



# OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11) Número de publicación: 2 717 958

51 Int. Cl.:

C12Q 1/6876 (2008.01)

(12)

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: 27.09.2013 PCT/ES2013/070670

(87) Fecha y número de publicación internacional: 03.04.2014 WO14049191

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: 27.09.2013 E 13795809 (6)

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: 02.01.2019 EP 2902498

(54) Título: Polimorfismos asociados con el grado de insaturación de la grasa intramuscular en cerdos

(30) Prioridad:

28.09.2012 ES 201231507

Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente: **26.06.2019** 

(73) Titular/es:

UNIVERSITAT DE LLEIDA (100.0%) Pl. de Victor Siurana, 1 25003 Lleida, ES

(72) Inventor/es:

ESTANY ILLA, JOAN; PENA SUBIRÀ, RAMONA NATACHA Y TOR NAUDI, MARC

(74) Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

#### **DESCRIPCIÓN**

Polimorfismos asociados con el grado de insaturación de la grasa intramuscular en cerdos

#### Campo de la invención

La presente invención se encuadra dentro del campo de la Genética y, más concretamente, en métodos genéticos para la identificación de cerdos que presenten grasas con alto contenido en ácidos grasos monoinsaturados en base a la presencia de marcadores genéticos. La invención se relaciona también con métodos para criar cerdos que presenten grasas con alto contenido en ácidos grasos insaturados.

#### Antecedentes de la invención

La grasa animal es un componente esencial de la carne para la percepción de su textura, sabor y jugosidad.

Constituye además una fuente de ácidos grasos que no pueden ser sintetizados por el ser humano.

La proporción de grasa en la carne varía dependiendo del producto cárnico, de la especie animal y del sistema de producción del animal. La fracción lipídica comprende entre el 12-20% del peso del cerdo listo para el mercado. Valores inferiores son generalmente consecuencia de la raza o de criterios comerciales.

Existe un creciente interés en determinar la composición de la grasa presente en la carne de consumo humano que proviene principalmente de la necesidad actual que existe en la industria de encontrar procedimientos que permitan producir una carne más saludable. Ello está avalado por los resultados obtenidos por varios autores que relacionan la composición de la grasa intramuscular con la salud cardiovascular, la obesidad o el riesgo de sufrir enfermedades cancerígenas. Es por tanto necesario disponer de métodos fiables que permitan predecir la composición de la grasa presente en la carne para el consumo humano.

Las declaraciones nutricionales identifican los alimentos que son fuente de nutrientes beneficiosos para la salud que se deben de consumir con una frecuencia elevada así como alimentos fuentes de nutrientes que han de consumirse con una periodicidad menor por no ser saludables. En cuanto al contenido de grasas en los alimentos, el reglamento nutricional establecido en la Comunidad Europea establece que un alimento tiene un alto contenido en grasas monoinsaturadas, si al menos un 45% de los ácidos grasos presentes en el producto proceden de grasas monoinsaturadas y si dichas grasas aportan más del 20% del valor energético del producto. El consumo moderado de grasas monoinsaturadas está aconsejado por la Organización Mundial de la Salud debido a las propiedades beneficiosas que confieren como, por ejemplo, ayudando a controlar los niveles de colesterol en sangre (CINDI dietary guide, EUR/00/5018028).

El contenido en grasa muscular y su composición son dos características, entre otras, que definen la calidad de la carne de cerdo, en especial aquella cuyo destino es el mercado de curados. De ahí el interés de las empresas de mejora de productos porcinos y de las fábricas de piensos en conocer cómo evolucionan estas características con la edad y el peso del animal para poderlos controlar o modificar, según el caso.

La variedad en la composición de ácidos grasos en el tejido adiposo y en músculo tiene efectos muy notables en la calidad de la carne. La composición en ácidos grasos determina la textura y la oleosidad del tejido adiposo así como la estabilidad oxidativa del músculo, lo que a su vez afecta al sabor y al color del músculo.

Un contenido elevado en ácidos grasos poli-insaturados, PUFA (del inglés "poli-unsaturated fatty acids") provoca efectos adversos en la calidad de la carne. Dichos efectos se reflejan tanto en el tiempo de conservación de la carne (debido a la oxidación de los lípidos y de la mioglobina) como en el sabor de la misma. Sin embargo, un contenido elevado en ácidos grasos monoinsaturados, MUFA (del inglés, "mono-unsaturated fatty acids") es un distintivo de calidad debido a que estos ácidos grasos afectan favorablemente a las propiedades organolépticas (aspecto visual, textura, jugosidad y sabor) y nutritivas de la carne. Además, en el caso de los cerdos se ha comprobado que también tiene efectos positivos en el proceso de curación del jamón.

La dieta, la edad del animal así como factores genéticos (por ejemplo raza, sexo o genotipo) afectan a la composición de ácidos grasos en los tejidos y por tanto a la calidad de la carne. Los programas de mejora genética porcina se han dirigido tradicionalmente a la mejora de los caracteres reproductivos y productivos, destacando entre estos últimos los relacionados con la calidad del canal, y los reproductivos.

La producción de grasas monoinsaturadas en el cerdo se puede aumentar, por ejemplo, mediante la modificación de la dieta, postergando la edad de sacrificio del animal o practicando la castración. Sin embargo estas técnicas conllevan un aumento en la grasa intramuscular, tienen un coste elevado y el resultado conseguido en el animal no se trasmite a la descendencia.

El análisis físico-químico de la carne y sus derivados es un procedimiento necesario para garantizar la calidad del producto. Entre los parámetros analizados, se determina el porcentaje de grasa presente en la muestra

<u>,</u>

20

25

10

30

40

35

45

55

60

65

mediante el método establecido en la Norma ISO R-1443 (BOE 29/8/79) o variaciones del mismo. Este método, que permite determinar el porcentaje de grasa total (en peso seco), consiste en la extracción de la grasa de la muestra utilizando disolventes orgánicos que posteriormente se evaporan, pesando finalmente el residuo seco obtenido.

El análisis cuantitativo de la grasa en la carne también puede llevarse a cabo mediante espectrometría de infrarrojo cercano. Esta radiación es absorbida prácticamente por todas las moléculas y, por tanto, se pueden diferenciar los diversos componentes de la misma. Pese a que se trata de una técnica rápida y no destructiva de la muestra que requiere poca o ninguna preparación de la misma, es una metodología que no permite ser aplicada en un animal vivo (Bosch et al 2009, Meat Science 82 (4) 432-437). La determinación del contenido de MUFA en la grasa de animales vivos ha de hacerse mediante una biopsia, técnica que es considerada invasiva, que afecta al bienestar animal y que no es recomendada en un análisis rutinario.

Uemoto Y., et al. (Animal Gen., 2011, 43: 225-228) han descrito distintos haplotipos asociados a un mayor contenido en MUFA en la grasa muscular del cerdo. En particular, se identificó la completa asociación de dos SNP (g.-353C>T y g.-233T>C) en la región promotora del gen *SCD*, y mostraron tener un fuerte efecto en la composición de los ácidos grasos y el punto de fusión de la grasa.

Ren J. *et al.* (Animal Gen., 2004, 35: 255-257) también describe SNP conocidos en el gen SCD, tales como g.-353C>T y g.-233T>C.

El documento KR20120072871 (A) describe un método de predicción del contenido en ácidos grasos insaturados en cerdos mediante la detección de un SNP 1-27 o 29-42.

Existe, sin embargo, una necesidad en el estado de la técnica de desarrollar un método que permita mejorar los métodos de determinación de los niveles de MUFA en animales vivos para su aplicabilidad en procesos de selección, cría y clasificación de animales destinados al mercado de calidad o destinados a producir derivados cárnicos

### Descripción breve de la invención

5

10

15

20

25

30

35

40

45

55

60

65

Los autores de la presente invención han identificado la existencia de una posición polimórfica en la región promotora del gen estearil-coenzima A desaturasa porcino (*SCD*, del inglés *Stearoyl Coenzime A Desaturase*). En concreto, se trata de la posición 2281 en base a la numeración de la secuencia AY487830 en la base de datos NCBI con fecha de 15 de septiembre de 2004 (correspondiente a la posición -180 con respecto al codón de inicio de la traducción), que puede estar ocupada por una "G" o por una "A" (polimorfismo SNP3 (2281G/A)). Adicionalmente, los autores de la presente invención han encontrado que, sorprendentemente, la presencia de una A en al menos un alelo de dicha posición polimórfica del gen *SCD* se correlaciona de forma estadísticamente significativa con niveles elevados de ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) en la grasa intramuscular del animal (véase ejemplos 1-3 de la presente invención). Dicho cambio en el porcentaje de MUFA no va acompañado de cambios en peso del canal ni del animal así como tampoco al porcentaje de magro del canal ni de grasa intramuscular (GIM o IMF, del inglés *Intramuscular Fat*) (véase ejemplo 3 de la presente invención). Los autores de la presente invención han observado que dicho efecto también se produce en cerdos que presentan otros polimorfismos en el gen *SCD*, en concreto, el polimorfismo T/C en posición 2228 y el polimorfismo A/G en posición 15109 (usando en ambos casos la numeración de la secuencia definida por el número de acceso AY487830 en la base de datos NCBI).

Estos hallazgos permiten el desarrollo de métodos no agresivos, rápidos y fiables que permitan evaluar tanto en animales vivos como en los productos cárnicos derivados de los mismos si dichos animales son productores de niveles elevados de MUFA.

#### 50 Descripción detallada de la invención

Polinucleótidos que comprenden la posición polimórfica en posición -180 del gen SCD

Así pues la presente invención se relaciona con la identificación de un SNP en el gen *SCD* porcino y un método que permite evaluar si los animales contienen niveles elevados de MUFA en base al genotipo de SNP en el gen *SCD*.

En un primer aspecto, se describe un polinucleótido aislado que comprende una región de al menos 10 nucleótidos consecutivos de una variante polimórfica del gen *SCD* de *Sus scrofa domestica*, caracterizada por la presencia de una A en posición 2281 en base a la numeración de la secuencia definida por el número de acceso AY487830 en la base de datos NCBI y en donde dicha región comprende el nucleótido en posición 2281, o un polinucleótido complementario a dicho polinucleótido.

Tal y como se utiliza en la presente invención, la expresión "polinucleótido", se refiere a un fragmento de ADN o ARN genómicos, que pueden ser monocatenarios o bicatenarios y pueden representar una hebra sentido o antisentido, ácido nucleico petídico (PNA) o cualquier material de tipo ADN o ARN natural. Como entenderán los

expertos en la técnica, cuando el ácido nucleico es ARN, los desoxinucleótidos A, G, C y T son reemplazados por ribonucleótidos A, G, C y U respectivamente. En una divulgación, el polinucleótido comprende un fragmento de ADN que comprende al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 30 nucleótidos, al menos 40 nucleótidos, al menos 50 nucleótidos, al menos 60 nucleótidos, al menos 70 nucleótidos, al menos 80 nucleótidos, al menos 90 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, todos ellos consecutivos, de la variante polimórfica del gen *SCD* de *Sus scrofa domestica*.

El término "aislado" se refiere a material que está sustancial o esencialmente libre de componentes que normalmente acompañan al material como se encuentra en su estado nativo. Típicamente, los ácidos nucleicos aislados son al menos aproximadamente un 50%, un 55%, un 60%, un 65%, un 70%, un 75%, un 80% o un 85% puros, habitualmente al menos aproximadamente un 90%, un 91%, un 92%, un 93%, un 94%, un 95%, un 96%, un 97%, un 98% o un 99% puros. Se puede indicar la pureza u homogeneidad mediante un número de medios bien conocidos en la técnica, tales como electroforesis en gel de poliacrilamida de una muestra de ácido nucleico, seguida de visualización tras la tinción. Para ciertos fines se necesitará alta resolución y se utilizará HPLC o medios similares para la purificación. Para oligonucleótidos u otros productos sialilados, la pureza se puede determinar usando, por ejemplo, cromatografía en capa fina, HPLC o espectroscopia de masas.

Tal y como se utiliza en la presente invención, la expresión "gen esteroil coA desaturasa (*SCD*) de *Sus scrofa domestica*", se refiere al gen que codifica la proteína esteroil coA desaturasa. La secuencia del gen *SCD* de *Sus scrofa* se encuentra depositada en la base de datos GenBank (versión del 15 de septiembre de 2004) bajo el número de acceso AY487830.1 (SEQ ID NO:1). La secuencia de la región codificante de dicho gen (correspondiente a las regiones 2461 a 2487, 3006 a 3288, 8073 a 8203, 9562 a 9767, 11236 a 11468 y 14423 a 14622 del gen *SCD* descrito en la secuencia AY487830.1) corresponde a la secuencia con número de acceso NM\_213781.1 en la base de datos NCBI. La proteína codificada por dicho gen se define en la base de datos UniProtKB/Swiss-Prot, con el número de acceso O02858. Esta proteína participa en la ruta de insaturación de ácidos grasos de cadena larga catalizando la síntesis de ácidos grasos monoinsaturados a partir de ácidos grasos saturados. El principal producto de reacción de *SCD* es el ácido oleico, el cual es obtenido mediante la insaturación del ácido esteárico.

Tal y como se usa en la presente invención, las expresiones "variante polimórfica" o "variante alélica" se usan de forma indistinta para referirse a una forma alternativa de un gen en donde un número variable de posiciones en dicho gen se encuentran ocupadas por un nucleótido alternativo al que aparece en dicho gen. Las variantes polimórficas se diferencian entre sí por la presencia de distintos nucleótidos en puntos denominados SNP o "polimorfismo de un solo nucleótido".

El término "polimorfismo de un solo nucleótido (SNP)" se refiere a un sitio polimórfico ocupado por un solo nucleótido, que es el sitio de la variación entre las secuencias alélicas. El sitio suele ir precedido y seguido por secuencias altamente conservadas del alelo (por ejemplo, las secuencias que varían en menos de 1/100 o 1/1000 miembros de una población). Un SNP surge normalmente debido a la sustitución de un nucleótido por otro en el sitio polimórfico. Los SNP también pueden surgir de la deleción de un nucleótido o una inserción de un nucleótido en relación a un alelo de referencia. Típicamente, el sitio polimórfico está ocupado por una base distinta de la de referencia. Por ejemplo, cuando el alelo de referencia contiene la base "T" (timidina) en el sitio polimórfico, el alelo alterado puede contener una "C" (citidina), "G" (guanina), o "A" (adenina) en el sitio polimórfico. Los SNP pueden aparecer en la región codificante de los ácidos nucleicos, en cuyo caso pueden dar lugar a una proteína variante o incluso defectuosa. Estos SNP pueden alterar la secuencia codificante del gen y por lo tanto especificar otro aminoácido (un SNP de sentido erróneo) o pueden introducir un codón de parada (un SNP sin sentido). Cuando un SNP no altera la secuencia de aminoácidos de una proteína, al SNP se le denomina "silencioso". Los SNP pueden aparecer también en las regiones no codificadoras de la secuencia de nucleótidos, incluyendo en la región promotora, en intrones, en las regiones 5'-UTR y/o en regiones 3'-UTR. Cuando el cambio de nucleótido se corresponde con un cambio de aminoácido en la proteína, el polimorfismo puede ser nombrado como "aa1-nn-aa2", donde "aa1" representa el aminoácido original, "nn" corresponde a la posición del aminoácido mutado, y "aa2" representa el aminoácido resultante de la mutación. Sin embargo, cuando el cambio de nucleótido no se corresponde con un cambio en el correspondiente aminoácido, el polimorfismo se nombra indicando la posición del nucleótido que contiene la mutación y el cambio de nucleótido se indica como "mm nt1> nt2", en donde "mm" indica el número del nucleótido en el que se ha producido el cambio, "nt1" representa al nucleótido original y "nt2" el nucleótido cambiado. En general, los SNP representan una de las formas más comunes de las variaciones genéticas y suelen aparecer cuando se altera en el genoma un único nucleótido (por ejemplo, a través de sustitución, adición o deleción). Cada versión de la secuencia con respecto al sitio polimórfico se conoce como un alelo del sitio polimórfico. Los SNP se producen a lo largo de todo el genoma, tanto en regiones extragénicas como en regiones codificantes o en sus secuencias reguladoras. Los SNP tienden a ser evolutivamente estables de generación en generación, y, como tal, pueden ser usados para estudiar variaciones genéticas específicas en la población. Algunos SNP pueden estar en regiones no codificantes, por ejemplo, en regiones reguladoras, donde sus posibles efectos funcionales pueden ser muy importantes ya que pueden dar lugar a un "splicing" diferencial o ventajoso o defectuoso o a alteraciones en los niveles de expresión de proteínas. Los SNP, por tanto, pueden servir como indicadores efectivos de los niveles de expresión de proteínas o de la actividad de las mismas.

65

60

10

15

20

30

35

40

45

50

El término "<u>alelo</u>", tal como se utiliza en la presente invención, se refiere a una, dos o más formas de un gen, locus o polimorfismo genético. A veces, los diferentes alelos pueden dar lugar a diferentes fenotipos; sin embargo, otras veces los diferentes alelos tendrán el mismo resultado en la expresión de un gen. La mayoría de los organismos multicelulares tienen dos juegos de cromosomas, es decir, son diploides. Estos cromosomas se denominan cromosomas homólogos. Los organismos diploides tienen una copia de cada gen (y un alelo) en cada cromosoma. Si ambos alelos son iguales, son homocigotos. Si los alelos son diferentes, son heterocigotos.

La variante polimórfica de la que deriva el polinucleótido es la variante en posición 2281 en base a la numeración de la secuencia definida por el número de acceso AY487830 en la base de datos NCBI, que corresponde a la posición -180 con respecto al codón de iniciación del gen *SCD* de *Sus scrofa*, siendo la adenina de dicho codón de iniciación el nucléotido en posición 1. La variante polimórfica contiene una G en dicha posición.

Sondas y kits adecuados para detectar polimorfismos asociados a un elevado contenido en ácidos grasos monoinsaturados

15

10

En otro aspecto, se describe una sonda capaz de detectar el nucleótido en posición 2281 del gen *SCD* de *S. scrofa domestica* en base a la numeración de la secuencia definida por el número de acceso AY487830 en la base de datos NCBI en el gen *SCD* de *Sus scrofa domestica* o en una variante polimórfica en posición 2281 de dicha secuencia.

20

25

30

Las sondas son capaces de hibridar de forma específica con un ácido nucleico que contiene un determinado alelo en una posición polimórfica determinada sin mostrar hibridación detectable con el ácido nucleico que contiene otro alelo en dicha posición polimórfica. Así, la presente divulgación se refiere a sondas que son capaces de hibridar de forma específica con la variante polimórfica del gen SCD en la que la posición polimórfica en posición 2281 en base a la numeración de la secuencia definida por el número de acceso AY487830 en la base de datos NCBI se encuentra ocupada por una G que no muestra hibridación detectable con la variante polimórfica del gen SCD en la que la posición polimórfica en posición 2281 en base a la numeración de la secuencia definida por el número de acceso AY487830 en la base de datos NCBI se encuentra ocupada por una A. Alternativamente, la presente divulgación se refiere a sondas que son capaces de hibridar de forma específica con la variante polimórfica del gen SCD en la que la posición polimórfica en posición 2281 en base a la numeración de la secuencia definida por el número de acceso AY487830 en la base de datos NCBI se encuentra ocupada por una A que no muestra hibridación detectable con la variante polimórfica del gen SCD en la que la posición polimórfica en posición 2281 en base a la numeración de la secuencia definida por el número de acceso AY487830 en la base de datos NCBI se encuentra ocupada por una G.

35

40

El término "sonda", tal y como se utiliza en el presente documento, se refiere a un oligonucleótido de secuencia definida capaz de hibridar de forma específica con una secuencia complementaria de un ácido nucleico, por lo que puede utilizarse para detectar e identificar secuencias complementarias o sustancialmente complementarias en ácidos nucleicos. La longitud de la sonda puede variar dentro de un amplio intervalo aunque, por razones prácticas, se prefieren sondas de longitud pequeña comprendida entre 15 bases y 30 bases, preferiblemente entre 16 bases y 22 bases. El empleo de sondas de mayor o menor longitud no afectaría a la sensibilidad o especificidad de la técnica, pero podría precisar de la realización de una serie de modificaciones de las condiciones sobre las que se realiza la misma al variar la temperatura de fusión de las mismas y su contenido en GC, lo cual afectaría a la temperatura y tiempo de hibridación fundamentalmente.

45

50

55

Asimismo, el término "hibridación", tal y como se utiliza en la presente invención, ser refiere a la formación de una estructura de tipo dúplex por dos ácidos nucleicos debido al apareamiento de bases complementarias. La hibridación puede ocurrir entre cadenas de ácidos nucleicos totalmente complementarias o entre cadenas de ácidos nucleicos "sustancialmente complementarias" que contienen pequeñas regiones desapareadas. Las condiciones en las que hibridan cadenas de ácidos nucleicos totalmente complementarias se denominan "condiciones estrictas de hibridación" o "condiciones de hibridación específicas de secuencia". No obstante, se pueden obtener cadenas dobles estables de ácidos nucleicos sustancialmente complementarias bajo condiciones de hibridación menos estrictas, en cuyo caso, el grado de desapareamiento tolerado puede ajustarse mediante ajuste apropiado de las condiciones de hibridación. El experto en la materia puede determinar empíricamente la estabilidad de un dúplex teniendo en cuenta diversas variables, tales como, la longitud y concentración de pares de bases de las sondas, fuerza iónica y la incidencia de los pares de bases desapareados, siguiendo las directrices del estado de la técnica (véase por ejemplo, Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989); y Wetmur, Critical Reviews in Biochem. And Mol. Biol. 26 (3/4):227-259 (1991)).

