



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2023년03월21일
(11) 등록번호 10-2511997
(24) 등록일자 2023년03월15일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12Q 1/6888 (2018.01) C12Q 1/686 (2018.01)
- (52) CPC특허분류
C12Q 1/6888 (2018.05)
C12Q 1/686 (2018.05)
- (21) 출원번호 10-2022-0092781
- (22) 출원일자 2022년07월26일
심사청구일자 2022년07월26일
- (56) 선행기술조사문헌
KR1020090066972 A
- 한국식품위생안전성학회지 = Journal of food hygiene and safety v.29 no.4 ,pp. 347 - 355 , 2014 , 1229-1153 , 한국식품위생안전성학회 [국가R&D연구보고서] 중 특이 프라이머를 이용한 가짜식품 판별법 연구(Ⅱ) (A Study on Authentication of Food using Gene Analysis Method(Ⅱ)) 주관연구기관 : 식품위해평가부 신종 유해물질팀(2013-12) | 발행년도 : 2013
- [환경부 보고서] 동물자원의 유전자다양성 연구 4단계 1차년도 (2018) 주관연구기관: 국립생물자원관 (발간등록번호: 11-1480592-001433-01)

- (73) 특허권자
국립생태원
충청남도 서천군 마서면 금강로 1210 ()
대한민국(환경부 국립생물자원관장)
인천 서구 환경로 42, 종합환경연구단지 국립생물자원관 (경서동)
- (72) 발명자
김진용
경상북도 영양군 영양읍 석영로 1346-3
- 김정아
인천광역시 서구 검암로10번길 39, 405동 704호(검암동, 풀림아이원3차아파트)
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
유미특허법인

전체 청구항 수 : 총 10 항

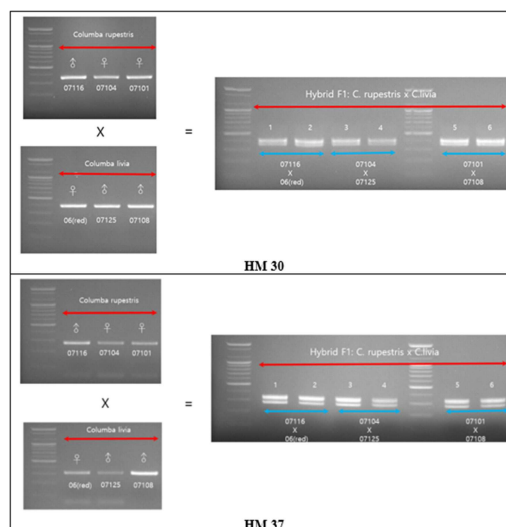
심사관 : 이효진

(54) 발명의 명칭 비둘기 중 판별용 조성물과 이를 이용한 잡종 판별방법

(57) 요약

본 명세서에서는 InDel 원리를 이용하여 선별한 바이오 마커를 검출하는 체제를 포함하고, 양비둘기와 집비둘기의 잡종, 양비둘기 및 집비둘기로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 비둘기를 구별하는, 비둘기 중 판별용 조성물, 이를 포함하는 키트 및 이를 이용한 비둘기 중 판별방법에 관한 것이다.

대표도 - 도4a



(52) CPC특허분류

C12Q 2600/124 (2013.01)

C12Q 2600/156 (2013.01)

(72) 발명자

박진영

서울특별시 영등포구 당산로42길 16, 510동 1104호(당산동4가, 당산현대5차아파트)

안정화

경기도 김포시 김포한강8로 173-27, 805동 1902호(마산동, 은여울마을 상록데시아)

윤종민

대전광역시 유성구 와룡로136번길 15, 101동 1501호(봉산동, 하늘바람휴먼시아)

황정은

경상북도 영양군 영양읍 고월길 23

문정찬

경상북도 상주시 경상대로 2910, 103동 1302호(낙양동, 상주낙양 지엘리베라움)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1485015609

과제번호 NIBR201803101

부처명 환경부

과제관리(전문)기관명 국립생물자원관

연구사업명 생물자원발굴및분류연구(R&D)

연구과제명 동물자원의 유전자다양성 연구 4단계 1차년도

기 여 율 1/1

과제수행기관명 국립생물자원관

연구기간 2018.01.01 ~ 2018.12.31

공지예외적용 : 있음

명세서

청구범위

청구항 1

서열번호 59 및 60으로 이루어진 프라이머 쌍 (1), 서열번호 73 및 74로 이루어진 프라이머 쌍 (2), 서열번호 81 및 82로 이루어진 프라이머 쌍 (3), 서열번호 83 및 84로 이루어진 프라이머 쌍 (4), 서열번호 85 및 86으로 이루어진 프라이머 쌍 (5), 서열번호 89 및 90으로 이루어진 프라이머 쌍 (6), 서열번호 109 및 110으로 이루어진 프라이머 쌍 (7), 서열번호 111 및 112로 이루어진 프라이머 쌍 (8), 서열번호 117 및 118로 이루어진 프라이머 쌍 (9), 서열번호 101 및 102로 이루어진 프라이머 쌍 (10), 서열번호 119 및 120으로 이루어진 프라이머 쌍 (11), 및 서열번호 135 및 136으로 이루어진 프라이머 쌍 (12)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함하는,

양비둘기와 집비둘기의 잡종, 양비둘기 및 집비둘기로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 비둘기를 구별하는, 비둘기 중 판별용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 서열번호 59 및 60으로 이루어진 프라이머 쌍 (1), 서열번호 73 및 74로 이루어진 프라이머 쌍 (2), 서열번호 81 및 82로 이루어진 프라이머 쌍 (3), 서열번호 83 및 84로 이루어진 프라이머 쌍 (4), 서열번호 85 및 86으로 이루어진 프라이머 쌍 (5), 서열번호 89 및 90으로 이루어진 프라이머 쌍 (6), 서열번호 109 및 110으로 이루어진 프라이머 쌍 (7), 서열번호 111 및 112로 이루어진 프라이머 쌍 (8), 서열번호 117 및 118로 이루어진 프라이머 쌍 (9)으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함하는, 비둘기 중 판별용 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 양비둘기와 집비둘기의 잡종은 양비둘기와 집비둘기 사이에서 생산된 잡종 1세대 및 상기 잡종 1세대와 양비둘기, 집비둘기, 또는 다른 양비둘기 및 집비둘기 사이에서 생산된 잡종 1세대 사이에서 생산되는 모든 자손을 포함하는 것인, 비둘기 중 판별용 조성물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항의 조성물을 포함하는, 비둘기 중 판별용 키트.

청구항 5

(a) 비둘기로부터 분리된 생물학적 시료에 제1항 내지 제3항 중 어느 한 항의 비둘기 중 판별용 조성물을 처리하여 검출 대상 유전자 단편을 얻는 단계; 및

(b) 상기 검출 대상 유전자 단편의 다형성을 확인하는 단계를 포함하는, 비둘기 중 판별방법.

청구항 6

제5항에 있어서, 제1항의 비둘기 중 판별용 조성물을 이용하여 PCR을 수행하여 얻어진 단편이 하기 조건 중 1개 이상 만족하면, 집비둘기로 판별하는 단계를 추가로 포함하는, 비둘기 중 판별방법:

- (1) 상기 프라이머 쌍 (1)에 의해 얻어진 단편의 길이가 377 bp 이상 417 bp 미만;
- (2) 상기 프라이머 쌍 (2)에 의해 얻어진 단편의 길이가 293 bp 이상 333 bp 미만;
- (3) 상기 프라이머 쌍 (3)에 의해 얻어진 단편의 길이가 222 bp 이상 260 bp 미만;
- (4) 상기 프라이머 쌍 (4)에 의해 얻어진 단편의 길이가 342 bp 이상 380 bp 미만;
- (5) 상기 프라이머 쌍 (5)에 의해 얻어진 단편의 길이가 364 bp 이상 402 bp 미만;
- (6) 상기 프라이머 쌍 (6)에 의해 얻어진 단편의 길이가 294 bp 이상 332 bp 미만;

- (7) 상기 프라이머 쌍 (7)에 의해 얻어진 단편의 길이가 233 bp 이상 269 bp 미만;
- (8) 상기 프라이머 쌍 (8)에 의해 얻어진 단편의 길이가 203 bp 이상 239 bp 미만;
- (9) 상기 프라이머 쌍 (9)에 의해 얻어진 단편의 길이가 381 bp 이상 415 bp 미만;
- (10) 상기 프라이머 쌍 (10)에 의해 얻어진 단편의 길이가 309 bp 이상 345 bp 미만;
- (11) 상기 프라이머 쌍 (11)에 의해 얻어진 단편의 길이가 221 bp 이상 255 bp 미만; 및
- (12) 상기 프라이머 쌍 (12)에 의해 얻어진 단편의 길이가 321 bp 이상 355 bp 미만.

청구항 7

제5항에 있어서, 제2항의 비둘기 종 판별용 조성물을 이용하여 PCR을 수행하여 얻어진 단편이 하기 조건 중 1개 이상 만족하면, 집비둘기로 판별하는 단계를 추가로 포함하는, 비둘기 종 판별방법:

- (1) 상기 프라이머 쌍 (1)에 의해 얻어진 단편의 길이가 377 bp 이상 417 bp 미만;
- (2) 상기 프라이머 쌍 (2)에 의해 얻어진 단편의 길이가 293 bp 이상 333 bp 미만;
- (3) 상기 프라이머 쌍 (3)에 의해 얻어진 단편의 길이가 222 bp 이상 260 bp 미만;
- (4) 상기 프라이머 쌍 (4)에 의해 얻어진 단편의 길이가 342 bp 이상 380 bp 미만;
- (5) 상기 프라이머 쌍 (5)에 의해 얻어진 단편의 길이가 364 bp 이상 402 bp 미만;
- (6) 상기 프라이머 쌍 (6)에 의해 얻어진 단편의 길이가 294 bp 이상 332 bp 미만;
- (7) 상기 프라이머 쌍 (7)에 의해 얻어진 단편의 길이가 233 bp 이상 269 bp 미만;
- (8) 상기 프라이머 쌍 (8)에 의해 얻어진 단편의 길이가 203 bp 이상 239 bp 미만; 및
- (9) 상기 프라이머 쌍 (9)에 의해 얻어진 단편의 길이가 381 bp 이상 415 bp 미만.

청구항 8

제5항에 있어서, 제1항의 비둘기 종 판별용 조성물을 이용하여 PCR을 수행하여 얻어진 단편이 하기 조건 중 1개 이상 만족하면, 양비둘기로 판별하는 단계를 추가로 포함하는, 비둘기 종 판별방법:

- (1) 상기 프라이머 쌍 (1)에 의해 얻어진 단편의 길이가 336 bp 이상 376 bp 미만;
- (2) 상기 프라이머 쌍 (2)에 의해 얻어진 단편의 길이가 253 bp 이상 293 bp 미만;
- (3) 상기 프라이머 쌍 (3)에 의해 얻어진 단편의 길이가 183 bp 이상 221 bp 미만;
- (4) 상기 프라이머 쌍 (4)에 의해 얻어진 단편의 길이가 303 bp 이상 341 bp 미만;
- (5) 상기 프라이머 쌍 (5)에 의해 얻어진 단편의 길이가 326 bp 이상 364 bp 미만;
- (6) 상기 프라이머 쌍 (6)에 의해 얻어진 단편의 길이가 256 bp 이상 294 bp 미만;
- (7) 상기 프라이머 쌍 (7)에 의해 얻어진 단편의 길이가 197 bp 이상 233 bp 미만;
- (8) 상기 프라이머 쌍 (8)에 의해 얻어진 단편의 길이가 167 bp 이상 203 bp 미만;
- (9) 상기 프라이머 쌍 (9)에 의해 얻어진 단편의 길이가 346 bp 이상 380 bp 미만;
- (10) 상기 프라이머 쌍 (10)에 의해 얻어진 단편의 길이가 273 bp 이상 309 bp 미만;
- (11) 상기 프라이머 쌍 (11)에 의해 얻어진 단편의 길이가 186 bp 이상 220 bp 미만; 및
- (12) 상기 프라이머 쌍 (12)에 의해 얻어진 단편의 길이가 287 bp 이상 321 bp 미만.

청구항 9

제5항에 있어서, 제2항의 비둘기 종 판별용 조성물을 이용하여 PCR을 수행하여 얻어진 단편이 하기 조건 중 1개 이상 만족하면, 양비둘기로 판별하는 단계를 추가로 포함하는, 비둘기 종 판별방법:

- (1) 상기 프라이머 쌍 (1)에 의해 얻어진 단편의 길이가 336 bp 이상 376 bp 미만;
- (2) 상기 프라이머 쌍 (2)에 의해 얻어진 단편의 길이가 253 bp 이상 293 bp 미만;
- (3) 상기 프라이머 쌍 (3)에 의해 얻어진 단편의 길이가 183 bp 이상 221 bp 미만;
- (4) 상기 프라이머 쌍 (4)에 의해 얻어진 단편의 길이가 303 bp 이상 341 bp 미만;
- (5) 상기 프라이머 쌍 (5)에 의해 얻어진 단편의 길이가 326 bp 이상 364 bp 미만;
- (6) 상기 프라이머 쌍 (6)에 의해 얻어진 단편의 길이가 256 bp 이상 294 bp 미만;
- (7) 상기 프라이머 쌍 (7)에 의해 얻어진 단편의 길이가 197 bp 이상 233 bp 미만;
- (8) 상기 프라이머 쌍 (8)에 의해 얻어진 단편의 길이가 167 bp 이상 203 bp 미만; 및
- (9) 상기 프라이머 쌍 (9)에 의해 얻어진 단편의 길이가 346 bp 이상 380 bp 미만.

청구항 10

제5항에 있어서, 상기 (b) 단계에서 상기 유전자 단편이 double band로 보이는 경우, 양비둘기와 집비둘기의 잡종으로 판별하는, 비둘기 종 판별방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 명세서는 비둘기 종 판별용 조성물 및 이를 이용한 잡종 판별방법에 관한 것으로, 상기 판별용 조성물은 insertion/deletion polymorphism (InDel)을 이용하여 선별된 프라이머를 포함한다.

배경 기술

[0002] 유전자 내 DNA는 종의 분화 및 진화 과정에서 특정 염기가 들어가거나 빠지는 현상이 발생하며, 이를 insertion/deletion polymorphism (InDel)이라 하고, 해당 InDel 값은 동물 종마다 특이적으로 가질 수 있으므로 이와 같은 원리를 이용하여, InDel을 이용한 유전적 마커를 제조할 수 있다.

[0003] 양비둘기 (*Columba rupestris*)는 한반도, 연해주, 중국, 시베리아, 몽골, 티베트 중부, 히말라야, 아프가니스탄, 투르크메니스탄 등에 넓게 분포하고 있다. 그러나, 국내의 경우, 집비둘기(*Columba livia* var. *domestica*, 바위비둘기가 원종)의 유입으로 인해 경쟁에서 밀리고, 양비둘기와 바위비둘기 간의 잡종 발생으로 개체수가 점점 감소하여, 매우 적은 수의 양비둘기 만이 국내에 분포하고 있다.

[0004] 양비둘기의 개체수 감소에 따른 멸종 가속화를 막기 위해, 양비둘기와 집비둘기 두 종 간 잡종을 판별할 수 있는 기술이 필요한 바, InDel 원리를 이용하여 비둘기 종의 구분과 잡종 판별이 가능한 마커의 개발이 시급한 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본 발명자들은 양비둘기의 개체와 집비둘기 개체 내에서 homo를 보이고 두 집단 간 hetero를 보이는 InDel을 확인하고, 상기 InDel을 이용한 비둘기 종 판별을 위한 바이오 마커를 선별하여 본 발명을 완성하였다.

[0006] 본 명세서는 상기 확인된 InDel 중 선별 및/또는 검출이 가능한 특이적 구간을 추출하여, 해당 구간에 해당하는 검출하는 재제를 포함하고,

[0007] 양비둘기와 집비둘기의 잡종, 양비둘기 및 집비둘기로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 비둘기를 구별하는, 비둘기 종 판별용 조성물을 제공한다.

[0008] 본 명세서는 상기 비둘기 종 판별용 조성물을 포함하는, 비둘기 종 판별용 키트를 제공한다.

[0009] 본 명세서는 비둘기로부터 분리된 생물학적 시료에 상기 조성물을 처리하여, 검출 대상의 다형성을 확인하는 단계를 포함하는, 비둘기 종 판별방법을 제공한다.

과제의 해결 수단

- [0010] 일 예는 비둘기 종 판별용 조성물을 제공한다. 상기 비둘기 종 판별용 조성물은 서열번호 43 및 44로 이루어진 프라이머 쌍, 서열번호 59 및 60으로 이루어진 프라이머 쌍, 서열번호 61 및 62로 이루어진 프라이머 쌍, 서열번호 73 및 74로 이루어진 프라이머 쌍, 서열번호 81 및 82로 이루어진 프라이머 쌍, 서열번호 83 및 84로 이루어진 프라이머 쌍, 서열번호 85 및 86으로 이루어진 프라이머 쌍, 서열번호 89 및 90으로 이루어진 프라이머 쌍, 서열번호 99 및 100으로 이루어진 프라이머 쌍, 서열번호 101 및 102로 이루어진 프라이머 쌍, 서열번호 107 및 108로 이루어진 프라이머 쌍, 서열번호 109 및 110으로 이루어진 프라이머 쌍, 서열번호 111 및 112로 이루어진 프라이머 쌍, 서열번호 117 및 118로 이루어진 프라이머 쌍, 서열번호 119 및 120으로 이루어진 프라이머 쌍, 서열번호 121 및 122로 이루어진 프라이머 쌍, 서열번호 131 및 132로 이루어진 프라이머 쌍, 및 서열번호 135 및 136으로 이루어진 프라이머 쌍으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함할 수 있고, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0011] 다른 예는 서열번호 59 및 60으로 이루어진 프라이머 쌍 (1), 서열번호 73 및 74로 이루어진 프라이머 쌍 (2), 서열번호 81 및 82로 이루어진 프라이머 쌍 (3), 서열번호 83 및 84로 이루어진 프라이머 쌍 (4), 서열번호 85 및 86으로 이루어진 프라이머 쌍 (5), 서열번호 89 및 90으로 이루어진 프라이머 쌍 (6), 서열번호 109 및 110으로 이루어진 프라이머 쌍 (7), 서열번호 111 및 112로 이루어진 프라이머 쌍 (8), 서열번호 117 및 118로 이루어진 프라이머 쌍 (9), 서열번호 101 및 102로 이루어진 프라이머 쌍 (10), 서열번호 119 및 120으로 이루어진 프라이머 쌍 (11), 및 서열번호 135 및 136으로 이루어진 프라이머 쌍 (12)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함할 수 있고, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0012] 다른 예는 (a) 비둘기로부터 분리된 생물학적 시료에 상기 비둘기 종 판별용 조성물을 처리하여 검출 대상 유전자 단편을 얻는 단계; 및
- [0013] (b) 상기 검출 대상 유전자 단편의 다형성을 확인하는 단계를 포함하는, 비둘기 종 판별방법을 제공한다.
- [0015] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.
- [0017] 본 명세서에서 "양비둘기 (Hill pigeon; *Columba rupestris*)"는 낭비둘기, 굴비둘기라고도 하고, 머리, 얼굴, 뺨, 턱밑은 짙은 회색이고 허리는 흰색이다. 날개는 회색이고 넓은 검정색 띠가 두 줄 있다. 꼬리깃 끝에는 검정색 띠가 있고 그 위에 흰색 띠가 양비둘기의 가장 큰 특징이다. 국내에서는 환경부가 지정한 "멸종위기 야생생물 II급"에 해당하는 조류이고, 집비둘기와 경쟁 및 교잡에 의해 개체 수가 감소된 것으로 추정된다.
- [0018] 본 명세서에서 "집비둘기 (Feral pigeon; *Columba livia* var. *domestica*)"는 기본적으로 어두운 회색 바탕에 날개에 검은 띠가 2줄 있고, 검정색·회색·갈색·흰색 등 변화가 많으며 양비둘기와 크게 구분되는 것은 꼬리깃의 흰색 선이다. 기르기 쉽고 번식력이 왕성하고 귀소본능이 강하며 고기맛이 좋아 예로부터 여러 가지 용도로 쓰이고 있다.
- [0019] 본 명세서에서 "잡종"은 서로 다른 종이나 계통 사이의 교배에 의해서 생긴 자손을 의미한다.
- [0020] 본 명세서에서 "양비둘기와 집비둘기의 잡종"은 양비둘기와 집비둘기 사이에서 생산된 잡종 1세대, 즉 F1을 포함하고, 추가로 잡종 1세대와 양비둘기, 집비둘기 또는 다른 양비둘기 및 집비둘기 사이에서 생산된 잡종 1세대 사이에서 생산되는 모든 자손을 포함할 수 있고, 형태적인 특징은 꼬리깃에 흰색 띠를 가진 양비둘기와 흰색 띠가 없는 집비둘기 사이에서 태어나, 꼬리깃의 흰색 띠가 희미하게 보이는 외형적 특징을 보인다.
- [0021] 본 명세서에서 "다형성 (polymorphism)"은 군집 내에서 유전적 변이가 존재하는 현상을 의미하고, 같은 종의 생물이어도 모습이나 고유한 특징이 다양한 성질을 의미하고, 상기 다형성의 일종에 해당할 수 있는 "Insertion/Deletion (InDel)"은 유기체 게놈에서 염기의 삽입 또는 삭제가 일어나는 현상을 의미하는 것으로, 해당 유전자의 base pair 갯수 및/또는 유전자의 길이로 측정될 수 있고, 자연체에서 유전적 마커로 사용될 수 있다. 본 명세서에서 "Insertion/Deletion (InDel) length"는 두 집단 내에 동일한 특정 유전자의 bp 길이 차이를 의미할 수 있고, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0022] 본 명세서에서 "바이오 마커"는 단백질이나 DNA, RNA (리복핵산), 대사 물질 등을 이용해 몸 안의 변화를 알아낼 수 있는 지표를 의미하며, 단백질 마커, 유전자 마커, DNA 마커, RNA 마커 등의 모든 형태의 관련 마커를 포함할 수 있고, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0023] 상기 비둘기 종 판별용 조성물 내 포함된 프라이머에 의해 판별 가능한 유전자는 양비둘기 및 집비둘기 각 개체

