

관인생략  
출원번호통지서

출원일자 2014.09.12  
 특기사항 심사청구(무) 공개신청(무) 참조번호(DP201409002P)  
 출원번호 10-2014-0120809 (접수번호 1-1-2014-0864093-32)  
 출원인명칭 서울대학교산학협력단(1-2007-050924-2)  
 대리인성명 박원미(9-2005-001453-1)  
 발명자성명 백명기 박승주 강혁중  
 발명의명칭 한우 수소 등심조직 특이적 발현 유전자 COL3A1을 이용한  
 한우 저급육 개체 검출용 프라이머 및 이를 이용한 방법

## 특 허 청 장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 동봉된 납입영수증에 성명, 납부자번호 등을 기재하여 가까운 우체국 또는 은행에 납부하여야 합니다.  
 ※ 납부자번호 : 0131(기관코드) + 접수번호
3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 [출원인코드 정보변경 (경정), 정정신고서]를 제출하여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.  
 ※ 특허로(patent.go.kr) 접속 > 민원서식다운로드 > 특허법 시행규칙 별지 제5호 서식
4. 특허(실용신안등록)출원은 명세서 또는 도면의 보정이 필요한 경우, 등록결정 이전 또는 의견서 제출기간 이내에 출원서에 최초로 첨부된 명세서 또는 도면에 기재된 사항의 범위 안에서 보정할 수 있습니다.
5. 외국으로 출원하고자 하는 경우 PCT 제도(특허·실용신안)나 마드리드 제도(상표)를 이용할 수 있습니다. 국내출원일을 외국에서 인정받고자 하는 경우에는 국내출원일로부터 일정한 기간 내에 외국에 출원하여야 우선권을 인정받을 수 있습니다.  
 ※ 제도 안내 : <http://www.kipo.go.kr>-특허마당-PCT/마드리드  
 ※ 우선권 인정기간 : 특허·실용신안은 12개월, 상표·디자인은 6개월 이내  
 ※ 미국특허상표청의 선출원을 기초로 우리나라에 우선권주장출원 시, 선출원이 미공개상태이면, 우선일로부터 16개월 이내에 미국특허상표청에 [전자적교환허가서(PTO/SB/39)]를 제출하거나 우리나라에 우선권 증명서류를 제출하여야 합니다.
6. 본 출원사실을 외부에 표시하고자 하는 경우에는 아래와 같이 하여야 하며, 이를 위반할 경우 관련법령에 따라 처벌을 받을 수 있습니다.  
 ※ 특허출원 10-2010-0000000, 상표등록출원 40-2010-0000000
7. 기타 심사 절차에 관한 사항은 동봉된 안내서를 참조하시기 바랍니다.



## 특허 (실용신안) 심사절차 안내

우리 청에 특허 (실용신안)를 출원해 주셔서 감사드립니다.  
고객님의 특허출원은 다음과 같이 처리됨을 안내해 드립니다.

고객상담센터 : 1544-8080



- 1 먼저, 방식심사를 받게 됩니다.**

  - 출원인적격, 필수사항기재, 수수료납부 여부 등 법령에서 정한 형식적 요건에 적합한지를 심사하며, 미비사항이 있는 경우에는 보정요구되거나 반려될 수 있습니다.
- 2 출원과는 별도로 심사를 청구하여야 심사가 진행됩니다.**

  - 출원 후 5년 이내에 심사청구가 없으면 특허법 제 59 조에 따라 취한 것으로 간주되니 유의하시기 바랍니다.
- 3 심사착수는 심사청구 접수순서대로 하며, 기술분야에 따라 처리기간의 차이가 있을 수 있습니다.**

  - 지금 출원된 건은 평균 약 17 개월 후에 심사를 실시하게 되며 ('11. 8월말 기준), 이는 미국, 일본에 비해 빠른 편입니다.
  - 심사착수 기간이 오래 걸리는 이유는 우리나라에 심사청구된 출원 건수가 연간 15 만여 건으로 매년 누적된 출원이 쌓여 있기 때문이며, 고객님 출원의 실제 심사진행상황은 특허청 홈페이지 '특허로'를 통해서 확인할 수 있습니다.
- 4 심사과정에서 심사관이 보내는 '의견제출통지서'를 받게 되면, 고객님께서 의견서 또는 보정서를 제출하여야 심사가 계속될 수 있습니다.**

