로 표시된 PPARGC1A 유전자의 3' UTR 영역에서 돼지의 육질 특성과 관련된 단일염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNP)을 찾아내고, 이러한 SNP에 따른 돼지 개체의 육질 특성 및 유전자형과의 연관성을 분석하였다. 상기 DNA 표지인자는 가축의 육질 관련 후보유전자로 최근 연구되고 있는 PPARGC1A 유전자의 3' UTR 서열 중 일부로서, 특정부위에서 T 또는 C로 염기가 치환된 SNP(single nucleotide polymorphism) 부위를 포함한다.

[0013] 본 발명은 PPARGC1A 유전자의 3' UTR 영역에서 육질의 증가를 일으키는 SNP (T→C 치환) 부위를 밝혀내고 이를 포함하는 DNA 단편의 “돼지의 육질 증가 여부 확인하기 위한 DNA 표지인자”로서의 신규한 용도에 관한 것이다.

[0014] 상기 PPARGC1A 유전자는 포유동물에서 에너지 대사에 관여한다는 것이 이미 알려져 있고, 또한 가축의 육질 관련 후보유전자로 다양한 연구가 진행되고 있으며, 특히 마우스의 근섬유 타입 I 형성을 유도하는 주요한 역할을 하는 것으로도 알려져 있다. 그러나, 돼지의 PPARGC1A 유전자의 3' UTR 영역에서 특정 부위의 SNP를 이용하여 육질이 향상된 개체를 선별하는 방법은 전혀 알려져 있지 않으며, 본 발명자들이 이러한 육질 증가 관련 SNP를 처음으로 밝혔다.

[0015] 본 발명에 있어서, 상기 DNA 단편은 돼지의 육질 특성과 관련한 PPARGC1A 유전자의 3' UTR 영역의 새로운 유전적 변이 부위(SNP site)인 2956번째 C 염기를 포함하는 DNA 표지인자이다. 이 유전적 변이 부위는 T→C로 염기가 치환되어 유전자의 발현에 차이를 주게 되어 결과적으로 육질 향상에 영향을 미친다. 상기 DNA 단편의 크기는 전체 유전자의 full length가 아닌 한 상기 SNP 부위를 포함하는 어떤 단편 크기일 수 있으나, 바람직하게는 15 내지 수백 염기일 수 있으며, 더욱 바람직하게는 15 내지 800 염기일 수 있다. 특히 15 내지 30 염기의 경우는 상기 SNP를 탐지하기 위한 프로브(probe)나 프라이머로 이용될 수 있다. 본 발명의 실시예에서는, 상기 DNA 표지인자로서 상기 SNP 부위를 포함하는 736 bp 크기의 DNA 단편 (서열번호 4)을 DNA 표지인자로 이용하였다.

[0016] 본 발명에 있어서, 상기 DNA 표지인자는 돼지의 근육 내 근섬유조성에 차이를 주지 않으면서 육질 관련 형질인 pH를 증가시키고 유리육즙(drip loss)을 감소시킴으로써 육질을 증가시키는 것을 특징으로 한다. 본 발명의 실시예 4에서와 같이, 상기 서열번호 1의 2956번째 C 염기에서의 SNP에 따른 유전자형(CC, CT, TT)과 근섬유형질 및 육질의 연관성 분석을 분석하여 CT 및 TT 유전자형이 향상된 육질을 나타냄을 확인하였다 (표 8 참조).

[0017] 본 발명에서, “육질의 증가”란 상기 서열번호 1의 2956번째 SNP로 인한 개체별 유전자형(CC, TC, TT)에 따라 돼지의 육질 관련 형질인 pH가 높게 나타난 것을 의미한다. 즉, 서열번호 1의 2956번째 SNP의 경우 CT 및 TT 유전자형 개체가 CC 유전자형 개체와 비교하여 pH가 증가하고 유리육즙이 감소된 상태를 의미한다.

[0018] 돼지의 육질특성은 고기의 질을 pH, 육색, 근내지방도, 지방색, 조직감, 성숙도 등에 따라 등급을 구분하게 되는데, 이 중 특히 pH와 유리육즙은 돼지고기의 육질 특성을 나타내는데 중요한 판별 기준이 된다. 최근 돼지에 있어 육질이 매우 중요하게 부각되고 있기 때문에 육질이 우수한 돼지를 선발하고 육종 및 생산함으로써 품질이 향상된 고급육의 개발이 중요하다. 따라서 본 발명의 DNA 표지인자를 이용하면 육질이 향상된 개체를 조기에 진단하고 선별하여 육질이 향상된 고급육을 손쉽게 선별할 수 있다.

[0019] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 서열번호 2와 서열번호 3으로 표시된 올리고뉴클레오티드로 구성되는, 돼지 PPARGC1A 유전자의 3' UTR 영역에서 육질 증가 여부 관련 SNP를 탐색하기 위한 프라이머를 제공한다. 본 발명의 실시예에서는 Genebank (accession no. AB106108)에 등록된 유전자 서열에 기초하여 본 발명의 PPARGC1A 유전자의 3' UTR에 존재하는 SNP를 탐색할 수 있는 프라이머를 제작하였다. 본 발명의 프라이머는 종래 밝혀지지 않은 SNP를 포함하는 유전자 단편을 증폭하기 위한 것으로, 돼지 PPARGC1A 유전자의 3'

UTR 서열 중 특정 부위(서열번호 1에서 2956번째 염기)에서 SNP를 포함하는 유전자 단편을 제조할 수 있게 해준다.