내에서 homo를 보이고, 두 집단 간 hetero를 보이는 InDel을 보이는 유전자 중 육안으로 선별이 가능하도록 InDel의 base pair 갯수가 10 bp 이상, 15 bp 이상, 20 bp 이상, 25 bp 이상, 30 bp 이상, 32 bp 이상 또는 34 bp 이상인 것을 추출하여 선정할 수 있고, 100 bp 이하, 1000 bp 이하, 또는 10,000 bp 이하인 것을 추출하여 선정할 수 있고, 10 bp 이상 10,000 bp 이하의 수치 중 선택된 임의의 수치일 수 있고, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0024] 양비둘기 및 집비둘기의 WGS 데이터를 분석, 및/또는 상기 양비둘기 및 집비둘기의 표준 게놈 전장 유전체 서열 맵핑하는 과정을 통해 상기 양비둘기 및 집비둘기 집단 내 게놈 InDel 변이를 확인할 수 있고, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0025] 상기 InDel 변이를 확인하고, 마커 테스트를 통하여 프라이머 18개를 선별하였고, 상기 18개의 프라이머는 exon-XR_002411026.1-1-exon-XR_002411022.1-1 (HM 22), exon-XR_002419835.1-1-exon-XR_002419765.1-1 (HM 30), PHF24 (HM 31), CFAP54 (HM 37), NCAM2 (HM 41), LOC102094075 (HM 42), ABCC8 (HM 43), TMEM229B (HM 45), ACP2 (HM 50), BTBD9 (HM 51), ZC3H7A (HM 54), exon-XR_002423765.1-1-LOC102089320 (HM 55), exon-XR_002424707.1-1-exon-XR_002424669.1-1 (HM 56), LDLRAD3 (HM 59), CELF4-exon-XR_002416079.1-1 (HM 60), exon-XR_002416512.1-1-exon-XR_002416506.1-1 (HM 61), PRKN (HM 66), 및 PIGC-DNM3 (HM 68)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 프라이머일 수 있고, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0026] 상기 InDel 변이를 확인하고, 마커 테스트를 통하여 프라이머 12개를 선별하였고, 상기 12개의 프라이머는 exon-XR_002419835.1-1-exon-XR_002419765.1-1 (HM 30), CFAP54 (HM 37), NCAM2 (HM 41), LOC102094075 (HM 42), ABCC8 (HM 43), TMEM229B (HM 45), BTBD9 (HM 51), exon-XR_002423765.1-1-LOC102089320 (HM 55), exon-XR_002424707.1-1-exon-XR_002424669.1-1 (HM 56), LDLRAD3 (HM 59), CELF4-exon-XR_002416079.1-1 (HM 60), 및 PIGC-DNM3 (HM 68)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 프라이머일 수 있고, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0027] 상기 InDel 변이를 확인하고, 마커 테스트를 통하여 프라이머 9개를 선별하였고, 상기 9개의 프라이머는 exon-XR_002419835.1-1-exon-XR_002419765.1-1 (HM 30), CFAP54 (HM 37), NCAM2 (HM 41), LOC102094075 (HM 42), ABCC8 (HM 43), TMEM229B (HM 45), exon-XR_002423765.1-1-LOC102089320 (HM 55), exon-XR_002424707.1-1-exon-XR_002424669.1-1 (HM 56), 및 LDLRAD3 (HM 59)로 이루어진 유전자 군에서 선택된 1종 이상의 프라이머일 수 있고, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0028] 본 명세서에서 바이오 마커를 검출하는 제제는 상기 바이오 마커에 상보적인 프라이머 세트, 프로브, 압타머, 또는 안티센스 핵산일 수 있고, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0029] 본 명세서에서는 "상보적"은 소정의 혼성화 또는 어닐링 조건, 바람직하게는 생리학적 조건 하에서 안티센스 핵산이 BRAF 돌연변이 유전자 타겟에 선택적으로 혼성화 할 정도로 충분히 상보적인 것을 의미하며, 실질적으로 상보적 (substantially complementary) 및 완전히 상보적 (perfectly complementary)인 것을 모두 포함하는 의미를 가지며, 바람직하게는 완전히 상보적인 것을 의미한다.

[0030] 본 명세서에서 "안티센스 핵산"은 타겟으로 하는 유전자에 대한 상보적인 서열을 가지고 있어, 바이오 마커와 이합체를 형성할 수 있는 핵산 기반의 분자를 의미하며, 본원의 바이오 마커를 검출하는 데 사용될 수 있다.

[0031] 본 명세서에서 "프라이머"는 짧은 자유 3'말단 수산화기 (free 3' hydroxyl group)를 가지는 핵산 서열로 상보적인 템플레이트 (template)와 염기쌍 (base pair)을 형성할 수 있고 템플레이트 가닥 복사를 위한 시작 지점으로 기능을 하는 7개 내지 50개의 핵산서열을 의미한다. 프라이머는 보통 합성하지만 자연적으로 생성된 핵산에서 이용할 수도 있다. 프라이머의 서열은 반드시 주형의 서열과 정확히 같을 필요는 없으며, 충분히 상보적이어서 주형과 혼성화될 수 있으면 된다.

[0032] 본 명세서에서 "프로브"는 mRNA와 특이적 결합을 이룰 수 있는 짧은 수 염기 내지 길게는 수백 염기에 해당하는 RNA 또는 DNA 등의 핵산 단편을 의미하며 라벨링 (labeling) 되어 있어서 특정 mRNA의 존재 유무를 확인할 수 있다. 프로브는 올리고뉴클로타이드 (oligonucleotide) 프로브, 단쇄 DNA (single stranded DNA) 프로브, 이중쇄 DNA (double stranded DNA) 프로브, RNA 프로브 등의 형태로 제작될 수 있다.

[0033] 본 명세서는 상기 비둘기 종 판별용 조성물을 포함하는, 비둘기 종 판별용 키트를 제공한다.

[0034] 본 명세서에서 "키트"는 상기 비둘기 종 판별용 조성물을 포함하고 있어, 비둘기 종 판별에 관한 정보를 제공하는 검진용 기기를 의미하며, 생물학적 시료로부터 상기 유전자 바이오 마커를 확인할 수 있는 모든 형태를 의미하고, 이에 제한되는 것은 아니다.

- [0035] 본 명세서에서 "생물학적 시료"는 모든 동물을 포함하는 모든 생명체, 예컨대, 인간, 원숭이 등의 영장류, 마우스, 래트, 토끼 등의 설치류, 이외의 개, 고양이, 소, 돼지, 양, 말, 염소 등을 포함하는 포유류, 닭, 오리, 거위 등을 포함하는 조류, 뱀, 도마뱀, 거북, 악어 등을 포함하는 파충류, 양서류, 및 어류 등의 척추동물들로부터 얻어진 (분리된) 세포, 조직, 체액, 또는 이들의 배양물을 포함할 수 있고, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0036] 상기 키트는 비둘기 종을 판별할 수 있고, 상기 비둘기 종 판별용 조성물에 추가로 분석 방법에 적합한 1 종류 또는 그 이상의 다른 구성성분 조성물, 용액, 또는 장치를 포함할 수 있다.
- [0037] 본 명세서는 비둘기로부터 분리된 생물학적 시료에 상기 비둘기 종 판별용 조성물을 처리하여, 검출 대상 유전자 단편의 다형성을 확인하는 단계를 포함하는, 비둘기 종 판별방법을 제공한다.
- [0038] 본 명세서의 비둘기 종 판별방법은 상기 비둘기 종 판별 조성물을 이용하여 PCR을 수행하여 얻어진 단편이 하기 조건 중 1개 이상 만족하면, 집비둘기로 판별하는 단계를 추가로 포함할 수 있고, 상기 판별방법의 단계 (a) 및 /또는 (b) 단계 이후에 수행될 수 있고, 이에 제한되는 것은 아니다:
- [0039] (1) 상기 프라이머 쌍 (1)에 의해 얻어진 단편의 길이가 377 bp 이상 417 bp 미만, 380 bp 이상 417 bp 미만, 390 bp 이상 417 bp 미만, 395 bp 이상 417 bp 미만, 396 bp 이상 417 bp 미만, 377 bp 이상 410 bp 미만, 380 bp 이상 410 bp 미만, 390 bp 이상 410 bp 미만, 395 bp 이상 410 bp 미만, 396 bp 이상 410 bp 미만, 377 bp 이상 400 bp 미만, 380 bp 이상 400 bp 미만, 390 bp 이상 400 bp 미만, 395 bp 이상 400 bp 미만, 396 bp 이상 400 bp 미만, 377 bp 이상 398 bp 미만, 380 bp 이상 398 bp 미만, 390 bp 이상 398 bp 미만, 395 bp 이상 398 bp 미만, 또는 396 bp 이상 398 bp 미만, 예컨대, 397 bp;
- [0040] (2) 상기 프라이머 쌍 (2)에 의해 얻어진 단편의 길이가 293 bp 이상 333 bp 미만, 300 bp 이상 333 bp 미만, 300 bp 이상 333 bp 미만, 312 bp 이상 333 bp 미만, 293 bp 이상 320 bp 미만, 300 bp 이상 320 bp 미만, 300 bp 이상 320 bp 미만, 312 bp 이상 320 bp 미만, 293 bp 이상 315 bp 미만, 300 bp 이상 315 bp 미만, 300 bp 이상 315 bp 미만, 312 bp 이상 315 bp 미만, 293 bp 이상 314 bp 미만, 300 bp 이상 314 bp 미만, 300 bp 이상 314 bp 미만, 또는 312 bp 이상 314 bp 미만, 예컨대, 313 bp;
- [0041] (3) 상기 프라이머 쌍 (3)에 의해 얻어진 단편의 길이가 222 bp 이상 260 bp 미만, 230 bp 이상 260 bp 미만, 235 bp 이상 260 bp 미만, 240 bp 이상 260 bp 미만, 222 bp 이상 250 bp 미만, 230 bp 이상 250 bp 미만, 235 bp 이상 250 bp 미만, 240 bp 이상 250 bp 미만, 222 bp 이상 245 bp 미만, 230 bp 이상 245 bp 미만, 235 bp 이상 245 bp 미만, 240 bp 이상 245 bp 미만, 222 bp 이상 242 bp 미만, 230 bp 이상 242 bp 미만, 235 bp 이상 242 bp 미만, 또는 240 bp 이상 242 bp 미만, 예컨대, 241 bp;
- [0042] (4) 상기 프라이머 쌍 (4)에 의해 얻어진 단편의 길이가 342 bp 이상 380 bp 미만, 350 bp 이상 380 bp 미만, 355 bp 이상 380 bp 미만, 360 bp 이상 380 bp 미만, 342 bp 이상 370 bp 미만, 350 bp 이상 370 bp 미만, 355 bp 이상 370 bp 미만, 360 bp 이상 370 bp 미만, 342 bp 이상 365 bp 미만, 350 bp 이상 365 bp 미만, 355 bp 이상 365 bp 미만, 360 bp 이상 365 bp 미만, 342 bp 이상 362 bp 미만, 350 bp 이상 362 bp 미만, 355 bp 이상 362 bp 미만, 또는 360 bp 이상 362 bp 미만, 예컨대, 361 bp;
- [0043] (5) 상기 프라이머 쌍 (5)에 의해 얻어진 단편의 길이가 364 bp 이상 402 bp 미만, 370 bp 이상 402 bp 미만, 380 bp 이상 402 bp 미만, 382 bp 이상 402 bp 미만, 364 bp 이상 390 bp 미만, 370 bp 이상 390 bp 미만, 380 bp 이상 390 bp 미만, 382 bp 이상 390 bp 미만, 364 bp 이상 385 bp 미만, 370 bp 이상 385 bp 미만, 380 bp 이상 385 bp 미만, 382 bp 이상 385 bp 미만, 364 bp 이상 384 bp 미만, 370 bp 이상 384 bp 미만, 380 bp 이상 384 bp 미만, 또는 382 bp 이상 384 bp 미만, 예컨대, 383 bp;
- [0044] (6) 상기 프라이머 쌍 (6)에 의해 얻어진 단편의 길이가 294 bp 이상 332 bp 미만, 300 bp 이상 332 bp 미만, 310 bp 이상 332 bp 미만, 312 bp 이상 332 bp 미만, 294 bp 이상 320 bp 미만, 300 bp 이상 320 bp 미만, 310 bp 이상 320 bp 미만, 312 bp 이상 320 bp 미만, 294 bp 이상 315 bp 미만, 300 bp 이상 315 bp 미만, 310 bp 이상 315 bp 미만, 312 bp 이상 315 bp 미만, 294 bp 이상 314 bp 미만, 300 bp 이상 314 bp 미만, 310 bp 이상 314 bp 미만, 또는 312 bp 이상 314 bp 미만, 예컨대, 313 bp;
- [0045] (7) 상기 프라이머 쌍 (7)에 의해 얻어진 단편의 길이가 233 bp 이상 269 bp 미만, 240 bp 이상 269 bp 미만, 245 bp 이상 269 bp 미만, 250 bp 이상 269 bp 미만, 233 bp 이상 260 bp 미만, 240 bp 이상 260 bp 미만, 245 bp 이상 260 bp 미만, 250 bp 이상 260 bp 미만, 233 bp 이상 255 bp 미만, 240 bp 이상 255 bp 미만, 245 bp 이상 255 bp 미만, 250 bp 이상 255 bp 미만, 233 bp 이상 252 bp 미만, 240 bp 이상 252 bp 미만, 245 bp 이

상 252 bp 미만, 또는 250 bp 이상 252 bp 미만, 예컨대, 251 bp;

- [0046] (8) 상기 프라이머 쌍 (8)에 의해 얻어진 단편의 길이가 203 bp 이상 239 bp 미만, 210 bp 이상 239 bp 미만, 215 bp 이상 239 bp 미만, 220 bp 이상 239 bp 미만, 203 bp 이상 230 bp 미만, 210 bp 이상 230 bp 미만, 215 bp 이상 230 bp 미만, 220 bp 이상 230 bp 미만, 203 bp 이상 225 bp 미만, 210 bp 이상 225 bp 미만, 215 bp 이상 225 bp 미만, 220 bp 이상 225 bp 미만, 203 bp 이상 222 bp 미만, 210 bp 이상 222 bp 미만, 215 bp 이상 222 bp 미만, 또는 220 bp 이상 222 bp 미만, 예컨대, 221 bp;
- [0047] (9) 상기 프라이머 쌍 (9)에 의해 얻어진 단편의 길이가 381 bp 이상 415 bp 미만, 390 bp 이상 415 bp 미만, 395 bp 이상 415 bp 미만, 397 bp 이상 415 bp 미만, 381 bp 이상 410 bp 미만, 390 bp 이상 410 bp 미만, 395 bp 이상 410 bp 미만, 397 bp 이상 410 bp 미만, 381 bp 이상 400 bp 미만, 390 bp 이상 400 bp 미만, 395 bp 이상 400 bp 미만, 397 bp 이상 400 bp 미만, 381 bp 이상 399 bp 미만, 390 bp 이상 399 bp 미만, 395 bp 이상 399 bp 미만, 또는 397 bp 이상 399 bp 미만, 예컨대, 398 bp;
- [0048] (10) 상기 프라이머 쌍 (10)에 의해 얻어진 단편의 길이가 309 bp 이상 345 bp 미만, 315 bp 이상 345 bp 미만, 320 bp 이상 345 bp 미만, 325 bp 이상 345 bp 미만, 326 bp 이상 345 bp 미만, 309 bp 이상 340 bp 미만, 315 bp 이상 340 bp 미만, 320 bp 이상 340 bp 미만, 325 bp 이상 340 bp 미만, 326 bp 이상 340 bp 미만, 309 bp 이상 335 bp 미만, 315 bp 이상 335 bp 미만, 320 bp 이상 335 bp 미만, 335 bp 이상 335 bp 미만, 326 bp 이상 335 bp 미만, 309 bp 이상 330 bp 미만, 315 bp 이상 330 bp 미만, 320 bp 이상 330 bp 미만, 325 bp 이상 330 bp 미만, 326 bp 이상 330 bp 미만, 309 bp 이상 328 bp 미만, 315 bp 이상 328 bp 미만, 320 bp 이상 328 bp 미만, 325 bp 이상 328 bp 미만, 326 bp 이상 328 bp 미만, 예컨대, 327 bp;
- [0049] (11) 상기 프라이머 쌍 (11)에 의해 얻어진 단편의 길이가 221 bp 이상 255 bp 미만, 230 bp 이상 255 bp 미만, 235 bp 이상 255 bp 미만, 237 bp 이상 255 bp 미만, 221 bp 이상 250 bp 미만, 230 bp 이상 250 bp 미만, 235 bp 이상 250 bp 미만, 237 bp 이상 250 bp 미만, 221 bp 이상 240 bp 미만, 230 bp 이상 240 bp 미만, 235 bp 이상 240 bp 미만, 237 bp 이상 240 bp 미만, 221 bp 이상 239 bp 미만, 230 bp 이상 239 bp 미만, 235 bp 이상 239 bp 미만, 또는 237 bp 이상 239 bp 미만, 예컨대, 238 bp; 및
- [0050] (12) 상기 프라이머 쌍 (12)에 의해 얻어진 단편의 길이가 321 bp 이상 355 bp 미만, 330 bp 이상 355 bp 미만, 335 bp 이상 355 bp 미만, 337 bp 이상 355 bp 미만, 321 bp 이상 350 bp 미만, 330 bp 이상 350 bp 미만, 335 bp 이상 350 bp 미만, 337 bp 이상 350 bp 미만, 321 bp 이상 340 bp 미만, 330 bp 이상 340 bp 미만, 335 bp 이상 340 bp 미만, 337 bp 이상 340 bp 미만, 321 bp 이상 339 bp 미만, 330 bp 이상 339 bp 미만, 335 bp 이상 339 bp 미만, 또는 337 bp 이상 339 bp 미만, 예컨대, 338 bp.
- [0051] 본 명세서의 비둘기 중 판별방법은 상기 비둘기 중 판별 조성물을 이용하여 PCR을 수행하여 얻어진 단편이 하기 조건 중 1개 이상 만족하면, 양비둘기로 판별하는 단계를 추가로 포함할 수 있고, 상기 판별방법의 단계 (a) 및 /또는 (b) 단계 이후에 수행될 수 있고, 이에 제한되는 것은 아니다:
- [0052] (1) 상기 프라이머 쌍 (1)에 의해 얻어진 단편의 길이가 336 bp 이상 376 bp 미만, 340 bp 이상 376 bp 미만, 350 bp 이상 376 bp 미만, 355 bp 이상 376 bp 미만, 336 bp 이상 370 bp 미만, 340 bp 이상 370 bp 미만, 350 bp 이상 370 bp 미만, 355 bp 이상 370 bp 미만, 336 bp 이상 360 bp 미만, 340 bp 이상 360 bp 미만, 350 bp 이상 360 bp 미만, 355 bp 이상 360 bp 미만, 336 bp 이상 357 bp 미만, 340 bp 이상 357 bp 미만, 350 bp 이상 357 bp 미만, 또는 355 bp 이상 357 bp 미만, 예컨대, 356 bp;
- [0053] (2) 상기 프라이머 쌍 (2)에 의해 얻어진 단편의 길이가 253 bp 이상 293 bp 미만, 260 bp 이상 293 bp 미만, 270 bp 이상 293 bp 미만, 272 bp 이상 293 bp 미만, 253 bp 이상 290 bp 미만, 260 bp 이상 290 bp 미만, 270 bp 이상 290 bp 미만, 272 bp 이상 290 bp 미만, 253 bp 이상 280 bp 미만, 260 bp 이상 280 bp 미만, 270 bp 이상 280 bp 미만, 272 bp 이상 280 bp 미만, 253 bp 이상 275 bp 미만, 260 bp 이상 275 bp 미만, 270 bp 이상 275 bp 미만, 272 bp 이상 275 bp 미만, 253 bp 이상 274 bp 미만, 260 bp 이상 274 bp 미만, 270 bp 이상 274 bp 미만, 또는 272 bp 이상 274 bp 미만, 예컨대, 273 bp;
- [0054] (3) 상기 프라이머 쌍 (3)에 의해 얻어진 단편의 길이가 183 bp 이상 221 bp 미만, 190 bp 이상 221 bp 미만, 200 bp 이상 221 bp 미만, 201 bp 이상 221 bp 미만, 183 bp 이상 210 bp 미만, 190 bp 이상 210 bp 미만, 200 bp 이상 210 bp 미만, 201 bp 이상 210 bp 미만, 183 bp 이상 205 bp 미만, 190 bp 이상 205 bp 미만, 200 bp 이상 205 bp 미만, 201 bp 이상 205 bp 미만, 183 bp 이상 203 bp 미만, 190 bp 이상 203 bp 미만, 200 bp 이상 203 bp 미만, 또는 201 bp 이상 203 bp 미만, 예컨대, 202 bp;