  - 통계에 따르면 심사 건의 90% 정도가 의견제출통지서를 받고, 출원 대비 최종 등록결정율은 약 63%로 나타나고 있습니다 ('11. 8월말 기준).
- 5 의견서 등을 통해 거절이유가 해소되면 특허결정서를, 해소되지 않으면 거절결정서를 받게 됩니다.**

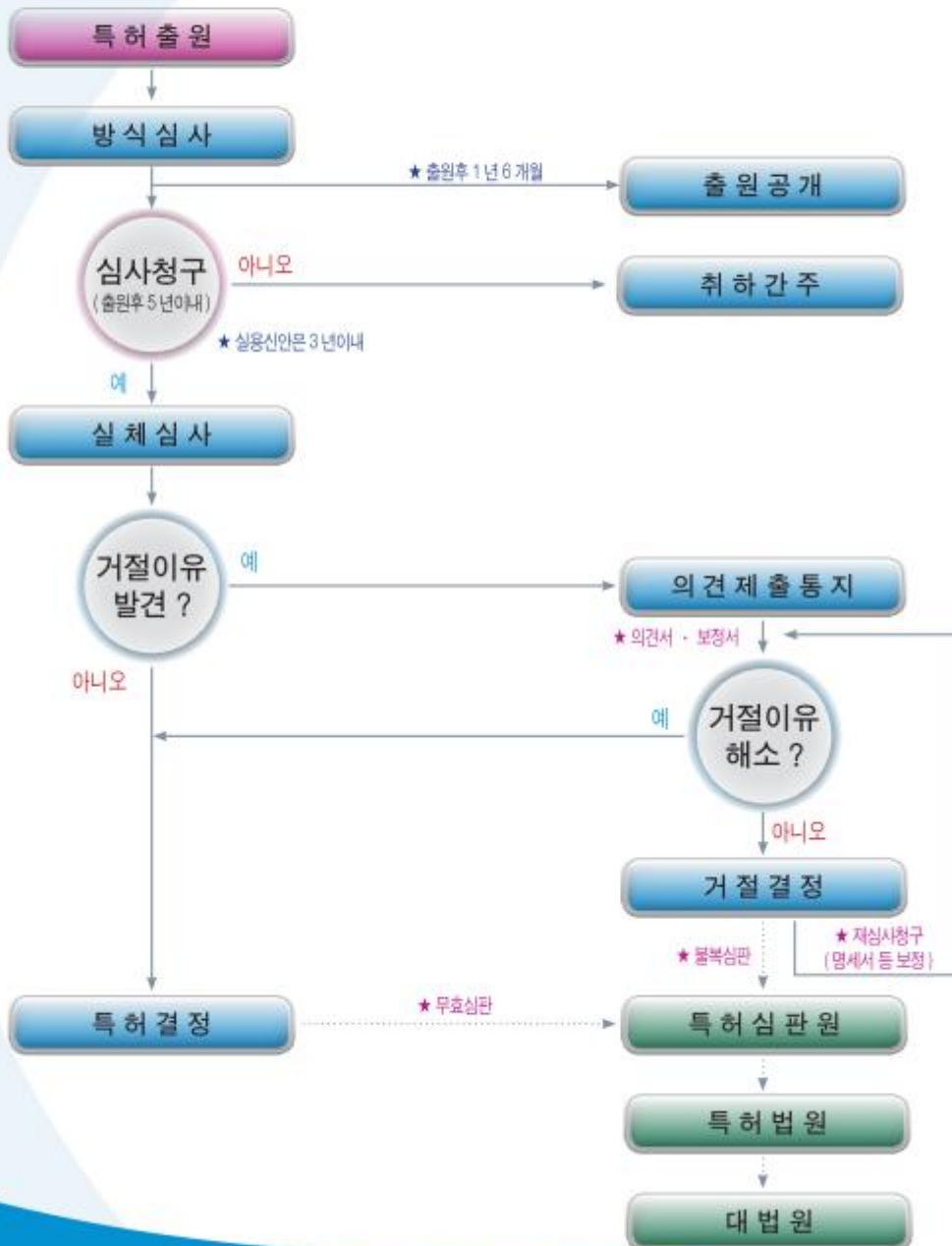
### 참고



- 1) 우선심사제도를 이용하면 심사기간을 3~5 개월 이내로 단축시킬 수 있습니다.
- 2) 출원내용은 특허법 제 64 조에 따라 출원 18 개월 후에 특허청 홈페이지를 통해서 공개됩니다.
- 3) 거절결정서를 받은 경우에는 특허청에 '재심사청구'를 하거나 특허심판원에 '거절결정 불복심판'을 제기할 수 있습니다.
- 4) 기타 자세한 내용은 특허청 홈페이지 (kipo.go.kr)를 참고하시고, 문의사항은 고객상담센터 (1544-8080)로 연락하시기 바랍니다.