- [0020] 상기 프라이머를 이용하여 제조된 유전자 단편의 염기서열의 결정은, 당업계에 알려진 다양한 방법에 의하여 이루어질 수 있다. 예를 들면, 디데옥시 법에 의하여 직접적인 핵산의 뉴클레오타이드 서열의 결정을 통하여 이루어지거나, SNP 부위의 서열을 포함하는 프로브 또는 그에 상보적인 프로브를 상기 DNA와 혼성화시키고 그로부터 얻어지는 혼성화 정도를 측정함으로써 다형성 부위의 뉴클레오타이드 서열을 결정하는 방법 등이 이용될 수 있다. 혼성화의 정도는 예를 들면, 검출가능한 표지를 표적 DNA에 표지하여, 혼성화된 표적 DNA 만을 특이적으로 검출함으로써 이루어질 수 있으나, 그외 전기적 신호 검출방법 등이 사용될 수 있다.
- [0021] 구체적으로, 대립형질 특이적 프로브 혼성화 방법(allele-specific probe hybridization), 대립형질 특이적 증폭 방법(allele-specific amplification), 서열분석법(sequencing), 5' 뉴클레아제 분해법(5' nuclease digestion), 분자 비콘 어레이법(molecular beacon assay), 올리고뉴클레오타이드 결합 어레이법(oligonucleotide ligation assay), 크기 분석법(size analysis), 단일 가닥 배좌 다형성법(single-stranded conformation polymorphism) 등의 방법에 의해 수행될 수 있다.
- [0022] 본 발명의 실시예에서는, 본 발명의 상기 SNP 부위를 포함하는 DNA 단편을 제조하고 DNA 단편을 직접적인 서열분석법(sequencing)을 이용하여 SNP 부위의 염기서열을 결정하여 유전자형을 구분하였다. 예를 들어, 서열번호 2와 서열번호 3의 프라이머로 증폭한 DNA 단편(736 bp)을 이용하여 유전자형을 CC, CT, TT로 구분할 수 있었다 (도 3 참조).
- [0023] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 상기 DNA 표지인자에 상보적으로 결합하는 프로브(probe)를 포함하는 돼지의 육질 증가 여부 관련 SNP 분석용 키트를 제공한다. 본 발명에서 프로브(probe)란 혼성화 프로브를 의미하는 것으로, 핵산의 상보성 가닥에 서열 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오타이드를 의미한다. 본 발명의 상기 프로브는 SNP를 검출하기 위한 방법 등에 사용될 수 있다. 상기 검출 방법에는 서던 블롯팅 등과 같은 핵산의 혼성화에 근거한 검출방법들이 포함되며, 마이크로어레이를 이용한 방법에서 마이크로어레이의 기판에 미리 결합된 형태로 제공될 수도 있다.
- [0024] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 하기 단계들을 포함하는, 돼지의 육질 증가 여부를 확인하는 방법을 제공한다:
- [0025] a) 돼지로부터 게놈 DNA를 분리하는 단계;
- [0026] b) 상기 a)단계의 DNA를 주형으로 하여 서열번호 1로 표시된 PPARGC1A 유전자의 3' UTR 영역의 2956번째 염기를 포함하는 특정부위를 증폭시키는 단계;
- [0027] c) 상기 b)단계에서 증폭된 DNA의 염기서열을 분석하는 단계; 및
- [0028] d) 상기 c)단계의 염기서열 결과로부터 서열번호 1의 2956번째 염기가 T 염기에서 C 염기로 치환 여부를 확인하는 단계.
- [0029] 본 발명의 방법에서, 상기 b)단계에서 서열번호 2와 서열번호 3으로 표시된 프라이머를 이용하여 증폭시키는 것을 특징으로 한다. 상기 b)단계의 DNA 증폭은 PPARGC1A 유전자 3' UTR 영역의 2956번째 염기인 SNP가 포함된 특정부위를 증폭시킬 수 있는 어떤 프라이머일 수 있으나, 바람직하게는 서열번호 2와 서열번호 3로 표시된 올리고뉴클레오타이드로 구성된 프라이머를 이용하여 증폭시킬 수 있다.
- [0030] 본 발명의 방법에서, 상기 SNP 부위를 포함하는 DNA 단편을 제조하고 DNA 단편을 직접적인 서열분석법(sequencing)을 이용하여 SNP 부위의 염기서열을 결정하여 유전자형을 구분할 수 있다. 상기 방법에 따르면, 서열번호 2와 서열번호 3의 프라이머로 증폭한 DNA 단편에 존재하는 SNP 부위의 염기를 확인함으로써 유전자형을 CC, CT, TT로 구분할 수 있고, 각 유전자형에 따른 육질 특성을 비교함으로써 돼지 개체에서 육질의 증가 여부를 확인할 수 있게 된다 (표 8 참조).

발명의 효과

[0031] 이상 설명한 바와 같이, 본 발명에 따르면 돼지 PPARGC1A 유전자 3' UTR 영역의 SNP는 근섬유조성의 차이를 주지 않으면서 육질 특성인 pH의 증가 및 유리육즙의 감소를 일으켜 육질의 증가에 영향을 주는 것으로 판단할 수 있다. 따라서 본 발명의 유전적 변이(SNP)는 돼지의 육질 특성과 관련한 기능을 가지며 이러한 특성을 통해서 육질 개량과 관련한 DNA 마커로서 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0032] 도 1은 돼지 PPARGC1A 유전자 3' UTR의 염기서열을 분석한 결과이다. 2956번째 염기(T→C 치환)가 새로 발견한 단일염기변이부위(SNP)이다.

도 2는 본 발명에 따른 DNA 표지인자의 일례로서, 본 발명에 따른 프라이머를 이용한 직접염기서열분석에 사용된 DNA 단편을 나타낸다.

도 3은 본 발명에 따른 SNP에 대한 PCR 및 직접염기서열분석(direct sequencing)을 실시하여 염기에 따른 peak의 차이를 이용하여 유전자형을 분석하는 방법을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0033] 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.

[0034] **실시예 1. PPARGC1A 유전자의 3' UTR에 대한 염기서열 분석 및 변이 탐색**

[0035] 돼지 PPARGC1A에 대한 정보를 National Center for Biotechnology Information (NCBI) 홈페이지(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)를 활용하여, 기존에 알려진 돼지 PPARGC1A 유전자의 cDNA 염기서열(AB106108, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>)을 토대로 PPARGC1A 유전자의 3' UTR 영역의 서열을 확보하였다. PPARGC1A 유전자 3' UTR의 SNP를 탐색하기 위하여 7개의 앰플리콘(amplicon)을 이용하여 돼지 4개 품종(Yorkshire, Landrace, Duroc, Berkshire)에 대해 염기서열을 분석하였다. 상기 앰플리콘을 PCR 할 수 있는 7개의 프라이머 set를 제작하였다 (표 1). PCR 혼합물의 조성 및 반응조건은 하기 표 2와 표 3에 나타내었으며, 본 발명에서 염기서열분석을 실시한 영역은 서열번호 1과 같다. 염기서열분석 결과를 품종별로 비교(alignment)하여 단일염기변이(SNP)를 발견하였다. 서열번호 1로 표시되는 돼지 PPARGC1A 유전자의 3' UTR에서 2956번째 T 염기가 C 염기로 치환된 SNP임을 확인하였다.