- [0055] (4) 상기 프라이머 쌍 (4)에 의해 얻어진 단편의 길이가 303 bp 이상 341 bp 미만, 310 bp 이상 341 bp 미만, 320 bp 이상 341 bp 미만, 321 bp 이상 341 bp 미만, 303 bp 이상 330 bp 미만, 310 bp 이상 330 bp 미만, 320 bp 이상 330 bp 미만, 321 bp 이상 330 bp 미만, 303 bp 이상 325 bp 미만, 310 bp 이상 325 bp 미만, 320 bp 이상 325 bp 미만, 321 bp 이상 325 bp 미만, 303 bp 이상 323 bp 미만, 310 bp 이상 323 bp 미만, 320 bp 이상 323 bp 미만, 또는 321 bp 이상 323 bp 미만, 예컨대, 322 bp;
- [0056] (5) 상기 프라이머 쌍 (5)에 의해 얻어진 단편의 길이가 326 bp 이상 364 bp 미만, 330 bp 이상 364 bp 미만, 340 bp 이상 364 bp 미만, 344 bp 이상 364 bp 미만, 326 bp 이상 360 bp 미만, 330 bp 이상 360 bp 미만, 340 bp 이상 360 bp 미만, 344 bp 이상 360 bp 미만, 326 bp 이상 350 bp 미만, 330 bp 이상 350 bp 미만, 340 bp 이상 350 bp 미만, 344 bp 이상 350 bp 미만, 326 bp 이상 346 bp 미만, 330 bp 이상 346 bp 미만, 340 bp 이상 346 bp 미만, 또는 344 bp 이상 346 bp 미만, 예컨대, 345 bp;
- [0057] (6) 상기 프라이머 쌍 (6)에 의해 얻어진 단편의 길이가 256 bp 이상 294 bp 미만, 260 bp 이상 294 bp 미만, 270 bp 이상 294 bp 미만, 274 bp 이상 294 bp 미만, 256 bp 이상 290 bp 미만, 260 bp 이상 290 bp 미만, 270 bp 이상 290 bp 미만, 274 bp 이상 290 bp 미만, 256 bp 이상 280 bp 미만, 260 bp 이상 280 bp 미만, 270 bp 이상 280 bp 미만, 274 bp 이상 280 bp 미만, 256 bp 이상 276 bp 미만, 260 bp 이상 276 bp 미만, 270 bp 이상 276 bp 미만, 또는 274 bp 이상 276 bp 미만, 예컨대, 275 bp;
- [0058] (7) 상기 프라이머 쌍 (7)에 의해 얻어진 단편의 길이가 197 bp 이상 233 bp 미만, 200 bp 이상 233 bp 미만, 210 bp 이상 233 bp 미만, 214 bp 이상 233 bp 미만, 197 bp 이상 230 bp 미만, 200 bp 이상 230 bp 미만, 210 bp 이상 230 bp 미만, 214 bp 이상 230 bp 미만, 197 bp 이상 220 bp 미만, 200 bp 이상 220 bp 미만, 210 bp 이상 220 bp 미만, 214 bp 이상 220 bp 미만, 197 bp 이상 216 bp 미만, 200 bp 이상 216 bp 미만, 210 bp 이상 216 bp 미만, 또는 214 bp 이상 216 bp 미만, 예컨대, 215 bp;
- [0059] (8) 상기 프라이머 쌍 (8)에 의해 얻어진 단편의 길이가 167 bp 이상 203 bp 미만, 170 bp 이상 203 bp 미만, 180 bp 이상 203 bp 미만, 184 bp 이상 203 bp 미만, 167 bp 이상 200 bp 미만, 170 bp 이상 200 bp 미만, 180 bp 이상 200 bp 미만, 184 bp 이상 200 bp 미만, 167 bp 이상 190 bp 미만, 170 bp 이상 190 bp 미만, 180 bp 이상 190 bp 미만, 184 bp 이상 190 bp 미만, 167 bp 이상 186 bp 미만, 170 bp 이상 186 bp 미만, 180 bp 이상 186 bp 미만, 또는 184 bp 이상 186 bp 미만, 예컨대, 185 bp;
- [0060] (9) 상기 프라이머 쌍 (9)에 의해 얻어진 단편의 길이가 346 bp 이상 380 bp 미만, 350 bp 이상 380 bp 미만, 360 bp 이상 380 bp 미만, 362 bp 이상 380 bp 미만, 346 bp 이상 370 bp 미만, 350 bp 이상 370 bp 미만, 360 bp 이상 370 bp 미만, 362 bp 이상 370 bp 미만, 346 bp 이상 365 bp 미만, 350 bp 이상 365 bp 미만, 360 bp 이상 365 bp 미만, 362 bp 이상 365 bp 미만, 346 bp 이상 364 bp 미만, 350 bp 이상 364 bp 미만, 360 bp 이상 364 bp 미만, 또는 362 bp 이상 364 bp 미만, 예컨대, 365 bp;
- [0061] (10) 상기 프라이머 쌍 (10)에 의해 얻어진 단편의 길이가 273 bp 이상 309 bp 미만, 275 bp 이상 309 bp 미만, 280 bp 이상 309 bp 미만, 285 bp 이상 309 bp 미만, 290 bp 이상 309 bp 미만, 273 bp 이상 305 bp 미만, 275 bp 이상 305 bp 미만, 280 bp 이상 305 bp 미만, 285 bp 이상 305 bp 미만, 290 bp 이상 305 bp 미만, 273 bp 이상 300 bp 미만, 275 bp 이상 300 bp 미만, 280 bp 이상 300 bp 미만, 285 bp 이상 300 bp 미만, 290 bp 이상 300 bp 미만, 273 bp 이상 295 bp 미만, 275 bp 이상 295 bp 미만, 280 bp 이상 295 bp 미만, 285 bp 이상 295 bp 미만, 290 bp 이상 295 bp 미만, 273 bp 이상 292 bp 미만, 275 bp 이상 292 bp 미만, 280 bp 이상 292 bp 미만, 285 bp 이상 292 bp 미만, 290 bp 이상 292 bp 미만, 예컨대, 291 bp;
- [0062] (11) 상기 프라이머 쌍 (11)에 의해 얻어진 단편의 길이가 186 bp 이상 220 bp 미만, 190 bp 이상 220 bp 미만, 200 bp 이상 220 bp 미만, 202 bp 이상 220 bp 미만, 186 bp 이상 210 bp 미만, 190 bp 이상 210 bp 미만, 200 bp 이상 210 bp 미만, 202 bp 이상 210 bp 미만, 186 bp 이상 205 bp 미만, 190 bp 이상 205 bp 미만, 200 bp 이상 205 bp 미만, 202 bp 이상 205 bp 미만, 186 bp 이상 204 bp 미만, 190 bp 이상 204 bp 미만, 200 bp 이상 204 bp 미만, 또는 202 bp 이상 204 bp 미만, 예컨대, 203 bp; 및
- [0063] (12) 상기 프라이머 쌍 (12)에 의해 얻어진 단편의 길이가 287 bp 이상 321 bp 미만, 290 bp 이상 321 bp 미만, 300 bp 이상 321 bp 미만, 303 bp 이상 321 bp 미만, 287 bp 이상 310 bp 미만, 290 bp 이상 310 bp 미만, 300 bp 이상 310 bp 미만, 303 bp 이상 310 bp 미만, 287 bp 이상 305 bp 미만, 290 bp 이상 305 bp 미만, 300 bp 이상 305 bp 미만, 또는 303 bp 이상 305 bp 미만, 예컨대, 304 bp.
- [0064] 본 명세서의 비둘기 종 판별방법은 상기 검출 대상의 바이오 마커의 다형성을 확인하는 단계, 예컨대, 검출 대

상 유전자 단편의 다형성을 확인하는 단계에서 상기 유전자 단편이 double band로 보이는 경우, 양비둘기와 집비둘기의 잡종으로 판별할 수 있고, 이에 제한되는 것은 아니다.

- [0065] 상기 유전자 가닥이 double band로 보이는 경우는 각 유전자 단편이 하기 (i) 내지 (xii)로 이루어진 군에서 선택된 1 이상의 길이 (base pair; bp) 범위를 가질 수 있고, 이에 제한되는 것은 아니다:
- [0066] (i) 프라이머 쌍 (1)에 의해 얻어진 단편의 double band가 각각 상기 비둘기 중 판별방법에서 양비둘기로 판별하는 길이 측정 범위 중 (1) 길이 범위 및 상기 비둘기 중 판별방법에서 집비둘기로 판별하는 길이 측정 범위 중 (1) 길이 범위를 가짐;
- [0067] (ii) 프라이머 쌍 (2)에 의해 얻어진 단편의 double band가 각각 상기 비둘기 중 판별방법에서 양비둘기로 판별하는 길이 측정 범위 중 (2) 길이 범위 및 상기 비둘기 중 판별방법에서 집비둘기로 판별하는 길이 측정 범위 중 (2) 길이 범위를 가짐;
- [0068] (iii) 프라이머 쌍 (3)에 의해 얻어진 단편의 double band가 각각 상기 비둘기 중 판별방법에서 양비둘기로 판별하는 길이 측정 범위 중 (3) 길이 범위 및 상기 비둘기 중 판별방법에서 집비둘기로 판별하는 길이 측정 범위 중 (3) 길이 범위를 가짐;
- [0069] (iv) 프라이머 쌍 (4)에 의해 얻어진 단편의 double band가 각각 상기 비둘기 중 판별방법에서 양비둘기로 판별하는 길이 측정 범위 중 (4) 길이 범위 및 상기 비둘기 중 판별방법에서 집비둘기로 판별하는 길이 측정 범위 중 (4) 길이 범위를 가짐;
- [0070] (v) 프라이머 쌍 (5)에 의해 얻어진 단편의 double band가 각각 상기 비둘기 중 판별방법에서 양비둘기로 판별하는 길이 측정 범위 중 (5) 길이 범위 및 상기 비둘기 중 판별방법에서 집비둘기로 판별하는 길이 측정 범위 중 (5) 길이 범위를 가짐;
- [0071] (vi) 프라이머 쌍 (6)에 의해 얻어진 단편의 double band가 각각 상기 비둘기 중 판별방법에서 양비둘기로 판별하는 길이 측정 범위 중 (6) 길이 범위 및 상기 비둘기 중 판별방법에서 집비둘기로 판별하는 길이 측정 범위 중 (6) 길이 범위를 가짐;
- [0072] (vii) 프라이머 쌍 (7)에 의해 얻어진 단편의 double band가 각각 상기 비둘기 중 판별방법에서 양비둘기로 판별하는 길이 측정 범위 중 (7) 길이 범위 및 상기 비둘기 중 판별방법에서 집비둘기로 판별하는 길이 측정 범위 중 (7) 길이 범위를 가짐;
- [0073] (viii) 프라이머 쌍 (8)에 의해 얻어진 단편의 double band가 각각 상기 비둘기 중 판별방법에서 양비둘기로 판별하는 길이 측정 범위 중 (8) 길이 범위 및 상기 비둘기 중 판별방법에서 집비둘기로 판별하는 길이 측정 범위 중 (8) 길이 범위를 가짐;
- [0074] (ix) 프라이머 쌍 (9)에 의해 얻어진 단편의 double band가 각각 상기 비둘기 중 판별방법에서 양비둘기로 판별하는 길이 측정 범위 중 (9) 길이 범위 및 상기 비둘기 중 판별방법에서 집비둘기로 판별하는 길이 측정 범위 중 (9) 길이 범위를 가짐;
- [0075] (x) 프라이머 쌍 (10)에 의해 얻어진 단편의 double band가 각각 상기 비둘기 중 판별방법에서 양비둘기로 판별하는 길이 측정 범위 중 (10) 길이 범위 및 상기 비둘기 중 판별방법에서 집비둘기로 판별하는 길이 측정 범위 중 (10) 길이 범위를 가짐;
- [0076] (xi) 프라이머 쌍 (11)에 의해 얻어진 단편의 double band가 각각 상기 비둘기 중 판별방법에서 양비둘기로 판별하는 길이 측정 범위 중 (11) 길이 범위 및 상기 비둘기 중 판별방법에서 집비둘기로 판별하는 길이 측정 범위 중 (11) 길이 범위를 가짐; 및/또는
- [0077] (xii) 프라이머 쌍 (12)에 의해 얻어진 단편의 double band가 각각 상기 비둘기 중 판별방법에서 양비둘기로 판별하는 길이 측정 범위 중 (12) 길이 범위 및 상기 비둘기 중 판별방법에서 집비둘기로 판별하는 길이 측정 범위 중 (12) 길이 범위를 가짐;
- [0078] 본 명세서에서 제공하는 비둘기 중 판별방법의 상기 조성물을 이용하여, 검출 대상 유전자 단편의 다형성을 확인하는 단계, 예컨대, 비둘기로부터 분리된 생물학적 시료에 상기 비둘기 중 판별용 조성물을 처리하여 검출 대상 유전자 단편을 얻는 단계는 PCR의 방법으로 진행될 수 있고, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0079] 본 명세서에서 제공하는 비둘기 중 판별방법의 상기 조성물을 이용하여, 검출 대상 유전자 단편의 다형성을 확

인하는 단계는 Gel loading, 또는 Sequencing의 방법으로 진행될 수 있고, 이에 제한되는 것은 아니다.

발명의 효과

[0080] 본 발명은 InDel을 이용하여 선별된 바이오 마커를 검출하는 체제를 포함하는, 비둘기 중 판별용 조성물 및 이를 이용한 비둘기 중 판별방법에 관한 것으로, 양비둘기와 집비둘기의 잡종, 양비둘기 및 집비둘기로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 비둘기를 구별하는 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

[0081] 도 1은 양비둘기 및 집비둘기에 개체에 대해 Genom Analysis Toolkit (GATK)를 이용한 변이 분석한 결과를 나타낸 그래프이다.

도 2는 양비둘기 및 집비둘기 에 대해 PCR 및 Gel loading을 수행하여 InDel polymorphsim을 보이는 프라이머를 확인한 결과이다.

도 3은 양비둘기 및 집비둘기 중간 InDel polymorphism을 보이는 프라이머를 양비둘기 16개체 및 집비둘기 14개체에 대해 추가 테스트를 하여 InDel polymorphsim을 보이는 프라이머를 확인한 결과이다.

도 4는 1차적으로 선별된 프라이머로 양비둘기 3개체 및 집비둘기 3개체의 잡종에 대해 PCR 및 Gel loading을 수행하여 밴드 패턴을 확인한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0082] 이하, 본 발명을 실시예를 통해 보다 상세히 설명한다. 그러나 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것으로, 본 발명의 권리범위를 제한하지 않는다.

[0084] 실시예 1. 양비둘기 및 집비둘기 간 서열이 다른 구간 선별

[0085] 실시예 1-1. WGS 데이터 분석

[0086] 양비둘기 잡종 판별 마커 개발을 위해 동물자원의 유전자 다양성 연구 4단계 1차년도 (국립생물자원관, 2018)에서 수행한 양비둘기 및 집비둘기의 WGS (Whole Genome Sequencing) 데이터를 활용하였다. WGS 분석에 사용된 샘플은 양비둘기 7개체, 집비둘기 1개체, 바위비둘기 6개체이고 데이터 출처 및 상세 내용을 하기 표 1에 나타내었다. 양비둘기 WGS 분석 개체의 경우 네 개체는 부모 및 자식 간의 관계인 개체를 포함시켜 세대 유전으로 인한 변이가 발생하는 region은 제외할 수 있게 설계하였다.

표 1

국명/학명	품종명	자료 출처	채집 지역	샘플번호	비고
양비둘기 (<i>Columba rupestris</i>)	-	국립생물자원관	전남 고흥군	IN3903	부
			전남 고흥군	IN3905	모
			전남 고흥군	IN3897	증식 1
			전남 고흥군	IN3902	증식 2
			경남 의령군	IN3848	-
			전남 구례군	IN3907	-
		NCBI	-	SRS346866	-
집비둘기 (<i>Columba livia domestica</i>)	-	국립생물자원관	경기 고양시	IN3788	-
바위비둘기 (<i>Columba livia</i>)	Danish Tumbler	NCBI	-	Assembly name (Cliv_1.0)	-
	English pouter		-	SRS346884	-
	Fantail		-	SRS346865	-
	Parlor roller		-	SRS346899	-
	Scandaroon		-	SRS346873	-
	Chinese owl		-	SRS346877	-

[0088] 상기 양비둘기 7개체 및 집비둘기 7개체 (집비둘기 1개체, 바위비둘기 6개체) 두 종의 WGS 서열 맵핑과 insertion/deletion polymorphism (InDels)를 확인하기 위해 기존 보고된 표준 게놈 전장유전체 (reference)인

Cliv_1.0 개체의 데이터를 활용하였다. 우선, 양비둘기와 집비둘기 두 집단 간의 InDel Homozygous 변이를 추출 및 확인하였고, 변이 추출 조건으로 두 집단 간 서로 다른 유전체 변이가 나오는 경우로써, 집비둘기 그룹에서 Reference homo 변이로 확인되고 양비둘기 그룹에서 Alteration homo 유전체 변이가 나오는 경우를 추출하여 두 그룹 간 차이를 보이는 구간 (region)을 추출하였다. 이 과정에서 모계유전인 mtDNA와 반복 (repeat) 구간인 microsatellite 구간은 분류하여 분석에서 제외하였다.

[0089] 실시예 1-2. 양비둘기 및 집비둘기의 표준 게놈 전장 유전체 서열 맵핑

[0090] 상기 실시예 1-1에서 준비한 양비둘기 (IN3903, IN3905, IN3907, IN3897, IN3902, IN3848, SRS346866)와 집비둘기 (IN3788, SRS346884, SRS346865, SRS346899, SRS346873, SRS346877, Cliv_1_0) 각 7개체의 Whole genome re-sequencing 데이터 생산 및 맵핑을 상기 실시예 1-1의 기존 보고된 표준 게놈 전장유전체 (reference)인 Cliv_1.0 개체의 데이터를 활용하였고, Alignment 과정에서 부정확한 결과를 산출할 가능성이 있는 low quality 염기 정보를 가지고 있는 데이터, 즉 Q20 미만의 염기가 40%이상인 리드가 제거되었으며, 평균 품질이 Q20이하인 리드 역시 제거하였다. 필터링 전 과정은 Sickie 프로그램에 의해 수행하였으며, Fastq 포맷 파일의 QC를 위한 FastQC 소프트웨어를 사용하였고 Base Quality, Duplication level, GC content를 가시적으로 확인하였다. 서열정렬 및 변이분석은 BWA alignment Tool을 사용하여 비둘기 데이터에 샘플들의 리드들을 맵핑하고, GATK를 이용하여 샘플들의 InDel calling을 수행하였고, 그 결과를 하기 표 2 및 3에 나타내었다.

표 2

Sample ID	Total Reads	Total Bases	Total Bases (Gb)	Clean bases (%)
IN3903	325,341,186	32,859,459,786	32.86	30,845,148,789 (93.87)
IN3905	355,011,462	35,856,157,662	35.86	33,608,681,358 (93.73)
IN3907	344,113,806	34,755,494,406	34.76	32,394,332,576 (93.21)
IN3897	388,529,680	39,241,497,680	39.24	36,706,799,973 (93.54)
IN3902	348,531,282	35,201,659,482	35.20	32,943,848,789 (93.59)
IN3848	335,614,864	33,897,101,264	33.90	31,643,440,301 (93.35)
SRS346866	226,867,820	22,459,914,180	22.46	20,665,267,749 (92.01)
IN3788	351,605,922	35,512,198,122	35.51	33,473,127,621 (94.26)
SRS346884	177,625,518	15,986,296,620	15.99	14,963,536,957 (93.60)
SRS346865	365,462,072	36,911,669,272	36.91	32,310,067,662 (87.53)
SRS346899	124,255,874	11,183,028,660	11.18	10,441,888,935 (93.37)
SRS346873	160,289,452	14,426,050,680	14.43	12,613,807,349 (87.44)
SRS346877	139,794,568	12,581,511,120	12.58	11,330,704,326 (90.06)
Cliv_1_0	1,618,848,510	127,271,228,520	127.27	80,404,060,169 (63.18)

표 3

Sample ID	≥ Q20 (%)	Mapped reads (%)	Average Depth	coverage_1X_rate (%)
IN3903	93.13	261,873,223 (91.85)	24	99.48
IN3905	96.09	276,116,716 (90.59)	25.29	99.50
IN3907	95.77	270,266,666 (90.75)	24.75	99.49
IN3897	95.96	307,866,339 (91.36)	28.22	99.51
IN3902	95.86	281,324,540 (92.05)	25.78	99.49
IN3848	95.84	248,908,138 (88.43)	22.78	99.46
SRS346866	94.73	164,757,170 (90.56)	14.62	99.25
IN3788	96.30	295,469,081 (94.45)	27.13	99.68
SRS346884	96.30	131,798,183 (90.02)	10.75	99.20
SRS346865	93.86	269,526,200 (90.97)	24.4	99.63
SRS346899	96.84	99,093,772 (90.20)	8.07	98.74
SRS346873	92.21	124,883,569 (91.25)	10	98.81
SRS346877	93.91	106,727,310 (89.13)	8.61	98.61
Cliv_1_0	92.28	517,743,459 (88.00)	45.67	99.93

[0093] 그 결과, 각 샘플은 32.86 ~ 127.27 GB의 raw data를 생산하였으며, Quality score 20의 값은 92.21 ~ 96.84%로 나타났다. 각 개체의 시퀀싱된 전체 리드들 중에서 88.00% ~ 94.45%의 리드들이 8.61 ~ 45.67 read depth와

함께 맵핑되었다. 특히 맵핑된 리드들에 대한 지놈 커버리지 분석 시, 전체 데이터에 대해 99.20% ~ 99.93%의 커버리지를 보였다.

[0094] 실시예 1-3. 양비둘기 및 집비둘기 집단 내 게놈의 InDels 변이 추출 및 두 집단 간 Heterozygous 변이 추출

[0095] 상기 실시예 1-1에서 준비한 양비둘기 (IN3903, IN3905, IN3907, IN3897, IN3902, IN3848, SRS346866)와 집비둘기 (IN3788, SRS346884, SRS346865, SRS346899, SRS346873, SRS346877, Cliv_1_0) 각 7개체에 대해 Genom Analysis Toolkit (GATK)을 이용하여 양비둘기와 집비둘기의 변이 분석을 진행하였고 그 결과를 하기 표 4, 5 및 도 1에 나타내었다.

표 4

[0096]

Sample ID	InDel		
	Homo	Hetero	Subtotal
IN3903	573,905	231,756	805,661
IN3905	560,700	244,724	805,424
IN3907	551,728	241,624	793,352
IN3897	554,981	259,896	814,877
IN3902	571,252	235,040	806,292
IN3848	535,554	233,064	768,618
SRS346866	451,230	226,154	677,384
IN3788	278,226	430,118	708,344
SRS346884	264,744	183,556	448,300
SRS346865	283,893	198,898	482,791
SRS346899	230,743	77,117	307,860
SRS346873	253,676	90,466	344,142
SRS346877	242,258	92,549	334,807
Cliv_1_0	27,384	198,646	226,030

표 5

[0097]

Type (alphabetical order)	Count	Percent
DOWNSTREAM	3,443,130	9.54%
EXON	972,718	2.69%
INTERGENIC	8,712,664	24.13%
INTRON	15,824,569	43.83%
NONE	3,385,177	9.38%
SPLICE_SITE_ACCEPTOR	3,066	0.01%
SPLICE_SITE_DONOR	2,844	0.01%
SPLICE_SITE_REGION	58,222	0.16%
TRANSCRIPT	433	0.00%
UPSTREAM	3,324,084	9.21%
UTR_3_PRIME	290,996	0.81%
UTR_5_PRIME	86,444	0.24%

[0098] 그 결과, 226,030 ~ 814,877의 InDels를 확인하였고, 양비둘기 집단 내 homo는 573,905 ~ 451,230의 InDel로 확인하였고, 집비둘기 집단 내 homo는 278,226 ~ 27,384의 InDel로 확인하였다 (표 4). 또한, 상기 추출된 변이 정보는 Intron에 43.83%로 가장 많은 비율로 위치하였고 Intergenic에 24.13%, exon 영역에 2.69%의 비율로 위치한 것을 확인되었다 (표 5, 도 1). 최종적으로 양비둘기의 7개체와 집비둘기 7개체 내에서 homo를 보이고 두 집단 간 hetero를 보이는 InDel은 87,335개로 확인하였다.