# 특허 ( 실용신안 ) 심사 흐름도



**【서지사항】**

**【서류명】** 특허출원서

**【참조번호】** DP201409002P

**【출원구분】** 특허출원

**【출원인】**

**【명칭】** 서울대학교산학협력단

**【출원인코드】** 1-2007-050924-2

**【대리인】**

**【성명】** 박원미

**【대리인코드】** 9-2005-001453-1

**【발명의 국문명칭】** 한우 수소 등심조직 특이적 발현 유전자 COL3A1을 이용한  
한우 저급육 개체 검출용 프라이머 및 이를 이용한 방법

**【발명의 영문명칭】** Primers and Methods for Detecting Low Grade Beef  
Individual of Hanwoo Using COL3A1 Gene Expressed  
Specifically In Longissimus Muscle of Hanwoo Bulls

**【발명자】**

**【성명】** 백명기

**【성명의 영문표기】** Baik, Myung gi

**【주민등록번호】** 600415-1XXXXXX

**【우편번호】** 151-742

**【주소】** 서울특별시 관악구 관악로 1 서울대학교

**【국적】** KR

**【발명자】**

**【성명】** 박승주  
**【성명의 영문표기】** Park, Seung ju  
**【주민등록번호】** 900215-1XXXXXX  
**【우편번호】** 411-745  
**【주소】** 경기도 고양시 일산서구 강선로 92  
**【국적】** KR

**【발명자】**

**【성명】** 강혁중  
**【성명의 영문표기】** Kang, Hyeok joong  
**【주민등록번호】** 880525-1XXXXXX  
**【우편번호】** 151-836  
**【주소】** 서울특별시 관악구 청룡7길 28  
**【국적】** KR

**【이 발명을 지원한 국가연구개발사업】**

**【과제고유번호】** PJ008191032014  
**【부처명】** 농촌진흥청  
**【연구관리 전문기관】** 농업기술실용화재단  
**【연구사업명】** 차세대 바이오그린21사업  
**【연구과제명】** 한우 경제형질 관련 유용유전자원에 대한 에피유전체 연구  
**【기여율】** 1/1  
**【주관기관】** 서울대학교  
**【연구기간】** 2011.05.01 ~ 2014.12.31

**【취지】** 위와 같이 특허청장에게 제출합니다.

대리인 박원미

(서명 또는 인)