표 1

서열번호 1의 증폭에 사용된 프라이머

Primer	Length (nt)	Product size (nt)	Primer sequences
Forward	20	537	ATGACTTTGACCCTGCTTCC
Reverse	20		CGTGTCTTCATGGAAC TGCT
Forward	20	741	TGGAGTCTCTTG GTGATGGA
Reverse	19		CCTCAGAAAGAACCGCTGA
Forward	20	718	AATCTGGGTGGGAGAGGATA
Reverse	20		TTCCCCTAACAAATCCAGTG
Forward	20	700	TCGATGAGCTTCAATCATCC
Reverse	20		AGGCCATGCTAGTGCAAGTA
Forward	19	640	GGCAATTGTCAGGTTGGAG
Reverse	20		AGTTTGCGCTTCACACAGAG
Forward	20	736	CACAGGTTCTGCGTTACGAC
Reverse	20		AAAGCACCAGTTCGGGTTAC
Forward	20	605	GAACACATGCCCATCATCAC
Reverse	20		AGGGCTCAACTAATCGCTCA

[0036]

표 2

서열번호 1의 PCR 혼합물 조성

Reagent		Volume (ul)
10x Polymerase buffer		5.0
dNTP (2mM each)		5.0
DNA polymerase		0.5
Distilled Water		33.5
Primer (10uM)	Forward	2.0
	Reverse	2.0
Genomic DNA		2.0
Total volume		50.0

[0037]

표 3

서열번호 1의 PCR 반응 조건

PCR steps		Temperature (°C)		Time (minute)
Initial denaturation		94.0		10
Denaturation	30 cycle	94.0		1
Annealing		fragment 1	58 °C	1
		fragment 2	58 °C	
		fragment 3	60 °C	
		fragment 4	60 °C	
		fragment 5	60 °C	
		fragment 6	60 °C	
		fragment 7	60 °C	
Extension		74.0		1
Final extension		74.0		10
Hold		4.0		∞

[0038]

[0039]

실시예 2. 돼지의 genomic DNA 추출

[0040]

상기 유전자 다형성 분석을 위한 genomic DNA의 분리는 Sambrook 등 (1989)의 방법에 준하여 실시하였다. 돼지의 경정맥에서 10 ml의 혈액을 채취한 후, 응고를 방지하기 위해서 ACD 용액 (citric acid 0.48 g, sodium citrate 1.32 g, glucose 1.47 g to H₂O 100 ml) 2 ml를 첨가하여 4℃ 유지하여 실험실까지 운반하였다. 50 ml 원심분리용 튜브에 옮긴 후 1,300 g에서 15분간 원심분리하여 buffy coat을 모아 15 ml의 DNA extraction buffer (10 mM Tris-Cl, pH 8.0; 0.1 M EDTA, pH 8.0; 0.5% SDS; 20% µg/ml)를 넣고 잘 섞은 후 37℃ 항온수조에서 1시간 동안 배양하였다. 배양 후 Proteinase K (200 µg/ml, BRL)를 혼합하여 37℃ 항온수조에서 12시간 동안 반응시켰다. 여기에 동량의 0.5M Tris-Cl (pH 8.0)으로 준비된 페놀(Phenol)에 넣고 30분 동안 섞어 추출한 후 실온에서 15분간 5,000 g로 원심분리하여 층이 생기도록 하였다. 이 과정을 3번 반복한 후, 직경이 0.3 cm 되는 피펫(pipet)으로 상정액을 취하여 50 ml Tris-Cl (pH 8.0), 10 mM EDTA (pH 8.0) 4L에서 18시간 동안 4℃에서 투석하여 chromosomal DNA를 분리하였다. 분리된 DNA 순도는 spectrophotometer (Beckman, USA)를 이용하여 흡광도 A260과 A280의 비율로 측정하였으며, 0.8% 아가로스 겔 전기영동을 시행하여 DNA의 분자량을 확인하였다.

[0041]

실시예 3. PCR 및 직접염기서열분석을 통한 유전자형 분석

[0042]

전구체 돼지 PPARGC1A 유전자의 3' UTR 영역에서 확인한 SNP의 유전자형 분석을 위하여, RFLP 방법을 이용하고자 하였으나, 본 발명의 SNP를 인식할 수 있는 제한효소가 없었기 때문에, 본 발명에서는 새로이 발견한 SNP를 포함하는 영역에 대한 PCR 및 직접염기서열분석(direct sequencing)을 통해 개체별 유전자형분석을 실시하였다. PCR 반응과 직접염기서열분석을 위해, Forward primer (5'-CAC AGG TTC TGC GTT ACG AC-3', 20mer; 서열번호 2)와 Reverse primer (5'-AAA GCA CCA GTT CGG GTT AC-3', 20mer; 서열번호 3)로 구성된 프라이머 쌍을 제작하였다 (표 4). 유전자형을 분석하기 위한 PCR을 실시하는데 있어 프라이머는 각 2.0 µl (10 µM) 씩 첨가하고, 그 외 반응 첨가물은 10X PCR reaction buffer (100 mM Tris-Cl; pH 8.3, 500 mM KCl, 15 mM Mg₂Cl) 5.0 µl, dNTP (2 mM each) 5.0 µl, Taq DNA polymerase (5 unit/µl, Enzymonics) 0.5 µl, Template (genomic) DNA 2.0 µl (약 100 ng)와 ddH₂O 33.5 µl를 섞어 최종적으로 50.0 µl를 반응시켰다. 반응조건은 94℃에서 10분간 initial denaturation을 실시한 후, 94℃에서 1분간 denaturation, 60.0℃에서 1분간 annealing, 74℃에서 1분간 extension을 한 cycle로 30 cycle을 반복한 후, 72℃에서 final extension을 실시한 후 PCR 반응을 종료하였다 (표 5 및 표 6 참조).