[0099] 실시예 2. 양비둘기, 집비둘기 및 이들의 잡종 개체 판별 마커 제조

[0100] 실시예 2-1. 마커 제조를 위한 테스트 프라이머 선정

[0101] 양비둘기와 집비둘기의 잡종 개체 선별 마커 개발을 위해 상기 실시예 1에서 양비둘기 및 집비둘기 각 개체 내에서 homo를 보이고, 두 집단 간 hetero를 보이는 InDel 87,335개 중 양비둘기와 집비둘기 간 InDel 다형성

(polymorphism)이 확인되는 InDel을 base pair의 크기가 큰 순서대로 정렬하였다. 20bp 이상이 되는 InDel 구간은 총 1,712개로 나타났으며, 이 중 데이터의 오류와 중복 등이 확인 되는 구간을 제외하였고 육안으로 선별이 가능하도록 InDel의 base pair (bp)가 34 bp 이상인 구간 총 68개를 추출하였다. 양비둘기와 집비둘기 간 InDel length가 49bp 이상인 구간은 19개 (HM (hybrid marker) 1-19), 40bp 이상 49bp 미만인 구간은 18개 (HM 20-37), 34bp 이상 40bp 미만인 구간은 31개 (HM 38-68)이다. 추출된 68개 구간의 프라이머를 제작하여 1, 2차 테스트를 실시하였고, 상기 마커 테스트는 이중 간의 잡종 교배의 경우, 그 자손 F1이 두 종의 특징을 반씩 가진다는 유전법칙을 전제로 실시하였고, 상기 프라이머의 정보를 하기 표 6에 나타내었다. 양비둘기 및 집비둘기 각 군의 개체들이 각각 동일한 bp로 측정이 되지만, 양비둘기 및 집비둘기 군 간의 측정된 bp가 다른 경우를 기준으로 선별을 진행하였다.

표 6

프라이머 이름	InDel length (bp)	Type	Gene	Sequence (5'→3')	Product size (bp)	서열 번호
HM 1_For	53	intergenic_region	exon-XR_002407624.1-1-exon-XR_002407542.1-1	CTGTTGACCACTGTGGATTGTC	340	1
HM 1_Rev				GTCCTATCATTTGGTTGTCCTC		2
HM 2_For	84	intron_variant	exon-XR_002407624.1-1-exon-XR_002407542.1-1	CTTGATAACTACAGAGCAGGG	338	3
HM 2_Rev				CCCGATATGGTACCCTTTGT		4
HM 3_For	98	intron_variant	ISY1	GTTTCTACAGAACACCAGACCC	357	5
HM 3_Rev				ATAGTGACTCTTCCAGACACG		6
HM 4_For	66	intron_variant	COL23A1 (Collagen Type XXIII Alpha 1 Chain)	CTTCCCTCTCTTTCATCAGTG	354	7
HM 4_Rev				CATAGGAAGGGCAGTACATCTC		8
HM 5_For	50	intron_variant	SDK1 (Sidekick cell adhesion molecule 1)	GAAGTTAGGCAGTGACGTTCC	377	9
HM 5_Rev				CCTTTGAAATGTCGTGGC		10
HM 6_For	54	intergenic_region	KIF16B-exon-XR_272157.2-1	GTAAGAGCTGAGCAATACACCC	361	11
HM 6_Rev				AGCTCAGTATTGCAGAGAGAGG		12
HM 7_For	52	intergenic_region	exon-XR_002417011.1-1-C1D	CTTGTAAGCTCAGAAGCAGTAGGG	397	13
HM 7_Rev				ACTCAGTGGACTCCTGATGTCT		14
HM 8_For	105	intron_variant	FBXL17 (F-box and leucine rich repeat protein 17)	CAGGTCAGTTAAGATGGAGGAG	395	15
HM 8_Rev				GTCTCTTCCACGAGGTACAATC		16
HM 9_For	64	intergenic_region	DTWD2-DMXL1 (DTW domain containing 2 - Dmx like 1)	ACCATGGTCTGACAAGAGAGC	388	17
HM 9_Rev				CAGCACAACAAACCTGCAC		18
HM 10_For	80	intergenic_region	WFOX-exon-XR_00241952.8.1-1	CTATCTTGACAGCTAAGTCGGG	371	19
HM 10_Rev				TACTTGTAGGTCTGGGGACAAC		20
HM 11_For	49	intergenic_region	TMEM74-exon-XR_002419776.1-1	GGTGACCCTGTTATACATAGCC	318	21
HM 11_Rev				GAGAAGACAGCTGGGAAAGTC		22
HM 12_For	56	intron_variant	HSPA12A (heat shock protein family A (Hsp70) member 12A)	GTCTCCTTTGAGGGGAATACAC	256	23
HM 12_Rev				TACTTCCAAAGACAGGCTGC		24
HM 13_For	53	intron_variant	SMYD3 (SET and MYND domain containing 3)	ACCTCACCTCACATCAACTCTC	198	25
HM 13_Rev				GGGTGTTATCCAGGAGAGAAAG		26
HM 14_For	79	intron_variant	LOC102083807 (MAM domain-containing glycosylphosphatidylinositol anchor protein 2)	AGATCCTGGAACCTACTGTCTCT	252	27
HM 14_Rev				CATCTCACTCTCGGGATCTATG		28
HM 15_For	60	intron_variant	GALNT17 (polypeptide N-acetylgalactosaminyl transferase 17)	GGAGAGGAAGATCTATAGAGGAGC	364	29
HM 15_Rev				GATGATCATTGAGGGTCTCTTCC		30
HM 16_For	104	intron_variant	PDHA1 (pyruvate dehydrogenase E1 subunit alpha 1)	GACAGCCTGAGTTCTAATGACC	180	31
HM 16_Rev				CAATCTGCCTTGACATCCAC		32
HM 17_For	86	intron_variant	ADD2 (adducin 2)	CTTTGCTGGTCCCTGAAGT	272	33
HM 17_Rev				GGGACACAACGAAACGTTAG		34
HM 18_For	73	inframe_deletion	LOC110356040 (sialidase-like)	GATGGTATCTGTGATGTACCC	332	35
HM 18_Rev				GGGTGTCCTTAAGTCTGAGT		36

HM 19_For	133	intragenic_variant	LOC102085182 (brain-specific angiogenesis inhibitor 1)	GTTACGTATCCACAGACAGCAG	341	37
HM 19_Rev				GACCCTGAAGGTAAGTTGCAGT		38
HM 20_For	41	intergenic_region	VIPR2-ZMYND11 (vasoactive intestinal peptide receptor 2 - zinc finger MYND-type containing 11)	GTTCAGTCTGGGAACAATGG	250	39
HM 20_Rev				CTAGTCAATGGACTGGAGTTGG		40
HM 21_For	42	intron_variant	DPYD (dihydropyrimidine dehydrogenase)	CATTGACTCAGGCTTTCACC	383	41
HM 21_Rev				GAACTAGGAGTCTGGATCTAGGG		42
HM 22_For	49	intergenic_region	exon-XR_002411026.1-1-exon-XR_002411022.1-1	GTGTATGTGGACTCACAGGATG	351	43
HM 22_Rev				GGTGGATGTTGGAGATCAGT		44
HM 23_For	42	intron_variant	PCDH7 (protocadherin 7)	GGTACAAAACCAAGTGTGGG	232	45
HM 23_Rev				CTGTGATGTTAGTTACGCCCTC		46
HM 24_For	48	intron_variant	TUBGCP5 (tubulin gamma complex associated protein 5)	AACTCAACCTCTGAGTAGGGAG	328	47
HM 24_Rev				CCATACCGTTGCTTTACGG		48
HM 25_For	40	intron_variant	SGCD (sarcoglycan delta)	AGAGCAGAGATTCCCCTGTAG	359	49
HM 25_Rev				CTGCTACTCCTTCTCTCAAG		50
HM 26_For	42	intron_variant	LOC102090285 (filamin-C)	GTCATAGGGACACCTTACATGG	352	51
HM 26_Rev				CCCAACAAGGTTCTCATGGT		52
HM 27_For	46	intron_variant	MEF2C (myocyte enhancer factor 2C)	TCTGGTCTGTAAGAGACACTGC	383	53
HM 27_Rev				GCACTAACCCATGTCCCTAAG		54
HM 28_For	47	intron_variant	PCMTD1 (protein-L-isoaspartate (D-aspartate) O-methyltransferase domain containing 1)	GTGCAGGGAAGCAACACTAT	261	55
HM 28_Rev				CTGGCTGACCTTCTCTATCTACAG		56
HM 29_For	43	intergenic_region	exon-XR_002418568.1-1-EGFR	AGGTGTACACAGGAGACTCACAG	383	57
HM 29_Rev				TAGGGTACCTATGATGAGGCAG		58
HM 30_For	41	intergenic_region	exon-XR_002419835.1-1-exon-XR_002419765.1-1	TTGCTCGGATGATTGGAC	397	59
HM 30_Rev				GTATCCACTTACTGTGCACTGGC		60
HM 31_For	49	intron_variant	PHF24 (PHD finger protein 24)	AATCTCCTCTCCCTCATAGCAG	297	61
HM 31_Rev				GACACATCACATCCACTCCAG		62
HM 32_For	46	intron_variant	LOC102083625 (glutamate receptor ionotropic, NMDA 2B)	GAGACCTGACAAGCTGACAGAC	382	63
HM 32_Rev				CTACTCCTAAGTTCAGTGGAGGC		64
HM 33_For	44	intron_variant	LRBA (LPS responsive beige-like anchor protein)	GGCAACACAGACAGAAGAACAG	275	65
HM 33_Rev				CTGTGGAAGTAGCGTGTAGTACC		66
HM 34_For	42	3_prime_UTR_variant	PRELID3A (PRELI domain containing 3A)	GGGGTACAAGACCAAGATAAGC	150	67
HM 34_Rev				GTATCTGTATGTTTACGCCCTGC		68
HM 35_For	43	intron_variant	HOOK3 (hook microtubule tethering protein 3)	GTCTCACCTCGTGTGACAGATAC	344	69
HM 35_Rev				GAAGTACCTGGAAGGCTGAAG		70
HM 36_For	41	intron_variant	LOC102087194 (pericentrin)	CAGAGTCCCAGACACTATGACAC	288	71
HM 36_Rev				CTCTCCAGGCTCAAGGAATAAG		72
HM 37_For	40	intron_variant	CFAP54 (cilia and flagella associated protein 54)	GCTAGCTGTGCTTTGGTAGGT	313	73
HM 37_Rev				CTACAGGAGTTGGAGTCAGAGAC		74
HM 38_For	39	intron_variant	PTPRD (protein tyrosine phosphatase receptor type D)	CACGCAGTCTACAGAAGGACTA	261	75
HM 38_Rev				CTTGAACCTGGAACCTGCT		76
HM 39_For	39	intergenic_region	exon-XR_002413668.1-1-exon-XR_002413592.1-1	CCTAAGTGAGAATGGGAGACAG	367	77
HM 39_Rev				GGGAGAGAGAGCACATATTCAC		78
HM 40_For	39	intergenic_region	LARP1-exon-XR_00241497.1-1	CTGTTGGCTCCTAAAGACTGCT	312	79
HM 40_Rev				CTGTTGACAGGGAACCCAG		80
HM 41_For	39	intron_variant	NCAM2 (neural cell adhesion molecule 2)	GTCAGATTATCAGTGTGAGGGG	241	81
HM 41_Rev				CGGTGTATAAAGCTACCCCTGTG		82

HM 42_For	39	intron_vari ant	LOC102094075 (ribose-phosphate pyrophosphokinase 2)	TGCAGTCACCACTACCTACTTG	361	83
HM 42_Rev				CTTCTCTCAAGTCTTTCCAGCC		84
HM 43_For	38	intron_vari ant	ABCC8 (ATP binding cassette subfamily C member 8)	GTAGTACTCCTCCTGTCCCATC	383	85
HM 43_Rev				ATAGTGATCCACGACTACCTGC		86
HM 44_For	38	intergenic_ region	exon-XR_002411415.1-1- HCN1	TACTTGGACCCACTCAGTAAGC	199	87
HM 44_Rev				GTCACCTGTCCCATACACCTCT		88
HM 45_For	38	intron_vari ant	TMEM229B (transmembrane protein 229B)	ACAGAGAGGCAGAGAGAGAAGTC	313	89
HM 45_Rev				AAGTACGTGGTGTAGAAGTGGC		90
HM 46_For	38	intergenic_ region	exon-XR_002418139.1-1- exon-XR_002418121.1-1	AGGTGTGCTGTTAGGTTAGGG	153	91
HM 46_Rev				ACCAACAGAACAGGTCAGGA		92
HM 47_For	38	intron_vari ant	DTNBP1 (dystrobrevin binding protein 1)	GTCACAGCTACCAGTTGTCTCAC	346	93
HM 47_Rev				CTATGCCTGCTGTCTACTTCTG		94
HM 48_For	37	intergenic_ region	exon-XR_002411013.1-1- exon-XR_002411039.1-1	GAATAGGAAGGGGTCTCCTAAC	304	95
HM 48_Rev				GATCTGTCTGCATCTCTGCTC		96
HM 49_For	37	intergenic_ region	PHAX-exon-XR_00241393 3.1-1	GTTATCACTCATCTGAGCACCC	393	97
HM 49_Rev				ATAGGCAAGACAGACAGGACAG		98
HM 50_For	36	intron_vari ant	ACP2 (acid phosphatase 2, lysosomal)	CTGTCTTGGCAGATCTTCAT	382	99
HM 50_Rev				TCTCTAACAGAGTCTGGGTCGT		100
HM 51_For	36	intron_vari ant	BTBD9 (BTB domain containing 9)	GCTATTCAGGAACACAGTCTCC	327	101
HM 51_Rev				GTTGAGCGTGCTCATACTTGTC		102
HM 52_For	36	intergenic_ region	SHANK3-ACR (SH3 and multiple ankyrin repeat domains 3 - acrosin)	AGAACAGACACACACAGAGG	193	103
HM 52_Rev				GTCTCTGGTGAACGTAGGAGTAG		104
HM 53_For	36	intron_vari ant	KCNH8 (potassium voltage-gated channel subfamily H member 8)	GCTGTGAAGTCTCTTGCCAT	180	105
HM 53_Rev				GTACCTCAACATCTCCCTGATG		106
HM 54_For	36	intron_vari ant	ZC3H7A (zinc finger CCCH-type containing 7A)	GCCACAGTGAAGGATAGAATGC	391	107
HM 54_Rev				CTAAGTCTCTCTTCCTTTCCCC		108
HM 55_For	36	intergenic_ region	exon-XR_002423765.1-1- LOC102089320	CCCCTGAGTGCAGGAGTATAA	251	109
HM 55_Rev				TCTACCACATCTCTGTCTTCC		110
HM 56_For	36	intergenic_ region	exon-XR_002424707.1-1- exon-XR_002424669.1-1	CCTGAGACCTCAAGTCTGTAT	221	111
HM 56_Rev				CAGCTGTGCAGAACTGAAAC		112
HM 57_For	36	intergenic_ region	GNAT3-GNAI1 (G protein subunit alpha transducin 3 - G protein subunit alpha i1)	TAGATGCTCCCCTGTTACCAC	333	113
HM 57_Rev				GGTGCTGTACCCTGCTGTAAT		114
HM 58_For	35	intergenic_ region	exon-XR_002423481.1-1- TGFB2	CTGACATGTTCTCTGTGCTTC	239	115
HM 58_Rev				ACAGTGGTTTGACCTGTACTCC		116
HM 59_For	35	intron_vari ant	LDLRAD3 (low density lipoprotein receptor class A domain containing 3)	GGGTGCTTTGTATCATCTGC	398	117
HM 59_Rev				CAGGATCCAATGAAGACCAC		118
HM 60_For	35	intergenic_ region	CELF4-exon-XR_00241607 9.1-1	TTGGGCAGGTTTATGCAC	238	119
HM 60_Rev				TTGGAGCCTCTTGCTTC		120
HM 61_For	35	intergenic_ region	exon-XR_002416512.1-1- exon-XR_002416506.1-1	TATGGACCAAGAAGGGGACTC	381	121
HM 61_Rev				CATCAACACCTGAGATGTACCC		122
HM 62_For	35	intron_vari ant	COMMD10 (COMM domain containing 10)	TATGTGAGGCCACAGAAAGC	363	123
HM 62_Rev				GTCCTGGTGAGAAGCATAAACC		124
HM 63_For	35	intergenic_ region	HSD17B4-PRR16 (hydroxysteroid 17-beta dehydrogenase 4 - proline rich 16)	CGTCTGGTCTCATCCAAAAG	398	125
HM 63_Rev				TAGTGGGTGAACAATCCAGC		126
HM 64_For	35	downstream_ gene_varian t	exon-XR_002420591.1-1	CACACAGGAGCAAAGCATTTC	334	127
HM 64_Rev				GATACCATTTTCGAGAGGAG		128
HM 65_For	35	intergenic_ region	exon-XR_002420591.1-1- exon-XR_002420609.1-1	CACACAGGAGCAAAGCATTTC	334	129

HM 65_Rev				GATACCATTTTCGAGAGGAG		130
HM 66_For	35	intron_variant	PRKN (parkin RBR E3 ubiquitin protein ligase)	CAATGGCTACTGATGCTACC	237	131
HM 66_Rev				TGTGTAGACCCTGTGTTCACC		132
HM 67_For	35	intergenic_region	HGF-exon-XR_002425946.1-1	TAGATGGTGCCTAAAAGCCC	373	133
HM 67_Rev				GCTCATTGAGGACTAGAGGAGA		134
HM 68_For	34	intergenic_region	PIGC-DNM3 (phosphatidylinositol glycan anchor biosynthesis class C - dynamin 3)	AGGCCTGATTGTACCGTCTAC	338	135
HM 68_Rev				CAGTGGAGTAAAGGACCATCTC		136

[0103] (상기 표 6에서, product size는 각 집비들기 집단의 측정된 bp 길이이고, InDel length는 집비들기 집단과 양비들기 집단 간의 bp 길이 차이를 의미하고, 양비들기 집단의 bp 길이는 집비들기 집단의 bp 길이보다 모두 짧다)

[0104] 실시예 2-2. 1차 마커 테스트

[0105] 1차 테스트는 양비들기와 집비들기 두 종을 명확하게 구분 가능한 종 특이적인 구간을 선별하기 위한 것으로서, 상기 실시예 2-1에서 준비한 68개의 프라이머 (구간)를 양비들기 및 집비들기 혈액에서 추출한 DNA 샘플을 대상으로 PCR 및 Gel loading 후 육안으로 base pair 갯수를 확인하여 두 종 간 차이를 보이는 구간 (프라이머)을 선별하였다. 모든 샘플의 PCR 증폭은 2xLamp Taq PCR Pre-Mix (Biofact, Daejeon, Korea)를 사용하여 30ul의 혼합물량으로 PCR을 진행하였고, 각 프라이머의 구체적인 PCR 수행 조건을 하기 표 7에 나타내었다.