60

Así, las sondas específicas de alelo de acuerdo a la presente divulgación son capaces de hibridar específicamente con las variantes polimórfica del gen *SCD* caracterizadas por el nucleótido en posición 2281 de dicho gen en base a la numeración de la secuencia definida por el número de acceso AY487830 en la base de datos NCBI.

65

En el contexto de la presente divulgación, por hibridación específica se entiende la capacidad de un primer ácido nucleico de unirse, formar dúplex o hibridarse a un segundo ácido nucleico de forma que el segundo ácido

nucleico puede ser identificado o distinguirse de otros componentes de una mezcla (por ejemplo, extractos celulares, ADN genómico, etc.). La hibridación específica puede llevarse a cabo en condiciones altamente restrictivas o en condiciones restrictivas moderadas.

Condiciones típicas de hibridación altamente restrictivas incluyen la incubación en 6 X SSC (1 X SSC: NaCl 0,15 M, citrato de sodio 0,015 M) y formamida al 40% a 42 °C durante 14 horas, seguida de uno o varios ciclos de lavado usando 0,5 X SSC, SDS al 0,1% a 60°C. Alternativamente, condiciones altamente restrictivas incluyen aquellas que comprenden una hibridación a una temperatura de aproximadamente 50°-55° C en 6 X SSC y un lavado final a una temperatura de 68° C en 1-3 X SSC. Las condiciones restrictivas moderadas comprenden la hibridación a una temperatura de aproximadamente 50° C hasta unos 65° C en NaCl 0,2 o 0,3 M, seguida de lavado a aproximadamente 50° C hasta unos 55° C en 0,2 X SSC, SDS 0,1% (dodecil sulfato sódico).

En una divulgación particular, la sonda es capaz de detectar el nucleótido G en la posición -180 del gen *SCD* de *S. scrofa domestica*. En una divulgación más particular, dicha sonda presenta la secuencia de nucleótidos SEQ ID NO: 16.

En otra divulgación particular, la sonda es capaz de detectar el nucleótido A en la posición -180 del gen *SCD* de *S. scrofa domestica*. En otra divulgación más particular, dicha sonda presenta la secuencia de nucleótidos SEQ ID NO: 17.

Las sondas son complementarias o sustancialmente complementarias a secuencias diana específicas contenidas en el gen *SCD* de *S. Scrofa domestica*.

Las sondas tendrán una alta homología con las secuencias diana específicas contenidas en el gen *SCD* de *S. Scrofa domestica*. "Alta homología" se refiere normalmente a una homología del 40% o superior, preferiblemente del 60% o superior, más preferiblemente del 80% o superior, incluso más preferiblemente del 95% o superior. La homología de la sonda puede determinarse siguiendo el algoritmo en "Wilbur y Lipman, 1983, Proc Natl. Acad. Sci. USA, 80: 723-30.

Opcionalmente, si se desea, las sondas pueden marcarse con el fin de poder detectar posteriormente los fragmentos amplificados. El marcaje puede realizarse por métodos convencionales. Dicho marcaje puede ser directo, para lo cual pueden utilizarse fluoróforos, por ejemplo, Cy3, Cy5, fluoresceína, alexa, etc.; enzimas, por ejemplo, fosfatasa alcalina, peroxidasa, etc.; isótopos radiactivos, por ejemplo, 33P, 125I, etc., o cualquier otro marcador conocido por el experto en la materia. Alternativamente, dicho marcaje puede ser indirecto mediante el empleo de métodos químicos, enzimáticos, etc.; a modo ilustrativo, el producto de amplificación puede incorporar un miembro de un par de unión específica, por ejemplo, avidina o estreptavidina conjugada con un fluorocromo (locus), y la sonda se une al otro miembro del par de unión específica, por ejemplo, biotina (indicador), efectuándose la lectura mediante fluorimetría, etc.

Así, en una divulgación particular, el marcaje de la sonda se lleva a cabo mediante el marcaje en uno de sus extremos; que, en otra divulgación todavía más particular, el compuesto empleado en el marcaje de la sonda se selecciona del grupo que consiste en un radioisótopo, un material fluorescente, digoxigenina y biotina. Ejemplos de materiales fluorescentes que se pueden emplear en el marcaje de oligonucleótidos incluyen, sin limitar a, 5-carboxifluoresceína (5-FAM), 6-FAM, análogo tetraclorinado de t-FAM (TET), análogo hexaclorinado de 6-FAM (HEX), 6-carboxitetrametilrodamina (TAMRA), 6-carboxi-X-rodamina (ROX), 6-carboxi-4', 5'-dicloro-2', 7'-dimetoxifluoresceína (JOE), NED, Cy-3, Cy-5, Cy-5.5, fluorescein-6-isotiocinato (FITC), VIC y, tetrametilrodamina-5-isotiocinato (TRITC).

En una divulgación más particular, el marcaje de la sonda que es capaz de detectar el nucleótido A en la 50 posición -180 del gen *SCD* de *S. scrofa domestica* se lleva a cabo con el compuesto fluorescente 5-carboxifluoresceína (5-FAM).

En otra divulgación más particular, el marcaje de la sonda que es capaz de detectar el nucleótido G en la posición -180 del gen *SCD* de *S. scrofa domestica* se lleva a cabo con el compuesto fluorescente VIC.

La presente divulgación también contempla kits que comprenden la sonda descrita anteriormente.

En una divulgación preferida, el kit comprende una sonda capaz de detectar el nucleótido en posición 2281 del gen *SCD* de *S. scrofa domestica* en base a la numeración de la secuencia definida por el número de acceso AY487830 en la base de datos NCBI en el gen *SCD* de *Sus scrofa domestica* o en una variante polimórfica en posición 2281 de dicha secuencia. En una divulgación preferida, la sonda es adecuada para la detección de la variante del gen *SCD* de *S. scrofa domestica* en base a la numeración de la secuencia definida por el número de acceso AY487830 en la que el nucleótido que ocupa la posición 2281 del gen *SCD* es una G. En una divulgación más preferida, el kit comprende una sonda que comprende la secuencia SEQ ID NO:16.

65

60

55

10

15

20

25

30

35

40

En otra divulgación preferida, la sonda es adecuada para la detección de la variante del gen *SCD* de *S. scrofa domestica* en base a la numeración de la secuencia definida por el número de acceso AY487830 en la que el nucleótido que ocupa la posición 2281 del gen *SCD* es una A. En una divulgación más preferida, el kit comprende una sonda que comprende la secuencia SEQ ID NO:17.

5

10

En una divulgación, los kits comprenden adicionalmente sondas adecuadas para la detección de otros polimorfismos que están asociados con el contenido en ácidos grasos insaturados en la grasa intramuscular de cerdos. Así, en otra divulgación preferida, el kit comprende adicionalmente una sonda para la detección del nucleótido en posición 2228 y/o una sonda para la detección del nucleótido en posición 15109 en el gen *SCD* en base a la numeración de la secuencia definida por el número de acceso AY487830 en la base de datos NCBI.

La posición 2228 en el gen *SCD* corresponde a la posición –233 con respecto al codón de iniciación del gen *SCD* de *Sus scrofa*, siendo la adenina de dicho codón de iniciación el nucléotido en posición 1. Dicha posición puede contener una T o una C.

15

La posición 15109 en el gen *SCD* se localiza en la región 3' no codificante del gen *SCD* y corresponde a la posición 1566 con respecto al codón de iniciación del gen *SCD* de *Sus scrofa*, siendo la adenina de dicho codón de iniciación el nucleótido en posición 1. Dicha posición puede contener una G o una A.

20

25

En una divulgación particular, las sondas que forman parte del kit están marcadas en uno de sus extremos con un compuesto fluorescente. En una divulgación preferida dicho compuesto fluorescente se selecciona del grupo que consiste en un radioisótopo, un material fluorescente, digoxigenina y biotina. Ejemplos de materiales fluorescentes que se pueden emplear en el marcaje de oligonucleótidos incluyen, sin limitar a, 5-carboxifluoresceína (5-FAM), 6-FAM, análogo tetraclorinado de t-FAM (TET), análogo hexaclorinado de 6-FAM (HEX), 6-carboxitetrametilrodamina (TAMRA), 6-carboxi-X-rodamina (ROX), 6-carboxi-4', 5'-dicloro-2', 7'-dimetoxifluoresceína (JOE), NED, Cy-3, Cy-5, Cy-5.5, fluorescein-6-isotiocinato (FITC), VIC y, tetrametilrodamina-5-isotiocinato (TRITC).

30 p

La divulgación se refiere adicionalmente a cebadores que permiten amplificar de forma específica la región del gen *SCD* de *Sus Scrofa* (número de acceso AY487830 en la base de datos NCBI) que comprende la posición polimórfica en posición 2281. Así, en otro aspecto, la divulgación se refiere a un kit para detectar el polimorfismo en posición 2281 del gen *SCD* de *S. scrofa domestica* en base a la numeración de la secuencia definida por el número de acceso AY487830 en la base de datos NCBI que comprende un primer y un segundo cebador complementarios a secuencias en el gen *SCD* en posición 5' y 3' con respecto a dicha posición.

35

Se describe que el primer cebador comprende la secuencia definida en SEQ ID NO:14 y/o en donde el secuencia cebador comprende la secuencia definida en SEQ ID NO:15.

40

Adicionalmente, el kit puede comprender pares de cebadores adicionales que permiten amplificar de forma específica las regiones del gen *SCD* en donde se localizan otras posiciones polimórficas que se asocian con el contenido en ácidos grasos insaturados en la grasa intramuscular de cerdos. Así, en otro aspecto, la divulgación se relaciona con un kit que comprende, adicionalmente, un segundo par de cebadores en donde el primer y segundo cebador de dicho segundo par de cebadores son complementarios a secuencias en el gen *SCD* en posición 5' y 3' con respecto a la posición 2228 de dicho gen y/o un tercer par de cebadores en donde el primer y segundo cebador de dicho tercer par de cebadores son complementarios a secuencias en el gen *SCD* en posición 5' y 3' con respecto a la posición 15109 en base a la numeración de la secuencia definida por el número de acceso AY487830 en la base de datos NCBI.

50

45

Materiales adecuados para su inclusión en un kit ejemplar de acuerdo con la presente divulgación, comprenden uno o más de los siguientes: pares de cebadores específicos para PCR (oligonucleótidos) que hibridan con dominios de la secuencia de ADN o cDNA que flanquean los polimorfismos genéticos de interés (SNP); reactivos capaces de amplificar un dominio de una secuencia específica, ya sea en el ADN genómico o cDNA sin el requisito de la realización de PCR; reactivos necesarios para discriminar entre los distintos alelos en la secuencia de los dominios amplificados por PCR y PCR-no amplificación (por ejemplo, las endonucleasas de restricción, oligonucleótidos que hibridan preferentemente con un alelo del polimorfismo, incluidos los modificados para contener enzimas o grupos químicos fluorescentes que amplifican la señal de los oligonucleótidos y que discriminan los alelos más robustos); reactivos necesarios para separar físicamente los productos derivados de los diferentes alelos (por ejemplo, agarosa o poliacrilamida y un tampón para ser utilizado en la electroforesis, columnas de HPLC, geles SSCP, geles formamida o un soporte de la matriz de MALDI-TOF).

60

55

El documento describe el uso del kit para determinar si un sujeto presenta al menos un SNP del gen *SCD* asociado con un grado de insaturación de ácidos grasos elevado. En una divulgación particular, el grado de insaturación se refiere a la relación de los ácidos grasos C18:1/ C18:0.

65

El documento describe el uso del kit en un sujeto, preferentemente en un cerdo. En una divulgación más particular, el kit se refiere a un cerdo de raza *Duroc*.

#### Métodos de genotipado

En un aspecto, la invención se refiere a un método de genotipado, en adelante, "primer método de la invención", para detectar el nucleótido que ocupa la posición 2281 en el gen *SCD* de *S. scrofa domestica* en base a la numeración de la secuencia definida por el número de acceso AY487830 en la base de datos NCBI.

Métodos conocidos en el estado de la técnica para genotipar un polimorfismo y que se pueden ser usados en el contexto de la presente invención incluyen, sin limitación, cualquiera de los métodos descritos por Rapley y Harbron, (Molecular Analysis and Genome Discovery. Chichester. John Wiley and Sons Ltd. 2004) tales como:

10

15

5

 Métodos basados en hibridación: Hibridación dinámica específica de alelo (DASH), micromatrices de ADN, balizas moleculares (molecular beacons).

 Métodos basados en enzimas tales como ADN ligasa, ADN polimerasa y nucleasa. Ejemplos de dichos métodos incluyen PCR específica de alelo, ensayo del invasor (endonucleasa Flap), extensión de base sencilla (SBE), TaqMan (5'-3'-endonucleasa), polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (RFLP), secuenciación directa y ensayo de ligación.

 Métodos post-amplificación basados en propiedades físicas del ADN tales como la temperatura de fusión de híbridos de ADN y conformación de cadena sencilla. Este tipo de métodos incluyen polimorfismo de conformación de cadena sencilla (SSCP), electroforesis en gel en gradiente de temperatura (TGGE), cromatografía de alta resolución en condiciones desnaturalizantes (DHPLC).

20

Como es obvio, el método de genotipado de acuerdo a la presente invención se puede llevar a cabo a partir de cualquier hebra de ácido nucléico o a partir de ambas hebras. En una realización particular, la detección de SNP se realiza mediante la técnica de discriminación alélica. Esta metodología permite detectar variaciones en la secuencia de ADN, por ejemplo SNP, mediante la lectura de la fluorescencia emitida por cada una de las sondas empleadas complementarias para cada uno de los SNP puesto que están marcadas con fluorocromos diferentes. En una realización más particular el genotipado se realiza mediante el método de discriminación alélica mencionado anteriormente acoplado a un aparato de PCR en tiempo real.

30

25

En una realización preferida, el método de genotipado de la presente invención comprende adicionalmente la detección de otros polimorfismos en el gen *SCD* que se asocian con el contenido en ácidos grasos insaturados en la grasa intramuscular de cerdos. Así, en una realización preferida, el método de genotipado de acuerdo a la presente invención comprende adicionalmente detectar el nucleótido que ocupa la posición 2228 de dicho gen y/o el nucleótido que ocupa la posición 15109 en el gen *SCD* de *S. scrofa domestica* en base a la numeración de la secuencia definida por el número de acceso AY487830 en la base de datos NCBI.

35

40

45

En una realización preferida, el genotipado se lleva a cabo mediante hibridación con sondas específicas de alelo capaces de detectar el nucleótido en posición 2281 del gen *SCD* de *S. scrofa domestica* en base a la numeración de la secuencia definida por el número de acceso AY487830 en la base de datos NCBI en el gen *SCD* de *Sus scrofa domestica* el gen o en una variante polimórfica en posición 2281 de dicha secuencia. En una realización más preferida, la sonda específica de alelo comprende la secuencia SEQ ID NO:16 y permite detectar variantes del gen *SCD* en donde el nucleótido que ocupa la posición 2281 del gen *SCD* es una G. En otra realización preferida, la sonda específica de alelo comprende la secuencia SEQ ID NO:17 y permite detectar variantes del gen *SCD* en donde el nucleótido que ocupa la posición 2281 del gen *SCD* es una A. Preferiblemente, las sondas se encuentran marcadas en uno de sus extremos con un compuesto fluorescente. En una realización aún más preferida, el compuesto fluorescente es VIC o 5-carboxifluoresceína (5-FAM).

am 50 las

En otra realización preferida, el método de genotipado de acuerdo a la presente invención comprende la amplificación de la región o las regiones del gen *SCD* de *S. scrofa domestica* que contiene la posición polimórfica o las posiciones polimórficas a caracterizar. En el caso del polimorfismo en posición 2281, en una realización preferida, la amplificación de la región se lleva a cabo usando un par de cebadores en donde el primer cebador comprende la secuencia definida en SEQ ID NO:14 y/o en donde el segundo cebador comprende la secuencia definida en SEQ ID NO:15.

55 Me

Métodos para predecir el grado de insaturación de ácidos grasos

ii s 60 e r

En otro aspecto, la invención se relaciona con un método, de aquí en adelante, "segundo método de la invención", para predecir el grado de insaturación de ácidos grasos en un sujeto o de un derivado cárnico de dicho sujeto, que comprende detectar en una muestra de dicho sujeto el nucleótido de al menos una posición polimórfica en el gen *SCD* de *Sus scrofa domestica* en donde dicha posición polimórfica es la posición 2281, en base a la numeración de la secuencia definida por el número de acceso AY487830 en la base de datos NCBI y en donde la presencia del nucleótido A en la posición 2281 en al menos un alelo del gen *SCD* es indicativa de un grado de insaturación de ácidos grasos elevado con respecto al valor de referencia.

65

En una realización particular, el método comprende adicionalmente detectar en dicha muestra el nucleótido que ocupa la posición 2228 de dicho gen y/o el nucleótido que ocupa la posición 15109 en el gen SCD de S. scrofa

domestica en base a la numeración de la secuencia definida por el número de acceso AY487830 en la base de datos NCBI.

El método de la invención comprende determinar la presencia o ausencia de los alelos asociados con una determinada condición, en este caso particular, un grado de insaturación de ácidos grasos elevado. Los alelos asociados con un grado elevado de insaturación se denominan alelos beneficiosos y se muestran en la Tabla 1.

5

10

20

25

30

35

40

45

50

55

60

NOMBRE DEL POLIMORFISMO	POSICIÓN EN EL GEN SCD DE S. scrofa	CAMBIO DEL NUCLEÓTIDO	ALELO BENEFICIOSO
SNP2	-233/2228	T>C	Т
SNP3	-180/2281	A>G	A
SNP5	+1566/15109	A>G	A

**Tabla 1:** Relación de alelos beneficiosos identificados. La columna "Posición en el gen *SCD* de *Sus scrofa* comprende la posición con respecto al codón de inicio de la transcripción seguido de la posición absoluta en la secuencia AY487830 en la base de datos NCBI.

El término "predecir", como se usa en la presente invención, se refiere a la determinación de la probabilidad de que la grasa del sujeto tenga un grado de insaturación determinado. Como entenderán los expertos en la materia, tal determinación normalmente no se pretende que sea correcta para todos (es decir, el 100 %) de los sujetos que se van a identificar. Sin embargo, el término requiere que una parte estadísticamente significativa de los sujetos se pueda identificar (por ejemplo, una cohorte en un estudio de cohortes). El experto en la materia puede determinar fácilmente si una parte es estadísticamente significativa usando varias herramientas de evaluación estadística bien conocidas, por ejemplo, determinación de intervalos de confianza, determinación de los valores de p, prueba de la t de Student, prueba de Mann-Whitney, etc. Los detalles se encuentran en Dowdy y Wearden, Statistics for Research, John Wiley and Sons, Nueva York 1983. Los intervalos de confianza preferidos son al menos del 90 por ciento, al menos del 95 por ciento, al menos del 97 por ciento, al menos del 98 por ciento o al menos del 99 por ciento. Los valores de p son, preferiblemente, 0,1, 0,05, 0,01, 0,005 o 0,0001. Más preferiblemente, al menos el 60 por ciento, al menos el 70 por ciento, al menos el 80 por ciento o al menos el 90 por ciento de los sujetos de una población se pueden identificar apropiadamente por el método de la presente invención.

El término "asociado con", tal y como se utiliza en la presente invención, significa que, un sitio polimórfico particular está estructuralmente y/o funcionalmente asociado con un SNP específico, por ejemplo, dicho sitio polimórfico está en el locus correspondiente, o en su proximidad inmediata, y/o dicho sitio polimórfico interactúa con o afecta al gen correspondiente o a la expresión del producto del mismo.

La expresión "grado de insaturación de ácidos grasos", tal y como se utiliza en la presente invención, hace referencia a la proporción de uno o varios MUFAs presente en una muestra de un sujeto con respecto a la proporción del total de ácidos grasos presentes en dicha muestra de dicho sujeto. En una realización aún más preferida, el grado de insaturación corresponde al porcentaje de ácido oleico con respecto al total de ácidos grasos en la muestra. En otra realización, el grado de insaturación corresponde al porcentaje de ácido oleico con respecto al ácido esteárico (C18:0) en la muestra.

La expresión "ácidos grasos", tal y como se utiliza en la presente invención, se refiere a biomoléculas de naturaleza lipídica formadas por una larga cadena hidrocarbonada lineal, de diferente longitud o número de átomos de carbono que presentan un grupo alquilo en un extremo y un grupo ácido en el otro extremo. Los ácidos grasos se pueden clasificar en ácidos grasos saturados y ácidos grasos insaturados. Los ácidos grasos saturados no poseen dobles enlaces en la cadena hidrocarbonada que los conforma y son flexibles y sólidos a temperatura ambiente, mientras que los ácidos grasos insaturados poseen dobles o triples enlaces, son rígidos a nivel de estos enlaces y son líquidos o viscosos a temperatura ambiente. En este último grupo, además podemos diferenciar entre ácidos grasos monoinsaturados o MUFA (del inglés "monounsaturated fatty acid") y ácidos grasos polinsaturados o PUFA (del inglés "polyunsaturated fatty acid"). En la nomenclatura empleada para nombrar los ácidos grasos de la invención se hace referencia, en primer lugar, al número total de carbonos de la molécula hidrocarbonada, seguido de dos puntos y un número que hace referencia al número de dobles enlaces que se encuentra en dicha cadena y, finalmente, el término "n-número" hace referencia a la posición que ocupe el primer doble enlace con respecto al carbono del grupo metilo (CH<sub>3</sub>).

El término "<u>MUFA</u>", tal y como se utiliza en la presente invención, se refiere a ácidos grasos de cadena carbonada par que contienen un único doble enlace en su estructura, es decir, un solo doble enlace carbonocarbono (-CH=CH-). Ejemplos de MUFA son el ácido palmitoleico (16:1 n-7), el ácido cis-vacénico (18:1 n-7), el ácido eicosanoico (20:1 n-9), el ácido erucico (22:1 n-9), el ácido nervónico (24:1 n-9) y el ácido oleico (18:1 n-9).