표 4

PCR 실시 후 직접염기서열분석을 위한 프라이머

Primer	Length (nt)	Product size (nt)	Primer sequences
서열번호 2	20	736	CACAGGTTCTGCGTTACGAC
서열번호 3	20		AAAGCACCAGTTCGGGTTAC

[0043]

표 5

PCR 혼합물 조성

Reagent		Volume (ul)
10x Polymerase buffer		5.0
dNTP (2mM each)		5.0
DNA polymerase		0.5
Distilled Water		33.5
Primer (10uM)	Forward	2.0
	Reverse	2.0
Genomic DNA		2.0
Total volume		50.0

[0044]

표 6

PCR 반응 조건

PCR steps		Temperature (℃)	Time (minute)
Initial denaturation		94.0	10
Denaturation	30 cycle	94.0	1
Annealing		60.0	1
Extension		74.0	1
Final extension		74.0	10
Hold		4.0	∞

[0045]

[0046] 이와 같이 확보된 PCR product (736 bp; 서열번호 4)를 직접염기서열분석을 통하여 서열번호 1로 표기된 PPARGC1A 유전자의 3' UTR에서 2956 bp 위치의 염기 구성을 알 수 있었다 (도 1 참조).

[0047] 도 3은 돼지 PPARGC1A의 3' UTR 영역에서 2956 bp 위치의 염기 구성을 나타낸다. CC 유전자형 (C homozygote)과 TT 유전자형 (T homozygote)의 경우 염기의 peak가 하나로 나타나고 있지만, CT 유전자형 (T/C heterozygote)의 경우 peak가 2개로 나타남을 확인할 수 있었다.

[0048] 본 발명에서 Berkshire, Landrace, Yorkshire의 세품종으로 구성된 공시돈에 대해 SNP의 유전자형이 441두가 분석되었으며, 유전자형 및 유전자 빈도는 하기 표 7과 같다. SNP 위치에서 TT, TC 유전자형을 가진 개체가 높게 나타났으며, 유전자 빈도에서도 T allele이 높게 분포하고 있었다.

표 7

본 발명의 SNP에 따른 유전자형 및 유전자빈도

Breed	n	Genotype			Gene	
		CC	TC	TT	C	T
Berkshire	156	0.10 (15) ¹	0.34 (54)	0.56 (87)	0.27	0.73
Landrace	121	0.12 (14)	0.47 (57)	0.41 (50)	0.35	0.65
Yorkshire	164	0.16 (27)	0.51 (83)	0.33 (54)	0.42	0.48
Total	441	0.13 (56)	0.44 (194)	0.43 (191)	0.35	0.65

¹number of pigs

실시예 4. 표지유전자형 별 근섬유조성 및 육질차이 확인

1) 근섬유특성 분석

근섬유특성 분석을 위하여, 사후 45분이 지난 8번 흉추의 등심근의 근육샘플을 수집하였고, 0.5-×0.5-×1.0-cm의 조각으로 자르고, 액체질소로 재빠르게 얼리고, 분석 전까지는 -80℃에서 보관되었다. 횡단부분(10 μm thick)은 20℃ 상에서 크라이오스테트(cryostat; CM1850, Leica, Germany) 기계로 준비되었고, 근섬유형 식별 분석을 위해 타입 I, IIa와 IIb 섬유를 프리인큐베이션(acid preincubation, pH 4.35)을 처리한 액토미오신(actomyosin) ATPase 방법으로 염색하여 분류하였다. 모든 샘플은 CCD 카메라(charge-coupled device color camera; IK-642K, Toshiba, Japan)와 이미지 분석 시스템(the image analysis system; Image-Pro Plus, Media Cybernetics, USA) 장치를 이용하여 근섬유 특성이 분석되었다.

2) 육질 분석

근육의 pH는 사후 45분에 스피어-형 전극(spear-type electrode)의 사용으로 등뼈 13번/14번 부분에서 측정되었다. 육색(Lightness)은 색도계(chromameter; CR-300, Minolta Camera Co., Japan)를 사용하여 등심근의 사후 45분경에 측정하였다. 유리육즙량(drip loss)은 2℃에서 48시간 동안 플라스틱 백에서 표면에 있는 근육 샘플의 양의 차이를 측정하는 방법으로 분석되었다 (Honikel, K. O. (1987). Martinus Nijhoff, In P. V. Tarrant, G. Eikelenboom, & G. Monin (Eds.): 129142). 결과는 하기 표 8에 나타내었다.

3) 유전자형과 형질과의 연관성 분석

도 3에서 보는 바와 같이, CC, CT, TT의 세 가지 유전자형을 확인할 수 있으며, SNP에 따른 유전자형과 근섬유특성 및 육질형질과의 연관성 분석을 실시하였다. 통계분석 프로그램으로는 SAS 9.13 package에서 제공되는 SAS/GLM procedure를 이용하였다. 이 모델에서 품종, 성별, 도축차수는 고정효과로 분석되었다. 분석결과는 최소제곱평균(Least Squares Means)과 표준오차로 나타냈으며 이를 통해 유의차를 평가하고 연관성을 분석하였다. 하기 표 8은 돼지 PPARGC1A 유전자의 3' UTR 영역에서의 SNP와 근섬유 특성 및 육질 특성 간의 연관성을 분석한 결과이다.