표 7

[0106]

Primer	Pre- denaturation	Replication cycle				Final Extention
		Denaturation	Annealing	Extention	Cycles	
HM 1	95℃, 2:00	95℃, 0:20	57℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 2	95℃, 2:00	95℃, 0:20	57℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 3	95℃, 2:00	95℃, 0:20	57℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 4	95℃, 2:00	95℃, 0:20	52℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 5	95℃, 2:00	95℃, 0:20	57℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 6	95℃, 2:00	95℃, 0:20	57℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 7	95℃, 2:00	95℃, 0:20	57℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 8	95℃, 2:00	95℃, 0:20	52℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 9	95℃, 2:00	95℃, 0:20	57℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 10	95℃, 2:00	95℃, 0:20	57℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 11	95℃, 2:00	95℃, 0:20	57℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 12	95℃, 2:00	95℃, 0:20	57℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 13	95℃, 2:00	95℃, 0:20	57℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 14	95℃, 2:00	95℃, 0:20	51℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 15	95℃, 2:00	95℃, 0:20	57℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 16	95℃, 2:00	95℃, 0:20	57℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 17	95℃, 2:00	95℃, 0:20	52℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 18	95℃, 2:00	95℃, 0:20	57℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 19	95℃, 2:00	95℃, 0:20	57℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 20	95℃, 2:00	95℃, 0:20	60℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 21	95℃, 2:00	95℃, 0:20	60℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 22	95℃, 2:00	95℃, 0:20	51℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 23	95℃, 2:00	95℃, 0:20	60℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 24	95℃, 2:00	95℃, 0:20	51℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 25	95℃, 2:00	95℃, 0:20	52℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 26	95℃, 2:00	95℃, 0:20	60℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 27	95℃, 2:00	95℃, 0:20	60℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 28	95℃, 2:00	95℃, 0:20	60℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 29	95℃, 2:00	95℃, 0:20	60℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 30	95℃, 2:00	95℃, 0:20	49℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 31	95℃, 2:00	95℃, 0:20	49℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00

HM 32	95℃, 2:00	95℃, 0:20	54℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 33	95℃, 2:00	95℃, 0:20	60℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 34	95℃, 2:00	95℃, 0:20	52℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 35	95℃, 2:00	95℃, 0:20	51℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 36	95℃, 2:00	95℃, 0:20	60℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 37	95℃, 2:00	95℃, 0:20	53℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 38	95℃, 2:00	95℃, 0:20	56℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 39	95℃, 2:00	95℃, 0:20	56℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 40	95℃, 2:00	95℃, 0:20	52℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 41	95℃, 2:00	95℃, 0:20	58℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 42	95℃, 2:00	95℃, 0:20	52℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 43	95℃, 2:00	95℃, 0:20	52℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 44	95℃, 2:00	95℃, 0:20	56℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 45	95℃, 2:00	95℃, 0:20	59℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 46	95℃, 2:00	95℃, 0:20	56℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 47	95℃, 2:00	95℃, 0:20	56℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 48	95℃, 2:00	95℃, 0:20	56℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 49	95℃, 2:00	95℃, 0:20	56℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 50	95℃, 2:00	95℃, 0:20	56℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 51	95℃, 2:00	95℃, 0:20	51℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 52	95℃, 2:00	95℃, 0:20	56℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 53	95℃, 2:00	95℃, 0:20	56℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 54	95℃, 2:00	95℃, 0:20	51℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 55	95℃, 2:00	95℃, 0:20	52℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 56	95℃, 2:00	95℃, 0:20	51℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 57	95℃, 2:00	95℃, 0:20	56℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 58	95℃, 2:00	95℃, 0:20	56℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 59	95℃, 2:00	95℃, 0:20	49℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 60	95℃, 2:00	95℃, 0:20	52℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 61	95℃, 2:00	95℃, 0:20	56℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 62	95℃, 2:00	95℃, 0:20	56℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 63	95℃, 2:00	95℃, 0:20	56℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 64	95℃, 2:00	95℃, 0:20	56℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 65	95℃, 2:00	95℃, 0:20	56℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 66	95℃, 2:00	95℃, 0:20	56℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 67	95℃, 2:00	95℃, 0:20	56℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00
HM 68	95℃, 2:00	95℃, 0:20	49℃, 0:30	72℃, 0:30	35	72℃, 5:00

[0107]

구체적으로, 상기 실시예 2-1에서 준비한 HM 1 내지 36의 프라이머로 양비둘기 4개체 및 집비둘기 5개체에 대해 테스트를 한 후, 두 종간 InDel polymorphism을 보이는 프라이머를 양비둘기 16개체 및 집비둘기 14개체에 대해 추가 테스트 실시하였다. 상기 실시예 2-1에서 준비한 HM 37 내지 68의 프라이머는 상기 양비둘기 4개체 및 집비둘기 5개체 대해 진행한 테스트에서 변이를 심하게 보이는 양비둘기 및 집비둘기 2개체를 각각 선별하여 테스트 후, 마찬가지로 두 종간 InDel polymorphism을 보이는 프라이머를 양비둘기 16개체 및 집비둘기 14개체에 대해 추가 테스트를 실시하였다. 상기 분석에 사용된 개체정보는 하기 표 8에 나타내었고, 상기 양비둘기 4개체 및 집비둘기 5개체에 대해 진행한 테스트 결과를 도 2a 내지 2m에 나타내었고, 이 후 양비둘기 16개체 및 집비둘기 14개체에 대해 추가 테스트를 실시한 결과를 도 3a 내지 3f에 나타내었다.

표 8

[0108]

종	성별	가락지 번호	포획장소(출신지)	비고
양비둘기	F	080-03166	구례군	16개체 분석 대상
양비둘기	M	080-03200	구례군	16개체 분석 대상
양비둘기	M	080-05552	구례군	16개체 분석 대상
양비둘기	F	080-05554	구례군	16개체 분석 대상
양비둘기	F	080-05555	구례군	16개체 분석 대상
양비둘기	F	080-05562	구례군	16개체 분석 대상, 4개체 분석 대상
양비둘기	F	080-05563	구례군	16개체 분석 대상

양비둘기	M	080-05564	구례군	16개체 분석 대상
양비둘기	M	080-05567	구례군	16개체 분석 대상, 2개체 분석 대상
양비둘기	F	080-05565	구례군	16개체 분석 대상, 2개체 분석 대상
양비둘기	F	080-05568	구례군	16개체 분석 대상
양비둘기	M	151	고흥군	16개체 분석 대상
양비둘기	M	152	고흥군	16개체 분석 대상
양비둘기	M	153	고흥군	16개체 분석 대상, 4개체 분석 대상
양비둘기	M	154	고흥군	16개체 분석 대상
양비둘기	F	155	고흥군	16개체 분석 대상
양비둘기	F	070-02412	구례군	4개체 분석 대상
양비둘기	M	070-02415	구례군	4개체 분석 대상
잡비둘기	F	080-07123	구례군	14개체 분석 대상
잡비둘기	F	080-07124	구례군	14개체 분석 대상, 2개체 분석 대상
잡비둘기	F	080-07153	센터(구례군x의령군)	14개체 분석 대상, 2개체 분석 대상
잡비둘기	F	080-07154	센터(구례군x의령군(=)	14개체 분석 대상
잡비둘기	F	080-05571	구례	14개체 분석 대상
잡비둘기	M	NIBRGR605608	여수	14개체 분석 대상
잡비둘기	M	NIBRGR605648	광양	14개체 분석 대상, 5개체 분석 대상
잡비둘기	M	NIBRGR605632	목포	14개체 분석 대상
잡비둘기	M	NIBRGR605633	광양	14개체 분석 대상
잡비둘기	F	080-05572	구례	14개체 분석 대상
잡비둘기	F	080-05574	구례	14개체 분석 대상, 5개체 분석 대상
잡비둘기	M	080-05575	구례	14개체 분석 대상
잡비둘기	F	080-05576	구례	14개체 분석 대상
잡비둘기	M	080-05577	구례	14개체 분석 대상
잡비둘기	M	080-07108	의령	5개체 분석 대상
잡비둘기	M	080-05573	구례	5개체 분석 대상
잡비둘기	M	080-07125	구례	5개체 분석 대상

[0109] 상기 양비둘기 및 잡비둘기 각 5개체에 대해 진행한 테스트 결과, 총 18개의 구간 (HM 22, 30, 31, 37, 41, 42, 43, 45, 50, 51, 54, 55, 56, 59, 60, 61, 66 및 68)이 양비둘기 및 잡비둘기를 구분하는 중 특이적인 마커로서 적합한 것으로 확인하였다 (도 2a 내지 2m). 상기 선별된 프라이머는 두 종간 base pair 갯수가 구분이 되는 구간이며, 선별되지 않은 프라이머는 두 종간 base pair 갯수의 차이를 보이지 않거나, double band가 뜨는 경우, band가 섞여 나오는 경우, PCR이 제대로 되지 않는 경우였다. 또한, 상기 선별된 18개의 프라이머를 이용하여, 상기 양비둘기 16개체 및 잡비둘기 14개체에 대해 진행한 추가 테스트 결과, 총 12개의 프라이머 (HM 30, 37, 41, 42, 43, 45, 51, 55, 56, 59, 60, 68)가 추가된 개체에서도 두 종간 base pair 갯수 차이가 뚜렷이 나는 것으로 확인되어 최종적으로 1차 테스트에 통과하였다 (도 3a 내지 3f). 제외된 프라이머는 양비둘기에서 잡비둘기 밴드가 뜨거나 혹은 그 반대, double band가 뜨는 경우, PCR 증폭에 어려움이 있는 경우였다.

[0110] 실시예 2-3. 2차 마커 테스트

[0111] 1차적으로 선별된 프라이머는 2차 테스트에서 멸종위기 종복원센터에서 생산한 잡종 1세대 (F1)를 대상으로 부모 개체와 F1의 유전 형질을 확인하는 실험을 실시하였다.

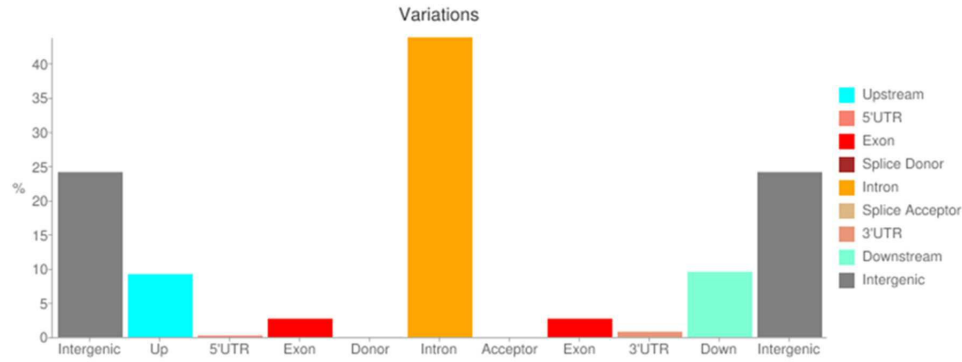
[0112] 구체적으로, 멸종위기종복원센터에서 증식한 양비둘기 3개체와 구례, 의령에서 포획한 잡비둘기 3개체로 짝을 형성하여 그 사이에 태어난 잡종 F1을 대상으로 DNA 추출 후 PCR 및 Gel loading하여 부모 개체와 F1 개체들의 밴드 패턴을 육안으로 확인하였다. 2차 테스트에서는 잡종 1세대인 F1은 부모의 형질을 하나씩 물려받는다라는 전제를 성립함을 조건으로 하고, 선별된 프라이머들은 모두 양비둘기와 잡비둘기가 확인한 base pair 갯수의 차이를 보이므로, 그 사이에 태어난 F1은 양비둘기와 잡비둘기의 형질을 가지는 double band의 형태를 보일 것으로 가정하여 실험을 진행하였다. 상기 표 7의 조건으로 1차적으로 선별된 프라이머를 이용하여 PCR 및 Gel loading 후 double band를 보이는 구간 (프라이머)을 최종적으로 선별하여 양비둘기와 잡비둘기의 잡종 판별 마커로 선정하였고, 상기 확인한 밴드 패턴을 도 4a 내지 4e에 나타내었다.

[0113] 그 결과, HM 30, 37, 41, 42, 43, 45, 55, 56 및 59, 총 9개의 프라이머가 잡종 자손인 F1에 대해 double band를 보이는 것으로 확인하여, 마커를 최종적으로 선별하였다. 그 외 HM 60 및 68은 부모 개체에서 양비둘기와 잡비둘기의 band가 뚜렷이 구분되었지만, 그 자손인 F1에서 일부 개체에 대해 한 줄의 band를 보였다. 이는 잡종

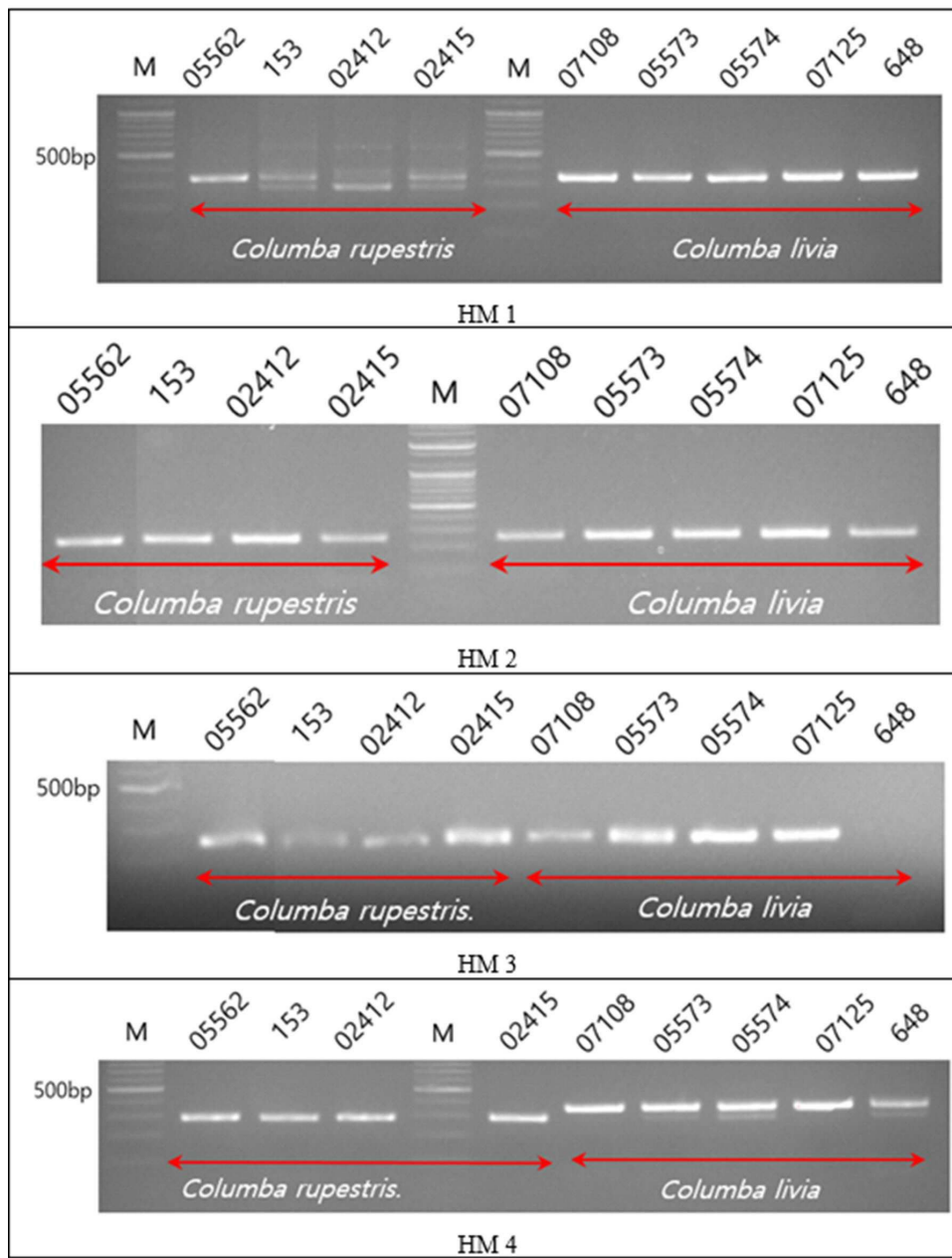
F1의 경우 양쪽 부모에게서 각각 하나의 유전형질을 물려받는다라는 유전법칙에 위배되며, 잡종 1세대의 유전적 형질을 제대로 확인 할 수 없는 구간으로 판명되므로 마커 선정에서 제외하였다. 선별된 9개의 마커는 잡종 1세대의 유전 형질을 유전법칙에 따라 제대로 설명하고 있으며, 부모의 형질을 각각 한 개씩 물려받은 F1의 특성을 명확히 보여주고 있다.