**【수수료】**

**【출원료】** 0 면 46,000 원

**【가산출원료】** 13 면 0 원

**【우선권주장료】** 0 건 0 원

**【심사청구료】** 0 항 0 원

**【합계】** 46,000 원

**【감면사유】** 전담조직[1]

**【감면후 수수료】** 23,000 원

**【첨부서류】** 1.기타첨부서류\_1통

【서류명】 개별위임장

【수임자】

【성명】 박원익  
【내리인코드】 9-2005-001453-1

【사건의 표시】

【발령의 명칭】 한우 수송 통상조례 특이적 발원 유전자 COL3A1을 이용한 한우 저급육  
개체 집종육 프라이머 및 이를 이용한 방법

【위임사항】

1. 특허출원에 관한 모든 절차
2. 실용신안등록출원에 관한 모든 절차
3. 디자인등록출원에 관한 모든 절차
4. 상표등록출원에 관한 모든 절차
5. 특허출원에 관한 절차보조서의 제출
6. 특허출원에 관한 절차취하서의 제출
7. 특허출원에 관한 청구의 취하
8. 특허출원에 관한 심정의 취하
9. 특허출원에 관한 우선권 주장 취하서의 제출
10. 특허출원에 관한 국내리인선임신고서의 제출
11. 특허출원에 기초한 특허명 제55조제1항의 규정에 의한 우선권주장
12. 특허출원에 기초한 특허명 제55조제1항의 규정에 의한 우선권주장의 취하
13. 실용신안등록출원에 관한 절차취하서의 제출
14. 실용신안등록출원에 관한 절차보조서의 제출
15. 실용신안등록출원에 관한 청구의 취하
16. 실용신안등록출원에 관한 심정의 취하
17. 실용신안등록출원에 관한 우선권 주장 취하서의 제출
18. 실용신안등록출원에 관한 국내리인선임신고서의 제출
19. 실용신안등록출원 또는 등록실용신안에 대한 기술명가에 관한 모든 절차
20. 타인의 실용신안등록출원 또는 등록실용신안에 대한 기술명가에 관한 모든 절차
21. 실용신안등록출원에 기초한 실용신안법 제11조의 규정에 의한 우선권주장
22. 실용신안등록출원에 기초한 실용신안법 제11조의 규정에 의한 우선권주장의 취하
23. 디자인등록출원에 관한 절차취하서의 제출
24. 디자인등록출원에 관한 절차보조서의 제출
25. 디자인등록출원에 관한 청구의 취하
26. 디자인등록출원에 관한 심정의 취하
27. 디자인등록출원에 관한 국내리인선임 신고서의 제출
28. 상표등록출원에 관한 절차취하서의 제출
29. 상표등록출원에 관한 절차보조서의 제출
30. 상표등록출원에 관한 청구의 취하

31. 상표등록출원에 관한 국내리인선임신고서의 제출
32. 등록에 관한 모든 절차
33. 특허권의 포기
34. 실용신안권의 포기
35. 디자인권의 포기
36. 상표권의 포기
37. 이의신청에 관한 모든절차
38. 이의신청취하서의 제출
39. 이의신청에 관한 청구의 취하
40. 국내리인선임신고서의 제출
41. 특허심판에 관한 모든 절차
42. 실용신안등록출원기하발명 불특정불확실관련 모든 절차
43. 실용신안등록심판에 관한 모든 절차
44. 디자인등록심판에 관한 모든 절차
45. 상표등록심판에 관한 모든 절차
46. 특허권의 포기
47. 특허심판에 관한 심판청구의 취하
48. 특허심판에 관한 심정의 취하
49. 실용신안등록심판에 관한 심판청구의 취하
50. 실용신안등록심판에 관한 심정의 취하
51. 디자인등록심판에 관한 심판청구의 취하
52. 디자인등록심판에 관한 심정의 취하
53. 상표등록심판에 관한 심판청구의 취하
54. 상표등록심판에 관한 심정의 취하

【위임자】

【성명】 서울대학교산학협력단  
【출원인코드】 1-2007-050924-2  
【사건의의 관계】 출원인

【특이】 특허법 제7조 - 실용신안법 제3조 - 디자인보호법 제4조 및 상표법 제52조의 규정에 의하여 위와 같이 위임합니다.

위임인 서울대학교산학협력단



【위임일자】 2014년 9월 5일

## 【명세서】

### 【발명의 명칭】

한우 수소 등심조직 특이적 발현 유전자 COL3A1을 이용한 한우 저급육 개체 검출용 프라이머 및 이를 이용한 방법 {Primers and Methods for Detecting Low Grade Beef Individual of Hanwoo Using COL3A1 Gene Expressed Specifically In Longissimus Muscle of Hanwoo Bulls}

### 【기술분야】

【0001】 본원은 저급육 한우 개체를 선별하는 기술에 관한 것이다.

### 【발명의 배경이 되는 기술】

【0002】 육류산업은 과거에서부터 지금까지 국제적으로 중요한 산업으로 여겨지고 있으며 우리나라에서도 소득증가 및 식생활 변화에 따라 육류 소비량이 점점 증가함으로써 육류산업의 중요성이 강조되고 있다. 특히 한우산업의 경우 한우의 경쟁력 제고를 위해 꾸준히 개량을 해온 결과 10년전에 비해 육량과 육질이 크게 개선되었다. 지금까지 유전, 육종학적인 방법을 이용하여 고급육 생산 가능성이 높은 한우 개체를 선발해왔으나 고급육 생산에 최적 사양조건의 개발을 위해 장기간 한우를 사양한 후 등급판정을 받는 사양실험은 시간과 경비가 많이 소비되는 단점을 가지고 있다. 따라서 한우 개체의 고등급 또는 저등급의 조기 선별 기술은 한우 산업의 경쟁력을 키우는 데 매우 중요하다.