표 8

SNP의 유전자형과 대상형질과의 연관성 분석

Traits	Genotype			Significance
	CC (n=56)	CT (n=194)	TT (n=191)	
Muscle fiber characteristics				
Total fiber number ($\times 10^3$)	1,181 (39.3)	1,157 (20.4)	1,120 (20.5)	NS
Mean CSA ² of fibers (μm^2)	4,269 (112.2)	4,239 (60.8)	4,320 (61.4)	NS
The density of total fibers (/mm ²)	239.1 (6.03)	242.6 (3.27)	238.4 (3.30)	NS
Fiber number composition (%)				
Type I	8.71 (0.66)	9.18 (0.35)	9.54 (0.36)	NS
Type IIa	11.26 (0.69)	11.64 (0.37)	11.37 (0.37)	NS
Type IIb	80.04 (0.90)	79.21 (0.49)	79.09 (0.49)	NS
Fiber area composition (%)				
Type I	6.39 (0.46)	6.81 (0.25)	7.10 (0.25)	NS
Type IIa	7.05 (0.47)	7.37 (0.25)	7.23 (0.26)	NS
Type IIb	86.55 (0.63)	85.82 (0.64)	85.66 (0.35)	NS
Meat quality				
pH _{45min}	5.99 ^b (0.04)	6.12 ^a (0.02)	6.14 ^a (0.02)	**
Drip loss (%)	5.25 ^a (0.31)	4.56 ^b (0.17)	3.96 ^c (0.17)	***
Lightness (<i>L</i> [*])	47.86 ^a (0.39)	47.05 ^{ab} (0.22)	46.84 ^b (0.22)	†

¹ Standard error of least square means.

² Cross sectional area.

Levels of significance: NS, not significant; † $P < 0.10$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

^{a,b} Least square means with different superscripts in the same row differ.

[0057]

[0058]

기존 연구에 따르면 근섬유특성 중 육질에 주요하게 영향을 미치는 것은 근섬유 수 및 면적의 조성으로 보고 되었으며 (Klont, R. E. et al. 1998. Meat Science 49: S219-S229), 특히 느린 산화작용의 성질을 띠는 근섬유 타입 I이 높은 경우 육질에 긍정적으로 영향을 미치는 것으로 알려져 있다.

[0059]

상기 표 8의 결과에서, SNP에 따른 근섬유특성 중 총근섬유수(Total fiber number), 근섬유단면적(Mean CSA of fibers) 및 근섬유밀도(The density of total fibers)에서는 유전자형 간에 유의적인 차이가 관찰되지 않았다. 특히, 근섬유조성(Fibers composition)에서도 유전자형 간에 유의적인 차이가 관찰되지 않았다. 그러나 육질형질에서는 CT 및 TT 유전자형이 CC 유전자형에 비해 도축 후 45분 후 근육 pH (pH_{45min})가 높게 나타나고 ($P < 0.01$) 유리육즙(Drip loss)이 낮게 나타났으며($P < 0.001$), 이를 통해 CT, TT 유전자형이 CC 유전자형에 비해 육질이 우수한 것으로 판단할 수 있다. 또한, TT 유전자형은 명도(lightness, L^*)가 CC 유전자형에 비해 낮게 나타나($P < 0.10$) 육질이 우수하다는 것을 확인할 수 있으며, 특히 함께 육질이 좋게 나타난 CT 유전자형과 비교하여 더 낮은 유리육즙(drip loss)을 나타내므로 ($P < 0.001$) 육질이 우수하다고 할 수 있다.

[0060]

이와 같이, 본 발명의 SNP의 경우 근섬유타입별 단면적조성에서 유의적인 차이가 없었음에도 불구하고 육질형질에서 차이를 보이는 것은 근섬유타입 I 면적 조성에 따른 육질 향상이 아닌 지방대사 및 에너지 대사에 관여하는 PPARGC1A 유전자의 기능에 따른 다른 메커니즘에 의해 육질이 향상된 것으로 판단할 수 있다.

[0061]

이상의 결과를 종합하면, 돼지 PPARGC1A의 3' UTR 에서 SNP (서열번호 1에서 2956번째 T 염기가 C 염기로 치환)는 근섬유 조성에 차이를 주지 않으면서 최종적으로 돈육의 pH, 유리육즙 및 명도와 같은 육질 향상에 영향을 주는 SNP로 확인되었다.

도면

도면1a

```

1  ATGACTTTGA TCCTGCTTCC ACCAAGAGCA AGTATGACTC TCTGGATTTC GATAGTTTAC
61  TGAAGAAGC TCAGAGAAGC TTGCGCAGGT AACATGTTCC CTGGCTGAGG ATGACAGAGG
121 GACGGTGAAT ACCTCACGGG ACAGCGCGTC CTTCCCTAAC AGACTCTTGC AAGTCATACT
181 TAGGAATTTT TCCTACTTTA CACTCTCTGT AAAAAACAA AACACAACAA CAACAATACA
241 ACAAGAACAA CAATAATGGT TTACATGAAC ACAGCTGCTG AAGAGGCAAG AGACAGGATG
301 GATATCCAGT AAGCACATGT TTATTCATGG GTGTCAGCTT TGCTTTCCCT GAGTCTCTTG
361 GTGATGGAGT GTGTGTGTGT GTGTGTGTGT GTGTGTGTGT GTGTGTGTGA GTGCGCGTGT
421 GTGCTTGTTT TAGGGGAAGT ATGTGTGGGT ACATGTGAGG ACTGGGGGCA CCTGACCAGA
481 ATGCGCAAGG GCAAACCAT TCAAATGGCA GCAGTTCCAT GAAGACACGC TAAAAACCTA
541 GAACTTCAAA ATGTTCTGAT TCTATTCAAA AGGAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA
601 AGCATAAATT CAAAAGGAAA GAAACTAAC CAACCAACCA ACCACAAGCC ACCCTAAAAT
661 GACAGCCACT GATGTCTGGG CATCGGCCTC TGTAATCTGT TTTTAAAGA AAGTGCAAAA
721 TCAACTTGAA GCAAGCTTTC TCTCATAATG TAATGATTAT GTGACAATCC CGAAGAAACC
781 ACAGGTTCCG TAGAACTCAT ATCCTTTCTC TCTCTTTTTT TTCTTCTTTT TTCCCCCCT
841 TTTCTTTTGG CCATGGAATC TGGGTGGGAG AGGATACTGC CGGCACCGGA ATGCTAAACT
901 TTCCTAACAT TTTGAAGTTT CTGTAGTTCG TCCTTTCTCC TGACACCCAT GTAAATGTCC
961 AAAATGTTGA TCTTCCACTG CAAATTCAAA AGCCTGTCAA TGGTCAAGCG TGCAGCTTGT
1021 TCAGCGGTTT TTTCTGAGGA GCGAGCGCGG TGTACATGA TAATGAGAGT TGGGTAGAAC
1081 TCTCTGGGAT GTGTCAGCT AGTGAATTG CTACATTCTC CGATGTAGTT AAGTATTTAC
1141 AGATGTTAAA TGGAGTATTT TTATTTTGTG TACATACGAT ACAATGATGT TCTTTTTTGG
1201 TTACAGCTAT GCACTGTAAA TGCAGCCTTC TTTTCAAAAC TGCTAAATTT TTCTTAATCA
1261 AGAATATTCA AATGTAATTA TGAGGTGAAA CAACTATTGT AACTAACAT ATTTAGAAGC
1321 TGAAGTTACC GCTTATATAT ATATTTGATT GTAAAAAAA AAAACAAAAA CAAAGGACAG
1381 TGTGTGTGTC CGTTGAGTGC AACACAACCA ATCGATGAGC TTCAATCATC CCTTCTTAGA
1441 TGAGCTTCAA TCTAAGCATC TTGTCAAGAA ATATCCTAGC CCCTAAAGGT ATTAACCACT
1501 TCTGCGATAT TTTTCCACAT TTTCTTGTG CTGTTTTTTC TTTGAAGTTT TATACACTGG
1561 ATTTGTTAGG GGAATGAAAT TTTCTCATCT AAAATTTTTC TAGAAGATAT CATGATTTTA
1621 TGTAAGTCT CTCAATGGGT AACCATTAAG AAATGTTTTT ATTTTCTCTA TCAACAGTAG
1681 TTTTGAAACT AGAGGTCAAA AATCTTTTAA AAATGCTGTT TTTGTTTTAA TTTTGTGAT
1741 TTTAATTTGA TACAAAATGC TGAGGTAATA ATTACAGTAT GATTTTACA ATAATTAATG
1801 TGTGTCTGAA GACTATCTTT GAAGCCAGTA TCTCCTTCCC TTGGCAGAGG ATGTGATGGT
1861 ATTTATCTGT ATTTTTTACA GTTATGCATC CTGTATAAAT ACTGATATTT CATTCCTTTG