El término "<u>PUFA</u>", tal y como se utiliza en la presente invención, se refiere a ácidos grasos cuya cadena carbonada presenta más de un doble enlace. Ejemplos de PUFA son el ácido hexadecanotrienoico (16:3 n-3), el ácido alfa-linolénico (18:3 n-3), el ácido estearidónico (18:4 n-3), el ácido eicosatrienoico (20:3 n-3), el ácido

eicosatetranoico (20:4 n-3), el ácido ecosapentanoico (20:5 n-3), el ácido docosapentanoico (22:5 n-3), el ácido tetracosapentanoico (24:6 n-3), el ácido linoleico (18:2 n-6), el ácido gammalinolénico (18:3 n-6), el ácido eicosadienoico (20:2 n-6), el ácido araquidónico (22:4 n-6), el ácido docosadienoico (22:2 n-6), el ácido adrénico (22:4 n-6), el ácido docosapentanoico (22:5 n-6), el ácido tetracosatreanoico (24:4 n-6) y el ácido tetracosapentanoico (24:5 n-6).

El término "muestra", como se usa en la presente invención, se refiere a cualquier muestra que se puede obtener de un sujeto en la que exista material genético que permita determinar el nucleótido en las posiciones polimórficas indicadas anteriormente. Muestra biológicas adecuadas para su uso en la presente invención incluyen, por ejemplo, una muestra de biopsia, una muestra de un derivado cárnico, un fluido biológico (por ejemplo, sangre, plasma, esperma, suero, orina, etc), una célula, un tejido (por ejemplo tejido adiposo, tejido muscular, tejido epitelial etc), etc., Las muestras pueden ser obtenidas por métodos convencionales, por ejemplo, un raspado, una biopsia, etc., usando métodos bien conocidos por los expertos en la materia. En una realización particular, la muestra es una muestra de ácido nucléico, por ejemplo: una muestra que comprende un ácido nucléico, por ejemplo, el ADN, el ADN genómico (ADNg), ADN complementario (ADNc), el ARN, el ARN nuclear heterogéneo (ARNnh), ARNm, etc., del sujeto. En una realización, la muestra está aislada o extraída de una célula o tejido en particular. Las células pueden estar presentes en un fluido biológico, por ejemplo, sangre, saliva, esperma, etc, en un tejido, por ejemplo músculo o tejido adiposo, etc. En una realización particular, la muestra es un fluido biológico, como saliva, sangre, esperma o similares. En una realización preferida, la muestra en la que se lleva a cabo la determinación de la presencia de los distintos polimorfismos es una muestra de músculo. En una realización preferida, el músculo se selecciona de músculo de glúteo medio del jamón, músculo longísimo dorsal y músculo semimembranoso. Los métodos para el aislamiento de muestras de células y tejidos son bien conocidos por los expertos en la técnica e incluyen, pero no se limitan, a aspiraciones, secciones de tejido, biopsias con aguja, etc.

10

15

20

25

30

35

45

50

55

60

65

El término "sujeto", tal y como se utiliza en la presente invención, hace referencia a cualquier animal clasificado como mamífero. Preferentemente, el sujeto es un cerdo. El término "cerdo", tal y como se utiliza en la presente invención, hace referencia a cualquier especie doméstica o silvestre perteneciente al género Sus, incluyendo Sus barbatus, Sus bucculentus, Sus cebifrons, Sus celebensis, Sus domestica, Sus falconeri, Sus heureni, Sus hysudricus, Sus philippensis, Sus salvanius, Sus scrofa, Sus strozzi, Sus timoriensis, Sus verrucosus. En una realización preferida, la determinación se lleva a cabo en el cerdo común o S. scrofa domestica. Sinónimos que pueden ser empleados para nombrar a un cerdo son, por ejemplo, puerco, cochino, cochi, cuche, chancho, marrano, con, chiro, guarrapo, cuto, tocino, rancho, gocho, gorrino, cochinillo, verraco, cocha, gocha, etc. El término cerdo, tal y como se utiliza aquí, engloba a cualquier raza, variedad o estirpe del cerdo. Ejemplos de subespecies de cerdos domésticos que pueden ser analizadas mediante el método de la presente invención son: jabalí albar (Sus scrofa castilianus), jabali bético (Sus scrofa baeticus), Sus scrofa scrofa, Sus scrofa meridionalis, Sus scrofa majori, Sus scrofa attila, Sus scrofa ussuricus, Sus scrofa cristatus, Sus scrofa vittatus, Sus scrofa taivanus. Según la presente invención el término "raza" hace referencia a un conjunto de individuos de la misma especie que ostentan unas mismas características, aptitudes o cualidades diferenciadas, y las transmiten de generación en generación. Ejemplos de razas de cerdos domésticos que pueden ser analizadas mediante el método de la presente invención son: Hampshire, Pietrain, Landrace Belga, Meishan, Berkshire, Large White, Landrace o Duroc. Dentro de una raza se puede definir una variedad que hace referencia a una agrupación de individuos de la misma raza que presentan una característica o una aptitud diferenciadas heredables, que normalmente suele ser la coloración. Una variedad puede contener distintas estirpes que se refieren a un conjunto de individuos de la misma raza y variedad, que se reproducen sin la intervención de aportaciones extrañas y con un número de ejemplares suficiente como para que la consanguinidad no sea elevada. En una realización preferida el sujeto es un cerdo de raza Duroc.

En una realización particular, el método de la invención permite determinar el grado de insaturación en el músculo del glúteo medio del jamón, músculo longísimo dorsal y/o músculo semimembranoso.

En el caso particular de que se desee determinar el grado de insaturación en la grasa presente en un derivado cárnico de un sujeto, la muestra usada para la determinación de los polimorfismos es una muestra de dicho derivado cárnico.

La expresión "derivado cárnico", según se usa en la presente invención, se refiere a un producto alimenticio preparado total o parcialmente con carnes o despojos de las especies autorizadas para tal fin, y sometidos a operaciones específicas para su conservación antes de su puesta al consumo. Dentro del ámbito que abarca la presente invención, entre los derivados cárnicos, se incluyen los productos cárnicos crudos y curados, siendo los curados aquellos sometidos a un proceso de maduración o desecación, bien picados y embutidos (varios tipos de salchicha, por ejemplo chorizo, salchichón, chorizo blanco, chorizo Pamplona, salami, morcón, fuet, etc.) o enteros (jamón curado, paleta curada, panceta, beicon, cecina, lomo embuchado etc.). Los productos cárnicos tratados por calor son los obtenidos por tratamiento térmico, bien picados y embutidos (salchichas tipo Frankfurt, mortadela, chopped, sevillana, etc.) o enteros (jamón cocido, paleta cocida, magro de cerdo cocido, fiambres, etc.). Los productos cárnicos frescos son los preparados sin ser sometidos ni a tratamiento de desecación ni a tratamiento térmico. Pueden ser picados y embutidos (salchicha fresca, chorizo fresco, etc.), únicamente picados (carne picada, hamburguesas, tartas rellenas de carne, etc.) o enteros (lomo adobado). Este tipo de productos tienen un

comportamiento similar al de la carne fresca en cuanto a la conservación. En una realización más particular, la muestra se obtiene de jamón y/o lomo.

La detección del polimorfismo o polimorfismos según el segundo método de la invención se puede llevar a cabo usando cualquiera de los métodos de genotipado descritos en el contexto del primer método de la invención. En una realización preferida, el genotipado se lleva a cabo mediante hibridación con sondas específicas de alelo capaces de detectar el nucleótido en posición 2281 del gen *SCD* de *S. scrofa domestica* en base a la numeración de la secuencia definida por el número de acceso AY487830 en la base de datos NCBI en el gen *SCD* de *Sus scrofa domestica* o en una variante polimórfica en posición 2281 de dicha secuencia. En una realización más preferida, la sonda específica de alelo comprende la secuencia SEQ ID NO:16 y permite detectar variantes del gen *SCD* en donde el nucleótido que ocupa la posición 2281 del gen *SCD* es una G. En otra realización preferida, la sonda específica de alelo comprende la secuencia SEQ ID NO:17 y permite detectar variantes del gen *SCD* en donde el nucleótido que ocupa la posición 2281 del gen *SCD* es una A. Preferiblemente, las sondas se encuentran marcadas en uno de sus extremos con un compuesto fluorescente. En una realización aún más preferida, el compuesto fluorescente es VIC o 5-carboxifluoresceína (5-FAM).

En otra realización preferida, el método de genotipado de acuerdo a la presente invención comprende la amplificación de la región o las regiones del gen *SCD* de *S. scrofa domestica* que contiene la posición polimórfica o las posiciones polimórficas a caracterizar. En el caso del polimorfismo en posición 2281, en una realización preferida, la amplificación de la región se lleva a cabo usando un par de cebadores en donde el primer cebador comprende la secuencia definida en SEQ ID NO:14 y/o en donde el segundo cebador comprende la secuencia definida en SEQ ID NO:15.

De acuerdo con el segundo método de la invención, la presencia del nucleótido A en la posición 2281, del nucleótido T en la posición 2228 y/o el nucleótido A en la posición 15109 en al menos un alelo del gen *SCD* se asocia con un grado de insaturación elevado en la grasa intramuscular de un animal. El grado de insaturación se relaciona con el número de alelos favorables. Así, en el caso del polimorfismo en posición 2281, animales homocigóticos para el alelo A muestran un mayor grado de insaturación en la grasa que animales heterocigóticos AG, y estos mayor que los animales homocigóticos GG.

La expresión "grado de insaturación elevado", tal y como se utiliza en la presente invención, hace referencia a que los valores del grado de insaturación son elevados con respecto a valores de referencia para dicho grado de insaturación. De acuerdo con la presente invención, se considera que el grado de insaturación es elevado con respecto a un valor de referencia cuando los niveles en la muestra del sujeto están aumentados al menos un 0,8,% al menos un 0,85%, al menos un 0,9%, al menos un 1%, al menos un 1,5%, al menos un 2%, al menos un 3%, al menos un 4%, al menos un 5%, al menos un 6%, al menos un 7%, al menos un 8%, al menos un 9%, al menos un 10%, al menos un 20%, al menos un 40%, al menos un 50%, al menos un 60%, al menos un 70%, al menos un 80%, al menos un 90%, al menos un 100% o más con respecto a un valor de referencia para dicho parámetro.

Valores de referencia para el grado de insaturación que se pueden usar en el contexto de la presente invención incluyen, por ejemplo, el grado de insaturación en animales que presentan uno o más marcadores asociados con un bajo grado de insaturación. Así, en una realización preferida, se toma como valor de referencia el grado de insaturación de la grasa intramuscular o de la grasa subcutánea obtenida de un cerdo homocigótico para el nucleótido G en posición 2281 del gen *SCD*, el grado de insaturación de la grasa intramuscular obtenida de un cerdo homocigótico para el nucleótido C en la posición 2228 y/o el grado de insaturación de la grasa intramuscular obtenida de un cerdo homocigótico para el nucleótido G en la posición 15109. Alternativamente, se puede tomar como valor de referencia el grado de insaturación de la grasa intramuscular o subcutánea obtenida de un cerdo homocigótico para varias de las posiciones polimórficas que se correlacionan con un bajo índice de insaturación.

Además, los inventores también han observado que cuando el sujeto presenta en el SNP de acuerdo con la presente invención, el nucleótido indicativo de un grado de insaturación de ácidos grasos elevado (alelo beneficioso) en los dos alelos (es decir, el sujeto es homocigótico para el SNP asociado con un grado de insaturación de ácidos grasos elevado), se ve incrementado el grado de insaturación de ácidos grasos con respecto a un sujeto que presente dicho alelo beneficioso en solamente uno de los alelos del gen. Por lo tanto, en otra realización particular, el método de la invención implica detectar en el SNP, el nucleótido en al menos una posición polimórfica en el gen SCD de Sus scrofa domestica, en donde dicha posición polimórfica es la posición 2281 en base a la numeración de la secuencia definida por el número de acceso AY487830 en la base de datos NCBI, y en donde la presencia en los dos alelos del gen SDC del nucleótido A en la posición 2281 es indicativa de un grado de insaturación de ácidos grasos elevado con respecto al valor de referencia. En aún otra realización particular, el método comprende adicionalmente detectar en dicha muestra el nucleótido que ocupa la posición 2228 de dicho gen y/o el nucleótido que ocupa la posición 15109 en gen SCD de S. scrofa domestica en base a la numeración de la secuencia definida por el número de acceso AY487830 en la base de datos NCBI, donde la presencia del nucleótido T en la posición 2228 y/o del nucleótido A en la posición 15109 en los dos alelos del gen SCD es indicativa de un grado de insaturación de ácidos grasos elevado con respecto al valor de referencia.

Métodos de selección de cerdos con elevado contenido en ácidos grasos monoinsaturados en la grasa muscular y subcutánea.

La identificación de polimorfismos que se asocian de forma significativa con un elevado grado de insaturación en la grasa intramuscular y subcutánea permite el desarrollo de métodos para seleccionar cerdos que presentan dicha característica mediante cruce de cerdos con dichos polimorfismos y selección de aquellos cerdos de la progenie que hayan heredado el polimorfismo beneficioso. Así, en otro aspecto, la divulgación se refiere a un método para seleccionar cerdos con un elevado grado de insaturación de ácidos grasos en la grasa intramuscular y/o subcutánea que comprende:

10

15

20

- (i) cruzar un cerdo que presenta una A en posición 2281 del gen *SCD*, una C en la posición 2228 y/o una A en la posición 15109 en al menos un alelo del gen *SCD* en base a la numeración de la secuencia definida por el número de acceso AY487830 en la base de datos NCBI con un cerdo del sexo opuesto; y
- (ii) seleccionar aquellos individuos de la progenie que presenten al menos uno de los polimorfismos indicados en la etapa (i).

(iii)

En una primera etapa, el método de selección y crianza de cerdos con elevado contenido en ácidos grasos monoinsaturados comprende cruzar un cerdo que presenta una A en posición 2281 del gen *SCD*, una C en la posición 2228 y/o una A en la posición 15109 en al menos un alelo del gen *SCD* en base a la numeración de la secuencia definida por el número de acceso AY487830 en la base de datos NCBIcon un cerdo del sexo opuesto.

El término "cruce" se refiere aquí tanto a procedimientos basados en el apareamiento espontaneo como a procedimientos de inseminación artificial usando métodos conocidos en la técnica.

25

30

35

40

45

50

55

60

65

En una divulgación preferida, el cerdo del sexo opuesto usado en la etapa (i) presenta una A en posición 2281 del gen *SCD*, una T en la posición 2228 y/o una A en la posición 15109 en al menos un alelo del gen *SCD* en base a la numeración de la secuencia definida por el número de acceso AY487830 en la base de datos NCBI. El experto en la materia entenderá que cuando los dos progenitores presentan polimorfismos favorables para un alto grado de insaturación de la grasa muscular o subcutánea, la etapa (i) puede llevarse a cabo cruzando cerdos que presenten el mismo polimorfismo, de forma que se pueda obtener progenie homocigótica para dicho polimorfismo favorable. Alternativamente, la etapa (i) puede llevarse a cabo cruzando cerdos que presenten distintos polimorfismos favorables para un alto grado de insaturación de la grasa muscular o subcutánea, de forma que la progenie incorpore los distintos polimorfismos. Alternativamente, la etapa (i) puede llevarse a cabo cruzando cerdos que presenten los mismos polimorfismos, de forma que se pueda obtener progenie homocigótica para todos los polimorfismos en un solo ciclo de cruce y selección.

En una segunda etapa, el método de selección y crianza de cerdos con elevado contenido en ácidos grasos monoinsaturados de acuerdo a la divulgación comprende seleccionar aquellos individuos de la progenie que presenten al menos uno de los polimorfismos indicados en la etapa (i). La selección se lleva a cabo preferiblemente mediante el genotipado de los miembros de la progenie, usando preferiblemente alguno de los métodos descritos anteriormente en el contexto de métodos de genotipado. La selección puede ser también de naturaleza "virtual", tal que el genotipo de un animal se graba en una base de datos portátil o un ordenador. Aquí, los animales podrían ser seleccionados en base a su genotipo conocido sin la necesidad de separación física. Esto permitiría seleccionar a los animales de fenotipo deseado, donde la separación física no es necesaria.

En una divulgación preferida, el genotipado se lleva a cabo mediante hibridación con sondas específicas de alelo capaces de detectar el nucleótido en posición 2281 del gen *SCD* de *S. scrofa domestica* en base a la numeración de la secuencia definida por el número de acceso AY487830 en la base de datos NCBI en el gen *SCD* de *Sus scrofa domestica* o en una variante polimórfica en posición 2281 de dicha secuencia. En una divulgación más preferida, la sonda específica de alelo comprende la secuencia SEQ ID NO:16 y permite detectar variantes del gen *SCD* en donde el nucleótido que ocupa la posición 2281 del gen *SCD* es una G. En otra divulgación preferida, la sonda específica de alelo comprende la secuencia SEQ ID NO:17 y permite detectar variantes del gen *SCD* en donde el nucleótido que ocupa la posición 2281 del gen *SCD* es una A. Preferiblemente, las sondas se encuentran marcadas en uno de sus extremos con un compuesto fluorescente. En una divulgación aún más preferida, el compuesto fluorescente es VIC o 5-carboxifluoresceína (5-FAM).

La selección de la etapa (ii) permite identificar cerdos que comprenden una A en posición 2281 del gen *SCD*, una T en la posición 2228 y/o una A en la posición 15109 en al menos un alelo del gen *SCD* en base a la numeración de la secuencia definida por el número de acceso AY487830. En una divulgación preferida, cuando ambos progenitores presentan los alelos favorables asociados a un alto grado de insaturación de la grasa muscular o subcutánea, la segregación de los alelos de acuerdo a las leyes de la Genética mendeliana permite que algunos miembros de la progenie presenten el polimorfismo favorable en ambos alelos. Así, en otra divulgación preferida, la etapa (ii) comprende la selección de aquellos cerdos que comprenden una A en posición 2281 del gen *SCD*, una T en la posición 2228 y/o una A en la posición 15109 en ambos alelos del gen *SCD* en base a la numeración de la secuencia definida por el número de acceso AY487830.

En una divulgación preferida, el método de selección de cerdos comprende retrocruzar un cerdo seleccionado en la etapa (ii) con un cerdo del sexo opuesto. Preferiblemente, el cerdo con el que se retrocruzan los individuos seleccionados en la etapa (ii) son cerdos que comprenden uno o más de los distintos polimorfismos marcadores de alto grado de insaturación de la grasa muscular o subcutánea y, en particular, una A en posición 2281 del gen *SCD*, una T en la posición 2228 y/o una A en la posición 15109 en base a la numeración de la secuencia definida por el número de acceso AY487830 en al menos uno de los alelos del gen *SCD*. En una divulgación preferida, los cerdos que se usan para retrocruzar con los cerdos seleccionados en la etapa (i) pertenecen a la misma camada.

\*\*\*

La invención se describe por medio de los siguientes ejemplos que deben ser considerados como meramente ilustrativos y no limitantes del alcance de la invención. Los siguientes métodos son comunes a todos los ejemplos

#### 15 Ejemplos

10

20

25

30

35

#### **MÉTODOS**

#### Estudio poblacional

Para el estudio de la variabilidad genética del gen *SCD* porcino, se secuenció unas 780 pares de bases de la región promotora y la totalidad de la región 3´ no codificante (3`UTR) en 12 cerdos de la raza *Duroc* del banco de muestras de la Universidad de Lleida. De todos los cerdos *Duroc* analizados (335 sujetos) se disponía de muestra de ADN y del registro del contenido en 11 ácidos grasos en al menos un músculo. Los 12 cerdos que se eligieron como muestra poblacional de este estudio fueron escogidos de manera que 6 de ellos tenían los valores de ácido oleico, en músculo semimembranosos y glúteo medio, más elevados de entre todos los registrados (73.7 y 101.7 mg/g de materia seca) y, los 6 restantes contenían los valores más bajos de los registrados para dicho ácido (49.3 y 12.2 mg/g de materia seca).

Para secuenciar el gen SDC se amplificaron mediante PCR seis fragmentos de ADN de entre 780 y 1000 pares de bases a partir de los cebadores detallados en la Tabla 2.

SONDA	SECUENCIA 5'-3'	SEQ ID NO:	TAMAÑO DEL AMPLICÓN (pares de bases, pb)
Promoter-F	ACTTCCCTAGTGCCCATCCT	2	890
Promoter-R	GATCACTTTCCCAGGGATGA	3	690
3UTR_F1	AAGTATCCAAGGGCTGCCATC	4	866
3UTR_R1	CAATTCCGGAAAGAACCTCA	5	800
3UTR_F2	TGGGGAAGAAGTCTTTCTTGT	6	990
3UTR_R2	GGTTCAGTGACCCTGAGCAT	7	990
3UTR_F3	TTTCCTGCCGGTTCTATCTC	8	945
3UTR_R3	GAGTAGGTGCTTGGGTCTGG	9	945
3UTR_F4	ATGGAGGATAAAGGGGTTGG	10	648
3UTR_R4	ACTTGCCCAGGGTCACATAG	11	040
3UTR_F5	GTCAAGGTTACACGGGTGGT	12	740
3UTR R5	CAGGACATAGGGTGGCAGAT	13	742

Tabla 2: Sondas (cebadores) utilizadas para la amplificación mediante PCR de seis fragmentos del gen SCD porcino.

## 2. Genotipado de la mutación SNP3 en el promotor del gen SCD porcino

Se procedió a detectar el polimorfismo de la invención SNP3 en 635 cerdos castrados de raza *Duroc* del banco de muestras de la Universidad del Lleida de los que se disponía de datos de contenido y composición de la GIM. Los cerdos genotipados se criaron en 7 lotes distintos. El genotipado se realizó mediante un protocolo de discriminación alélica en un aparato de PCR a tiempo real. Los cebadores y las sondas empleadas se indican en la Tabla 3 junto con las concentraciones finales utilizadas.