【0003】 분자유전학 및 유전자 분석기술의 발달로 인해 최근에는 DNA 분자수준의 유전자 감식기법을 이용하여 고급육 생산 가능성이 높은 한우 개체를 선발하기 위한 노력들이 진행되고 있다. 특히, PCR (Polymorase chain reaction) 기술을 이용하는 RAPD (random amplified polymorphic DNA), SSCP (single strand conformation polymorphisms) 기법 및 microsatellite 등 다양한 DNA 분석기법은 가축의 주요 경제형질과 관련된 바이오마커를 이용한 조기 진단 및 선발에 활용되고 있다.

【0004】 최근 연구에서 소고기 기호성에 관련하여 고기의 질감에 대한 원인으로 myocytes, adipocytes 및 fibroblasts 모두 배아 형성 단계 초기 공통된 전구세포로부터 기인하므로 전구세포를 조절함으로써 소고기의 질을 개선할 수 있음이 보고된 바 있다(MEAT SCIENCE MUSCLE BIOLOGY SYMPOSIUM: Manipulating mesenchymal progenitor cell differentiation to optimize performance and carcass value of beef cattle). 그러나 이는 줄기세포 단계에서만 활용할 수 있다.

【0005】 현재 한우산업은 고급육 개체의 조기 선별 또는 생산에 필요한 육질형 사양 시스템 개발에 집중되어 있고 저급육 개체 선별에 대한 개발은 미미한 실정이다. 저급육 한우는 고급육 한우와 생산비용 측면에서 같은 비용이 소비되지만 판매가격에 있어서 약 40% 정도의 낮은 가격으로 책정된다. 한우 저급육 개체를 조기에 선별하게 되면 이들을 육질형이 아닌 고기의 양을 늘릴 수 있는 육량형으로 사양함으로써 사양효율을 극대화 할 수 있다.

【0006】 한국 등록특허 832348호는 바이오마커 단백질을 이용한 한우 선별에 관한 것으로, 한우 고급육 선별을 위한 배최장근단면적 관련 바이오마커를 개시한다.

【0007】 따라서 한우의 사양효율을 극대화하기 위해서는 높은 민감도와 정확도로 저급육 개체를 조기 선별하는 기술 개발이 필요하다.

### 【발명의 내용】

### 【해결하고자 하는 과제】

【0008】 본원은 한우 저급육 개체를 조기 선별하는 기술을 제공하고자 한다.

### 【과제의 해결 수단】

【0009】 한우 수소 등심조직에서 높은 수준으로 발현되는 콜라겐 관련 유전자 COL3A1 (Collagen, type 3, alpha 1) 검출용 프라이머 및 이를 이용한 선별/검출 방법을 제공한다.

### 【발명의 효과】

【0010】 본 발명은 한우 수소 등심조직에서 높은 수준으로 발현되는 콜라겐 관련 유전자 COL3A1 (Collagen, type 3, alpha 1) 을 이용하여 한우 저급육 개체를 검출하는 일련의 방법으로 COL3A1 유전자 프라이머 정보, 수소와 거세우에서의

COL3A1 유전자 발현 수준 차이, 그리고 COL3A1 유전자 발현 수준과 육질등급 간의 상관관계 등을 개시한다. 본원의 조성물 및 방법을 이용하면 저급육 한우 개체를 조기 선별함으로써 한우 사양 시스템의 효율을 높일 수 있다.

### 【도면의 간단한 설명】

【0011】 도 1은 본원의 일 구현예에 따른 COL3A1을 PCR 방법으로 검출한 후 R 프로그램을 이용하여 t-test를 진행한 분석 결과이다. bulls는 비거세소이며, steers는 거세소이다.

### 【발명을 실시하기 위한 구체적인 내용】

【0012】 본원에서는 한우 조직에서의 COL3A1 유전자를 이용하여 저급육 한우를 선별할 수 있도록 고안된 올리고뉴클레오타이드, 상기 올리고뉴클레오타이드 포함하는 조성물, 키트 및 방법을 개시한다.

【0013】 한우(*Bos Taurus coreanae*)는 포유강 소목의 노란빛을 띤 한국 고유 소품종으로 몸무게는 암소 300kg, 수소 420kg이다. 그러나 송아지 때부터 인공유(人工乳)를 먹이면서 살찌운 수송아지는 생후 18개월에 450~530kg까지 자랄 수 있어 종래 18개월에 210kg 내외의 몸무게에 비해 2배 이상 자랄 수 있다. 암소는 근내지방이 많고 근섬유가 얇으며, 수소는 근내지방이 적고 근섬유가 두꺼워 비교적 암소보다 맛이 떨어진다. 거세소는 수소를 거세한 소로 수소에 비해 유전자 발현 수준에서 차이를 야기시켜 근내지방이 보다 많이 형성되어 육질이 개선된다.