```

도면1b

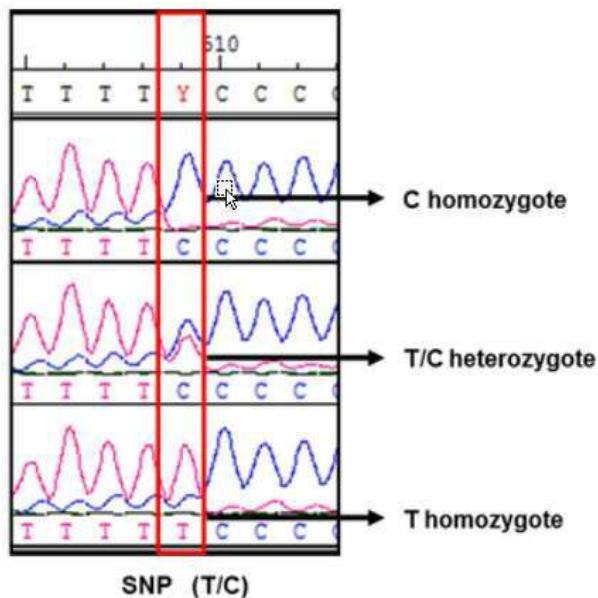
1921 TTTACTAAAG AGACATATTT ATCAGTTGCA GATAGCCTAT TTATTATAAA TTATGAGATG
 1981 ATGAAAATAA TAAAGCCAGT GGAAATTTTC TACCTAGGAT GCATGGCAAT TGTGAGGTTG
 2041 GAGTTTAAGT GTTTCATTTG GGAAATTCAG CTTTTGCAGA AGCAGTGTTT CTACTTGCAC
 2101 TAGCATGGCC TCTGACGTGA CCATGATGTC GTTCTTGATG ACATTGCTTC TGCTAAACTC
 2161 AATAAAAACT TCCGAAAACC CTCCACTTTT GAGCATCAGG ATTTCTCTG AGTGTGGAAC
 2221 CCCTGGAATG CAAGTCAGTA AAGTTTGGAG TGTGTATTCA AGTTTATGAA ATGAGATTG
 2281 ATTACAGTTT GGCCGACATG ACTTTTCTGG AAGACACAGC GTACCTACCC CTTAATCGTT
 2341 CTTTTCTTT CTCTCGCCCA ACATGGTCTT CTAAATGGA TTCACCTCCC TCCCCCCCCA
 2401 GCCAATGCAG CTCATTTTGA TAGCTGCATT CATTTTATCA CCAGCATATT GTGTTCTGAG
 2461 TGAATCACTG TCTGTCCTGT CAGATGCTTG CTTGATTTTT TGGCTTCTTA TTTCTAAGTA
 2521 GATAGAAAGC AATAAAAAATA CTATGAAATA AAAGAACTTG TTCACAGGTT CTGCGTTACG
 2581 ACAGTAACAC ATCTTTAATC CGCCTAATTC TTGTTGTTCT GTAGGTAAA TGCAGGTATT
 2641 TTAAGTCTGT GTGAACGCCA AACTAAAGTT TACAGTCTTT CTTTTTGAAT TTTGAGTATC
 2701 TTCTGTTGTA GAATAAGAAT AATAAAAAAA GACTATTAAG AGCAATAAAT TATTTTAAAG
 2761 AAATCGATAC TTAGTACATC ATATTATGTG TTCAAGGACC AGATGCGTTC TCTATTTTGC
 2821 CTTTAAAGTT TTGTGATCCA ATTTTAAATA ACATTCTCCT TTTGGCCCTG GATCGTGGAC
 2881 ATGAGTAAAA TACTTGGGTT ATTTTCTTAC TTATCAAAAG ATAACACTGC AGATTTCATG
 2941 TTGAGGATTA ATTTT[T/C]CCCC CCTTCTGGCC TGACAAATAT TGTTACCATG AAGATAGTTT
 3001 TACTCCATGG ACTTCAAATT GCATCTAAAA TTAGTGCAAC GAGAGAATCA CTAGACCATC
 3061 CAAATAGAGC CTTTGATATCT TATGCAGACA CTGTGGGTAG CCCATCAAAA TGTAACTGT
 3121 GTTCTTTTTA TTTTATTTTT TAATTTTTTG AGAGAATATT TGAAATGAAC ACATGCCCAT
 3181 CATCACTGGA AGCAGATTTT AGCATAGATC TGTAGGATTT TTAGATGACC CCGGGCCATT
 3241 GCCTTCATGC TGTGGTAAGT ACCACATCTA CAATTTTGGT AACC CGAACT GGTGCTTTAG
 3301 AAATGTGGGT TTTTGTGTTT TTTTGTGTTA GAGATGTAGC AGAATAATCC TTCCAGTGCA
 3361 AAAAAATCAA TTTTGTGCTA AACGACTCCG AGAGCAACGG TTGGGCTGTC AACATTCAA
 3421 GCAGCAGAGA GGGAACTTTG CACTATTGGG GTATGATGGT TGGGTCAGTT GAAAAAAG
 3481 GAAACCTTTT CATGCCTTTA GATGTGAGCT TACAGTAGGT AATGATTATG TGTCCTTTTT
 3541 TGATGGCTGT AATGAGAACT TCAATCACTG TAGTCTAAGA CCTGATCTAT AGATGACCTA
 3601 GAATAGCCAT GTAATATAAT GTGATGATTC TAAATTTGTA CCTATGTGAC AGACATTTTC
 3661 AATAATGTGA ACTGCTGATT TGATGGAGCT ACTTTAAGAT TTGTAGGTGA AAGTGAATA
 3721 CTATTGGTTG AACTATGCTG AAGAGGGAAA GTGAGCGATT AGTTGAGCCC T