SONDA	SECUENCIA 5`-3`	SEQ ID NO:	CONCENTRACIÓN FINAL
Cebador directo	TGCCAGCTCTAGCCTTTAAATACC	14	900 nM
Cebador reverso	CACGTTGGGTCGGTGTGTCT	15	900 nM
Sonda para el alelo G	VIC-ACCCGCGCACAGCA-NFQ	16	200 nM
Sonda para el alelo A	FAM-AGACCCACGCACAGCA-NFQ	17	200 nM

Tabla 3: Sondas utilizadas en el genotipado de SNP3 del promotor del gen SCD porcino.

La reacción de PCR incluía los cuatro cebadores, a las concentraciones indicadas en la Tabla 3, 1x Maxima SYBR Green/ROX qPCR Master Mix (Fermentas) y 10 ng de ADN genómico. El genotipo de asignaba según la acumulación de fluorescencia verde (correspondiente al fluorocromo VIC de la sonda que hibrida con el alelo G) y/o azul (FAM, alelo A) durante los ciclos de PCR. Todo cerdo genotipado fue clasificado como de genotipo GG, AG o AA.

#### 3. <u>Determinación del contenido y la composición de la grasa</u>

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

Todas las muestras de músculo o grasa fueron identificadas, liofilizadas y pulverizadas. A partir de una alícuota de cada una de ellas, se determinó en duplicado el contenido en los ácidos grasos C14:0, C16:0, C16:1n-7, C18:0. C181 n-9, C18:2 n-6, C18: 3 n-3, C20:0, C20:2n-6, C20:4n-6 y C20:1n-9 mediante cromatografía de gases cuantitativa según se ha descrito en Bosch et al. (Meat Science, 2009, 82: 432-437). Los ésteres metílicos de los ácidos grasos se obtuvieron por transesterificación directa a partir de una solución al 20% de trifloruro de boro en metanol y se determinaron por cromatografía de gases mediante una columna capilar SP2330 (30mx 0.25 mm, Supelco, Bellefonte, PA) y un detector de ionización en llama con helio como gas portador a 1 mL/min. El contenido de cada ácido graso de cuantificó normalizando el área después de añadir a cada muestra 1,2,3tripentadecanoilglicerol como patrón interno. El porcentaje de GIM en un músculo se calculó a partir del cociente entre la suma del contenido de todos los ácidos grasos determinados, expresados estos en su equivalente triglicérido, respecto al contenido de materia seca de la muestra. El porcentaje de cada ácido graso respecto del total de ácidos grasos se calculó como el cociente entre el contenido de ese ácido graso en particular relativo al total de ácidos grasos. El porcentaje de MUFA se calculó como el cociente entre la suma de los MUFA (C16:1 n-7, C18: 1n-9 y C20:1 n-9) respecto al contenido total de ácidos grasos. El porcentaje de ácidos grasos saturados se calculó como el cociente entre la suma de los ácidos grasos saturados (C14:0, C16:0, C18:0 y C20:0) respecto al contenido total de ácidos grasos.

Se calculó de forma específica el grado de insaturación ID como el cociente entre el contenido de C18:1 respecto al de C18:0.

# EJEMPLO 1: Asociación entre el genotipo del SNP3 del gen SCD y el ID de la carne y la grasa subcutánea del cerdo

Se contrastaron en 7 lotes diferentes, las medias de los tres genotipos posibles del SNP3 (GG, GA, AA) para el contenido de GIM e ID en el músculo del glúteo medio del jamón mediante un modelo lineal que incluyó el genotipo como único factor. En la Tabla 4 se representan las medias de GIM e ID por genotipo, así como el valor p asociado al correspondiente análisis de varianza.

					GIM			ID (C18:1/C18:0)			
					Genotipo	)		(	enotip	0	
Lote	Año	N	f(A)	AA	AG	GG	р	AA	AG	GG	р
1	2006	109	0,44	14,50	14,64	14,97	0,91	5,93	5,90	5,37	<0,01
2	2007	100	0,46	15,89	15,76	16,70	0,74	4,92	4,54	4,29	<0,01
3	2008	66	0,44	16,52	15.15	16,31	0,40	5,96	5,12	4,54	<0,01
4	2008	72	0,38	13,58	11,61	12,26	0,21	4,35	3,77	3,50	<0,01
5	2010	85	0,39	14,76	15,27	13,84	0,54	4,35	4,34	3,92	<0,05
6	2010	96	0,49	13,63	14,41	15,51	0,41	4,34	4,04	3,71	<0,01
7	2011	86	0,48	18,78	17,66	16,91	0,41	3,98	3,82	3,73	<0,05
Total		614	0,44	15,27	14,92	15,18	0,72	4,80	4,51	4,15	<0,01

Tabla 4: Efecto del genotipo de SNP3 sobre el contenido de GIM e ID en el músculo del glúteo medio.

Se observa de forma consistente en todos los lotes que el alelo A no afecta el contenido de GIM pero mejora el ID. El efecto del alelo A en el conjunto de todos los lotes (Total) se estimó mediante un modelo lineal que incluyó el lote además del genotipo.

Análisis similares realizados sobre la asociación entre el genotipo de SNP3 y GIM e ID en los músculos longísimo dorsal y semimembranoso confirmaron el mismo efecto, es decir, el alelo A de dicho SNP no aumenta el contenido en GIM pero mejora el ID.

Análisis similares realizados sobre la asociación entre el genotipo de SNP3 y el espesor de la grasa dorsal confirmaron el mismo efecto, es decir, el alelo A de dicho SNP no aumenta el espesor de la grasa dorsal pero mejora el ID.

#### EJEMPLO 2: El SNP3 tiene un modo de acción génica aditivo

Se comprobó dentro de cada lote el modo de acción génica de SNP3 sobre ID mediante un modelo con una covariable aditiva (a) y una dominante (d), en el que la variable a toma los valores 1, 0, y -1 y la variable d los valores 0, 1 y 0, según sea el genotipo AA, AG y GG, respectivamente. En la Tabla 5 se presentan los valores de a y d para ID, así como el valor p asociado a cada una de ellas.

	ID							
Lote	а	p-valor	d	p-valor				
1	0,28	<0,01	0,25	0,06				
2	0,31	<0,01	-0,07	0,52				
3	0,71	<0,01	-0,13	0,56				
4	0,43	<0,01	-0,15	0,07				
5	0,22	<0,05	0,21	0,16				
6	0,32	<0,01	0,02	0,81				
7	0,13	<0,01	-0,04	0,56				
Total	0.32	<0.01	0.03	0.50				

Tabla 5: Efecto aditivo (a) y dominante (d) del genotipo SNP3 del gen SCD porcino sobre el ID en el músculo del glúteo medio.

Se observa de forma consistente en todos los lotes que el modo de acción de SNP es estrictamente aditivo de forma que ID aumenta entre 0,13 y 0,71, según el lote, por cada alelo A presente en el genotipo. El efecto medio del alelo A en el conjunto de todos los lotes (total) se estimó mediante el mismo modelo pero añadiendo el efecto lote. En media cada alelo A aumenta 0,32 puntos ID.

EJEMPLO 3: Asociación entre el genotipo del SNP3 del gen SCD porcino y el porcentaje de MUFA y C18:1

10 en la grasa del cerdo y con otras características comerciales

15

20

25

Se contrastó el efecto del genotipo SNP3 sobre el porcentaje de MUFA y C18:1 en músculo y grasa subcutánea por ser los dos caracteres relacionados con ID que más afectan comercialmente a la calidad de la carne y la grasa del cerdo. El contraste se realizó mediante un modelo lineal que incluyó el genotipo y el lote con la covariable GIM. En la Tabla 6 se presentan las medias de los caracteres anteriores según el genotipo de SNP3 y sus efectos aditivo y dominante, así como los correspondientes valores p asociados.

			Genotipe	0		Valor aditivo y dominante			
Item	n	AA	AG	GG	р	а	р	d	р
Edad (días)	617	209,1	209,0	209,2	0,90	-001	0,98	-0,17	-0,65
Peso canal (Kg)	614	93,42	94,31	93,60	0,55	-0,09	0,86	0,080	0,27
Espesor de grasa (mm)	582	22,24	22,49	22,49	0,80	-0,12	0,56	0,13	0,67
Magro (%)	582	44,39	43,87	43,95	0,59	0,22	0,44	-0,30	0,44
Peso del jamón (Kg)	611	12,02	12,19	12,09	0,35	-0,03	0,60	0,13	0,16
Jamón (mú	sculo de	l glúteo m	edio)						
GIM(%)	615	15,29	14,95	15,20	0,73	0,04	0,87	-0,29	0,43
MUFA (%)	615	15,42	50,45	49,48	<0,01	0,97	<0.01	0,01	0,97
C18:1 (%)	615	46,61	46,02	45,28	<0,01	0,66	<0.01	0.08	0.61
Lomo (mús	sculo Ion	gísimo do	rsal)						
GIM (%)	236	11,30	11,39	11,11	0.85	0,10	0,76	0,18	0,69
MUFA (%)	236	52,58	51,30	51,50	<0,01	1,078	<0,01	-0,26	0,25
C18:1 (%)	236	56,61	46,58	46,12	<0,01	0,77	<0,01	-0,30	0,16
Grasa subcu	tánea								
MUFA (%)	103	51,44	50,26	49,68	0,11	0,88	0,04	-0,30	0,59
C18:1 (%)	103	47,81	46,69	46,26	0,13	0,78	0,05	-0,34	0,52

**Tabla 6**: Efecto del genotipo de SNP3 y efectos aditivo (a) y dominante (d) del genotipo de SNP3 del gen SCD porcino sobre los caracteres productivos y el contenido de MUFA y C18:1 en carne y grasa subcutánea.

Se constata que, de media, cada alelo A aumenta un 1% (0.75%) el porcentaje de MUFA (C18:1) en jamón, lomo y grasa subcutánea, de tal forma que substituir un cerdo o producto cárnico de genotipo GG por uno de genotipo AA mejora el porcentaje de MUFA y C18:1 en un 2% y un 1,5%, respectivamente.

En la Tabla 6 también se observa que el alelo A del SNP3 no afecta al peso del canal ni del jamón (valores de elevada importancia comercial), así como tampoco al porcentaje de magro del canal ni al contenido de GIM.

## LISTADO DE SECUENCIAS

	<110>	UNIV	VERSITAT DE	LLEIDA				
5	<120>		IMORFISMOS <i>A</i> RAMUSCULAR E		ON EL GRADO	DE INSATURA	ACIÓN DE LA	GRASA
	<130>		96PC00					
10	<150> <151>		P201231507 2-09-28					
	<160>	17						
15	<170>	Pate	entIn versi	ón 3.5				
	<210>	1	) E					
00		2098 ADN						
20	<213>	Sus	scrofa					
	<400> tctaga	1 ccct	ttgaatttcc	acttaaattt	tagaatctgc	ttqtctattt	cctcaaagaa	60
0.5	atctgt	tgga	tttctatagt	gattaaatta	atctatagat	caacactgag	tctgtccatt	120
25	_		gaatataaca ttttgatact				_	180 240
	_	_	tgatgttctt			_		300
			ccaggggtcg					360
30			ctggaccgca agcaaggcca					420 480
00			gccacaagga					540
			gcaattgttt					600
		_	acctttctaa		_			660 720
35			tcatacacac tatatctttc					780
			gactagaaat					840
			tttttttgg	_	-			900 960
		_	cacagccaca atgccagatc					1020
40			tagtcggatt					1080
			atgattcttg					1140
			ttacaagtcc atgaaagcca					1200 1260
			acgttcgggg		_			1320
45	gtgcct	ggcg	gcgaacgtcc	cctgctgggc	ttgcctagta	gctgaacgcc	gtgcgcgcgt	1380
			acatctatct	-				1440 1500
			agcagtacgc ggccgaccct					1560
	ggcttc	gccg	ggcccccggc	ccccaacccg	gggtttgaag	gcacgtctcc	ccctcccacg	1620
50	_		agctagaagg					1680 1740
			tccccggaaa tagcacccac					1800
			agcgcctccg					1860
55			aggaggagaa					1920
55			cgccgagcca gccagagtct					1980 2040
	_	_	cggagaccga		_	2222	2222 2 2	2100
			gccccggctc					2160
60			tctgcgcact ggtcgcccac					2220 2280
			ggtcgggtgc					2340
			ctccgcgcaa					2400
			tccctgaagt acttgctgca					2460 2520
65			gctggttggg					2580
	aggaca	gcca	cctttttcga	gttgtatagt	cttcagtttg	ttgggaatgt	ggattgtaat	2640
	ttggga	actt	agttctccaa	cttttgtttc	ctaaagcttc		ctggtggtac	2700
					11	U		

							0.00
			gcatgcgggc				2760
	-		cttcccctga			_	2820
	cagttcctgg	ggacttgcgt	ctcttccatc	taggatagac	cttgccctca	ggtaacctgg	2880
	gtattggggc	caggtctgtg	cctatacccc	gcccttcccc	cagctagacc	agggagtgaa	2940
5	gtggccccta	gtgtctccac	gtgtcctccc	ctctctccca	gctctgcact	tccactctct	3000
			acaaccacca				3060
			ttggagaaga				3120
			tatgacccaa				3180
			aacatcatcc				3240
10			acctgcaaga				3300
10							
	-	-	tcccaggttc		_	-	3360
			ccctccaggc				3420
			agtctagggg				3480
			ttggagaggg				3540
15	agtgagtaga	tctgtgccag	ggagtcagct	tttctgtttc	aagtcatttt	cttgactgct	3600
	tgtcccagcc	ctgccagcct	agaaagaatc	aaggccctta	cctggatgca	tgggaacatg	3660
			tagagggcac				3720
			taagcagaag				3780
			tagccttatc				3840
20			ttacatggat				3900
_0			caagaaaatq				3960
		_		_			4020
			tcctgctcca				
			cagaaaagag				4080
0.5			cccgtgcgtc		_	-	4140
25			tagtggagcc				4200
	_		gtctgacttg			_	4260
			cctctgtgat				4320
	aagccacggt	atggtttctg	gagcagtgtc	ggatgttggg	tccttgctgg	cagctatgct	4380
	cttggagggt	ggttctacag	aaggactggt	gggccaagtt	tcagcaaagt	cctccaggac	4440
30	ctctttgatc	taaagagggt	ggatctggtc	tgcggagcct	tgtcttggca	gatcctcttg	4500
	gtgccacaga	cagagaaatg	catctgggta	gattccctct	ctcaattttc	ccagacacaa	4560
	actggggaca	acaggacttt	ttttaagctt	agaaaggtag	tgctcctctt	ttggcctccc	4620
			gaccggggat				4680
			aggccgggat				4740
35			agcggacatt				4800
			aggtgcagag				4860
	-		gggggacttc	-	_		4920
			gaatcaagag				4980
			tctcccccat				5040
40							5100
+0			gactccctgt				
			cccttggctg				5160
			tttttggtgc				5220
			ctggatggtg				5280
			gaatgaccat				5340
45	tggagttggg	gggagggtca	gagttcccga	accttaagag	ttcaggaact	tggcttcatc	5400
	ttttcttgtc	ttgtccctaa	ggacagtgct	gaattagcaa	atggttgtga	ttccagcatt	5460
	tgtcaggact	gagcaatttt	gagtgtctca	gaagagccct	gagggctgaa	gcgatacctg	5520
			ggcgaaacgt				5580
			atctagactt				5640
50			aggcaccaga				5700
			tttgtgcttt				5760
			caaatgggag				5820
			agttcatggc				5880
							5940
E E			ctcatggata				
55			ctttctgagt				6000
	ccaccccagt	agcttcctgg	gttctgagct	acctctttcg	tgctcaaaga	cttttcttgg	6060
			gcggctcaac				6120
			ttaccacaag				6180
			gtgggtggca				6240
60	tctcctccct	gtcctgtagg	aggaataggc	tagggtagag	gaaggtgggt	gggacagggg	6300
	gcttgtttag	gaaactggtg	tctgtggctg	agaacacaag	acaatgtgtt	acaatgtgtg	6360
	gtgtctccaa	ctgcaactaa	gttcagtggc	cactgaggat	ccattgtttc	tagctgcttc	6420
			aacagtcact				6480
			ggtgggtgtg				6540
65			tgcaggcccc				6600
			cctgccctac				6660
			gcaaaggaga				6720
	cyayctyact	yayyaayyty	ycaaayyaya	gatgcaggag		accergggeg	0/20