도면

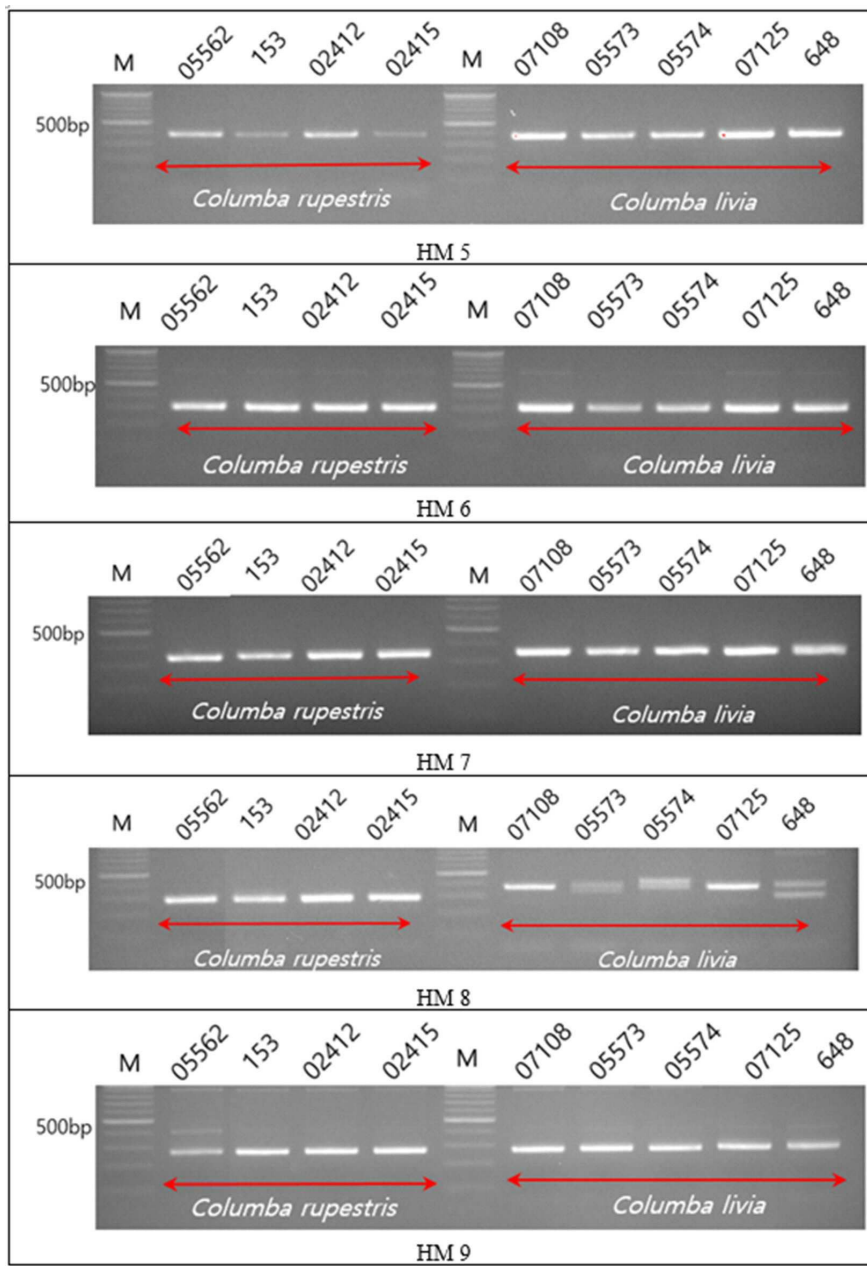
도면1



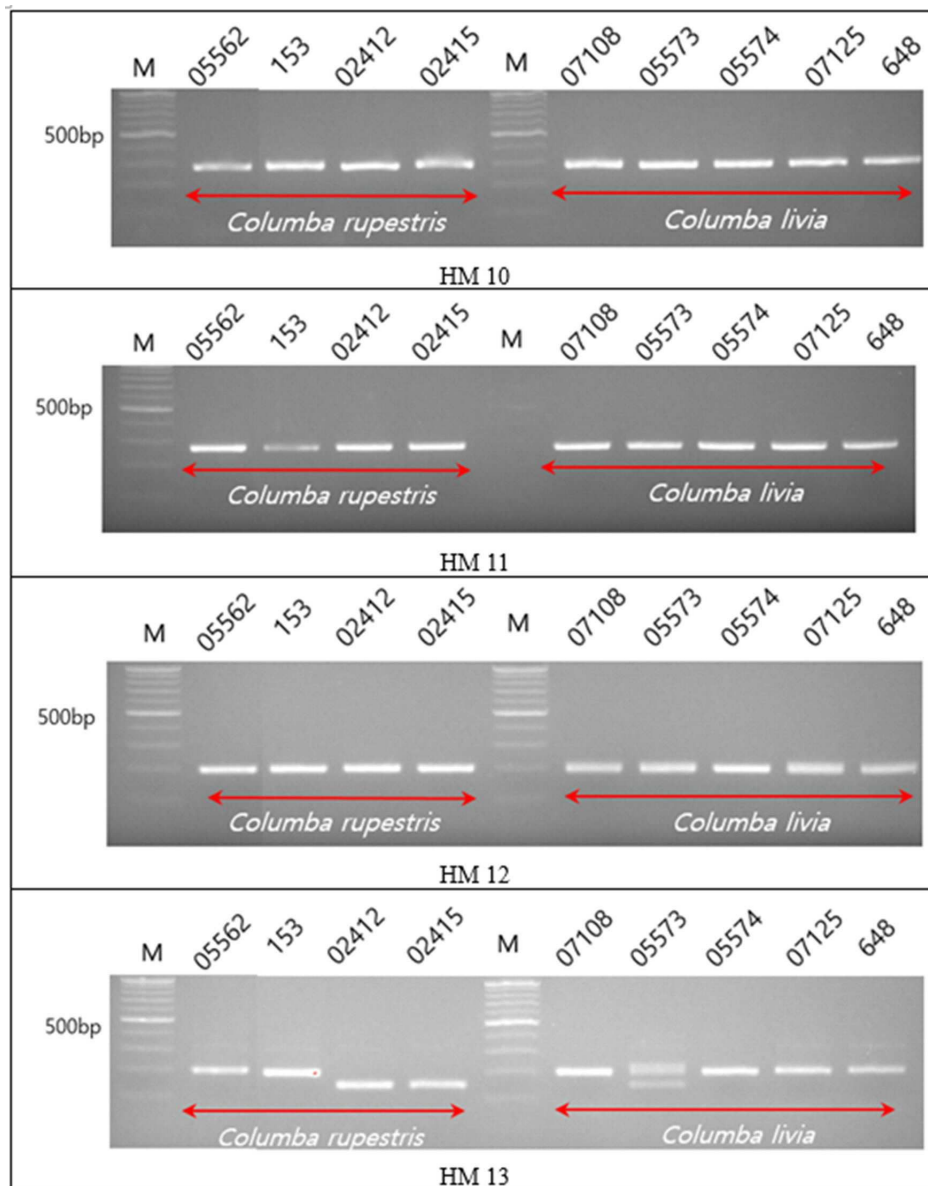
도면2a



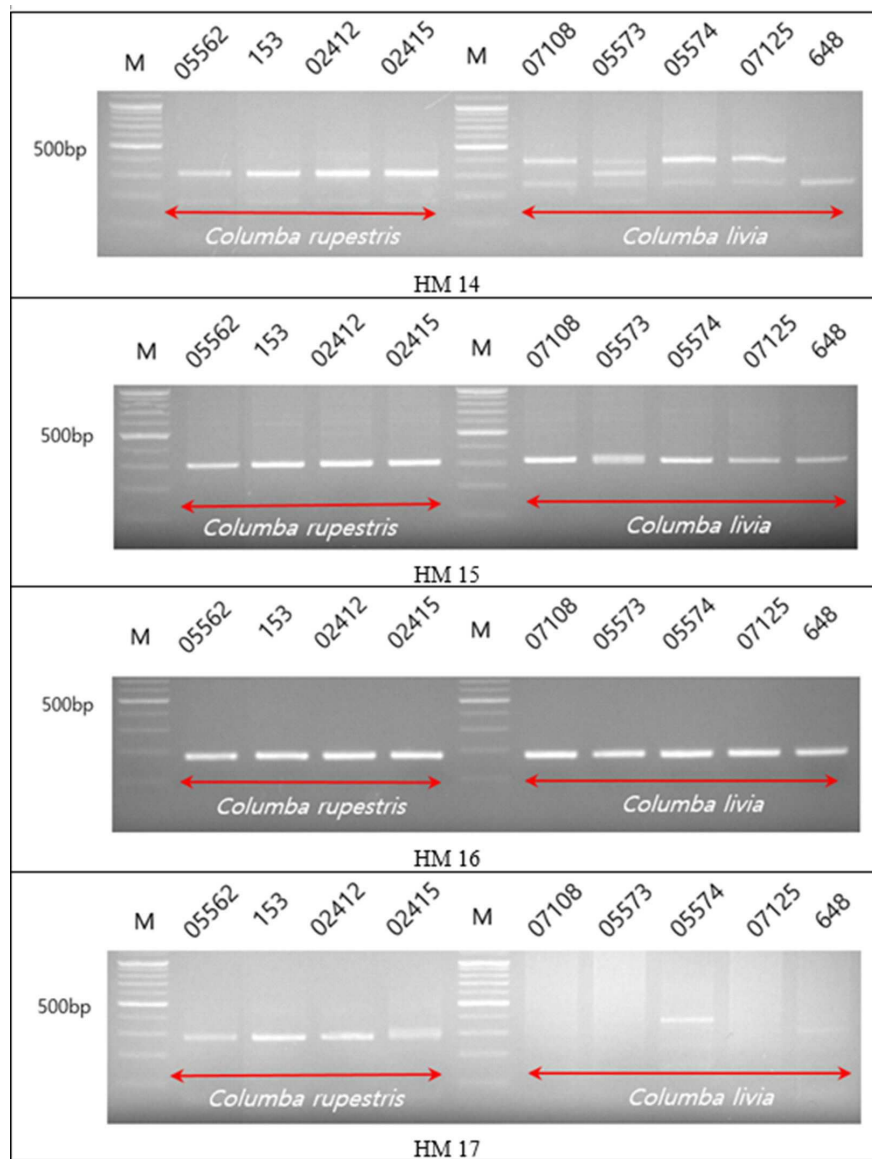
도면2b



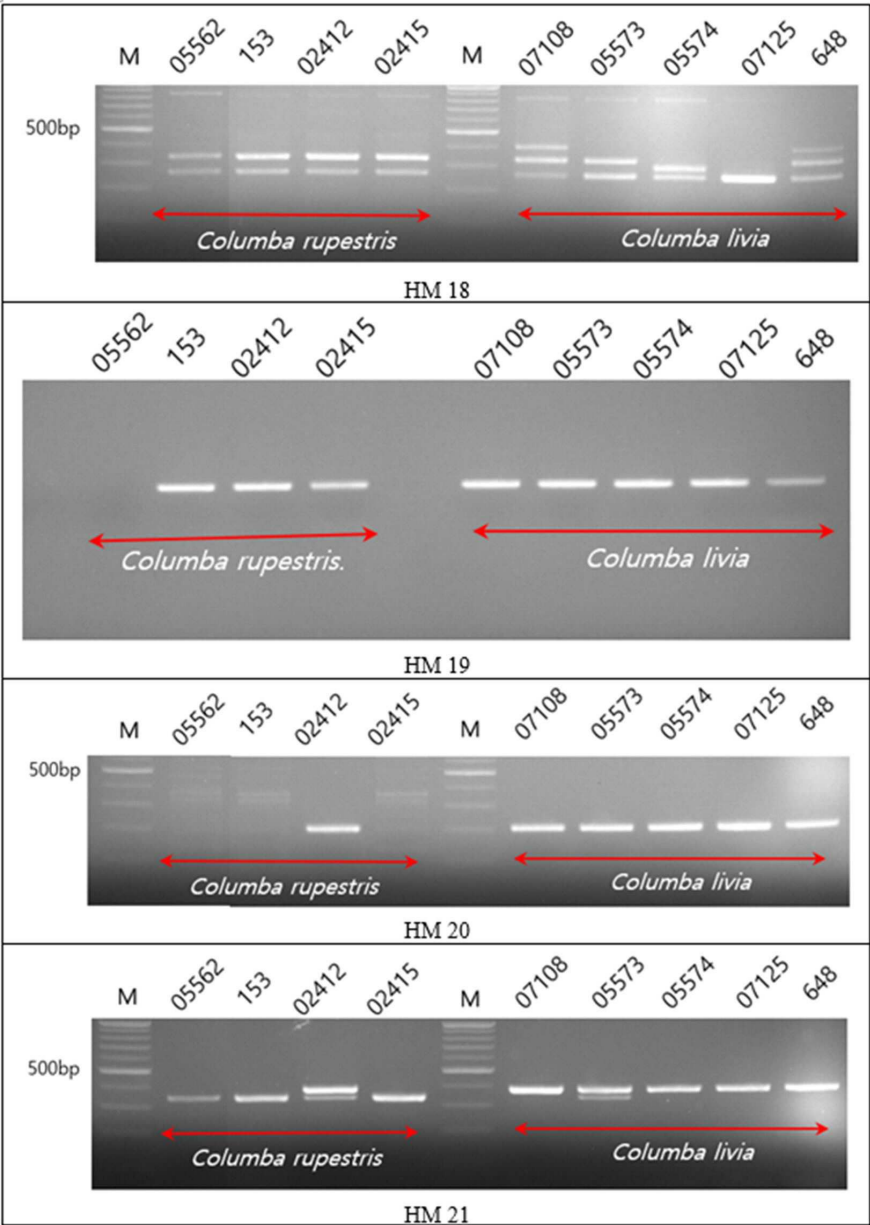
도면2c



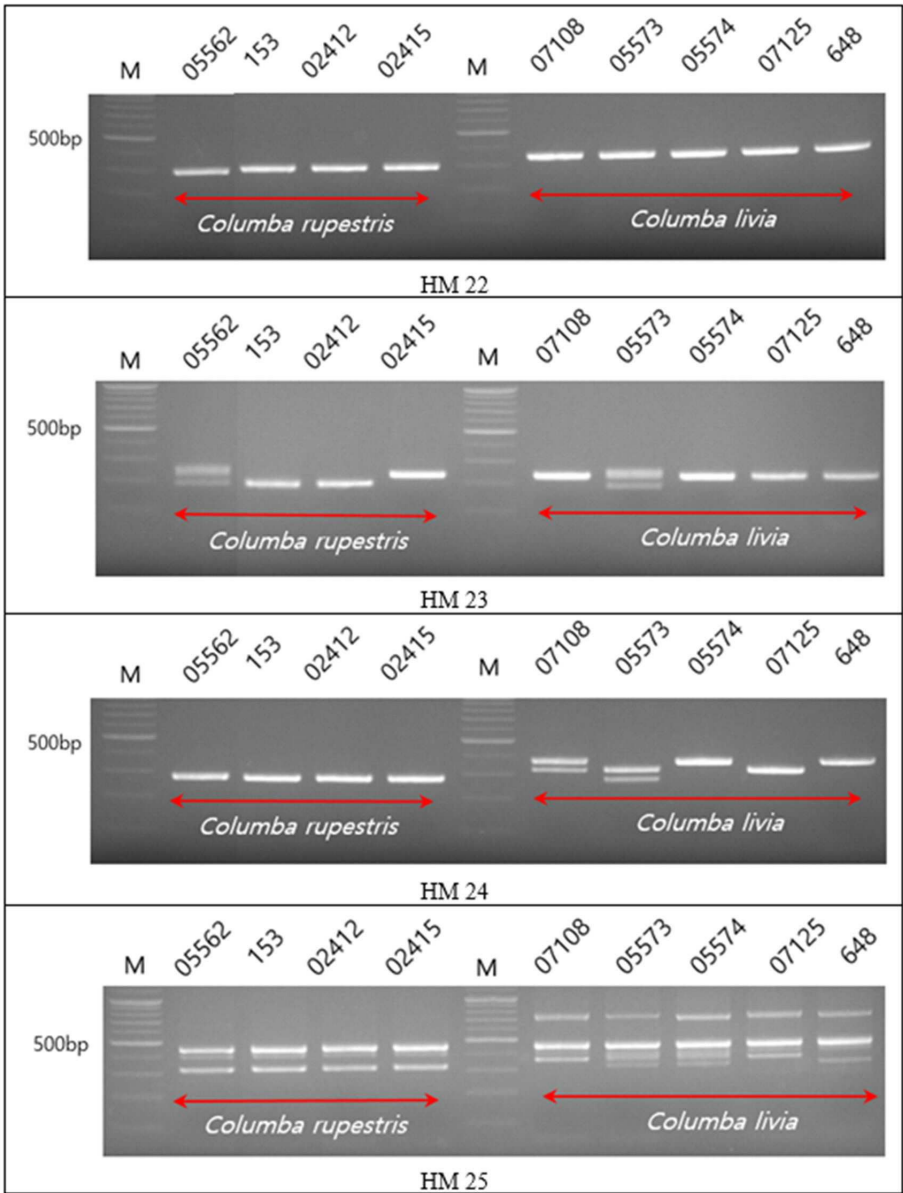
도면2d



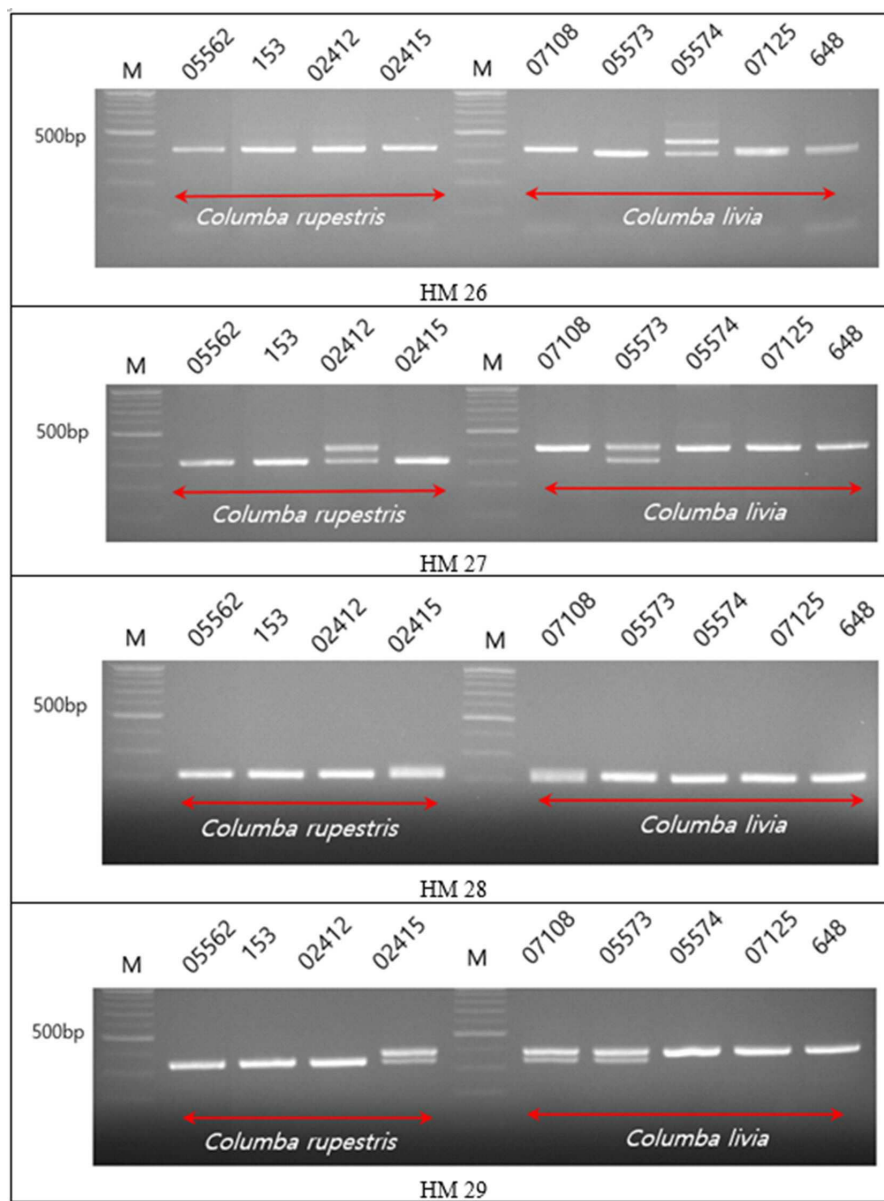
도면2e



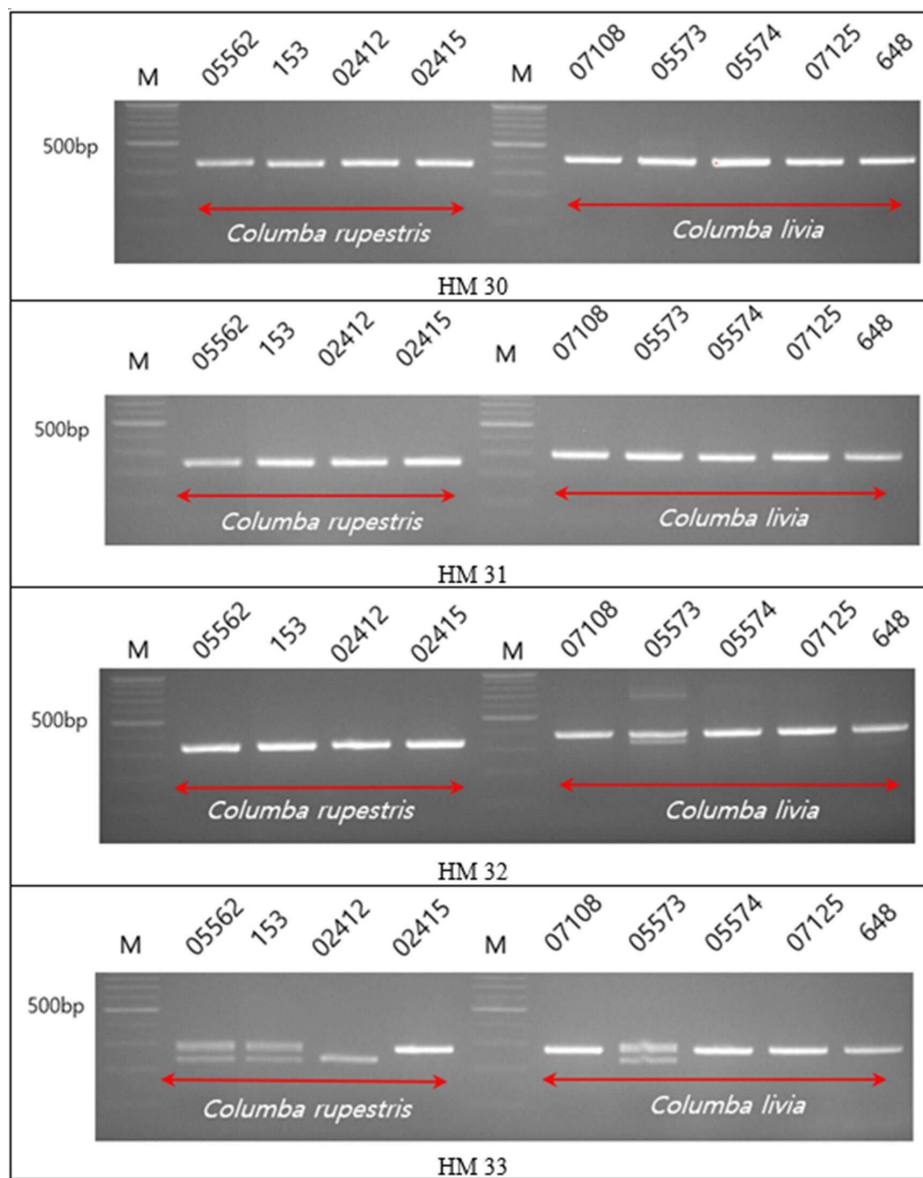
도면2f



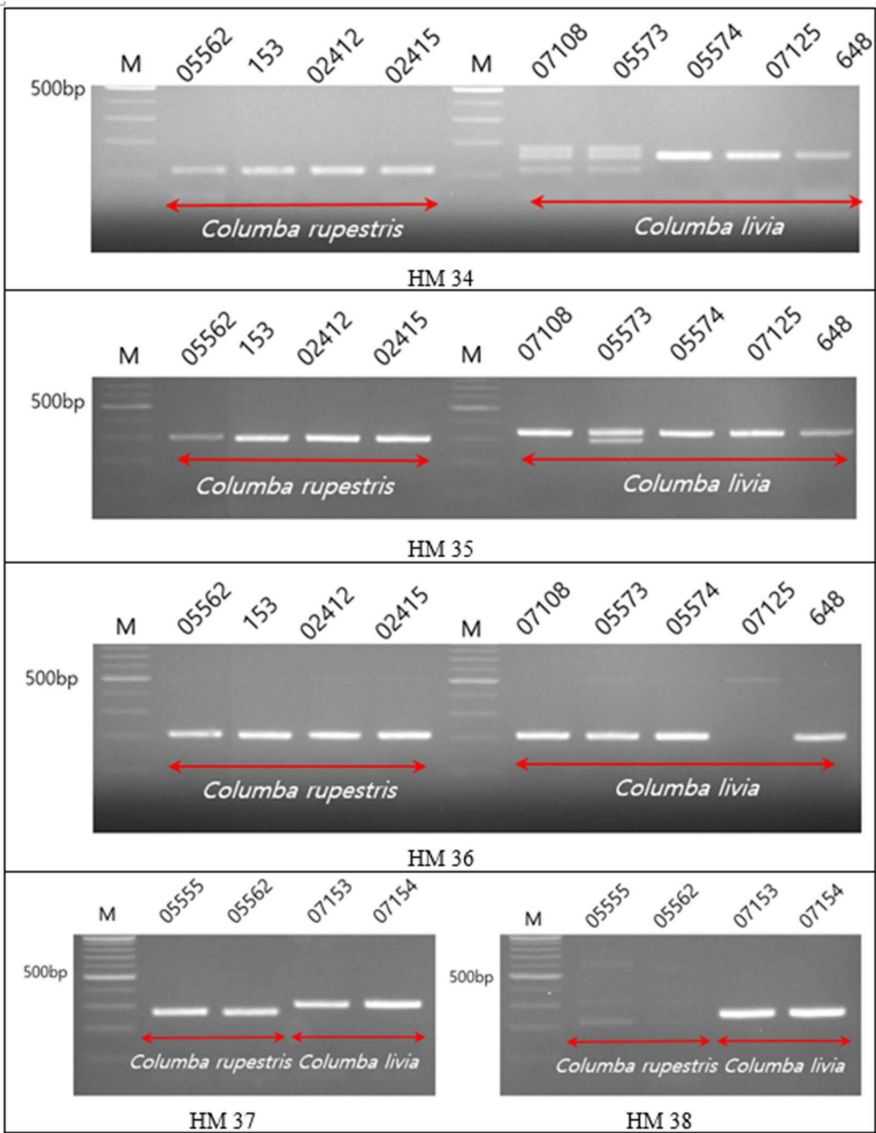
도면2g