도면2

```

1  CACAGGTTCT GCGTTACGAC AGTAACACAT CTTAATCCG CCTAATTCTT GTTGTTCTGT
61  AGGTTAAATG CAGGTATTTT AACTCTGTGT GAACGCCAAA CTAAAGTTTA CAGTCTTTCT
121 TTTTGAATTT TGAGTATCTT CTGTTGTAGA ATAAGAATAA TAAAAAAGA CTATTAAGAG
181 CAATAAATTA TTTTAAAGAA ATCGATACTT AGTACATCAT ATTATGTGTT CAAGGACCAG
241 ATGCGTTCTC TATTTTGCCT TTAAAGTTT GTGATCCAAT TTAAATAAC ATTCTCCTTT
301 TGGCCCTGGA TCGTGGACAT GAGTAAAATA CTTGGGTTAT TTTCTTACTT ATCAAAAGAT
361 AACACTGCAG ATTTTCATGTT GAGGATTAAT TTT[T/C]CCCCC TTCTGGCCTG ACAAATATTG
421 TTACCATGAA GATAGTTTTA CTCCATGGAC TTCAAATTGC ATCTAAAATT AGTGCAACGA
481 GAGAATCACT AGACCATCCA AATAGAGCCT TTGTATCTTA TGCAGACACT GTGGGTAGCC
541 CATCAAAATG TAAACTGTGT TCTTTTATT TTTATTTTTA ATTTTTTGAG AGAATATTG
601 AAATGAACAC ATGCCCATCA TCACTGGAAG CAGATTTTCA CATAGATCTG TAGGATTTTT
661 AGATGACCCC GGGCCATTGC CTTCATGCTG TGGTAAGTAC CACATCTACA ATTTTGGTAA
721 CCCGAAGTGG TGCTTT
    
```

도면3



서열 목록

- <110> Korea University Industrial and Academic Collaboration Foundation
- <120> DNA markers for detecting increase of porcine meat quality
containing SNP in 3' UTR of PPARGC1A gene
- <160> 4
- <170> Kopatent In 1.71
- <210> 1
- <211> 3771
- <212> DNA

<213> Sus scrofa

<400> 1

atgactttga tcttcttcc accaagagca agtatgactc tctggatttc gatagtttac	60
tgaagaagc tcagagaagc ttgcgcaggt aacatgttcc ctggctgagg atgacagagg	120
gacggtgaat acctcacggg acagcgctc ctccctaac agactcttgc aagtcatact	180
taggaatttc tctacttta cactctctgt acaaaaacaa aacacaacaa caacaatata	240
acaagaacaa caataatggt ttacatgaac acagctgctg aagaggcaag agacaggatg	300
gatatccagt aagcacatgt ttattcatgg gtgtcagctt tgctttccct gagtctcttg	360
gtgatggagt gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtga gtgcgcgtgt	420
gtgcttgggt taggggaagt atgtgtgggt acatgtgagg actgggggca cctgaccaga	480
atgcgcaagg gcaaacatt tcaaatggca gcagttccat gaagacacgc ttaaaccta	540
gaacttcaaa atgttcgtat tctattcaaa aggaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	600
agcataaatt caaaaggaaa gaaaactaac caaccaacca accacaagcc accctaaaat	660
gacagccact gatgtctggg catcgccctc tgtactctgt tttttaaga aagtgcaaaa	720
tcaacttgaa gcaagcttcc tctcataatg taatgattat gtgacaatcc cgaagaaacc	780
acaggttccg tagaactcat atcctttctc tctctttttt ttcttctttt tccccccct	840
tttcttttg ccatggaatc tgggtgggag aggatactgc cggcacggga atgctaaact	900
ttcctaacat ttigaagttt ctgtagtctg tcttttctcc tgacacccat gtaaatgtcc	960
aaaatgttga tcttccactg caaatcaaa agcctgtcaa tggtaagcg tgcagcttgt	1020
tcagcggttc ttcttgagga gcgagcgcggtgtttacatga taatgagagt tgggtagaac	1080
tctctgggat gtgttcagct agtgaattg ctacattctc cgatgtagtt aagtatttac	1140
agatgttaaa tggagtattt ttattttgtg tacatacgat acaatgatgt tctttttttg	1200
ttacagctat gcaactgaaa tgcagccttc tttcaaaac tgctaaattt ttcttaatca	1260
agaatattca aatgtaatta tgaggtgaaa caactatgtt acactaacat atttagaagc	1320
tgaacttacc gcttatatat atatttgatt gtaaaaaaaaa aaaacaaaaa caaaggacag	1380
tgtgtgtgtc cgttgagtg aacacaacca atcgatgagc ttcaatcatc cttctttaga	1440
tgagcttcaa tctaagcatc ttgtcaagaa atatcctagc ccctaaaggt attaaccact	1500
tctgcgatat tttccacat tttctgttg ctgtttttc tttgaagttt tataactgg	1560
atttgtagg ggaatgaaat tttctcatct aaaattttc tagaagatat catgatttta	1620
tgtaaagtct ctcaatgggt aaccattaag aaatgttttt attttctcta tcaacagtag	1680
ttttgaaact agaggtcaaa aatcttttta aaatgtgttt tttgttttaa tttttgtgat	1740