ggggggcat gtasaacate ctocagecag getcagga caecaagtac titjttagag 6840 aacacateta titagaggat titjtgettita dettitag dettitag 6840 accacacate aggatatag gatacagga cagaggate aacacaca cagcatagga gatacagga cagaggate teatrogaca tittgagacaca cagagatet teatrogagatet cagagataga cagagatet titjttagatet catacagga teatrogagatet titjttagatet tittetagatet tittagate								
cacacacttc gqaatatgg agttaccag caggggtt aatcagagt gtagcacc caccacac aqocatag aactaggat cegaggeca tetgagact attecate 6990 catggtacac atggtacact 7000 catgatcac atggtacatag statgatgct gatggtacg aggatgaca atggtacat gtagtacgt catgatgata tettatcatt gatgatgat teagtagat caaqaatac agaatcag gatcact 7000 gtotagtagg teaacgaac tagatagata caaqaataca gaatcagg gttecetta 7000 ggtaggtagg teaacgaac tagatagata caaqaataca gaatcagg gttecetta 7000 ggtaggtagg teaacgaac tagatagata caaqaataca gaatcagg gatgagg aggaacaac 7000 ggtaggtagg gtagatgat gatgatgat caatgatgat caatgatgat caatgatgat caatgatac 1000 ggtaggtagg gatgaggatga ggaatgata gaggatgatg to catgatgata 1000 ggtaggtagg gatgaggatga ggaatgatga ggaatgatga gaggatgat caatgaggatca 4100 ggaatgatga gagatgatga tagatgatga gagatgatga tagatgatga gagatgatga gagatgatga tagatgatga tagatgatga gagatgatga tagatgatga gagatgatga tagatgatga gagatgatga tagatgatga gagatgatga gagatgatga tagatgatga gagatgatga gagatgatga gagatgatga gagatgatga gagatgatga gagatgatga tagatgatga gagatgatga gagatga		gggggggcat	ggtaaacatc	ctcgagccag	ggctcaggag	caccaagtac	ttgttgacag	6780
sacctacacaca ciagocatajag alectaeggat cogagocoga totogogacat áttocatago 6960 teatogoaca ejagocatect padogotaca atgottacas gitogoatacat programa atgottacas gitogoatacatago atgottacatago et gitogoata atgottacatago atgottacatagoa et goagocatagoa et transaccoca tyolangutat coaquigata caaquataca gasatotoga gitococtta 7200 tyolangutatagoa et gottacatagoa et gottagoa et atgottagoa et gottagoa et atgottagoa et gottagoa et alegatogoa et gottagoa et alegatogoa et gottagoa et alegatogoa et elegatogoa et alegatogoa et alegatogoa et alegatogoa et elegatogoa et alegatogoa et alegatogoa et elegatogoa et alegatogoa et elegatogoa et elegatog		aacacctcat	ttcaaaccat	ggctccattt	tttttttt	tttccttttg	ctttttaggg	6840
toactgoac gecagatect tractoactg agtgategae atggaacetc catggtacta gttgggett agattage tetttegge gecacacag gastectat ggetecettt ctacacca begaagtat cagtgategae tractorett tractoret		ccacaccttc	ggcatatgga	ggttcccagg	ctaggggtct	aatcagagct	gtagccaccc	6900
atgothacta gittggattag thittpgtgg gicacaacag gaactoctat gigtbocotht thaaacocas bycaaggtat coatgaaaca thaattott tyagtgttat attotttyge tigtoteage graacaaca tyactaqtat coataagaat engatetigg gittcocotta tyactacage graacaaca tyactaqtat coataagaat engatetigg gittcocotta gigggittigg gitggitgg gitagitggg captiggg tigtggttat cottages gigggittig traaataca agaattoctg taagetigg tigtggttat cottages gigggittig gitggitgg gitagitggg captiggg tigtggttat captigget gittigggittig attiggitgg gittigggittig tagaacaaa cacaacaaca gittigggittig gittigggittig gittigggittig captiggittig captigggittig tectitiggaa gittigggittig gittigggittig tagaacaaa cacaacaaaa cacaacaaaa gittigggittig gittigggittig gittigggittig gaaggittigggittig tectitiggaa gittigggittig gittigggittig gittigggittig cottagittig gitcitcococ opecocococ tyecococat atgothytig gococococ cogecocococ tyecococat gittiggittig gittigggittig gittigggittig gittigggittig aaggitacaaci gittigggac cittiggaataa gitticococat gaaggittiga gittigggac cittigggaataa gitticocotat gaaggittigagag gittigggaataa gittigggittiga gittigggittiga aaggitacaga gittigggaataa gittigggitticaaaaa gittigggittigaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa		acctacacca	cagccatagg	aactcaggat	ccgagccgca	tctgcgacct	attccatagc	6960
ttaacacca tycagatat coaquatata caaqaataca gaatatega gatcoctta tgotcagoc gtaacqaaco tgactaqtat caaqaaaca gaatatega gatcoctta tgotcagoc gtaacqaaco tgactaqtat coataaqgac tegggttgat cectggacot gegggtetgg gtagetgg gatactgat caaqtagtat caatacagaa tegggttgat cectggacot gggggtetgg gtggetgtg gatactgtg caatactgat tegggttgat cacacacact gggggtetgca gtgggtgg gatactgtg caaaaagactg taagataca acacacacac caacacacacacacacacacaca	5	tcactgcaac	gccagatcct	taactcactg	agtgatccca	gggatcgaac	atgcaacctc	7020
tgatacacca tgaaagtat caatgaata qaaataca gaaatataga ttegaagaca tgatagaaca tgatagaca tgatagaca tgatagacaca tgaaatatagaa tagagatagaa tgatagaaca qaaatagaaca tgatagaaca qaaatagaaca qaaatagaaca qaaatagaacaa qaaatagaacaa qaaatagaacaa qaaatagaacaa qaaatagaacaa qaaatagaacaa taatagaacaa taatagaacaaacaa taatagaacaaacaaacaaacaacaaacaaacaacaacaacaac		atggttacta	gttggattag	tttttgctgc	gccacaacag	gaactcctat	ggctcccttt	7080
tgatacacca tgaaagtat caatgaata qaaataca gaaatataga ttegaagaca tgatagaaca tgatagaca tgatagaca tgatagacaca tgaaatatagaa tagagatagaa tgatagaaca qaaatagaaca tgatagaaca qaaatagaaca qaaatagaaca qaaatagaacaa qaaatagaacaa qaaatagaacaa qaaatagaacaa qaaatagaacaa qaaatagaacaa taatagaacaa taatagaacaaacaa taatagaacaaacaaacaaacaacaaacaaacaacaacaacaac		cttactagcc	atgtggcctt	agataaacac	ttaatctttc	tgagtgtcta	tttctttggc	7140
tgetctaggg ttaaatace gestatetedt taagtgtagt tegggttge agacacaget 7260 getagtggg ttgagttggg egtagttgg eggstgtgg tegggttgg agacacaget 7380 gegggtetee Atagtggg getagtgge tegaacaaa cecacaaa caacaaa aaacaaaa caacaaa caacaaa caacaa		_		-				7200
ggtottogg thgagtdag dagtagtag ggtottog caatcaa caccaacat 7320 gggagtttcc atatgctggg gatgtggtc teaattca ecctaget 7380 gggagtttcc atatgctggg gatgtggtct teaaaacaa cacaacaaa 7440 tectgtgaca agettagat tgtgeagat tgacttaggt geaggegg tttteceat 7580 tetgtgaca cgagtctgc caaaagactg aattggtgtg tracacagatg ttteceat 7580 tetgtgaca cgcagtctgc caaaagactg aattggttg tracacagatg tracacagatg 7560 ectaaactg gteagtgec agecacece geececeg tycececaa geecaagatg 7580 atgggtette agetetgaa gagtactetg tggteettaa aactgtggag accatggt 7580 aaggteagag gagtgagac etgggataat gteetteaga accagagatg acaagtggt 7780 ggaggtgag agecetette tetgteecg etteetgaa accagagatg acaagtgge 7780 ggaggtgag caagaggac etgggatgaa gteetteaga gaaaagaag acaagtgget 7780 gagaggtgag claagagate acgatgagaa tttttteea gagtgaaa ttttteea gagtgaagaa geecetete 1980 attecagtg tgaggagtag gatgaggag gatggagaa tetgaggaga 262 teagtgagg claagagate acgectgtg gagtteag gaaaagaag accttacac 7780 gagtgtacag gaagagate acgectgtg gagtteag gaaaagaag accttacec 800 gagtgtacag gaagagate acgectgtg gagttagea gaaaagaag accttacac 800 gagtgtacag gaagagate acgectgtg gagtacacga accttacaaga gattygece 800 acctggggte tteetgate ttccagacac gagtgatgat teagtacega accttacaaga caccagtge 820 ectagctett atcaaaga aggatggt bettgagaa gagaaagac cactgatge 820 acctcacatt cettetget teagtaaaa gagaaatag gaaaaaga gaaaaaga acctacatt teagagagaa acctacaaga gagaaagac acctacaaga gattagatga acctacatt teagagagaaa acctacaaga gagaaaaaga acctacatt gagatgatgat teagagaaaaaga gaaaaaga acctacattagaga teagacaca acctattagaga gaaaaagaa acctacaaga gaaaaagaa acctacaaga gaaaaagaa acctacaaga gagaaaaaa acctacaaga gagaaaaaaga acctacaaga gagaaaaaaga acctacaaga gagaaaaaaga acctacaaga gagaaaaaaa acctacaaga gagaaaaaaa acctacaaga gagaaaaaaaa acctacaaga gagaaaaaaaaaa					-		-	7260
gaggattagag gtagattagag cgtagatgg cgtagagg totacaacaaa acaacaaaaa 7440 toottagaaa agottaagag tytogasta tyaattaggg cacaacaaaa acaacaaaaa 7440 toottagaaa agottaagaa tytogagata tyaattaggg caaagaggag thttocccat 7550 ctagttotga geccocccc cgccocccc tyaacaagagag taaatagat 7560 ctagttotga geccocccc cgccocccc tyaacaagagagagagagagagagagagagagagagagaga	10	-						7320
ggagactica alatgotigga gatgiggata tyaattagat gaaagacaa caaacaaaaa 7440 tectigacaa agetraagat tytgotagata tyaattagat gaaagagaga titteccaat 7550 clagticigaa gedeeccee egeoeccege tigececcaat gtececlaga accagagic 7560 cataactig gedeeccee egeoeccege tigececcaat gtececlaga accagagic 7620 cotcaaactg gteatgece agecatet gigteettaa aactgiggaa aagettagig 7760 atgogagagagaa gacetotte totgiccege tigececcaat tittaatact gecetigit 7760 atgogagagagaa gacetotte totgiccege citeotigaac tittitieaa aggigagagaa gacetaga gaagagagaa gacaagaatga aaaagiggat 7860 gaagaggagaa caaagagat taggigagaa citeotigaac tittitieaa aggigaagaa caaagagaat aaaagigga 7860 tigaaggaga caaagagata aggagagaa taggigaaa tittititiea aggigaagaa caaagagaat aaaagagat 7860 gaagtigaag gaagagata aggagagaa tittititiea aggigaaaca taggigaaaca tagagigaaa tagagagaa accagtigaa gaattageec 8040 gagtigaag gaagagata acgacatga aggaaaaca caaagagaaga accagtigaa gaattagaca acctagatiga gaattagaca aactacatti citotigata tigaagaaa aggaaaaaga gaadaagaa accagaagaa accadaagaagaa accadaagaagaa accadaagaagaa accadaagaagaa accadaagaagaa accadaagaagaa accadaagaagaa accadaagaagaagaa accadaagaagaagaa accadaagaagaagaa accadaagaagaagaa accadaagaagaagaagaa accadaagaagaagaa accadaagaagaagaagaa accadaagaagaagaagaagaagaagaagaagaagaagaagaa		2 222		,	2 2 2 2	2 222 2		7380
tecttgoaca agettaagac tgtgeagata tgatetaggt geaagaggagt ttttecceat 75500 ctagttetga geececeece egeececege tgeececat gteecagatg daaataget 7550 catagttetga geececeece egeececege tgeececat gteecetaga acceagagte 7560 cetaaactg gteagtgeec agecateet gtettacata ttttaataat geecttgat 7560 atagggetge gaagtgeec agecateet gtettacata ttttaataat geecttgatg 7740 agagggtgag agactgegec tgggecateet gtettacata ttttatataat geecttgatg 7740 agaggtgag agaatgggac taggataat gteettetga acaggaagatg acagtgget 7860 20 atteeagetg tgaaggat taggtgeet gaggateag atttettetea agtggtaaaa 77920 geagectgaa ggaacectgg aggtgteet gaggateag tttetteaga geagaagga ctaggtaat 1000 ggatgtaag geagaget aggtteet gaggtteet gaggataggaa tagtetgae 200 ggatgtaag gaagaggat aggtteet gaggtteet gaggataga gaacetaace 7980 ggatgtaag gaagageta acceptagt gagteacega acttacacaa getagtgetge 100 gggtgtaag gaagaggat gaggaggaggaggaggaggaggaggaggaggaggaggag								
tetgtjacea ejeagtetge ejeageagea tigececcat gtecectaga accagagte 7550 cetagtotga geocecca ejececcat gtecectaga eccagagte 7620 ceteaaaetg gteagtece ejececcat gtecectaga eccagagte 7620 ceteaaetg gteagtece ejececcat gtecectaga escetagte 7620 ceteaaetg gteagtece ejececcat gtecectaga escetagte 7620 ceteaaetg gteagtece ejegetaga gegetatetg 77800 ejeageaggagagagagagagagagagagagagagagaga								
tctagtictgs gcccccccc cgcccccgc tgccccccat gtcccctaga accaqagtc cocaacaty gtcagtoca agocatect gtcttacata ttttaatact gcccttgttt 7680 atgggtcttc agotctgaa gagtactctg tggtccttaa aactgtggag aagottagtg 7740 aaggtcagag gagtatggac ctgggataat gtccttcatga cacagagatg cacagtggct 7860 gagagggaggagaggaccctctc tctgtcccgc ctcctctagacttctgtggggagactgagagggccctgaa gagataggag ctgggatcag gagataggag ctggagtcag gagataggag ctggagtcag gagataggag ctggagtcag gagataggag ctgagtgac gaggatagagagactgaaggagactgaaggagactagaggagactagaggagagaga								
cctcaaactg gtcagtgcc aggcatct gtcttacta ttttaatact gcccttgttt 7780 adggtcttc agcttgcaa gagtactct tgtccttaa aactgtggag aagcttagtg 7780 aaggtcagag gagatggac ctgggataat gtccttaat aactgtggag aagcttagtg 7780 gagaggtgag agcctcttc tctgtcccgc cttcctgaac tttcttggac ctgtaagct 7800 ttgaagggag ctaaggagaa ggcatggac tgggatggaa tttttttcca aqgagaatag caagtggac gagaggagac ttttttgaaggaga ctaagaagaag gagaagaagaa tttttttcaaggaggac cacctgaa ggacactaga aggacactaga aggatacaga actacactgtag gagatcac 8000 gagtgtacag gagaggac acccctgtg gagttacac gaacttacaag ctagactgac 8100 gagtgtacag gagagacta acccctgtg gagtcaccg acttacaaga ctcaactgtga 8100 gagtgtacag gagagacta acccctgtg gagtcaccga acttacaaag ctcaactgca 8100 cctagggtc ttcctgatca ttgccaacac gatggcattc caggtaagaa gccagctgtg 8280 acttcacttt cttctctgt tccagtcac tcaagttcag gggacagac ctggacagc 8280 acttcacttt cttctctgt tccagtcac tcaagttcag gtcagtgag gggacagac ctggacagct 8280 acttcacttt cttctctgt ttcaagacc ctaagttcag gtcagtagaa ggaaatagac 8400 tctgtgtata ggatcgttt caagactcac gtttcaacac gagtgagtg tgtggtcata 8340 acacctpcag tacttttgag tgacctceg ttgtcaacac gtttggtgtct tgtggtccct tcaatttt aggtgaaca ctcaagactc accaaaaga gattaaagta actgtgtgagt ttgtggtccct tcaagactac accaaaaga gattaaagta attgttgtag tcattt taagagatcac accaaaaga gagtaaagaa accatttaagagt tcattgagaga ttgtgactga gagatcacaa acctttatta gtgttaacta 8800 gagtgtaggt agacactaat tatggtcctg ttgtagacca cttcaagaagaagagaac actcaaaagaag agagaacaa accttaagagac ccaccaaaaga gagagaacaa acctatacacac accaaaagaag gagagaacac acctcaaagaaga accaatgacac accaaaagaagaacaa acctaatacacac accaaaagaagaacaa acctaacacaca gagagataca accattacacacacacacacacacacacacacac	15							
ataggtatic agatatggaa ciggataatic biggtoottaa aactitaggaa agattagtga 7740 aaaggtaagaa gagataggaa ciggataat gtoottoata aacaggaaat acaagtgact 7800 gagaggtgaa agocottotte tetspiceogo chtootgaac thickiggaa cigtaaataa 7720 attocaagut tagaggataa gagataggaa gegataggata tittittioa agtiggtaaaa 7720 caagactgaa gacacctaa acgotigacct gagagaaaca tacacgtaa gactootcacct 7980 gagagottgaa gacacctaa acgotigacct gagagaaaca tacacgtaa gactootcacct 7980 gagtytoacg gagagatot accgociygt gagticaag gaatagaa actoctacct 7980 gggtytoacg gagagatot accgociygt gagticaag gatatacaag cicqactigce 8000 gggtytoacg gagagatot accgociygt gagticaag gatagaagaa coctacctig 8220 cctagctott tatoaaacg agogatagg tycotiggaa acticacaag cicqactigc 8220 acticactit cototictic tocagtocac taagticaag gagaaagaag agoagctigg 8220 acticactit cototictic tocagtocac taagticaag gagaaataga gagaatagac 8000 totatigtaa galectitt caagcocicg titlocacaa gtotiggatot titggatocat 8220 tocatatitt aggtgaacat cicaaggact gatticotic tyggicacataa 8200 toattatit aggtgaacat cicaaggact acciticatic gagacticat 8200 toattatit aggtgaacat cicaaggact aaggataaaa accititiata gigttaacta 8600 toattatigga tygacatatic agaagatcaaa accititiata gigttaacta 8600 toattatigga tagacactaa tattigototi tytigaagtoc cicaacaaga gagataagag tatagagataa accititiatagaga tagagactaaa accititiata gigttaacta 8600 aggitytaagt agacactata titticaggiga gaagatacaagagagagagagagagaagagaagagagaagagaaga	.0							
aagicagag gagatggag agcoctotto totgoocac ottoctgaac titotggac otgaagatg acaagtggct 7800 gagagggag agcoctotto totgoocac ottoctgaac titotggac otgaagatt 7800 titgaaggga chaagagatc taggtgtooc tagaagtaag ogaagaagaagaagaagaagaagaagaagaagaagaagaa		_			-		-	
20 attocacts tragagotas agazatago contents of the tragagot contents of the tragagogo contents of the tragagogogo contents of the tragagogogogogogogogogogogogogogogogogogo								
togaggga chaagagate taggsteas tetteteca aggggtaaaa								
ttgaagggga ctaággaato taggtgtocg tggaagtcag ggaaaagga atcotcacct 7980 gagcotgaa ggacacctag acgctgacc gagaggaaca tcacgtgtaa gacttgccc 8040 gattactgac tccctgtcet gtcttcoggc agggttcaccga acttacaaag ctcqactgc 8160 ctcgaggtc ttctgatca ttgcaacac agtggaata cacgtgtaa gactgctgc 8160 ctcaggtctt tatcaaaagc aggcgatggg gattaccga acttacaaag ctcqactgc 8280 acttcacttt cotcttgtct tccagtcacc tcaagtcag gaggaaaag ggagaacgc 8280 acttcacttt cotcttggt tcaggacgggg ggggaaaag ggggaacac 2880 acttcacttt cotcttggt tcaggacgggg ggggaaaag ggggaaaag ggagaacac 2880 acttcacttt agggaggag tgactggagg gggaaaag gggaaatagc 8400 tcattatgtg aggaggaaca actgagcatg ggggaaaaag gggaaatagc 8400 tcattatgtg aggaggaggac actgaggagga aggagaaaag gggaaatagc 8400 tcattatgtg aggaggaaaa actgagcact agtttcctag gaggcgtg gacaatacat 8520 aggttcatgag acctatatg tttcaggtga gaagatcaaa acttttata gtgttaacta 8580 aggttcagga gtgtaggaggaggaggaggaggaggaggaggaggaggagg	20							
goagoctogaa goacacotag acgotgacot gaggagaaca tcacqtgtaa gacttgccc gottectogg gagtactacag cocagogact caccactoga gagttactacag caccactoga gagtacacaca caccactogad actacacacacacacacacacacacacacacacacacac	20		2 22 2	22 22 2	2 2 22		2 22	
gattactgac tecetgteet gtetteegge aggetteec teatatetge tgagtgetgt 8100 gggtgteagg geaggagete acegectgtg gattacega acttacaaag clegactgec 8160 cctgeggte tecetgatea ttgecaacac gatgagag gagacacac actgacactgt 8220 ctcagetett tataaaacge aggegatgg tgectgaag gagacacac etgacagetg 8220 ctcagetett tataaaacge aggegatgg tgectgaag gagacacac ctgaacget 8280 actecattt cetetetget tecagteace teaagtteag gtteagetet tgggteetat 8340 acacetgag tactteggag tgactgaaa agggaaatag gggataaaga ggaaatagec 8400 tettgtgataa ggatcatte cagacetec gattecaaca gtetggetgt tytggteet 8460 teattatgte acqaaggcagg aactgacet gattecaaca gtetggetgt tytggteet 8460 teattatgte acqaaggcagg aactgacet gattecaaca gtetggetgt tytggteet 8520 teattattt aggtgaacat etcagatet aggataaaa gaggataaaa acactattgt ttteaggtga aggataaaa acactattge ttteagagag ttggaacaa aggataaca cattataagge etcaaagaa gaggataaca cattataagge gaggatgagg ggggaggtgtgaataga gaggaaaaaga aaggaaaca aactgatet tetgecatag gaaggataaa aacggttee ttetteegg gaggaagagagagagagagagagagagagagagag								
gggtgtcacg gcagagactc accgcctytg gagtcaccga acttacaaag ctcgactgc 8160 cctgcgggtc ttcctgatca ttgccaacac gatggcattc caggtaagaa gccagctytg 8280 acttcacttt cctctctgct tccagtacac taagtcagagag ggagaagac tgggacagac ctggacagacac ctgagaagag gacaggatggg tgcctggaag ggagaagac tgggacagacac ctgagaagac tgacttggaa acttacactt cctctctgct tccagtacac tcaagttca gatcatgagact gacatgacac tctgggtata gagacagagaagaga								
cotgagggte thoctgatea the traceased gategoathe cagghaagaa gocagetgg 8220 cotageteth tateasaace agetgatggg tectofgaag gagacacac chigaacac chigaacac totgateathe acceptant tectoffield to cagheace totagethead gateachted gatechted gatechted gatechted gateachted totgetgata gagacagaca acceptaga agacetaga acceptaga acceptagaga acceptaga acceptaga acceptaga acceptagaga acceptagagagagagagagagagagagagagagagagagagag		-	_			_		
ctoagctett tateaaacge agegatggg tgeetggaag ggageageac etggacaget 8280 acticacttt ceteteteget tecagteace taagtreag gtteagteet tgggteeta 8340 tetgtgatat ggategttt tgeagtegaa aggagaatag ggagaaagg ggataaagg ggaataagg 8400 tetgtgtata ggategttt ggageteg tgtgtacete 8460 teattagtge acgageagg actgaceteg ttgteaceac gatteagtget tgtggteet 8460 tactatttt aggtgaacat etaggacte caccaaaagg gattaaagt aatgtttea 8520 teactatttt aggtgaacat etaggacte caccaaaagg gattaaagt aatgtttea 8580 agatteatga accetattgt ttteaggtga daagateaa accetttatae gtgttaacta 8640 teettaggagg ttggtactgt tgtgateece atggageteg agggagaaget gtgtcaceag 8700 tettaggagg ttggtactgt tgtgateece atggageteg cacagetge taagteaaat 8820 gggtgaggt agacacteat tatggteetg tgtgagetg caagetgge tatgagaagg ggggaaaagg ggggaaaagg gggggaaagg ggggaaaagg gagacacacac	0.5	222 2	2 22 2	, , ,	2 2	_		
acttcacttt ceteteget teaagteac teaagteag giteagteet tgggteata aacactegeag tactttggag tgategate oggacataag gggataaag gggataatag gggataatag gggataatag gggataatag gggataatag teatttggag tgategate oggaceteet gatteetag geageegttg gacaatacat 8520 teattattt aggtgaacat etcaagatee eacaaaag gattaaagt aatgtteac 8580 agatteatag accetattg titteagtgag gaagateaaa cattitata gyttaacta 8640 taceteetgg cectattetg tggtacet tgtgateec adaggatee cattaggag tggtaagt agacateat tatggteet tgtgateet tgtgateet tgtgateet tgtgateet tattggaggat tggtaagte gagagateag gaagateaa cattitatagagg ttggtaetge tggtaagee aaggatea cattgageeg eaaggagat ggggaaaagg gaagaaagag gaagagagag	25							
acacctgcag tactttggag tgactggaaa agggaaatag gggataaaga ggaaatagc 2 8400 tctgtgtata ggatcgttt cgagctccg ttgtgaccct 34600 tctgtgtata ggatcgttt cgagcctcg ttgtgaccct 34600 tcattagtgc acgagagaga actgacct gatttcctag gaagccgtgt gacaatacat 3520 tcactatttt aggtgaacat ctcaggact caccaaaagg gattaaagt aatgttcac 3620 tcactatttt aggtgaacat ctcaggact caccaaaagg gattaaagt aatgttcac 3620 tcactatttt aggtgaccat agaagatcaac acctttatat ggtttaacta 3640 tactcctgg ccctattctg agaacttgac aaggataca cactttatat ggtttaacta 3640 tcttaaggag ttggtactgt tgtgatccc attaaggaggggggaagct ggttaacacag 3700 tcttaaggagg ttggtactgt tgtgatccc attaaggagggggggaagct ggttaacacag 3700 tcttaaggag ttggtactgt tgtgatccc attaaggac cccaataga 3700 tcttagaggac aggaagaca aatcggtcg caaaggtat gagagaaagg 3930 aactccgagt 3880 dagggaaaaag aggaagaaca aatcggtcc ctttaaggag 3930 aactccgagt 3880 gggaaaaaga 3930 aactggtcc ctttaaggac ctttattgg 3930 aactcggg 3900 aaactgtct tctgccatag 3930 accttagt 3930 ccattctgc 3930 aactggaaga 3930 accttgga 3930 aactggaaga 3930 accttgga 3930 acctttgc 3930 accttctgc 3930 accttctgc 3930 accttcgc 3930 accttcgc 3930 accttcgc 3930 accttcgc 3930 accttcgc 3930 accttcgc 3930 accaagttt 3930 accttcgc 3930 accaagttt 3930 accttcgc 3930 accaagttt 3930 accttcgc 3930 accaagttt 3930 accaagaaca 3930 accaagttt 3930 accaagttt 3930 accaagaaca 3930 accaacaaca								
tetgtgtata ggategtitt egageteeg ttgteacaca gtetgetgt tgtggteet 8860 teattatgtga acgagegagg aactgaecet gattteetag geageegttg geacatacat 8520 teactatttt aggtgaacat etcaggaete cacacaaagg gateaagtt atgttteac 8580 agatteatga accetattgt ttteaggtga gaagateaa eacttttata gtgttaacta 8640 teacteetg cectattetg ageacttga gaagateaa eacttttata gtgttaacta 8640 teacteetg cectattetg ageacttga agagatacaa eacttttata gtgttaacta 8700 tettaggagg ttggtaetgt tgtgateece atteagga gggggaagaet gtgteactga 8760 gggtgtaggt agaccatcat tatggteetg tgttagetg ceaagetgte taagteaaat 8820 attaggaete getgaageeg gaageteata geagggaat ggggaaagagg acteegggg gggaaaaga aggaaacea aatteggteet ttteeteetg ggagttage ttggateaag 8940 gggeaaaaga gagaaggata tetgeaceet etteeteetg ggagttage ttggateaag 8940 gggeaaaaga ggaaggata tetgeaceet etteeteetg ggagttage ttggateaag 8940 gggeaaaagaa ggaaggata tetgeaceet etteeteetg gaagtgeteet eacacagetge 9000 ecacagagaee atttggaaat geggteaaat eatgattat gtgeteggtgg tecetgttgg 9060 ecacagagaea ttgeaattt acceteagt gaaccettee ttgttgattg 9180 ecattetgee caccatataa eccegaagaa gagecagee etatteatg ggtetetgga 9360 ecattetgee caccatataa eccegaagaa gagecagee etatteatg ggeetetgga 9360 etatgaaggg etttteecat taageaceag tggeeagta gagaggagga acceteetga 9420 etetetett ggageeetg eteceaggaa tteeggaattee etagagaggg etagaggga ggeeteggge 9480 etetgaagg ettteeetg gaatgaeetg etagaagggg etagagggg ggeeteggge 9480 etetgaaga acctageeat tggeatteee etagagggggggggggggggg								
teattagtge agaggeagg aactgaecet gattteetag geageegttg gacaatacat 8520 teactatttt agggtgaact cecaggacte cacaaaagg gattaaagtt aatgttees 8580 agatteatga accetattgt theegagga gaagateaa cactttatat 8580 teacteetgg cecatteetg agacattga aaggattaaa cactttatat 8640 teacteetgg cecatteetg agacattga aaggattaaa cactttatat 8700 tettaggagg trogtaatgt tytgateece attreaggag ggggaaaget gtgtaactga 8700 tettaggagg gacactact tatggteetg tyttgaggg gaggagaggaggaggaggaggaggaggaggagga								
tcactatttt aggtgaacat ctcaggacte caccaaaagg gattaaagtt aggtgttaacta agattcatga accctattgt ttcaggtga gaagatcaaa cacttttata gtgttaacta 8640 tcctaggagg ttggtactgt gagacttate cactaagge ctcccaacag 8700 tcttaggagg ttggtactgt tgtgatcce attcacgga gggggaaget gtgtcactga 8760 gggtgtaggt agaccatcat tatggtcetg tgttgagetg ccaagctgte taagtcaaat 8820 attagaggtet gctgaageeg gaagctcata gcagggaat ggggaaaggga actccgagt 8880 ggggaaaaag agacgaactgg caaaggtag catgttgtg gggggaacacaa ttggacca 2 attggaca 2 attggacaa 2 actggtce tttcttcgtg ggggctaaca 2 accagagaa 2 accaggagaa 2 accaggagaa 2 accaggaga 2 accaggagaa 2 accaggagaa 2 accagagaa 2 accagaaa 2 accagaaa 2 accagagaa 2 accagaaa 2 accacaataa 2 accagaaaa 2 accagaaa 2 accacacat 2 accacaataa 2 accagaaa 2 accacacat 2 accacaataa 2 accacaataa 2 accacagaa 2 accacacaa 2 accacagaa 2 accacagaa 2 accacagaa 2 accacacaca 2 accacagaa 2 accacacaca 2 accacagaa 2 accacacaca 2 accacagaa 2 accaaagaca 2 accacacaca 2 accacagaa 2 accaaagaca 2 accacacaca 2 accacacaca 2 accacacaca	00							
agattcatga accetattet teteaggtga gaagatcaaa cactettata gtgetaacta 8640 tacetectgg cectattetga gacacttgaac aaggattaca ceattaagec ceccacacaga 8700 tettaggaagg ttggtacatgt tgtgatacec attracagga ggggaaggtg gtgtcaactga 8760 attragagg ttggtaagtc gaagagctata gaaggaagtg cacagtgtc taagtcaaat 8820 gagggaagagg gtgtgaggaggaggaggaggggaggg	30			_	-		-	
tacctcctgg ccctattctg agacacttgac aaggattaca ccattaagcc ctccaacag 8700 tcttaaggagg ttggtactgt tgtgtacccc atttcacgga ggggaagct gtgtcactga 8760 agggtgtaaggt agaccactaat tatggtcctg tgtgagctg ccaagctgt caagtcaata 8820 attgaagtct gctgaagccg gaagctcata gcaagggaatt gggaaaaggg aactccgagt 8880 tattgaagtct ctcgaagccg caaaggctag catggtgtg gggacaaaggg aactccgagt 8880 atacatgtct tctgccatag caatggtcc tttctcgtg ggcagttcc acacagctgc 9000 ataactgtct tctgccatag cactgaccc ctctaaaggc cccaagagaca attggaacac attggaacac cccaagagcc atttggaaat gggagaataggc aggctgaagatggg tgggagagtgg ggaaaaggaga ttggaaata ggggaaaatggg agccctttga gaccctttgc tctgagtgg 9180 gggagagagaa attggaatat accccaagtgc agccgtgaa agccctttgagtgg ggggagagagagagagagagagagagagag						-	-	
tcttaggagg ttggtactgt tgtgatccc atttcacgga ggggaact ggtgtactga 8760 gggtgtaggt agaccatcat tatggtcctg tgttgagctg caagctgtc taatgagtctg attgaggtct gctgaagccg gaagctcata ggaggaatt gggagaaaggg aactccgagt gggcaaaaaa gggaaaacaa aatcggttcc ttttcttctgt ggggcttagc ttggatcaag gggcaaaaaa ggaaaacaa aatcggttcc ttttttctgtg gagttgtcc acaagctgc 9000 ataactgtct tctgccatag cactaacgc cttgaaggcc cctgatggg tcccaggtgg ggcaaaaaa ggaagagata ttggcaccct ctctaagcga tagaaagtgt cccaaggtgg 9120 cccagagacc atttggaaa gggattaggc agctgtgaa gacctttgg tcccattgtg 9180 tgggaqctga atcttgccaa gggattaggc agcctgtgaa gacctttgc tccattgtcg 9200 ccattctgcc caccatataa cccgcaagaa gcagctgaa agccctttgc tgggtgaagaa ttggaaattggc agctgtgaa gacctttgc tccattgtg 9180 ccattctgcc caccatataa cccgcaagaa gcagccagc ctattcatgg ggtcctgaag 9360 cttgaaggtg cttttccact taagcatcag ttggccagtta ggagagagga acctcctga 9300 ccattctgcc caccatataa cccgcaagaa ttggcagtta ggagagaggag cactcctgag 9420 ctctctcttt tggaccca ttggcattcc ctgagagggt gtcttcctc aggcctccat 9540 tcctcttctt tgtccctcca gaatgacgtt tatgaatggg gccgtgag gcgctcggg  9480 ccaagtttt cagaaacaga tgcgatccc cacaattcc gaggtggtt ttttctctt 1 cacagttggt gctgttgt gcgaaacac ccagcgtca aagagaggg gggttgccaagg ggggaaaaggg ggggaaaaggg ggggaaaaggg ggggaaaaggg ggggaaaaggg ggggaaaaggg ggggaaaagggg ggggaaaagggg ggggaaaaggggaaaaagggagga		agattcatga	accctattgt	tttcaggtga	gaagatcaaa	cacttttata	gtgttaacta	
35gggtgttaggt attgagact tattgaacag gctgaaccgg caacactgg caacagtgg caacagtgg caacagtgg caacagtgg caacagtgg caacagtgg caacagtgg caacagtgg caacagtgg caacagtgg caacagtgg caacagtgg caacagtgg cacagagaca catttgaacag gggcaacaag gggcaacaga ggacaacaga ggacaacaga ggacaacaga ggaacacaga cattacggt cccagagaca catttgcaaca ggacacaca catttgcaaca ggattagac catttgcaaca ggattagaccc cacacattaca cccagagaca catttgcaaca ggattagacaca catttgcaaca ggattagacaca cacatttgcc cacacattacaca ccacattctgcc cacacattacaca ccacattctgcc cacacattacacacactcacacacacacacacacacaca			_	-		_	_	
atttgaggttt tattgaaacg cagcactgg caaagctcata gcagggaatt ggagaaaggg aactccgagt 8880 gggcaaaaag aaggaaaca aatcggttce ttetetetg gcagttcac acacagctg 9000 ataactgtet tetgcaaag cactaaacg cttgaaggc cccaaagaca ggaagagat tggacacct ctctaagga ccccaagacac atttggaaat gcggtcaaat catgattatg tggagagtgag atcttggaaat gcggtcaaat catgattatg tggagagtga atcttggaaat gcggtcaaat catgattatg tggagaggaga								
tattgaacag cagcactggg caaaggctag catgtttgtt ggggcttage ttggateaag 8940 gggcaaaaag aaggaaaca aateggttee tttettegtg geatgtee acacagetge 9000 ataactgtet tetgecatag cacttaacge ettgaaggee cetgatgtg tecetgttgg 9060 ggcaaaaagaa ggaagagata ttggcacet ettgaagga tagaaagtgt eecaaggag 9120 eccagagace atttggaaat geggteaaat eatgattatg tgtetggeet tecagttett 9240 getggaagaa ttgcaattt acctectagt gaaactette aagetetata caatecatet 9300 ecattetgee caccatataa eeggaagaa gaagaegaeg gaagaegaeg ettgaaggag 9360 ettgaaggg ettgeed ettgaaggag gaagaegaeg ettgaaggaggaggagaagaegaegaegee ettgaaggaggaggagaagaegaggaggagaagaegaggagga	35	gggtgtaggt	agaccatcat	tatggtcctg	tgttgagctg	ccaagctgtc	taagtcaaat	8820
gggcaaaaag aaggaaaca aatcggttcc tttettegg gcagtgtete acacaagetge 9000 ataactgtet tetgccatag cacttaaage ettgaaggee cetgatgtgg tecetgttgg 9060 ggcaaaagaa ggaaggata ttggcaccet etetaagga tagaaagtgt eecagggag 9120 eecagagace atttggaaat geggteaaat eatgattatt tytetggeet tyttgagttg 9180 getggaagaa ttgcaatttt accetetagt gaaactette aageetetata caatecatet 9300 eettggaaggee eecatataa eecgeaagaa geageeagee etteatgt ggteetgag 9360 45 ettgaaggt etteteaet taageateag tggecagta gagaggagge aacteeetga 9420 eeteetette ggageeetga eteeeagga tttggeaggee ettegggetga ggeetegge 9480 eeteetette tyteeetee gaatgaegt tatgaagggg geeteetee aaggeeteeta 29540 eecaaggttt eagaacaaga tgeetgate eteeeaggaggt geeteteetee 2960 eecaaggttt eagaacaga tgeetgatee eagaggggggggggggggggggggg		attgaggtct	gctgaagccg	gaagctcata	gcagggaatt	ggagaaaggg	aactccgagt	8880
40 ggcaaagaa ggaaggata ttggcacct ctctaagga tagaaagtg cccagaggag 9120 cccagaggac atttggaaat tggcacct ctctaagga tagaaagtg cccagaggag 9120 cccagaggac atttggaaat gggtcaaat catgattatg tgtctggcct tgttgagttg 9180 ggtggaagaa tttggcaattt acctcctagt gaaactcttc aagcctttgc tccagttctt 9240 gctggaagaa ttgcaatttt acctcctagt gaaactcttc aagcctttgc tccagttctt 9240 gctggaagaa ttgcaatttt acctcctagt gaaactcttc aagccttata caatccatct 9300 ccattctgcc caccatataa cccgcaagaa gcagccagcc ctattcatgt ggtcctgaga 9360 cttccagtt tttccact taagcatcag tggccagtt ggagaggagg aactccctga 9420 ctcctcttt tggagcctga ctcccaggta tttgcaggt ttgggctgag cgcctcggc 9480 tcttgaagga acctagccat tggcattcc ctgagagggt gtctctcct aggcctccat 9540 tcctctttct tgtccctca gaatgacgtt tatgaatggg cccagagtac ccgtgccaa 9600 cacaagttt cagaaacaga tgctgatcc cacaattcc gacgtgtct ttttcttct 9660 cacaagttt ggcctgttg gccgaaacac ccagccgtca aagagaaggg tggttttctc 9720 aacatgtctg acctaaaagc ggaaactgg gtgatttcc aagaggaggg gggcgttgt tttttcttct 9840 ggacttgcc acataagctg ggaaactga agggtctgc ccccctcctft tttttctct 9860 aacactgttcc acataagctg ggaaactga agggtctgc accctctcc cccccgtft tttttcttct 9840 ggacttgtcc acataagctg ggaaactga agggtctgc taccccaaat cataattcaa 9900 acctattgcc atagccat acatagtgg cccctccc ccccctgtt tttttcttct 9840 ggacttgtcc acataacct acatagtgg accctttcc cccccaaat cataatcaa 9960 acctgggaactgg ccaaatacct atgacatgg caccttccc cccccagt ttttcttctc ctgagctaaa 9960 accagggggg gaactgtgg aggactgtg ttgacctgat acaggggagga ggaggaggacata 10020 acatggtgcc acaatacct atgacatgg acaaatattt tctgtcccca ggaaaggac 10020 taggaacca ctggggaaa acaatgggg acaaatattt tctgtccca ggaaaggac 10140 agaaggagaa ggaggagaa acaaagaa gggtttaaatc acaggggggg aggaggaca acaaggagaga ggcaggaaa acaggagagaga		tattgaacag	cagcactggg	caaaggctag	catgttgtgt	ggggcttagc	ttggatcaag	8940
40ggcaaaagaaggaaagagatattggcacctcctaaaggatagaaagtgcccaagagag9120cccaagagaccattttgaaatgcggtcaaatcatgattatgtgctggctttgttgagttg9180tgggagctgaattttgaaatgggattaggcagcetgtgaagaccetttgctccagttctt9240ccattctgcccaccatataacccgcaagaagcagccagccctattcatgtggtcctgaa936045cttgaaggtgcttttccacttaagcatcagtggccagttaggaggggggaactccctga9420ctcctctctttggagccctgactccaggtattttgggggggcccagattaggcccaggtgcccagatacccgtgggcc9480tccttcttctttgtcctcccagaatgaggtttattgaatggggcctctcctcagcctcatac9540tcctcttctttgtcctcccagaaagagtttatgaatgggccctgagattacccgtggcccag9600cacaagttttcagaaacagatgctgatcccacaattcccgactgtggttttttcttctc9600cacattgttgggctgctttgtggcagaagctggtgatgttccaagaggagggagtgtttgtt9720aacattgttgacctaaaagccggaaactgaagggtttgccaagaggagggagtgtttgtg9780tggtggagactggggcctggttttttggggaacctccctctcctccctcttt1020gaacttgtcataagcctaacagccatagactgttgttgattctttctctctgagctaa55aaaaaaaccagttaagtcaacattatttctttcacagagtcataccttttctctctgagcata55aaaaaaaccagttaagtcaagtgagagaagttttaattcctt		gggcaaaaag	aaggaaacca	aatcggttcc	tttcttcgtg	gcagtgtctc	acacagctgc	9000
cccagagacc atttgaaat gcggtcaaat catgattatg tgtctggcct tgttgagttg 9180 tgggagctga atcttgcaa gggattaggc agacctgtgaa gaccctttgc tccagttctt 9240 gctggaagaa ttgcaatttt acctcctagt gaaactcttc aagcctttata caatccatct 9300  45 cttgaaggtg cttttccact taagcatcag gcagccagcc ctattcatgt ggtcctgag 9360  45 cttgaaggtg cttttccact taagcatcag tggccagtta gagaggagg acctcctga 9420 ctcctcttt ggagccctga ctcccaggta tttcggagc ttgggctgag cgcctcgggc 9480 tcttgaagac acctagcat tggcattccc ctgagagggt gtctctcct aggcctccat 9540 cacaagtttt cagaaacaga tgctgatccc ctagagaggt gtctctctc aggcctccat 9600 cacaagtttt cagaaacaga tgctgatccc cacaattcc gagaggagca ccgtgcacc 9600 cacaagtttt cagaaacag tgctgatccc cacaattccc gagaggaggg gggcttgtt 9720 aacatgtctg acctaaaagc gggaaactg gtgatgttcc aggagagggg tttttcttctt 9660 ggacttgtcc acataagctg ggaaactgac accectccc cctcctgtt ttttcttcta 9840 ggacttgtcc acataagctg ggaaactgac accectccc cctcctgtt ttttcttcta 9840 ggacttgtcc acataagctg ggaaactgac accectccc cctccctgtt ttttcttcta 9900 aacccttctt ttatgggca cacactaga ctgttgttga ttcttctct ctgagctaaa 9960  55 aaaaaaacac gttaaggtca acaatgtgtg ttgacctgtt acagcaagg gggagcacta 10020 acagggggg ggagcactg atgacagga aaatattt tctgtcccca ggaaaggag aggagcacca 10020 acagagaggg gagactgtg aggaggaac attaagaga ggttttaagg gagaggagac 10140 agaggggagg gagactgg aggaggagac attaagagag ggttttaagg gagagggagacca 10260 acagagagac gggtaggaaat aaagactaga ggaccagaa taggagggag ccttttaagg gggggcctaa 10320 taggaaacca ctggtggaa aagagcag gttccagaa aaagactag gggagagac cttccagaagggggggggg		ataactgtct	tctgccatag	cacttaacgc	cttgaaggcc	cctgatgtgg	tccctgttgg	9060
tgggagctga atcttgcaa gggattaggc agcctgtgaa gaccctttgc tccagttctt gctggaagaa ttgcaatttt acctcctagt gaaactcttc aagctctata caatccatct gctgtgaagaa ttgcaatttt acctcctagt gaaactcttc aagctctata caatccatct gctgtagaagag caccagcagc ctattcatgt ggtcctgaga gagaggagg cttccact taagcatcag tggccagta gagaggaggc aactccctga g420 ctcctccttt ggagccctga ctcccaggta tttcgcagac ttggggtgag cccccagggc g4880 tcttgaagac acctagccat tggcattcc ctgagagggt gtctctcct aggccact ggcaagacac cacaatttcc gacgtggtt tcctctctc tgtccctcca gaatgacgtt tatgaatggg cccgagagagg ggcccaca g600 cacaagtttt cagaaacaga tgctgatccc cacaattccc gacgtggctt tttcttctct g660 acactgtggtt ggctgcttgt gcgcaaacac ccagccgtca agagagaggg tggtttgctt g720 aacatgtctg acctaaaagc ggaaactgac accctctcc cctcctgtt tttcttcta g840 ggacttgtcc acataagctg ggaaactgac accctctcc cctcctgtt ttttcttcta g840 ggacttgtcc acataagctg ggaaactgac agggtctgcc tacccaaat cataattcaa g900 aacacttctt ttatgggca caccataga ctgttgttga ttctttctct ctgagctaaa gagcaggtg gagactgcc atagatgtgt tgacctgtt accccaaat cataattcaa g960 aacatgttgcc atagtccta acaatgttgt tgacctgtt accccaaat cataattcaa g960 aacatgttgcc atagtcctta ccttcaagaa gtcatgatga gggagcacta 10020 acatgtttgcc atagtcctta ccttcaagaa gtcatgatgc tgttgtggat gggagcacta 10020 aacatgttgcc atagtcctta ccttcaagaa gtcatgatgg ggaggaggg gagactggg agggggaac atagaagag ggttttagga ggaggagac atagaagag gggaggagggggggggg	40	ggcaaaagaa	ggaagagata	ttggcaccct	ctctaagcga	tagaaagtgt	cccagaggag	9120
gctggaagaa ttgcaatttt acctcctagt gaaactette aagctctata caatccatct cattctgcc caccatataa cccgcaagaa gcagccagcc ctattcatgt ggtcctgaga 9360 cttgaaggtg cttttccact taagcatcag tggccagta gagaggagga aactccctga 9420 ctcctcttt ggagccctga ttcccaggta ttccgagge ttcctggaggggg gtctctcca aggcctcat 9540 tcctctctc tgtccccca gaatgacgtt tatgaatggg gtctctccca aggcctcat 9560 cacaagttt cagaaacaga tgctgatccc cacaattccc gacgggtgggggggggg		cccagagacc	atttggaaat	gcggtcaaat	catgattatg	tgtctggcct	tgttgagttg	9180
ccattctgcc caccatataa cccgcaagaa gcagccagcc ctattcatgt ggtcctgaga 9360  tctgaaggtg cttttccact taagcatcag tggccagta gagaggaggc aactccctga 9420 ctcctccttt ggagccctga ctcccaggta tttcgcgagc tttgggctgag cgcctcgggc 9480 tcttgaagac acctagccat tggcattccc ctgagagggg cacctcctct aggcctccat tcctctct tgtccctcca gaatgacgtt tatgaatggg cccgagatca ccgtgccac 9540 cacaagtttt cagaaacaga tgctgatccc cacaattccc gacgtggtt tttttttcttt 9660  cacgtgggtt ggctgcttgt gcgcaaacac cacaattccc gacgtggtt ttttcttctt 9660  cacgtgggtt ggcgcctgg tgtttgggga cacccctccc ccccccgtt ttttcttct 9840 ggacttgtcc acataagcc ggaaactga cacccctccc cccccagtt ttttcttcta 9840 aacacttctt ttatgggca cacaatgac ctgttgttg tttgcccaaa agggcgggg agtgctggg 9780 aaaaaaacca gttaaggca cacaatgcc cagccataga ctgttgttga ttctttctct ctgagctaaa 9960 aacatgttgc atagtccta acaatgtgtg ttgacccgat tacccaaat cataattcaa 9900 accatggtgt ccaaatacct atggagaac acaatgtgg ttgaccaaga ctgttgtgg ttcttctct ctgagctaaa 9960 aacaggggggg gagactggg agagttgtc caaatattt tccttccca ggaagggca 10020 aacaggagggg gagactggg agagtttca caaggtttg caaattttt tctgccca ggaagggagc acacgagagagggggggggg		tgggagctga	atcttgccaa	gggattaggc	agcctgtgaa	gaccctttgc	tccagttctt	9240
cttgaaggtg cttttccact taagcatcag tggccagtta gagaggaggc aactccttga 9420 ctcctctttt ggagccctga ctcccaggta tttcgcgagc ttgggctgag cgcctcgggc 9480 tcttgaagac acctagccat tggcattcc ctgagagggt gtctctcctc aggcctccat 9540 tcctcttct tgtccctca gaatgacgtt tatgaattgg cccgagatca ccgtgccac 9600 caccaagtttt cagaaacaga tgctgatccc cacaattccc gacgggatca ccgtgccac 9600 cacgtgggtt ggctgcttgt gcgcaaacac caagccgtca aagagagaggg tggtttgctt 19720 aacatgtctg acctaaaagc cagaagagctg gtgatttcc agagagaggg tggtttgct 19720 aacatgtgcc acctaaagcc gagaaactgac gggattgtcc acccetctcc cctcctgtt tttctctct 9840 ggacttgtcc acataagctg ggaaactgac agggtctgcc taccccaaat cataattcaa 9900 aacacttctt tatagggca caccataga ctgttgttga ttctttctct ctgagctaaa 9960 aacatgttgcc atagtccta ccttcaagaa gttcatagcc aacatgttgt tagacttgtg accagagggtg gagaggacac 10020 acatgggggg gagacttgg agtgggaac aacatgttgt tcatagcc ggaaggggg ggaaggagacac 10020 acaggagggg gagactggg agtgggaac attagagaag ggttttaggg ggagggggg ggaggggaggggagggggggg		gctggaagaa	ttgcaatttt	acctcctagt	gaaactcttc	aagctctata	caatccatct	9300
ctcctcttt ggagccctga ctcccaggta tttcggagc ttgggctgag cgcctcgggc 9480 tcttgaagac acctagcat tggcattccc ctgagagggt gtctctcctc aggcctccat 9540 tcctcttctc tgtccctca gaatgacgtt tatgaatggg cccagagatca ccgtgcccac 9600 cacaagtttt cagaaacaga tgctgatccc cacaattccc gacgtggctt tttcttctct 9660 cacgtgggtt ggctgcttg ggcaaacac ccagccgtca aagagaaggg tggttgctt 9720 aacatgtctg acctaaaagc cgagaagctg gtgatgtcc agagagaggt agtgctgtgg 9780 tggtggagct ggcgcctgg tgtttgggga caccctctcc cctcctgtt tttcttcta 9840 ggacttgtcc acataagctg ggaaactgac agggtctgcc taccccaaat cataattcaa 9900 aacacgttgtcc acataagctg ggaaactgac ctgttgtga ttctttctct ctgagctaaa 9960 aacacgttgc atagtccta acaatgtgtg ttgacctgtt acacgcaatac cataattcaa 9900 acacaggtgt ccaaatacct atgacatgac gtcatagcc tgttgtgga ttctttctct ctgagctaaa 9960 aacaggggagg gagactgtgg agtgggaac ataaatattt tctgtcccca ggaaaggcac 10020 acaggaggagg gagactgtgg aggggaac ataagagcag ggtttaagg ggagcacta 10200 taggaatcca ctggtggata gagatttca caagtgttgg cggaggggg ggcagtgcaa 10200 acagaaagaa tgagctaaag catgaagca gttccagcaa tagagtccc ctgcttaaag 10320 tacagggtgt ggtaggaaat aacaccagca ataggaacc atggaaggg ggcgctgaag ggcccag ggagcccag ggagcccag ggagcgagg tttttggggg ttttggggat tttgggggac ctgtttagg ggagcgagca 10380 gagctgaaga ggtttaattc accccaca atgaagaacc atggaaggg tttttgggggat ttttgggggac ctgtctggggcgaaatgggggggggg		ccattctgcc	caccatataa	cccgcaagaa	gcagccagcc	ctattcatgt	ggtcctgaga	9360
ctcctcttt ggagccctga ctcccaggta tttcggagc ttggggtggg cgcctcgggc y480 tcttgaagac acctagcat tggcattccc ctgagagggt gtctctcctc aggcctccat y540 tcctcttctc tgtccctcca gaatgacgtt tatgaatggg cccgagatca ccgtgccac y600 cacaagtttt cagaaacaga tgctgatcc cacaattcc gacgtggtt tttcttctt y660 cacgtgggtt ggctgcttg ggcgaaacac ccagccgtca aagagaaggg tggtttgctt y600 aacaatgtctg acctaaaagc cgagaagctg gtgatgttcc agagagaggg tggtttgctt y600 aacatgtgcc accaattcc gacgtgct tttcttctct y700 aacatgtggagct ggcgcctgg tgtttggga caccctctcc cctccctgtt tttcttcta y840 ggacttgtc accataagcc ggaaactgac acggcataga caccctctct ttatgggca cagccataga caccctctct ttatgggca caccctctc cctcctgtt tttcttcta y840 aacaccttctt ttatgggca caccctcta ccttcacaat cataattcaa y900 acatgttgcc atagtccta acaatgtgtg ttgacctgtt accccaaat cataattcaa y900 acatgttgcc atagtccta accatgaga gttcatagcc tgttgtggg ggagccata aggcaggggg gagagcgggggggggg	45	cttgaaggtg	cttttccact	taagcatcag	tggccagtta	gagaggaggc	aactccctga	9420
tottgaagac acctagccat tggcattocc ctgagaggt gtotctoct aggcotccat toctottoc tgtocotcca gaatgacgtt tatgaatggg cccgagatca ccgtgccac 9600 caccaagttt cagaaacaga tgctgatcc cacaattocc gacgtggctt tttottott 9660 cacgtgggtt ggctgttgt gcgcaaacac ccagccgtca aagagaaggg tggtttgctt 9720 aacatgtctg acctaaaagc cgagaagctg gtgatgttcc accctotcc gacgtggctt tttottota 9840 ggacttgtcc acataagctg ggaaactgac agggtctgcc accctotcc cacaattcct tttatgggca caccctotcc caccaatt cataattcaa 9900 aacatgttgcc acatggggtg acccgtggtg ttgacgtgg ttgacgtgg ttgacgtgg acccgtgtgtg ttgacctgtt accccaaat cataattcaa 9900 acatgttgcc acatgggggagg ggaactgggg agggggggggg								9480
tcctettctc cacaagtttt cagaaacaga tgctgatccc cacaattccc gacgtgctt tttcttctct 9660 caccaagtttt cagaaacaga tgctgatccc cacaattccc gacgtggctt tttcttctct 9660 accatgtgggtt ggctgcttgt gcgcaaacac ccagccgtca aagagaaggg tggtttgctt 9720 aacatgtctg acctaaaagc cgagaagctg gtgatgttcc agaggaggtg agtgctgtgg 9780 tggtggagct gggcctgg tgtttgggga caccctctcc cctcctgtt ttttcttcta 9840 ggacttgtcc acataagctg ggaaactgac agggtctgcc taccccaaat cataattcaa 9900 aacactgtct ttatggggca cagccataga ctgttgtga ttcttctct ctgagctaaa 9960 aaaaaaacaca gttaaaggtca acaatgtgtg ttgacctgtt acagtcatgg atacaaagct 10020 acatgttgcc atagtccta ccttcaagaa gttcatagcc tgttggggat ggagcacta 10080 aggaggggag gagactgtgg aggaggaacacacacaggggaggaggagacacacaca								9540
cacaagtttt cagaaacaga tgctgatccc cacaattccc gacgtggctt tttcttctct 9660 cacgtgggtt ggctgcttgt gcgcaaacac ccagccgtca aagagaaggg tggtttgctt 9720 aacatgtctg acctaaaagc cgagaagctg gtgatgttcc agaggaggtg agtgctgtgg 9780 tggtggagct gggcgcctgg tgtttgggga caccctctcc cctccctgtt ttttcttcta 9840 ggacttgtcc acataagctg ggaaactgac agggtctgcc taccccaaat cataattcaa 9900 aacacgttctt ttatgggca cagccataga ctgttgttga ttctttctct ctgagctaaa 9960 aaaaaaaacca gttaaggtca acaatgtgtg ttgacctgtt acacgtagg atacaaagct 10020 acatgttgcc atagtcctta ccttcaagaa gttcatagcc tgttggggat gggagcacta 10080 aggccaggtg ccaaatacct atgacatggc aaaatatttt tctgtccca ggaaaggcac 10140 agaggggagg gagactgtgg agggggaac attaggaag ggtttagga ggagggagca 10260 taggaaaca tgagcaaag catgaagca gttccagcaa taggagcac ctgctttg ggggcctaa 10380 acagaaagaa tgagctaaag catgaagca gagaccgaga cctttcttgt ggggcctaa 10380 gagcggaaaca gggtgaaca aggggggga aactgggg agggcggaaatgggggcgcaaaggggcggaaggcggaaggcggaaggcggaaggcggaaggcgaaggcgaaggcggaaggcggaaggcggaaggcggaaggcggaaggcggaaggcggaaggcgaaggcggaaggcggaaggcggaaggcggaaggcggaaggcggaaggcggaaggcggaaggcggaaggcggaaggcggaaggcggaaggcggaaggcggaaggcggaaggcggaagggggg								9600
cacqtqqqtt qqctqcttqt qcqcaaacac ccaqccqtca aaqaqaaqqq tqqtttqctt aacatqtctq acctaaaaqc cqaqaaqctq qtqatqttcc aqaqqqqqtq aqtqctqtqq 9780 tqqtqqqqct qqqcctqqq tqtttqqqq aaccttqtc acataaqctq qqaactqqc aqqqtqtqc tttttctcta qqqcaaacccttctt tatqqqqca caqccataqa ctqttqttqa ttctttctct ctqaqqtaaa qqqcqqqqq acacqqqtq ttqacqqqqqqqqqq								9660
aacatgtctg acctaaaagc cgagaagctg gtgatgttcc agagaggtg agtgctgtgg 9780 tggtggagct gggcgctgg tgtttgggga caccctctcc cctccctgtt ttttcttcta 9840 ggacttgtcc acataagctg ggaaactgac agggtctgcc taccccaaat cataattcaa 9900 aacccttctt ttatgggca cagccataga ctgttgttga ttctttctct ctgagctaaa 9960 aaaaaaaacca gttaaggtca acaatgtgtg ttgacctgtt acagtcatgg atacaaagct 10020 acatgttgcc atagtccta ccttcaagaa gttcatagcc aggaggggag gagactgtgg aggaggaac attagggaat tctgttccca ggaaaggcac 10140 agagggggagg gagactgtgg aggaggaac attaggagaag ggtttaagg aggaggggag gagactgtgg aggagtttca caagtgttgg cggaggggag ggcagtgcaa 10260 acagaaagaa tgagctaaag catgaagcat gttccagcaa taggacccc ctgcttaaag 10320 tacaggggtg ggttaattc acaggagg ggcaggagaggag	50							9720
tggtggagct gggcgcctgg tgtttggga caccctctcc cctcctgtt ttttcttcta ggacttgtcc acataagctg ggaaactgac agggtctgcc taccccaaat cataattcaa 9900 aacccttctt ttatgggcca cagccataga ctgttgttga ttctttctct ctgagctaaa 9960 aaaaaaaacca gttaaggtca acaatgtgtg ttgacctgtt acagtcatgg atacaaagct 10020 acatgttgcc atagtcctta ccttcaagaa gttcatagcc tgttggggat gggagcacta 10080 agccaggtgt ccaaatacct atgacatgg aaaaatatttt tctgtcccca ggaaaggcac 10140 agaggggagg gagactgtgg agtggggac attaggagag ggttttagg agtggggac gagatgtga 10260 taggaatcca ctggtggata gagatttca caagtgttgg cggaggggag ggcagtgcaa 10260 acagaaagaa tgagctaaag catgaagcat gttccagcaa tagagcccc ctgcttaaag 10320 tacagggtgt ggtaggaaat aaagactaga gagaccgaga cctttcttgt ggggccttaa 10380 gagcagaacag ggtttaattc acaccagca ataggaaacc atggaagggt ttttgagccg 10440 gaatgtggc agggggggaggg ggcggaaatgt ggggacacac aggggctgaaga ggcggaaatgt ggggacacac gggggcgaa acgggggga ggcggagacact 10500 gggctgaaga ggtgagctgc agggccccag gtgaggaggt actcgggaca ttgtcgggg 10560 ttgactgctg aagaggtgca ggaaatcagc tccctcggaa tgtcagtagc ctgttttact 10680 ttgggagaat gaagaatgg ccagggcccc cagagggaca gcctgcaggc atccgggaca 10740								9780
ggacttgtcc acataagctg ggaaactgac agggtctgcc taccccaaat cataattcaa 9900 aacccttctt ttatgggcca cagccataga ctgttgttga ttctttctct ctgagctaaa 9960 aaaaaaacca gttaaggtca acaatgtgtg ttgacctgtt acagtcatgg atacaaagct 10020 acatgttgcc atagtcctta ccttcaagaa gttcatagcc tgttggggat gggagcacta 10080 agccaggtgt ccaaatacct atgacatggc aaaatatttt tctgtcccca ggaaaggcac 10140 agaggggagg gagactgtgg agtgggaac attagagaag ggtttaagg ggaggtagct 10200 taggaatcca ctggtggata gagattttca caagtgttgg cggaggggag ggcagtgcaa 10260 acagaaagaa tgagctaaag catgaagcat gttccagcaa tagagtccct ctgcttaaag 10320 tacagggtgt ggtaggaaat aaagactaga gagaccgaga cctttcttgt ggggccttaa 10380 gagcagacag ggtttaattc acacccagca ataggaaacc atggaagggt ttttgagccg 10440 gaatgtggtc agaggtgtc tctggagagg tcaccctgca gataggtgaa agaaaccatt 10500 gggctgaaga ggtgagctgc agggccccag gtgaggaggt actgggcatc tgtgctgggg 10560 aagtggtgc acggagaga ggcgaaatgt ggggacacac gtgatccaag agtagcagac 10620 ttgactgctg aagaggtgca ggaaatcagc tccctcggaa tgtcagtagc ctgttttact 10680 ttgggagaat gaagaatgg ccagggcctc cagagggaca gcctgcaggc atccgggaca 10740								
aaccettett ttatgggea cagecataga etgttgttga ttettetet etgagetaaa 9960 aaaaaaacca gttaaggtea acaatgtgtg ttgacetgtt acagteatgg atacaaaget 10020 acatgttgee atagteetta eetteaagaa gtteatagee tgttggggat gggageacta 10080 agecaggtgt eeaaatacet atgacatgge aaaatatttt tetgteecea ggaaaggeae 10140 agaggggagg gagaetgtgg agtgggaae attagagaag ggtttaagg ggaaggtaget 10200 taggaateea etggtggata gagatttea eaagtgttgg eggagggga ggeagtgeaa 10260 acagaaagaa tgagetaaag eatgaageat gtteeageaa tagagteeet etgettaaag 10320 tacagggtgt ggtaggaaat aaagaetaga gagaeegaga eetteettgt ggggeettaa 10380 gageagaeag ggtttaatte aacteeagea ataggaaaee atggaagggt ttttgageeg 10440 gaatgtggte agaggtgte tetggagagg teaeeetgea gataggtgaa agaaaceatt 10500 gggetgaaga ggtgagetge agggeeeeag gtgaggaggt aetgggeate tgtgetgggg 10560 aagtggtge aeggagaga ggegaaatgt ggggaeaaee gtgateeaag agtageagae 10620 ttgaetgetg aagaggtgea ggaaateage teeeteggaa tgteagtage etgtttaet 10680 ttgggagaat gaagaatgg ceagggeete eagagggaea geetgeagge ateegggaea 10740								
aaaaaaacca gttaaggtca acaatgtgtg ttgacctgtt acagtcatgg atacaaagct 10020 acatgttgcc atagtcctta ccttcaagaa gttcatagcc tgttggggat gggagcacta 10080 agccaggtgt ccaaatacct atgacatggc aaaatatttt tctgtccca ggaaaggcac 10140 agaggggagg gagactgtgg agtggggaac attagagaag ggtttaagga gaaggtagct 10200 taggaatcca ctggtggata gagatttca caagtgttgg cggagggga ggcagtgcaa 10260  60 acagaaagaa tgagctaaag catgaagcat gttccagcaa tagagtccct ctgcttaaag 10320 tacagggtgt ggtaggaaat aaagactaga gagaccgaga cctttcttgt ggggccttaa 10380 gagcagacag ggtttaattc aactccagca ataggaaacc atggaagggt ttttgagccg 10440 gaatgtggtc agaggtgtc tctggagagg tcaccctgca gataggtgaa agaaaccatt 10500 gggctgaaga ggtgagctgc agggccccag gtgaggaggt actgggcatc tgtgctgggg 10560  65 aagtggtgc acggagaga ggcgaaatgt ggggacacac gtgatccaag agtagcagac 10620 ttgactgctg aagaggtgca ggaaatcagc tccctcggaa tgtcagtagc ctgttttact 10680 ttgggagaat gaagaatgg ccagggcctc cagagggaca gcctgcaggc atccgggaca 10740								
acatgttgcc atagtcctta ccttcaagaa gttcatagcc tgttggggat gggagcacta agccaggtgt ccaaatacct atgacatggc aaaatatttt tctgtccca ggaaaggcac 10140 agaggggagg gagactgtgg agtgggaac attagagaag ggttttagga gaaggtagct 10200 taggaatcca ctggtggata gagattttca caagtgttgg cggagggga ggcagtgcaa 10260 acagaaagaa tgagctaaag catgaagcat gttccagcaa tagagtccct ctgcttaaag 10320 tacagggtgt ggtaggaaat aaagactaga gagaccgaga cctttcttgt ggggccttaa 10380 gagcagacag ggtttaattc aactccagca ataggaaacc atggaagggt ttttgagccg 10440 gaatgtggtc agaggtgtc tctggagagg tcaccctgca gataggtgaa agaaaccatt 10500 gggctgaaga ggtgagctgc agggccccag gtgaggaggt actgggcatc tgtgctgggg 10560 aagtggtgc acggagaga ggcaaatgt ggggacacac gtgatccaag agtagcagac 10620 ttgactgctg aagaggtgca ccagggcctc cagagggaca gcctgcaggc atccgggaca 10740	55							
agccaggtgt ccaaatacct atgacatggc aaaatattt tctgtccca ggaaaggcac 10140 agaggggagg gagactgtgg agtggggaac attagagaag ggttttagga gaaggtagct 10200 taggaatcca ctggtggata gagatttca caagtgttgg cggaggggga ggcagtgcaa 10260 acagaaagaa tgagctaaag catgaagcat gttccagcaa tagagtccct ctgcttaaag 10320 tacagggtgt ggtaggaaat aaagactaga gagaccgaga cctttcttgt ggggccttaa 10380 gagcagacag ggtttaattc aactccagca ataggaaacc atggaagggt ttttgagccg 10440 gaatgtggtc agaggtgtc tctggagagg tcaccctgca gataggtgaa agaaaccatt 10500 gggctgaaga ggtgagctgc agggccccag gtgaggaggt actgggcatc tgtgctgggg 10560 aagtggtgc acggagaga ggcgaaatgt ggggacacac gtgatccaag agtagcagac 10620 ttgactgctg aagaggtgca ggaaatcagc tccctcggaa tgtcagtagc ctgttttact 10680 ttgggagaat gaagaatgg ccagggcctc cagagggaca gcctgcaggc atccgggaca 10740								
agaggggagg gagactgtgg agtgggaac attagagaag ggttttagga gaaggtagct 10200 taggaatcca ctggtggata gagattttca caagtgttgg cggagggga ggcagtgcaa 10260 acagaaagaa tgagctaaag catgaagcat gttccagcaa tagagtccct ctgcttaaag 10320 tacagggtgt ggtaggaaat aaagactaga gagaccgaga cctttcttgt ggggccttaa 10380 gagcagacag ggtttaattc aactccagca ataggaaacc atggaagggt ttttgagccg 10440 gaatgtggtc agaggtgtc tctggagagg tcaccctgca gataggtgaa agaaaccatt 10500 gggctgaaga ggtgagctgc agggccccag gtgaggaggt actgggcatc tgtgctgggg 10560 aagtggtgc acggagagga ggcgaaatgt ggggacacac gtgatccaag agtagcagac 10620 ttgactgctg aagaggtgca ggaaatcagc tccctcggaa tgtcagtagc ctgtttact 10680 ttgggagaat gaagaatggg ccagggcctc cagagggaca gcctgcaggc atccgggaca 10740								
taggaatcca ctggtggata gagatttca caagtgttgg cggagggga ggcagtgcaa 10260 acagaaagaa tgagctaaag catgaagcat gttccagcaa tagagtcct ctgcttaaag 10320 tacagggtgt ggtaggaaat aaagactaga gagaccgaga cctttcttgt ggggccttaa 10380 gagcagacag ggtttaattc aactccagca ataggaaacc atggaagggt ttttgagccg 10440 gaatgtggtc agaggtggc tctggagagg tcaccctgca gataggtgaa agaaaccatt 10500 gggctgaaga ggtgagctgc agggccccag gtgaggaggt actgggcatc tgtgctgggg 10560 aagtggtgc acggagagga ggcgaaatgt ggggacacac gtgatccaag agtagcagac 10620 ttgactgctg aagaggtgca ggaaatcagc tccctcggaa tgtcagtagc ctgttttact 10680 ttgggagaat gaagaatggg ccagggcctc cagagggaca gcctgcaggc atccgggaca 10740								
acagaaagaa tgagctaaag catgaagcat gttccagcaa tagagtcct ctgcttaaag 10320 tacagggtgt ggtaggaaat aaagactaga gagaccgaga cctttcttgt ggggccttaa 10380 gagcagacag ggtttaattc aactccagca ataggaaacc atggaagggt ttttgagccg 10440 gaatgtggtc agaggtgtc tctggagagg tcaccctgca gataggtgaa agaaaccatt 10500 gggctgaaga ggtgagctgc agggccccag gtgaggaggt actgggcatc tgtgctgggg 10560 aagtggtgc acggagagga ggcgaaatgt ggggacacac gtgatccaag agtagcagac 10620 ttgactgctg aagaggtgca ggaaatcagc tccctcggaa tgtcagtagc ctgtttact 10680 ttgggagaat gaagaatggg ccagggcctc cagagggaca gcctgcaggc atccgggaca 10740								
tacagggtgt ggtaggaaat aaagactaga gagaccgaga cctttcttgt ggggccttaa 10380 gagcagacag ggtttaattc aactccagca ataggaaacc atggaagggt ttttgagccg 10440 gaatgtggtc agaggtgtc tctggagagg tcaccctgca gataggtgaa agaaaccatt 10500 gggctgaaga ggtgagctgc agggccccag gtgaggaggt actgggcatc tgtgctgggg 10560 aagtggtgc acggagaga ggcgaaatgt ggggacacac gtgatccaag agtagcagac 10620 ttgactgctg aagaggtgca ggaaatcagc tccctcggaa tgtcagtagc ctgtttact 10680 ttgggagaat gaagaatgg ccagggcctc cagagggaca gcctgcaggc atccgggaca 10740	60							
gagcagacag ggtttaattc aactccagca ataggaaacc atggaagggt ttttgagccg 10440 gaatgtggtc agaggtgtc tctggagagg tcaccctgca gataggtgaa agaaaccatt 10500 gggctgaaga ggtgagctgc agggccccag gtgaggaggt actgggcatc tgtgctgggg 10560 aagtggtggc acggagagga ggcgaaatgt ggggacacac gtgatccaag agtagcagac 10620 ttgactgctg aagaggtgca ggaaatcagc tccctcggaa tgtcagtagc ctgtttact 10680 ttgggagaat gaagaatggg ccagggcctc cagagggaca gcctgcaggc atccgggaca 10740	00				-			
gaatgtggtc agaggtgtgc tctggagagg tcaccctgca gataggtgaa agaaaccatt 10500 gggctgaaga ggtgagctgc agggccccag gtgaggaggt actgggcatc tgtgctgggg 10560 aagtggtggc acggagagga ggcgaaatgt ggggacacac gtgatccaag agtagcagac 10620 ttgactgctg aagaggtgca ggaaatcagc tccctcggaa tgtcagtagc ctgttttact 10680 ttgggagaat gaagaatggg ccagggcctc cagagggaca gcctgcaggc atccgggaca 10740								
gggctgaaga ggtgagctgc agggccccag gtgaggaggt actgggcatc tgtgctgggg 10560 aagtggtggc acggagagga ggcgaaatgt ggggacacac gtgatccaag agtagcagac 10620 ttgactgctg aagaggtgca ggaaatcagc tccctcggaa tgtcagtagc ctgttttact 10680 ttgggagaat gaagaatggg ccagggcctc cagagggaca gcctgcaggc atccgggaca 10740								
aagtggtggc acggagagga ggcgaaatgt ggggacacac gtgatccaag agtagcagac 10620 ttgactgctg aagaggtgca ggaaatcagc tccctcggaa tgtcagtagc ctgttttact 10680 ttgggagaat gaagaatggg ccagggcctc cagagggaca gcctgcaggc atccgggaca 10740								
ttgactgctg aagaggtgca ggaaatcagc tccctcggaa tgtcagtagc ctgttttact 10680 ttgggagaat gaagaatggg ccagggcctc cagagggaca gcctgcaggc atccgggaca 10740	65							
ttgggagaat gaagaatggg ccagggcctc cagagggaca gcctgcaggc atccgggaca 10740								
		ııyyyagaat	yaayaatggg	ccayyycctc			accegggaca	10/40