【0014】 따라서 이러한 본원에 따른 조성물, 키트 또는 방법은 한우 수소와 거세소간의 특이적 유전자 발현에 있어서 저급육 한우 개체의 조기 선별에 유용하게 사용 될 수 있다.

【0015】 본원의 상기 특이적 유전자는 콜라겐 유전자 COL3A1(Colagen, type3, alpha1)을 포함한다. 콜라겐이란 동물의 체내에서 세포와 세포 사이를 메우고 있는 섬유상태의 경단백질(Albuminoid)이다. 세포가 다수 접합되어 있는 부위에 는 반드시 콜라겐이 존재하며 모든 콜라겐은 프로콜라겐(procollagen)에서 만들어 지며 각 끝에는 N-terminal propeptides와 C-terminal propeptides가 존재하며 측면에는 긴 triple-helical domain으로 이루어져 있다. 그중 type1은 뼈의 구성 성분 중의 70%를 차지하고 연골, 두뇌, 피부, 인대 및 다양한 틈새 결합조직에도 존재하며, type3 는 뼈, 연골, 상아질, 골수 기질 및 다양한 결합조직등에 존재하는 섬유성 경단백질로 특히 COL3A1는 type1과 관련된 피부, 폐, 혈관계의 확장성 결합 조직에 존재하는 섬유성 콜라겐이다.

【0016】 본원의 한우 COL3A1 유전자의 프라이머 정보, 유전자 발현 수준 차이 및 유전자 발현 수준과 육질등급 간의 상관관계 등은 저급육 한우 개체의 조기 선별에 유용하게 사용 될 수 있다.

【0017】 한 양태에서 본원은 본원에 개시된 서열 또는 그 상보적 서열의 저급육 한우 개체 조기 선별용 올리고뉴클레오타이드에 관한 것이다.

【0018】본원에서 사용된 용어 “올리고뉴클레오타이드” 는 임의의 길이의 라이보뉴클레오타이드 또는 데옥시라이보뉴클레오타이드를 지칭하는 것으로, 단일 가닥 및 이중가닥을 모두 포함하는 것으로, 프라이머, 프로브를 모두 포함하는 개념이다.

【0019】본원에서 사용된 용어 “프라이머” 는 본원에서 검출하고자 하는 종류의 소에 특이한 유전자의 적어도 일부분에 상보적인 서열을 갖는 올리고뉴클레오타이드를 말하며, 중합효소연쇄반응과 같은 폴리머라제를 사용한 중합반응에서 중합의 시작점이 된다. 본원의 상기 프라이머는 이와 높은 서열유사성을 갖는 것을 또한 포함한다. 높은 서열유사성이란, GCG FastA (Genetics Computer Group, Madison, Wis.USA), MacVector 4.5 (Kodak/iBI software package) 또는 기타 당업계에 공지된 서열분석 방법 또는 프로그램을 이용하여, 적어도 70% 이상의 서열유사성이 있는 것을 말한다. 프라이머는 당업계의 공지된 방법 또는 합성회사를 통하여 합성할 수 있으며, 길이는 적어도 약 5개 뉴클레오타이드이다.

【0020】본원의 프라이머를 포함하는 올리고뉴클레오타이드는 검출하는 방법에 따라 시각화 할 수 있는 적절한 물질로 표지될 수 있다. 상기 표지물질은 방사선동위원소, 폴리펩타이드성 표지물질, 형광물질, 발색물질 등과 같은 것을 포함한다. 이러한 표지물질은 올리고뉴클레오타이드 합성시에 그 자체에 도입될 수도 있고, PCR을 사용하는 경우 중합과정에서 도입될 수 있다. 방사선물질은 베타, 감마 및 알파선 방출체를 포함하는 것으로,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{35}\text{S}$  및  $^{125}\text{I}$ 를 포함한다. 형광물질은 에너

지를 흡수하면 여기되고, 여기상태에서 기저상태로 되돌아가면서 가시광선을 방출하는 물질로 플로세신 및 로다민을 예로 들 수 있다. 폴리펩타이드성 표지물질은 바이오틴, 디그옥시제닌과 같은 항원성 물질과 호스레디쉬퍼옥시다제와 같은 효소를 포함한다. 발색물질은 화학반응으로 흡수한 에너지를 방출하는 화학발광물질 예를 들면 옥시루미네스스와 같은 것을 포함한다.