tttaatttga tacaaaatgc tgaggttaata attacagtat gatttttaca ataattaatg	1800
tgtgtctgaa gactatcttt gaagccagta tctccttccc ttggcagagg atgtgatggt	1860
atttatctgt attttttaca gttatgcac cgtataaat actgatattt cattcctttg	1920
tttactaaag agacataatt atcagttgca gatagcctat ttattataaa ttatgagatg	1980
atgaaaaataa taaagccagt ggaaattttc tacctaggat gcatggcaat tgtcaggttg	2040
gagtttaagt gtttcatttg ggaaattcag cttttgcaga agcagtgttt ctacttgac	2100
tagcatggcc tctgacgtga ccatgatgtc gttcttgatg acattgcttc tgctaaactc	2160
aataaaaaact tccgaaaacc ctccactttt gagcatcagg atttcctctg agtgtggaac	2220
ccctggaatg caagtcagta aagtttggag tgtgtattca agtttatgaa atgagattcg	2280
attacagttt ggccgacatg acttttctgg aagacacagc gtacctacce cttaatcggt	2340
cttttcttt ctctgcecca acatggtctt ctaaaatgga ttcacctccc tccccccca	2400
gccaatgcag ctcatcttga tagctgcatt catcttatca ccagcatatt gtgttctgag	2460
tgaatcactg tctgtcctgt cagatgcttg cttgattttt tggttcttta tttctaagta	2520
gatagaaagc aataaaaaata ctatgaaata aaagaacttg ttcacaggtt ctgcgttacg	2580
acagtaacac atctttaate cgcttaattc ttgttgttct gtaggttaaa tgcaggtatt	2640
ttaactctgt gtgaacgcca aactaaagt ttacagtcttt ctttttgaat tttagatc	2700
ttctgttgta gaataagaat aataaaaaaa gactattaag agcaataaat tatttttaag	2760
aatcgatac ttagtacac atattatgtg ttcaaggacc agatgcgttc tctattttgc	2820
ctttaagtt ttgtgatcca attttaata acattctcct tttggccctg gatcgtggac	2880
atgagtaaaa tacttgggtt attttcttac ttatcaaaag ataacactgc agatttcatg	2940
ttgaggatta atttttcccc cttcttgccc tgacaaatat tgttaccatg aagatagttt	3000
tactccatgg acttcaaatt gcatctaaaa ttagtgcaac gagagaatca ctagaccatc	3060
caaatagagc ctttgtatct tatgcagaca ctgtgggtag cccatcaaaa tgtaaaactgt	3120
gttcttttta tttttatttt taattttttg agagaatatt tgaaatgaac acatgccccat	3180
catcactgga agcagatttc agcatagatc ttaggatttt ttagatgacc ccgggcccatt	3240
gccttcatgc tgtggtaagt accacatcta caatttttgt aaccggaact ggtgctttag	3300
aaatgtgggt tttttgtttt ttttttttaa gagatgtagc agaataatcc ttccagtgc	3360
acaaaatcaa ttttttgcta aacgactccg agagcaacgg ttgggctgtc aacattcaaa	3420
gcagcagaga gggaactttg cactattggg gtatgatggt tgggtcagtt gaaaaaaaag	3480
gaaacctttt catgccttta gatgtgagct tacagtaggt aatgattatg tgtccttttt	3540

tgatggctgt aatgagaact tcaatcactg tagtctaaga cctgatctat agatgaccta 3600
gaatagccat gtaataataat gtgatgattc taaatttgta cctatgtgac agacattttc 3660
aataatgtga actgctgatt tgatggagct actttaagat ttgtaggatga aagtgttaata 3720
ctattggttg aactatgctg aagagggaaa gtgagcgatt agttgagccc t 3771

<210> 2
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> primer for PCR
<400> 2
cacaggttct gcgttacgac 20
<
210> 3
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> primer for PCR
<400> 3
aaagcaccag ttcgggttac 20
<210> 4
<211> 736
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> DNA marker
<400> 4
cacaggttct gcgttacgac agtaacacat ctttaatccg cctaattctt gttgttctgt 60
aggttaaagt caggtatttt aactctgtgt gaacgccaaa ctaaagtta cagtctttct 120
ttttgaattt tgagtatctt ctgtttaga ataagaataa taaaaaaga ctattaagag 180

caataaatta tttttaagaa atcgatactt agtacatcat attatgtgtt caaggaccag 240
atgcgttctc tattttgctt ttaaagtttt gtgatccaat ttttaataac attctccttt 300
tggccctgga tcgtggacat gagtaaaata cttgggttat tttcttactt atcaaaagat 360
aacactgcag atttcatgtt gaggattaat tttccccccc ttctggcctg acaaattattg 420
ttaccatgaa gatagtttta ctccatggac ttcaaattgc atctaaaatt agtgcaacga 480
gagaatcact agaccatcca aatagagcct ttgtatctta tgcagacact gtgggtagcc 540
catcaaatg taaactgtgt tctttttatt tttattttta attttttgag agaattttg 600

aaatgaacac atgcccata tcactggaag cagatttcag catagatctg taggattttt	660
agatgacccc gggccattgc cttcatgctg tggttaagtac cacatctaca attttggtta	720
cccgaactgg tgcttt	736