							10000
			aaaagaagag				10800 10860
			acacagattc ggcaggagaa				10920
			gctgtggtca		_		10920
5			ccactggttc				11040
Ū			atcaaaaaag				11100
			ctctgtttcc				11160
			aaaggacaaa				11220
			acaaacccgg				11280
10			ggggtgaagc				11340
			tcaatgccac				11400
	-		agactattag				11460
		_	tccatagcaa				11520
			aaaccagatt	-			11580
15	_		atagtagata	_	_	_	11640
.0	-		aataacaatg			-	11700
			cgctttggct				11760
			gggactgcat				11820
			tttagacatg				11880
20			atcaccttgc				11940
_0			tgatgccaac				12000
			ctctcatctc				12060
			aacacccgct				12120
			aagtctctgc			_	12120
25			agttatatct				12240
20			catctgtctc				12300
			taacqcctqq				12360
		-	gtgccactgg				12420
			gcggcctagc				12480
30			tcttttttt				12540
00			tagtgccgca				12600
			tgctggcctc				12660
			ggcaatgctg				12720
			ttcctagttg				12780
35	-		ttcatgtatc				12840
00	_		accatgtttg		222		12900
			gaatgagact				12960
			ccgttcaaag				13020
	_		ggctgctctc			-	13080
40			ctaatctttt				13140
40			ctgacctcct				13200
			gtccttctcc				13260
	_		ctgataagta			2 2 2	13320
			atggaaattc				13380
45			taagctgatt				13440
40	_	_	gatggtgtca		2 2 2		13500
			ctactaaggc				13560
			cagctctgcc				13620
			aagatcccgc				13680
50			agacattatt				13740
50			ctcagaagca				13800
			gagcttctgt				13860
			cagagcagtc				13920
			ctttctgact				13980
55			atggtacagt				14040
00			tctttgttct				14100
			ggtctcagac				14160
							14220
			gatagcagtt				14220
60			agaggctccc				
60			gaggggatct				14340
			ctaggtttga				14400
			aggtgagggc				14460
			ccgctggcac				14520
6F			ttatgaccgg				14580
65			tgagagctac				14640
			gggcagaggt				14700
	tgctaccagg	atgctaaaga	tgatgatgtt	aacccgttcc		tcttttaaaa	14760