【0021】 본원에서 사용된 용어 “검출”은 핵산의 존재여부 또는 존재할 경우 그 양을 검출하는 것을 의미하는 것으로서 핵산 특이적 DNA-DNA, RNA-DNA 혼성화 반응을 기본으로는 하는 예를 들면 이로 제한하는 것은 아니나, 노던블랏분석, 서던블랏 분석, 마이크로칩분석, PCR (정량적 및 정성적 PCR, 실시간 정량적 정성적 PCR 포함)을 포함하는 증폭과 같은 당업계의 다양한 방법을 사용하여 달성될 수 있다.

【0022】 일 구현예에서는 핵산 증폭에 사용되며, 특히 PCR에 사용될 수 있다.

【0023】 본원에서 사용된 용어 “PCR (Polymerase Chain Reaction)”은 중합 효소를 사용하여 핵산을 연쇄적으로 합성하여 개시 핵산물질을 기하급수적으로 증폭하는 방법으로 당업계에 널리 공지된 방법으로, 특정 핵산의 존재 유무를 확인하는 정성분석 PCR, 특정핵산의 양을 측정하는 정량 PCR 및 PCR 과정을 실시간으로 추적하여 정성 및 정량 분석을 가능하게 하는 실시간 PCR을 모두 포함하는 개념이다.

【0024】 PCR 반응의 경우, 두 개의 프라이머로 구성된 프라이머 쌍이 사용된

다. 일 구현예에서는 실시예에 개시된 프라이머 또는 그 상보적 서열이 사용된다.

【0025】 PCR에 의해 증폭된 산물(amplicon)은 주형으로 사용한 분자와 상응하는 서열을 가지며, 당업계에 공지된 다양한 방법으로 분석될 수 있다. 이러한 방법은 당업계에 공지된 것으로서 예를 들면 젤 전기영동, 실시간 PCR 분석, SSCP (single strand conformational polymorphism), RFLP(restriction fragment length polymorphism), CZE(capillary zone electrophoresis), WAVE (HPLC-based nucleic acid analyzing technology), 마이크로칩을 포함하나, 이로 제한하는 것은 아니다.

【0026】 이러한 맥락에서 본원은 본원의 프라이머를 포함하는 한우 저급육 개체 조기 선별용 조성물, 상기 조성물을 포함하는 키트, 또는 방법에 관한 것이다.

【0027】 상기 조성물 또는 키트에 포함되는 프라이머 및 이를 이용한 검출은 앞서 언급한 바를 참조할 수 있다. 본원에 따른 일 구현에서, 본원의 조성물은 핵산 증폭에 사용되며, 특히 PCR을 이용한 증폭에 사용된다. 이 경우 PCR 조성물은 PCR의 반응에 필요한 완충액, Taq 폴리머라제 및  $MgCl_2$ 를 포함한다. 당업계에 공지된 다양한 완충액이 사용될 수 있으며, 예를 들면 Tris-HCl, pH 9.0 완충액이 사용될 수 있으나 이로 제한하는 것은 아니다. Taq 폴리머라제는 시중에서 구입할 수 있으며, 예를 들면 AmpliTaq Gold (Applied Biosystems, USA)와 같은 것을 사용할 수 있으며, 적절한 농도 예를 들면 1.5mM 내지 2.5mM의  $MgCl_2$ 가 포함될 수 있다.

【0028】본원에 따른 키트는 양성대조군, 음성대조군 및 사용설명서를 추가로 포함한다. 음성대조군은 검출대상이 아닌 다른 종류의 소 유래의 DNA를 사용할 수 있으며, 양성대조군은 검출 대상의 소와 동일한 종류로 판명된 소 유래의 DNA 또는 이를 포함하는 플라스미드를 사용할 수 있다.

【0029】다른 양태에서 본원은 또한 본원에 개시된 프라이머 또는 그 상보적 서열의 프라이머를 이용하여, 생물학적 시료로부터 인비트로에서 COL3A1 유전자를 특이적으로 검출하는 방법에 관한 것이다.

【0030】본원의 방법에 사용되는 프라이머 및 이를 이용한 검출 방법은 앞서 언급한 바를 참조할 수 있다.