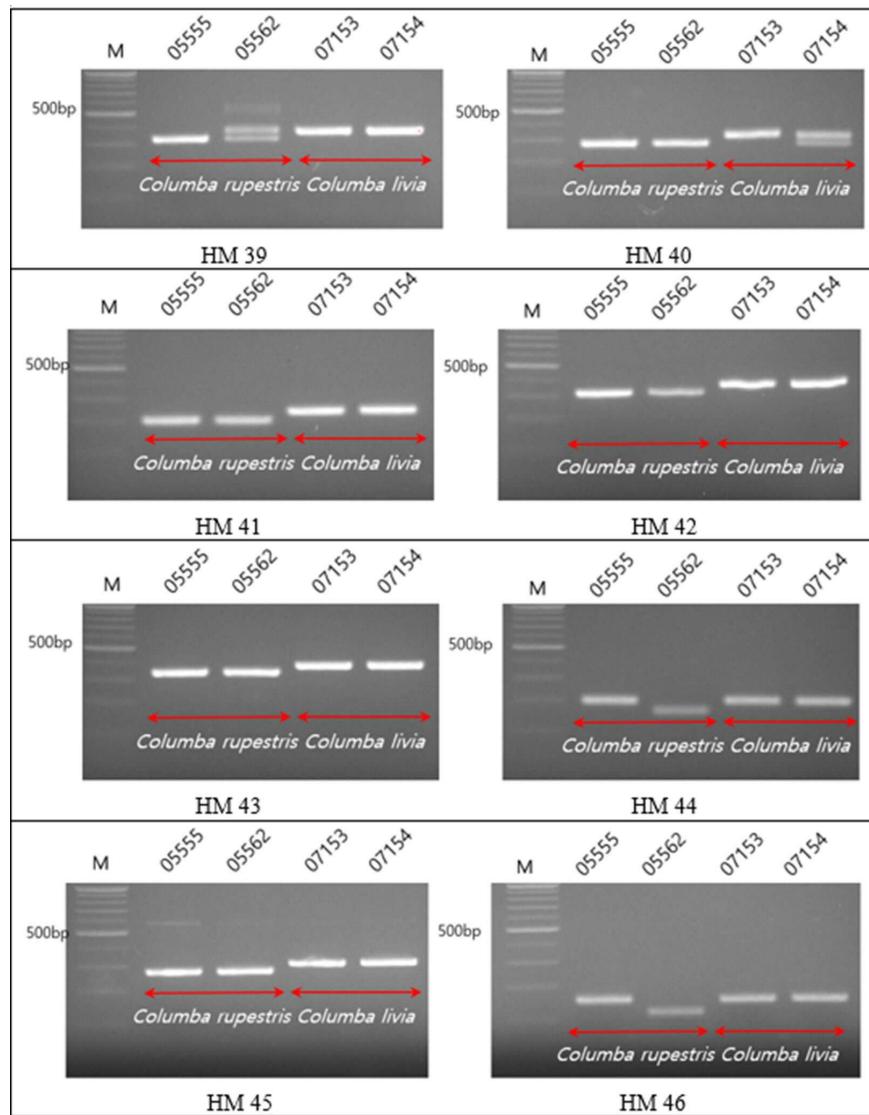
도면2h



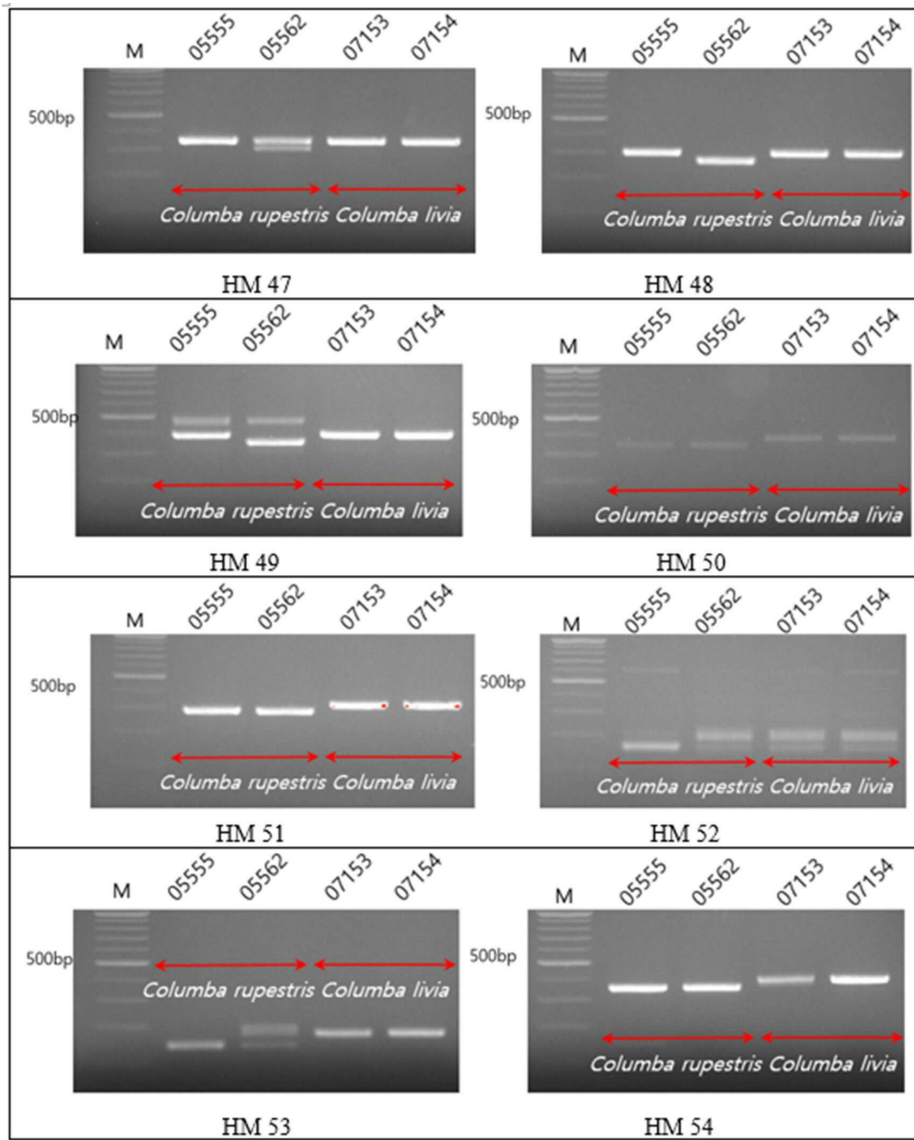
도면2i



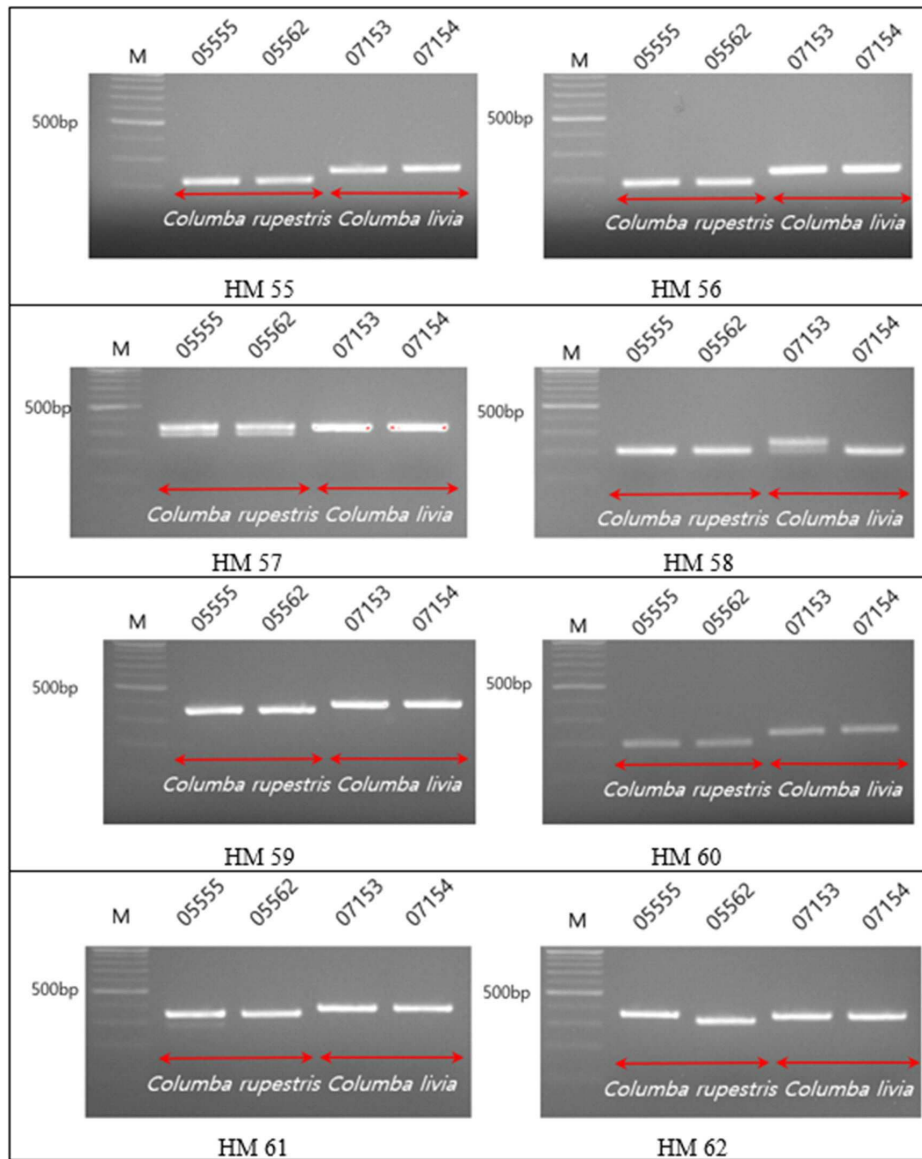
도면2j



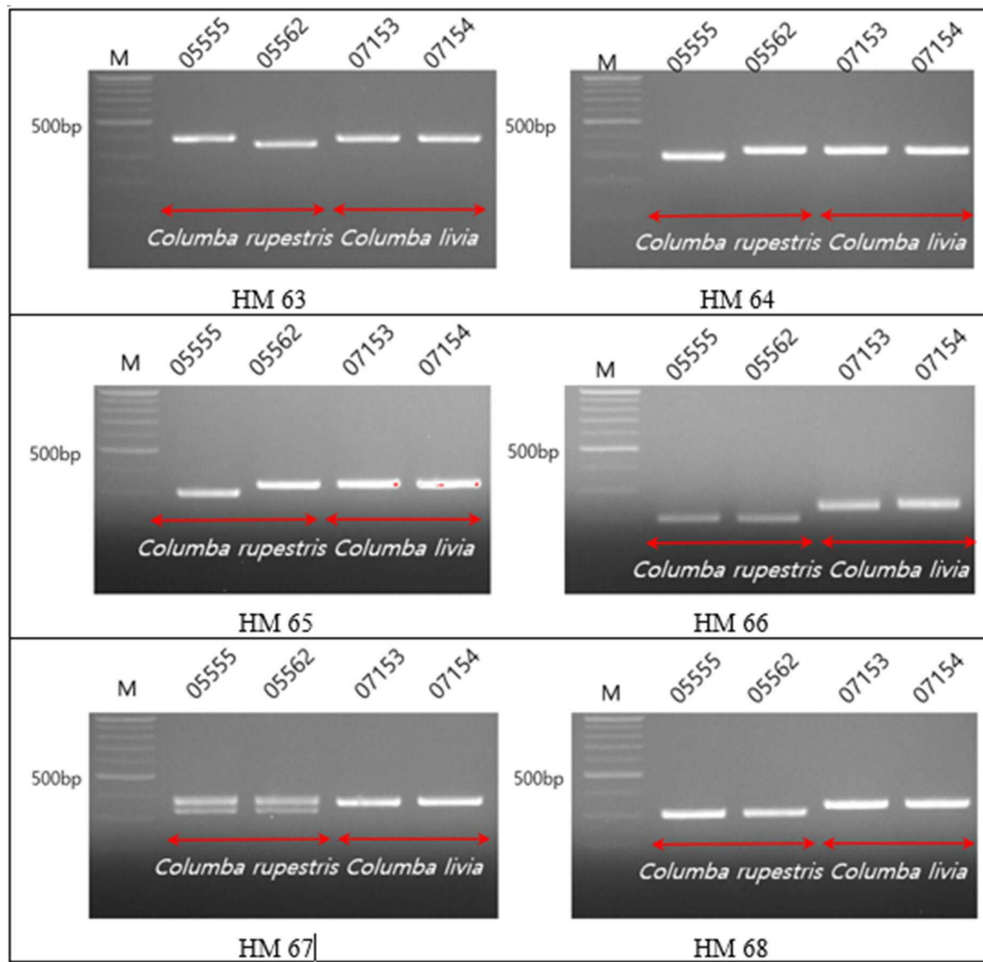
도면2k



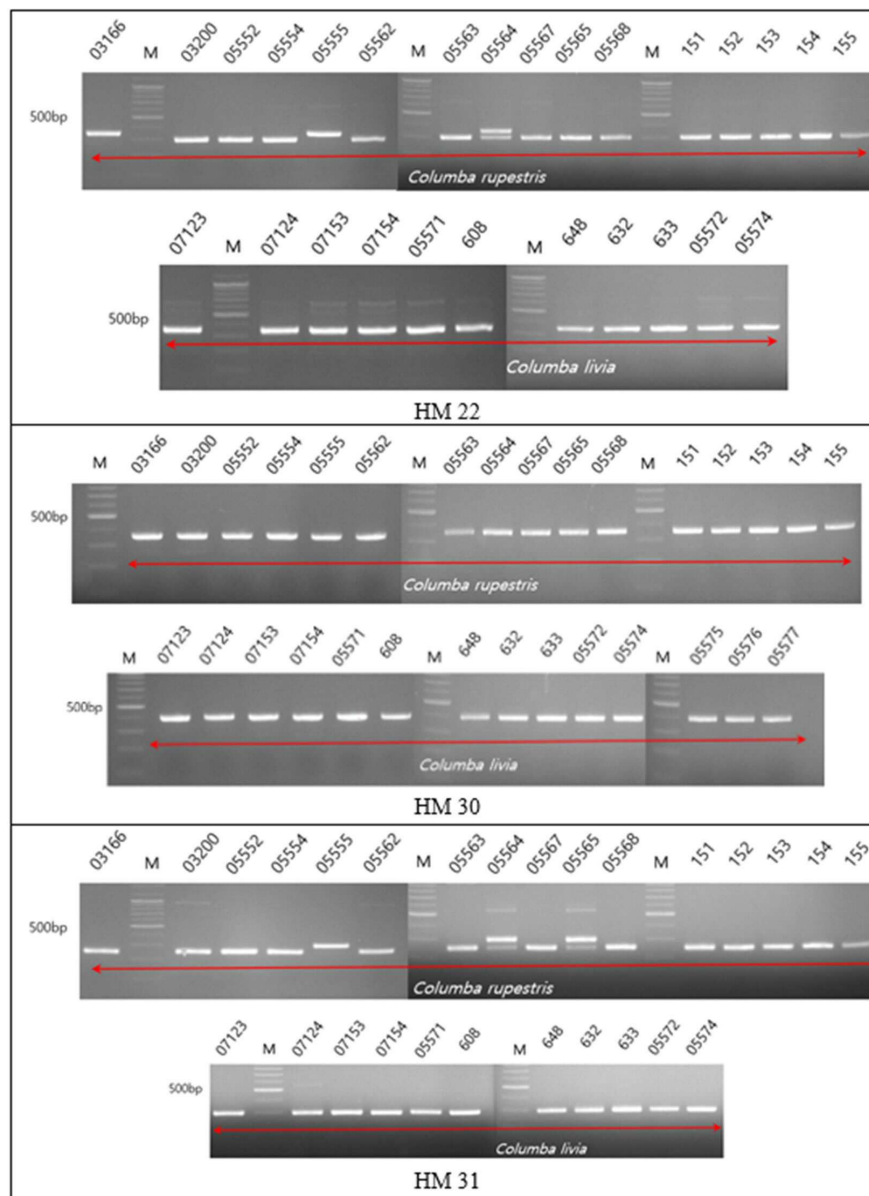
도면21



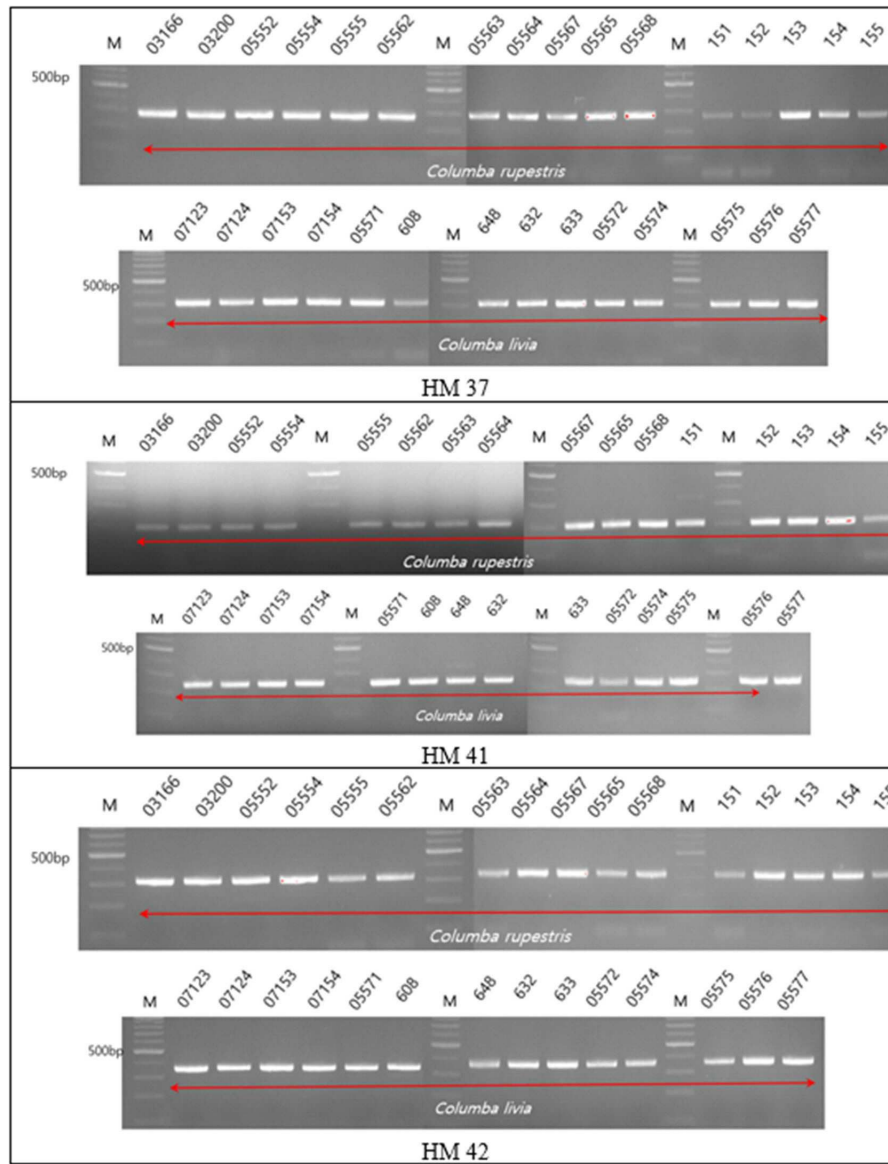
도면 2m



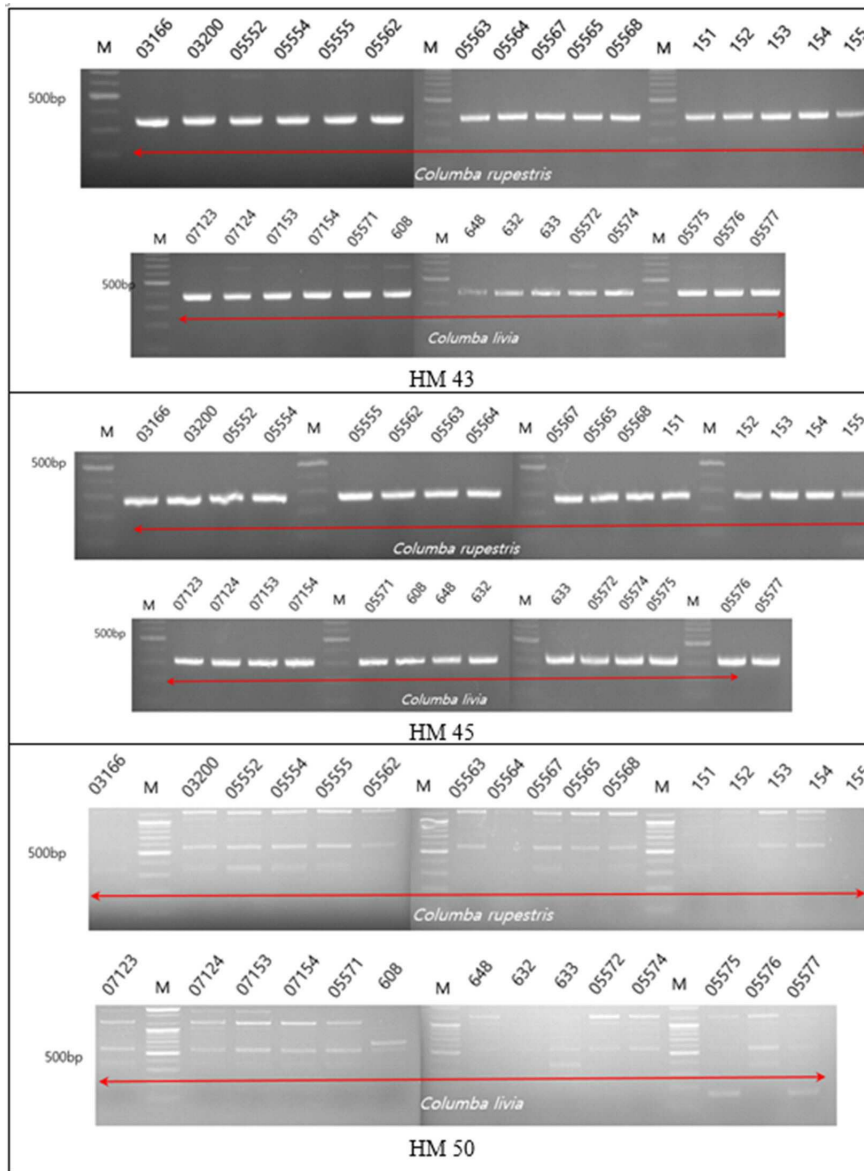
도면3a



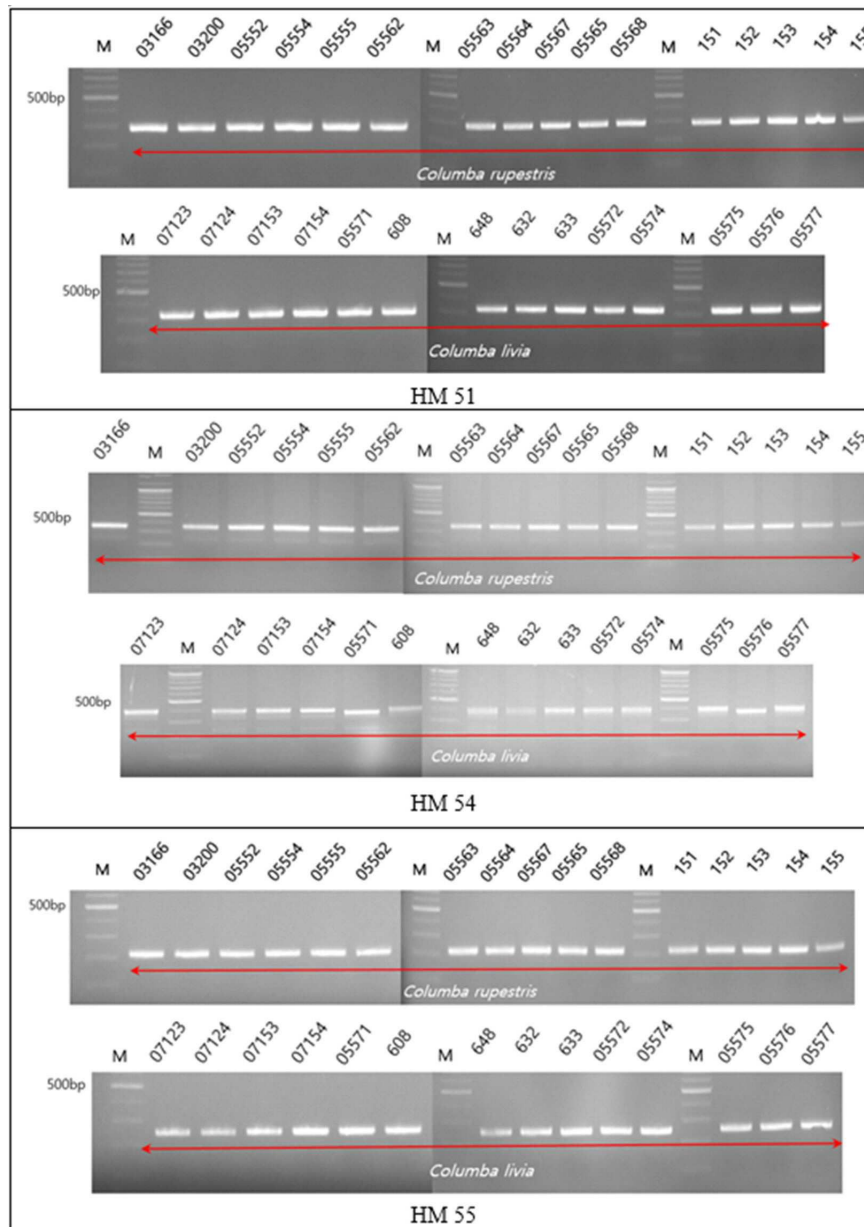
도면3b