			ctacaattct	-		_	14820
	ttcttctctc	tcttctagtc	ccattgtcct	tctcttggct	ttgttcctgt	caccttcctc	14880
			cccaggcaag				14940
	ttccaaagcc	tagacctttc	agtagtccaa	aactggtgag	cggtctttgc	cccagatagc	15000
5	tctttctttg	agttgtcctg	agctttaagg	tgggtggctc	aagggagaga	ggtgataaaa	15060
	tcttctggga	aagcccctgt	tcattatttt	cagcccagac	ttttgctcaa	tgacaaaaat	15120
	aactctattt	tggcacaaag	cttcgaaagc	aggtaacttg	tcaggggagg	gagttagcat	15180
	gctgtgtgtg	gtggggttga	taaagaaggg	ggaggtgagg	tgggaaacca	ggcaggaggc	15240
	tcctgctgtg	atgggacact	cggctgactg	cccagtgagg	gctttgcgcc	ctggcacaca	15300
10			gactctgggg				15360
			cccaatgtac				15420
			ctgctgggga				15480
			gtgagaaatc				15540
	_	_	actcttttca	2 22		, , ,,	15600
15		_	aggtggctgc	_	_	222	15660
		-	ttaactatct	-			15720
	22 22	2 22 2 2	agttaaacct	_	2 2	2 22 22	15780
		_	gaaagagaag				15840
			tgctgaacag				15900
20			cattgcaaac				15960
20			tcctatggga				16020
			attactactt				16080
			ctgccttcta	22	2 22	_	16140
			cqttttttcc		_		16200
25			gcctcctttq				16260
25			-				16320
		-	ccacagtcag		-	_	16380
	_		tgccacctcc			_	
			aatgattcaa				16440
30			ctcataaggc				16500
30			aagagggttt				16560
			ccctgcttgc				16620
			cttgcagaaa				16680
			ccaaagtgcc	_			16740
25			ttggctgagt				16800
35	_		gcacagccca				16860
		_	ggcccactcc	-		_	16920
		_	attggaaata				16980
	2 22 2	22 222	gagagcattt	_		22 22	17040
40			gaggcatctt				17100
40			ctgtagttca	-	-		17160
			ttaattccac				17220
			tttctattct				17280
	taaccctaca	caaggctgga	tggggttctt	aggccaaggg	ccccagtgta	tgtgtggatg	17340
			agtaaggaat				17400
45		_	gaaactcaga		-		17460
			aacttatctg				17520
			cctcactccc				17580
			gctggtagaa				17640
			ttgttttgga				17700
50			gaaggaattt				17760
			atggttgtag				17820
			tctctgtaag				17880
			aaggttacac				17940
			gtgaccctgg				18000
55	_		ataataatac	-			18060
			gcattttggg				18120
			gtatccacca				18180
			tatggttctc				18240
	gtggtggata	actagtcaga	cagaatctga	gaatgcataa	actcattgcc	atggaaacat	18300
60	acacaggata	ccttttcctt	gattgggtgg	gattttttcc	cctttttatg	tgggatagta	18360
			aattttggaa				18420
	gttgtactga	tctgagattg	tgtttgttca	taataaaagg	gaagtgaatc	tgattgcctt	18480
	gtgtctgaga	ggttttttgc	ctgtgagtca	gtctcttggg	acttaatctg	ccaccctatg	18540
	tcctgttcct	gtacctttaa	gagagtaaaa	aaagtagaag	ctacaatggt	tgattcacac	18600
65			tccctgccct				18660
			agtctgctgc				18720
			gccaggtctc				18780
	2.2			2			

```
gagaggaaag gagcagcagg tgacacttcc ctggaaaggg gttctgtacc tggcaaccca
    ggctgggcca tcctgcttca ttcctctgaa atgtagcccc ttctgggaat aaagtggctt
                                                                         18900
                                                                         18960
    cctgaaaatg ctgattaaca acagcaggaa gaaaggaaaa gcaatcctag agaagccttg
    taaattcctg qaatagagag ggcttcatga tcatcaacta gaaaggcttt ggcttttact
   qctttagcta agaatctttt ttttttttt ttttttttt gtcttttgc tatttctttg
                                                                         19080
    ggtcgctcct gcagcatatg gaggttccca ggctaggggt ccacagcaac gcgggatccg
                                                                         19140
    agccgcqtct qcaacctaca ccacaqctca caqcaacacc agatccttaa cccactqaqc
    aggggcaggg accgaacccc caacctcatg attectagte ggattegttg accactgege
    cacgacggga actcagctaa gaatcttgat gtgcaaacga gaagggcttt ttttgaagag
                                                                         19320
10
   gcttcatttt ccaacaggag ccacctaagc ttctgagcat tccccagacc cccccttac
                                                                         19380
    actttctagt gtaacgtcgc cctcaccttg gacaagcacg actctcagtg attcatccca
                                                                         19440
    aatcaagtct atattcagtg aggccttgcc aggccttaat aacgtaaatt gatggtggca
    ctttcttaat atctggcttt ctaccccttt ccctctattg tgtttaaaat gttcgggttg
                                                                         19560
                                                                         19620
    gaccattttt ccattttata taatggcatg gttccgccca agtctctgtt tttggaggca
    aagacatcag ccacatgaga aagggcagct gtgataaact atagtgagtc taggatgata
                                                                         19680
    ctcatgaaac caaattcctt ggaacaatct atatcagata gagggattgg gaccatgcgt
                                                                         19740
    caacaqaaat ctcacacct ctttttttt cttttcttt ttqqtcqcac atqcaqcaca
    ttgaagttcc tatgtgacct atgccacagc tagggcaatg ttggatcctt aacccactgt
    gccacagcag gaactcgcta tgacaacatt tggtgcagga aacccaaatt gtgagtccac
   cagactcaat aacatttact ataaacagcc attgtagtga gtgcttgaca gtgcattatc
                                                                         19980
    acagcatttc caaagcaggt gccatcatta ccctaatttt attgatgaaa ttccctagaa
                                                                         20040
    gagaaagaac acaaggcgag ggagtatgca aggatgctgt gattcagctc agaactttgc
                                                                         20100
    ttatttactq ctctccaaat qqqtqtaaaq taqataaqca acttqataaq tctqqatqca
    taagtcccat atatgtaagt agatgcctgg cgatattcag ttatgctcag aggtaaaact
                                                                         20220
   tggtagcaat ggtacagagc ttagtttatg caaagtcaaa tcgcagatgt gtcctctgtt
                                                                         20280
    ccagaggaac ccaactcact ccacctcccg acatgtttta acattcaacc acacctgagt
                                                                         20340
    tttaaagctc tcagaccata gaaaccattt cttgggccgc tcccacggca tatggaggtt
                                                                         20400
    cccaqqctaq qqqtcqaatc qqaqctqtaq ccaccaqcct acqccacaqc cacaqcaatq
                                                                         20460
    tgggatccga gcctcatctg caacctacac cacagctcac ggcaatgctg gatccttaac
                                                                         20520
                                                                         20580
   ccactgagca aggccaggga tcgaacccgc aaactcatgg ttcctagtca gatttgttaa
    ccactgagcc atgatgggaa ctcctcctct atcgttttgc aaaccatact ccatccaccc
                                                                         20640
    tgctcttgtg ttttgagatc tttaagggca tctcttcttt tagaaatgtc tcctgcccct
                                                                         20700
    aatggatcag tgcttaataa aagtattgaa agacctcgtt tctagtttta aattctgtct
                                                                         20760
    ctgtgacaaa ctgtgtgaaa tgtcacaggg agtgggaatt gcattctgtg acctgtagtt
35
   aacttactaa actgcaggca aaaagccgat tcctgcatgc tgactttggg gcaaatacca
                                                                         20880
                                                                         20940
    caagetetaa ttgcaggtte caagaagttg agattetata etgggattge eecteeeeg
    cccggggcct gcccagcctg ctgcaaccca ggccacagag agctc
                                                                         20985
    <210> 2
40
   <211> 20
    <212> ADN
    <213> Secuencia Artificial
    <220>
45
    <223> Promotor-F
    <400> 2
    acttccctag tgcccatcct
                                                                            2.0
50
    <210> 3
    <211> 20
    <212> ADN
    <213>
          Secuencia Artificial
55
   <220>
    <223> Promotor-R
                                                                            20
    gatcactttc ccagggatga
60
    <210> 4
    <211> 21
    <212> ADN
    <213> Secuencia Artificial
65
    <220>
    <223> 3UTR F1
```