【0031】본원에 따른 조성물, 방법 및 키트는 다양한 생물학적 시료로부터 COL3A1 유전자를 검출 할 수 있다. 생물학적 시료란 본원에 따른 프라이머를 이용하여 뇌COL3A1 유전자의 존재 또는 그 양을 검출할 수 있는 생물체 유래의 조직, 세포 채액, 및/또는 그 유도물 및 그 배양물을 일컫는 것이다.

【0032】이하 실시예를 통해 본 발명을 상세히 설명하나, 본 실시예는 예시적인 것일 뿐 어떤 식으로든 본원의 범위를 한정하는 것은 아니다.

【0033】본 발명은 달리 언급이 없는 한 세포생물학, 세포배양, 분자생물학, 유전자 형질전환 기술, 미생물학, DNA 재조합기술에 관한 당업자의 기술수준 내인 통상의 기술을 사용하여 실시될 수 있다. 또한, 일반적인 기술에 관한 보다 자세한 설명은 Molecular Biotechnology: (Bernard et al., ASM press 1994);



Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd Ed. (Sambrook et al., Harbor Laboratory Press 2001); Short Protocols in Molecular Biology, 4th Ed. (Ausubel et al. eds., John Wiley & Sons 1999); DNA Cloning, Volumes I and II (Glover ed., 1985)을 참고할 수 있다.

### 【0034】 실시예

#### 【0035】 실시예 1 유전체 추출 및 PCR 반응

【0036】 한우 수소 및 거세소의 등심조직에서 RNA를 추출하여 cDNA를 합성한 후 프라이머를 사용하여 실시간 PCR을 수행하였다. 상기 프라이머 서열은 다음과 같다: forward 5'-ATGTTGTGCAGTTTGCCAC-3', reverse 5'-AGGACCAGGATCGCCATTTC-3'. 실시간 PCR 결과 값들을 통계적으로 분석하기 위하여 변환한 후 R 프로그램을 이용하여 t-test를 진행하였다.

#### 【0037】 실시예 2 특이성 분석

【0038】 본원에 따른 프라이머를 이용한 COL3A1 검출의 특이성은 실시예 1에 서와 같이 PCR을 수행하여 분석하였다. 결과는 도 1에 있다. 이에 나타난 바와 같이 거세소(stears)의 등심조직은 COL3A1 유전자의 증폭이 비교적 낮은 수치를 나타냈으며 비거세소인 수소(bulls)의 등심조직에서는 COL3A1 유전자 증폭이 높은 수치를 나타냄에 따라 수소에서 COL3A1 유전자는 저급육 개체인 수소의 등심조직에서

높게 발현하는 것으로 나타났다. 표 1은 COL3A1 유전자 발현수준이 한우 육질 등급 및 근내지방도와의 상관분석을 나타낸다. 상관 분석에서 육질 등급은 -0.68, 근내 지방도는 -0.69을 나타내어 음의 유의적 상관관계를 갖는 것으로 나타났다.

【0039】 [표 1]

Correlation analysis	Bulls + Steers	
Gene name (Symbol)	육질 등급	근내지방도
Collagen type3 $\alpha$ 1 (COL3A1)	-0.68***	-0.69***

Significant correlations: \*\*\* $P < 0.001$

【0040】

【0041】 이상에서 본원의 예시적인 실시예에 대하여 상세하게 설명하였지만 본원의 권리범위는 이에 한정되는 것은 아니고 다음의 청구범위에서 정의하고 있는 본원의 기본 개념을 이용한 당업자의 여러 변형 및 개량 형태 또한 본원의 권리범위에 속하는 것이다.

【0042】 본 발명에서 사용되는 모든 기술용어는, 달리 정의되지 않는 이상, 본 발명의 관련 분야에서 통상의 당업자가 일반적으로 이해하는 바와 같은 의미로 사용된다. 본 명세서에 참고문헌으로 기재되는 모든 간행물의 내용은 본 발명에 도입된다.

**【요약서】****【요약】**

본원에서는 한우 수소 등심조직에서 COL3A1 유전자를 이용하여 저급육 한우를 선별할 수 있도록 고안된 올리고뉴클레오타이드, 상기 올리고뉴클레오타이드 포함하는 조성물, 키트 및 방법을 개시한다. 본원에 따른 방법, 조성물 및 키트는 저급육 한우 개체를 선별하여 육량형으로 사육할 수 있어, 사양 시스템의 효율을 높일 수 있다.

**【대표도】**

도 1

【도면】

【표 1】