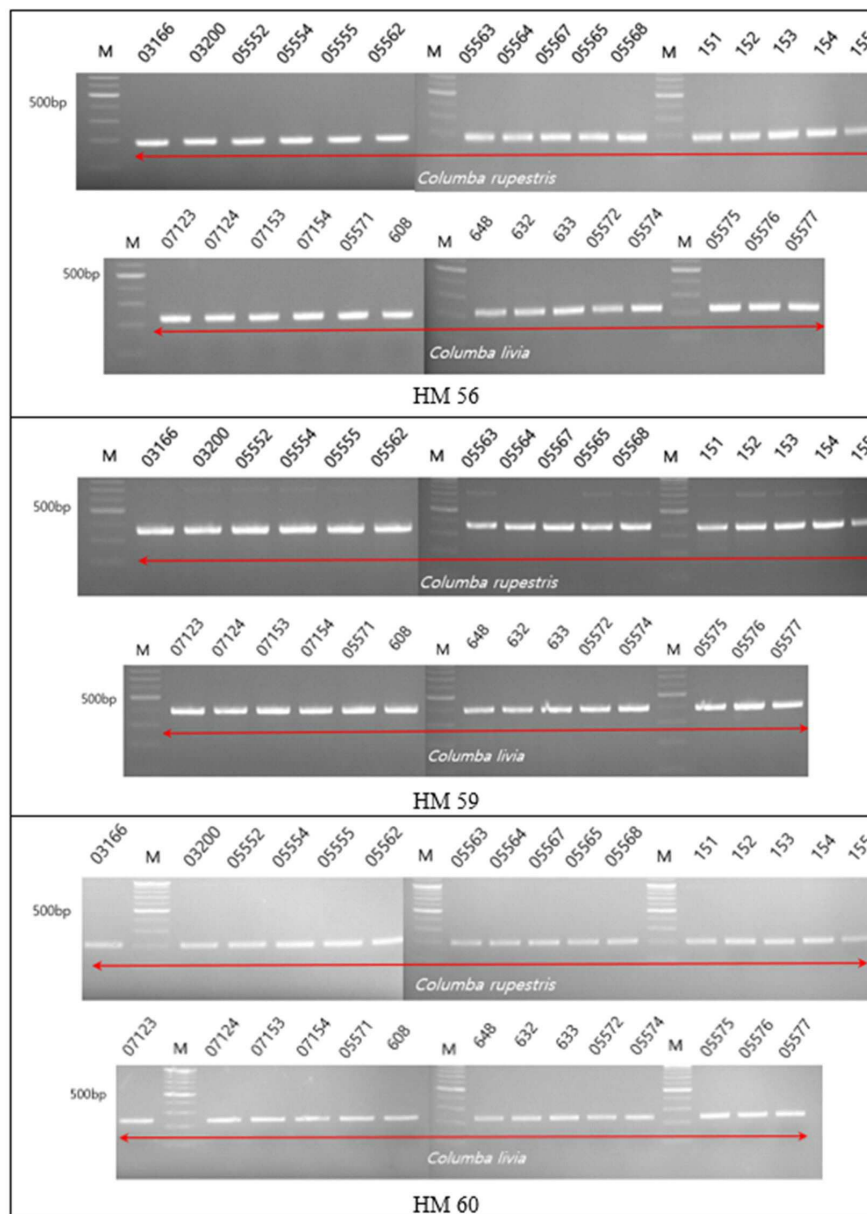
도면3c



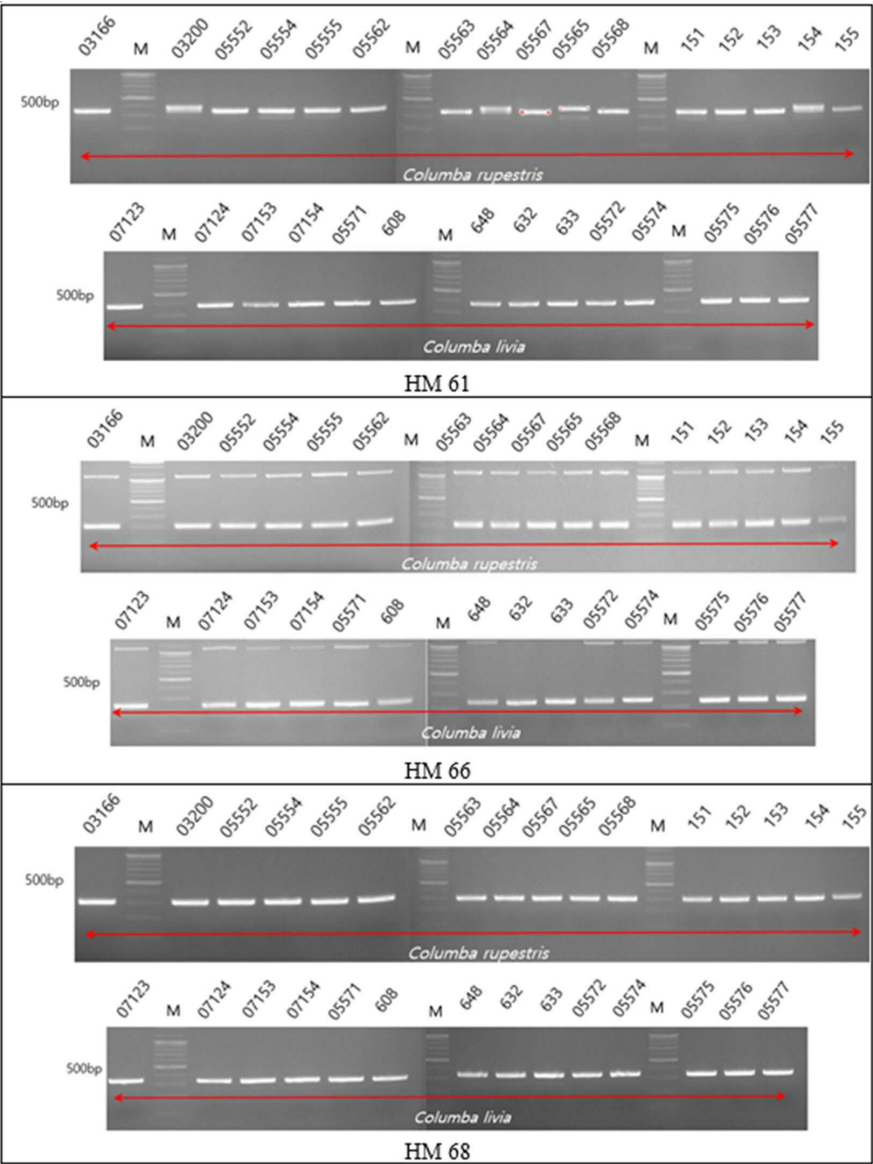
도면3d



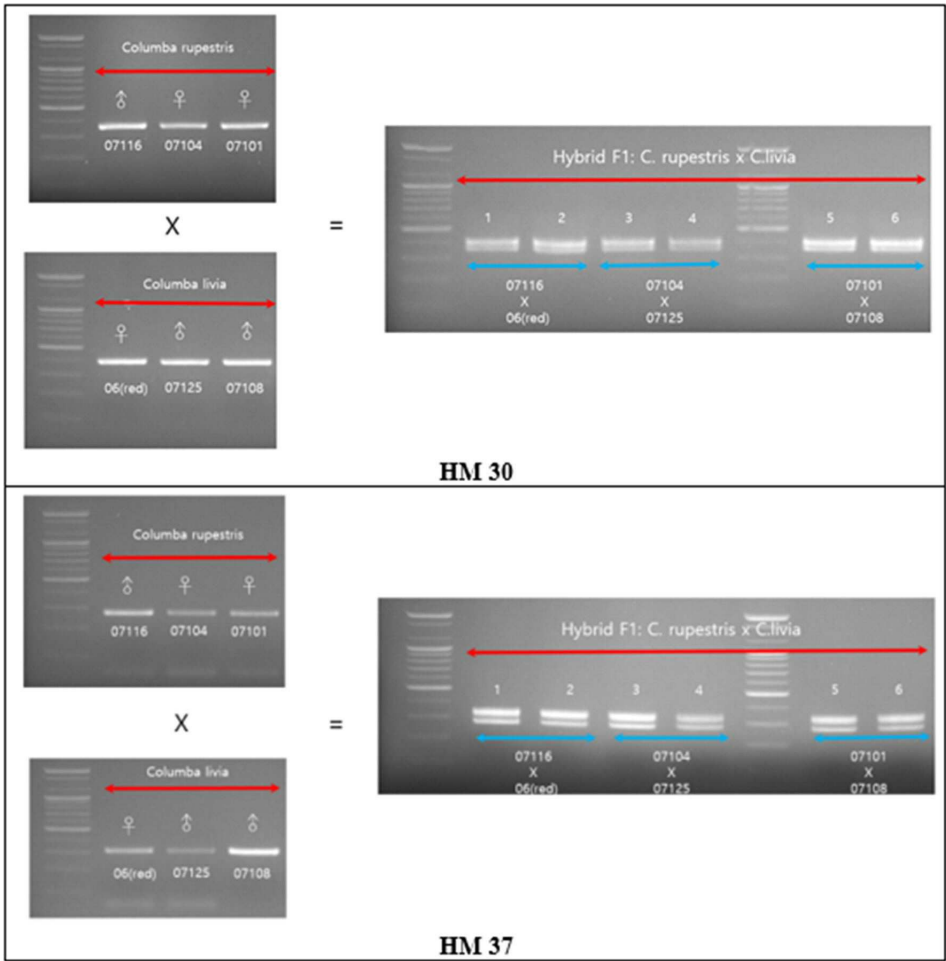
도면3e



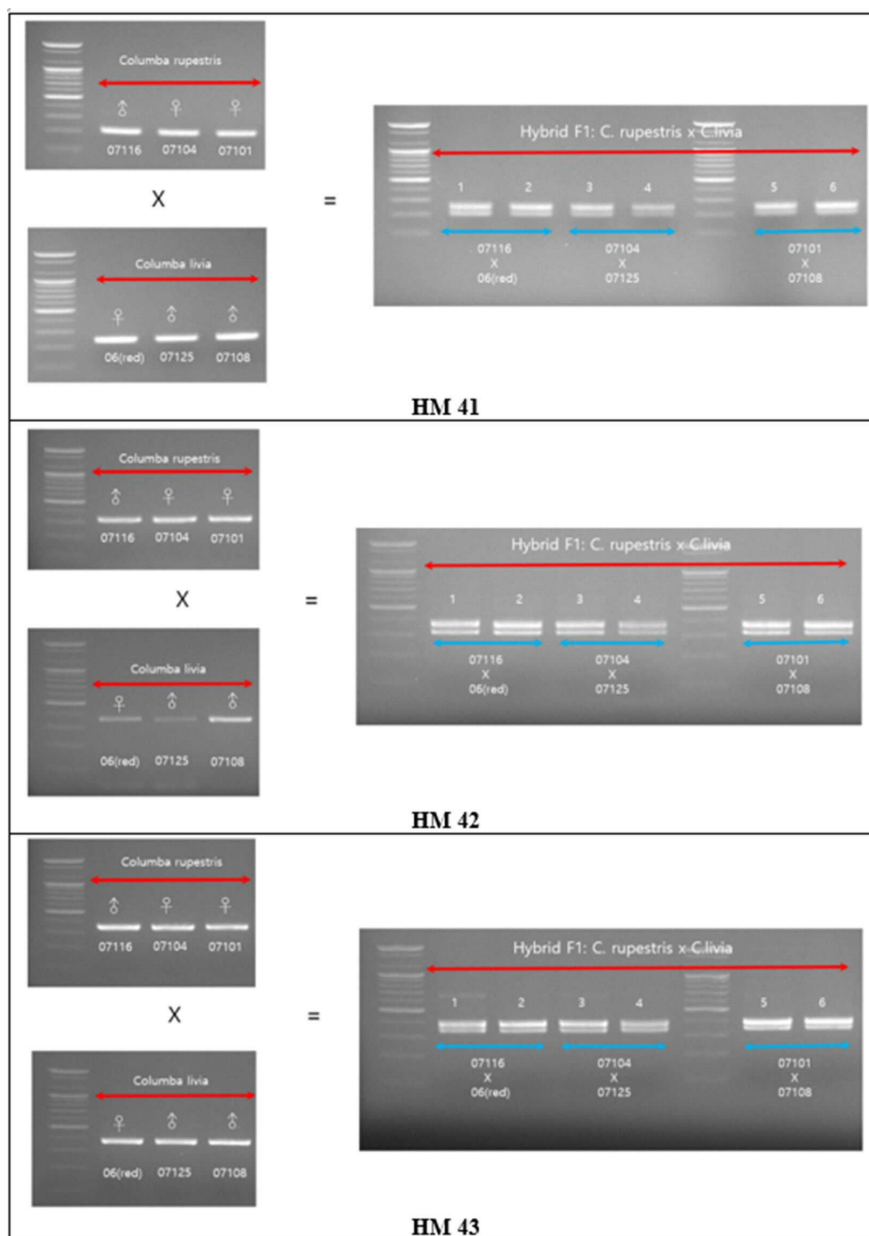
도면3f



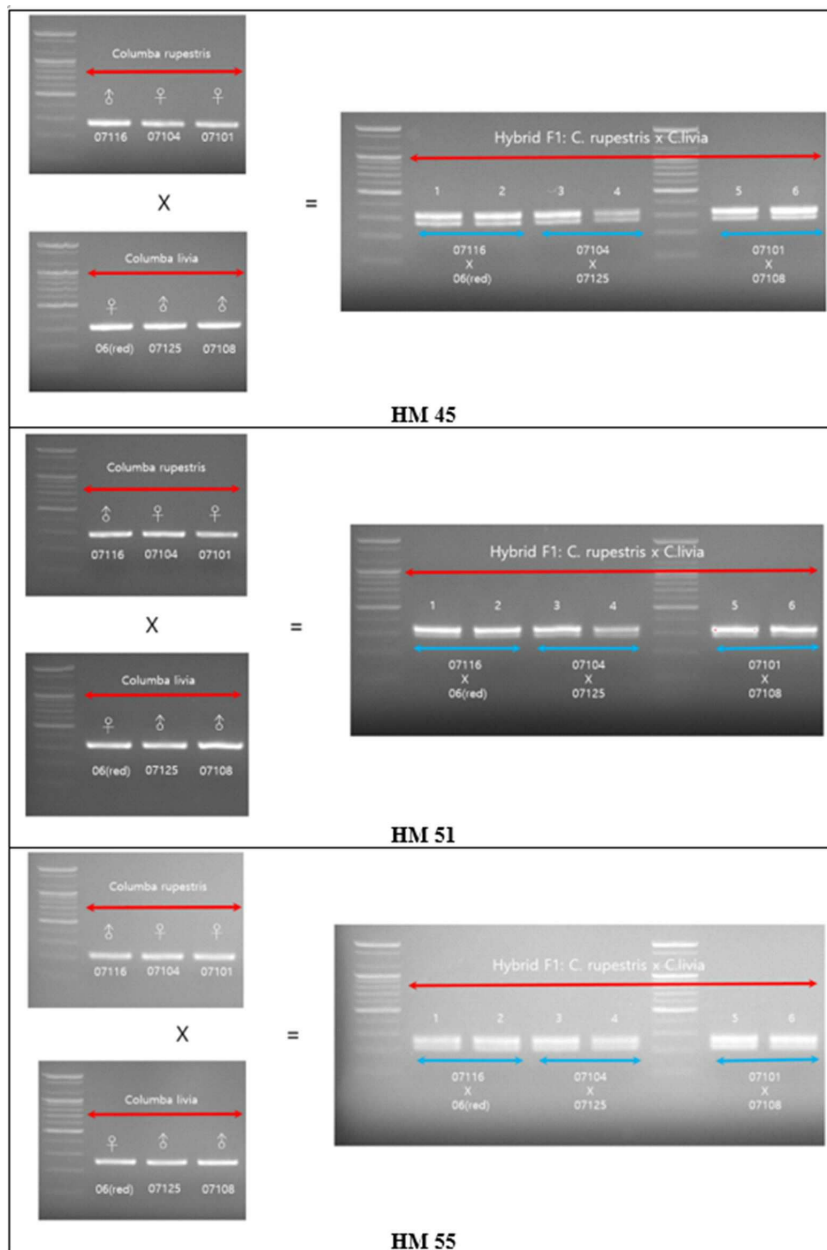
도면4a



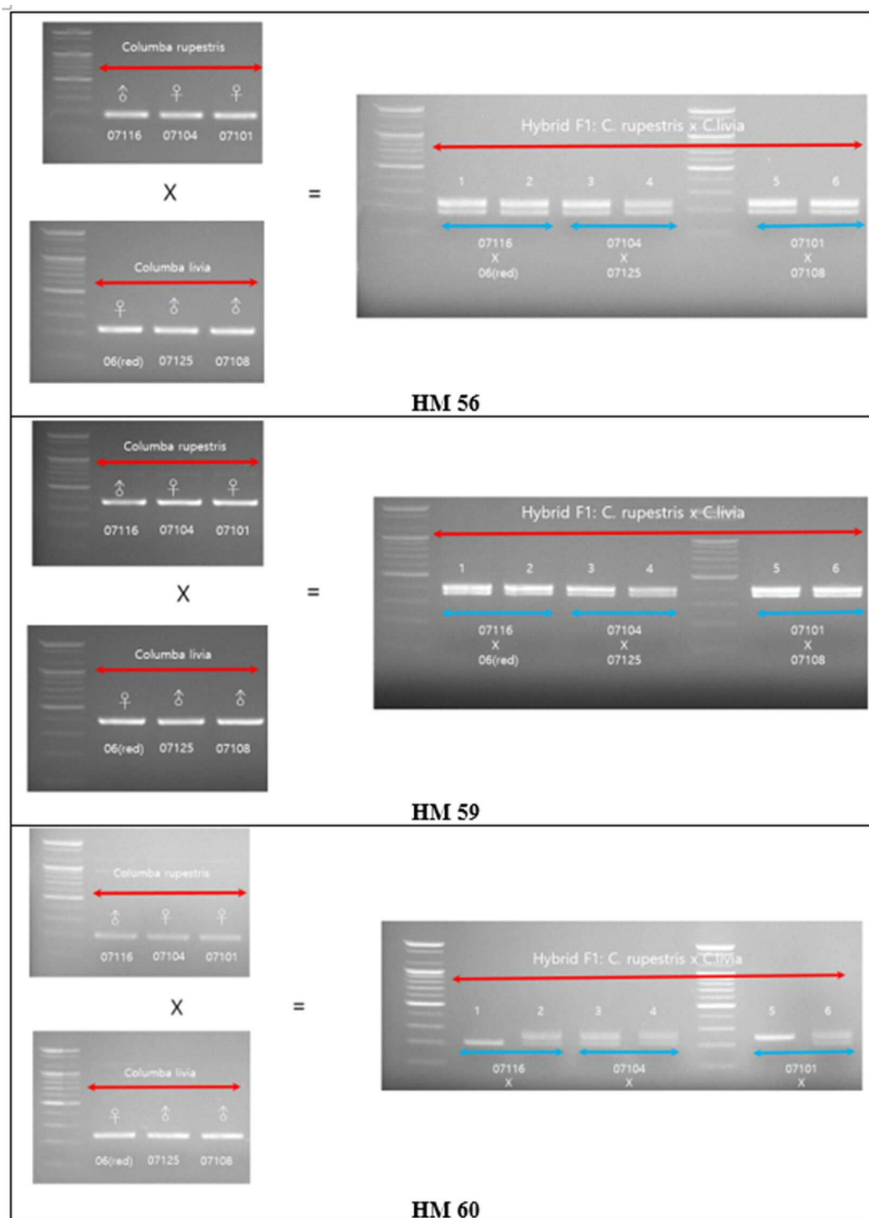
도면4b



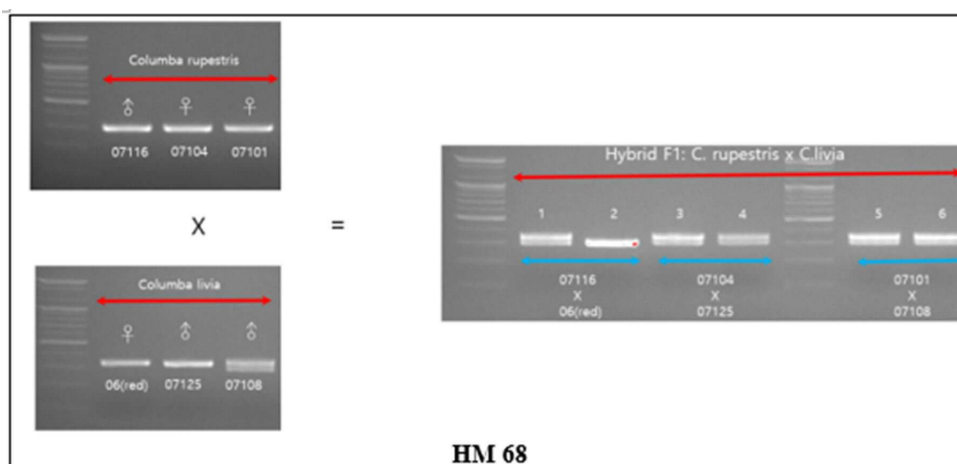
도면4c



도면4d



도면4e



서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.