	<400>	4 ccaa gggctgccat c	21
_			
5	<210> <211>	5	
	<211>		
		Secuencia Artificial	
10	<220>		
	<223>	3UTR_R1	
	<400>	5	
		cgga aagaacctca	20
15	Z210N		
	<210> <211>	6 21	
	<212>		
20	<213>	Secuencia Artificial	
20	<220>		
	<223>	3UTR_F2	
	<400>	6	
25		agaa gtotttottg t	21
	<210>	7	
	<211>		
	<212>	ADN	
30	<213>	Secuencia Artificial	
	<220>		
	<223>	3UTR_R2	
35	<400>	7	
	ggttca	gtga ccctgagcat	20
	<210>	8	
40	<211>		
40	<212> <213>		
	<220> <223>	3UTR F3	
45		_	
	<400>		20
	LLTCCT	gccg gttctatctc	20
	<210>		
50	<211>		
	<212> <213>	Secuencia Artificial	
	<220N		
55	<220> <223>	3UTR R3	
		_	
	<400>	9 gtgc ttgggtctgg	20
0.0			_ ~
60	<210> <211>	10	
	<211>		
	<213>		
65	<220>		
	<223>	3UTR_F4	

	<400> atggag	10 gata aaggggttgg	20
5	<211> <212>		
10	<220> <223>	3UTR_R4	
	<400> acttgc	11 ccag ggtcacatag	20
15	<211> <212>		
20	<220> <223>	3UTR_F5	
25	<400> gtcaag	12 gtta cacgggtggt	20
	<210> <211> <212>	20	
30	<213> <220>	Secuencia Artificial	
	<223> <400>	3UTR_R5 13	
35	caggac	atag ggtggcagat	20
40	<210> <211> <212> <213>	24	
	<220> <223>	Cebador directo para el genotipado de SNP3	
45	<400> tgccag	14 ctct agcctttaaa tacc	24
50	<210> <211> <212> <213>	20	
55	<220> <223>	Cebador reverso para el genotipado de SNP3	
	<400> cacgtt	15 gggt cggtgtgtct	20
60	<210> <211> <212> <213>	14	
65	<220> <223>	Sonda para el alelo G	
	<400>	16	

	acccgc	gcac agca	14
5			
10	<400>	Sonda para el alelo A 17 acgc acagca	16

#### **REIVINDICACIONES**

5

10

30

35

- Un método para genotipar un sujeto que comprende detectar en una muestra de dicho sujeto el nucleótido que ocupa la posición 2281 en el gen SCD de S. scrofa domestica en base a la numeración de la secuencia definida por el número de acceso AY487830 en la base de datos NCBI (SEQ ID NO: 1), y donde dicho sujeto es un cerdo.
- El método según la reivindicación 1 que comprende adicionalmente detectar en dicha muestra el nucleótido que ocupa la posición 2228 de dicho gen y/o el nucleótido que ocupa la posición 15109 en el gen SCD de S. scrofa domestica en base a la numeración de la secuencia definida por el número de acceso AY487830 en la base de datos NCBI.
- 3. El método según la reivindicación 1 o 2, donde la detección del nucleótido en la posición o posiciones polimórficas dichos SNP comprende la hibridación con al menos una sonda específica para dichos SNP.
- 4. El método según la reivindicación 3, donde al menos una de las mencionadas sondas específicas es una sonda capaz de detectar el nucleótido en la posición 2281 del gen SCD de S. scrofa domestica en base a la numeración de la secuencia definida por el número de acceso AY487830 en la base de datos NCBI en el gen SCD de S. scrofa domestica o una variante polimórfica en la posición 2281 de dicha secuencia.
- 5. Un método para predecir el grado de insaturación de ácidos grasos en un sujeto o un derivado cárnico del mismo, que comprende detectar en una muestra de dicho sujeto o de dicho derivado cárnico el nucleótido en al menos una posición polimórfica en el gen SCD de S. scrofa domestica, donde dicha posición polimórfica es la posición 2281 en base a la numeración de la secuencia definida por el número de acceso AY487830 en la base de datos NCBI (SEQ ID NO:1), y donde la presencia del nucleótido A en la posición 2281 en al menos un alelo del gen SCD es indicativa de un alto grado de insaturación de ácidos grasos con respecto al valor de referencia, y donde dicho sujeto es un cerdo.
  - El método según la reivindicación 5, donde la presencia del nucleótido A en la posición 2281 en los dos alelos del gen SCD está asociada con un alto grado de insaturación de ácidos grasos con respecto al valor de referencia.
  - 7. El método según cualquiera de las reivindicaciones 5 o 6, que comprende adicionalmente detectar en dicha muestra el nucleótido que ocupa la posición 2228 de dicho gen y/o el nucleótido que ocupa la posición 15109 en el gen SCD de S. scrofa domestica en base a la numeración de la secuencia definida por el número de acceso AY487830 en la base de datos NCBI.
  - 8. El método según la reivindicación 5, donde la detección del nucleótido en la posición o posiciones polimórficas dichos SNP comprende la hibridación con al menos una sonda específica para dichos SNP.
- 40 9. El método según la reivindicación 8, donde al menos una de las mencionadas sondas específicas es una sonda capaz de detectar el nucleótido en la posición 2281 del gen SCD de S. scrofa domestica en base a la numeración de la secuencia definida por el número de acceso AY487830 en la base de datos NCBI en el gen SCD de Sus scrofa domestica o una variante polimórfica en la posición 2281 de dicha secuencia.
- 45 10. El método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, donde la muestra se selecciona del grupo que consiste en sangre, pelo, epidermis, saliva, esperma, grasa subcutánea, músculo y derivados cárnicos de dicho sujeto.
- 11. El método según la reivindicación 10, donde el músculo se selecciona del músculo del glúteo medio del jamón, el músculo longísimo dorsal y el músculo semimembranoso.
  - 12. El método según la reivindicación 11, donde el derivado cárnico es jamón o lomo.
  - 13. El método según cualquiera de las reivindicaciones 5 a 12, donde el grado de insaturación de ácidos grasos en grasa intramuscular es determinado.
  - 14. El método según la reivindicación 5, donde el cerdo es de la raza Duroc.